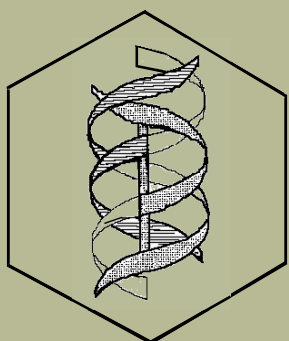


REB 2013

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. 32

No. 1

MARZO 2013

COMITÉ EDITORIAL

EDITOR EN JEFE

JOSÉ VÍCTOR CALDERÓN SALINAS

Departamento de Bioquímica
Centro de Investigación y de Estudios Avanzados

EDITORES

RAFAEL CAMACHO CARRANZA

Instituto de Investigaciones Biomédicas
Departamento de Medicina, Genómica y Toxicología Ambiental
Universidad Nacional Autónoma de México

ALICIA GAMBOA DE BUEN

Instituto de Ecología
Universidad Nacional Autónoma de México

MARCO ANTONIO JUÁREZ OROPEZA

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

MARÍA ESTHER REVUELTA MIRANDA

Sección Bioquímica y Farmacología Humana
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán

ROCÍO SALCEDA SACANELLES

Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

YOLANDA SALDAÑA BALMORI

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

KARLA GUADALUPE CARVAJAL AGUILERA

Instituto Nacional de Pediatría

VÍCTOR M. VALDÉZ LÓPEZ

Facultad de Ciencias
Universidad Nacional Autónoma de México

ÁNGEL ZARAÍN HERZBERG

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

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

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

SERGIO SÁNCHEZ-ARMÁSS ACUÑA

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

MARTHA ANGÉLICA QUINTANAR ESCORZA

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

MARÍA MALDONADO VEGA

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

AURELIO MENDOZA MEDELLÍN

Facultad de Medicina
Universidad Autónoma del Estado de México

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) La REB es una revista dedicada a la divulgación, difusión, discusión, análisis y presentación de resultados derivados de investigaciones originales en temas relevantes en el campo de la bioquímica y áreas afines. La REB es una 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; 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.

CONTENIDO

COMITÉ EDITORIAL

EDITORIAL

LA ÉTICA Y LOS FRAUDES EN INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Ricardo Tapia.....	1
---	---

ARTÍCULOS

EL PAPEL DE LA GALECTINA-3 EN EL DESARROLLO DEL CANCER DE MAMA I. Belem Gallegos, Blanca Cuevas, Eduardo Pérez Campos, Rocío Coutiño y Pedro Hernández Cruz.....	3
--	---

MÉXICO COMO ENTE INNOVADOR Javier Cuervo Escalona y José Victor Calderón Salinas.....	13
---	----

COMPARACIÓN DE LOS DIFERENTES MÉTODOS DE ANÁLISIS CINÉTICOS PARA DETERMINAR EL TIPO DE INHIBICIÓN DE DOS COMPUESTOS Elizabeth Lira Silva y Ricardo Jasso Chávez.....	19
---	----

OTRAS COMUNICACIONES

CRUCIBIOQ ORIGEN DE LAS CÉLULAS Yolanda Saldaña Balmori y Héctor Javier Delgadillo Gutiérrez.....	33
--	----

PROBLEMA BIOQUÍMICO DETERMINACIÓN DEL CICLO UMBRAL Y LA EFICIENCIA PARA LA PCR CUANTITATIVA EN TIEMPO REAL David R. de Alba Aguayo y Angelica Rueda.....	36
---	----

SOLUCIÓN AL CRUCIBIOQ ORIGEN DE LAS CÉLULAS Yolanda Saldaña Balmori y Héctor Javier Delgadillo Gutiérrez.....	40
--	----

RESPUESTAS AL PROBLEMA BIOQUÍMICO DETERMINACIÓN DEL CICLO UMBRAL Y LA EFICIENCIA PARA LA PCR CUANTITATIVA EN TIEMPO REAL David R. de Alba Aguayo y Angelica Rueda.....	41
---	----

CONVOCATORIA A TODOS LOS SOCIOS NUMERARIOS DE LA SOCIEDAD MEXICANA DE BIOQUÍMICA, A. C.....	43
---	----

CONVOCATORIA PARA PRESENTAR TRABAJOS EN EL XXI CONGRESO Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A. C.....	44
---	----

CONVOCATORIA AL XXI CONGRESO Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A. C.....	47
---	----

INSTRUCCIONES PARA LOS COLABORADORES DE LA REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA.....	48
---	----

EDITORIAL

LA ÉTICA Y LOS FRAUDES EN INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA

La ciencia es una actividad creativa cuyo fin es la obtención de conocimientos sobre todos los aspectos de la naturaleza y sus mecanismos, mediante la observación y la experimentación, para lograr un análisis objetivo de la realidad.

En esta definición está implícito que una conducta científica ética tiene como valor central la honestidad intelectual para planear, realizar y analizar la investigación de la manera más objetiva posible, buscando no confirmar la hipótesis planteada sino contestar a la pregunta que la hipótesis genera, sea en el sentido positivo o negativo. Un científico que no sigue esta regla fundamental, por la razón que sea, incurre en una conducta no solo equivocada sino claramente fraudulenta, ya que antepone la subjetividad a la objetividad.

Aunque los fraudes han ocurrido desde la aparición de la ciencia moderna, cuando empezó a basarse en datos experimentales más que en teorías filosóficas, el crecimiento extraordinario de la ciencia en todo el mundo se ha acompañado de un incremento de las diversas modalidades de fraude científico. Estas modalidades del fraude propiamente dicho van desde el invento de resultados cuando ni siquiera se hicieron los experimentos, hasta la modificación de los resultados obtenidos para que concuerden con la hipótesis generada por el autor. Otro tipo de fraude es el de plagio de enfoques experimentales, de resultados o de interpretaciones, presentándolos como propios y originales a pesar de haber sido copiados de una investigación ya publicada.

En otros casos, el fraude consiste en mejorar los datos u observaciones mediante un manejo inescrupuloso de los análisis estadísticos, modificaciones de las fotografías (por ejemplo de micrografías histológicas o de inmunohistoquímica, de geles de proteínas o ácidos nucleicos o de cualquier otro material gráfico), para que parezcan más claros o más definitivos. Sin embargo, para juzgar qué tan fraudulentos son estos cambios es necesario consi-

derar varios factores, como el contexto general del trabajo, qué tanta es la modificación de la figura, de acuerdo con la apariencia del gel o fotografía y, sobre todo, qué tan reproducible es esa apariencia cada vez que se repite el experimento. Por estas razones, es claro que este tipo de modificaciones no necesariamente significa cometer un fraude científico, como sí lo es la invención de datos, aunque por supuesto no es aconsejable y debe evitarse en todo lo posible.

Es importante distinguir los verdaderos fraudes de los errores involuntarios, que son inevitables en cualquier actividad humana, aun en la ciencia. Sin embargo, en estos casos el propio científico es el primero en reconocer públicamente el error, aunque esto signifique en ocasiones tener que retractar la publicación.

En los últimos años el incremento de los fraudes científicos en todo el mundo ha generado estudios que empiezan a convertirse en "investigación sobre los fraudes", tanto en instituciones de investigación como en publicaciones científicas. Por ejemplo, en Estados Unidos se ha creado la Office of Research Integrity (ORI), que analiza denuncias de fraudes y sigue el número de retractaciones de artículos en las revistas científicas, así como el motivo de las retractaciones. En una breve nota que acaba de aparecer en *Science* (339:889, 2013), la ORI informa que el porcentaje de retractaciones en relación con el número de artículos publicados aumentó de 0.01% en 2005 a 0.045% en 2012. Por otro lado, un trabajo del año pasado en el *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* (doi/10.1073/pnas.1212247109), cuantifica y analiza las retractaciones de artículos en las revistas científicas más prestigiadas, y demuestra que entre 2007 y 2011 el número de retractaciones por fraude fue más del doble que el número de retractaciones por error o por plagio.

Sin duda estos datos son alarmantes a nivel mundial, y en México también debemos preocuparnos por la conducta científica de nuestra comuni-

dad. En primer lugar, es sin duda responsabilidad de los investigadores imbuir y exigir esta ética y responsabilidad científica a los estudiantes que realizan su trabajo de tesis en los laboratorios a su cargo, como parte fundamental de su formación como científicos. Pero, ¿qué hacer cuando, como lo demuestran los datos arriba mencionados, son los investigadores quienes por diversas razones cometen el fraude? Esta es una de las razones por las que se han establecido o están por establecerse comités de ética y bioética en varias instituciones de investigación del país. Además, la Academia

Mexicana de Ciencias instaló recientemente un Comité de Integridad Científica, con la finalidad de analizar los casos en la materia, a solicitud voluntaria de cualquier persona o institución, en pro de la calidad, seriedad y honradez de la investigación científica mexicana.

Ricardo Tapia
Investigador Emérito
División de Neurociencias
Instituto de Fisiología Celular
UNAM

EL PAPEL DE LA GALECTINA-3 EN EL DESARROLLO DEL CANCER DE MAMA*

I. Belem Gallegos¹, Blanca Cuevas¹, Eduardo Pérez Campos¹,
Rocío Coutiño² y Pedro Hernández Cruz¹

¹Laboratorio de Glicobiología del cáncer. Centro de Investigaciones en Ciencias Médicas y Biológicas Facultad de Medicina UABJO Oaxaca Méx. C.P. 68020 Tel y Fax: 951 513 9784 correo E: fuegoblanco136@yahoo.com.mx

²Instituto de Salud Pública. Universidad Veracruzana. Xalapa, Ver.

RESUMEN

El cáncer de mama es la segunda causa de muerte de mujeres en el mundo, sin embargo si es diagnosticado oportunamente puede ser curado. Recientemente se ha observado que cambios en la estructura de los oligosacáridos de las proteínas de membrana, se relacionan con los procesos de transformación y proliferación celular, los cuales pueden originar el cáncer de mama, además, la presencia de receptores para estos carbohidratos, puede potencializar la capacidad metastásica del tumor. En esta revisión se presenta una visión general de los marcadores glicosilados y de sus receptores, especialmente la galectina-3, que se ha asociado al cáncer de mama.

PALABRAS CLAVE:

Canales de Carbohidratos, cáncer de mama, lectinas, galectina-3.

ABSTRACT

Breast cancer is the second cause of death of women in the world and when it is diagnosed opportunely can be cured. Recently it has been observed that changes in the oligosaccharides structures of membrane proteins are related to the transformation processes and cellular proliferation, in addition, the presence of receptor for these carbohydrates, can potentialise the metastatic capacity of the tumor. In this revision a general overview of the glycosylated markers and their receptors, especially galectin-3 that, has been associated to the breast cancer.

KEY WORDS:

Carbohydrates, breast cancer, lectins, galectin-3.

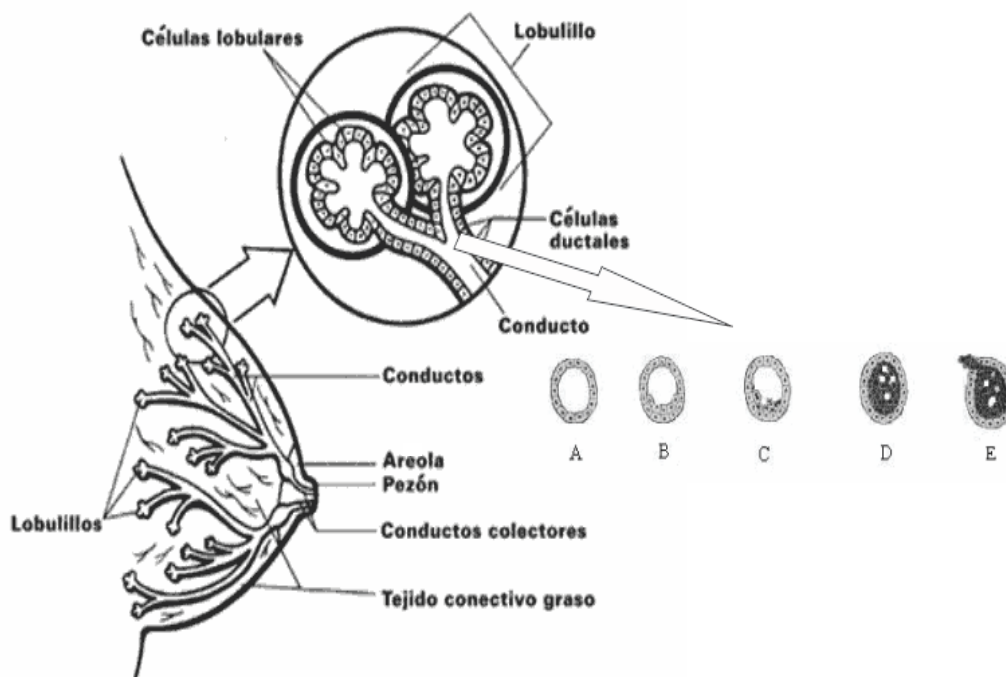
INTRODUCCIÓN

Las neoplasias son crecimientos descontrolados de células en cualquier tipo de tejido. En la actualidad el cáncer de mama es la principal causa de muerte en mujeres en países desarrollados. Las glándulas mamarias se localizan en el tejido subcutáneo, están constituidas de tejido parenquimatoso que se divide en un número de 15 a 20 lóbulos. Cada lóbulo está formado por una serie de conductos intralobulillares que desembocan en los conductos galactóforos que se vierten a nivel del pezón. Los conductos galactóforos tienen un epitelio cilíndrico o cúbico con células que tienen un núcleo redondeado y en el citoplasma contienen pocas mitocondrias y escaso retículo endoplásmico rugoso (Fig. 1).

En 1957, Bloom y Richardson (1) propusieron el sistema de clasificación histológico que ac-

tualmente se emplea en la tipificación del grado de avance del cáncer de mama. El cáncer ductal infiltrante se inicia en el sistema de pequeños conductos que llevan la leche de los lóbulos al pezón. Empieza cuando las células epiteliales anormales que recubren los ductos, se dividen, se multiplican y posteriormente, estas células invaden el ducto y en su fase más dañina, llegan a invadir el estroma que rodea a los ductos (Fig. 1). El diagnóstico del cáncer de mama se realiza mediante la correlación de la exploración clínica, la mastografía y la confirmación siempre se hace con el estudio histopatológico. Además de la caracterización histológica mediante la tinción con hematoxilina-eosina, se realizan pruebas de inmunohistoquímica, en donde se utilizan una serie de marcadores tumorales, como por ejemplo: los receptores de estrógenos y progesterona, el antígeno nuclear de prolifera-

Figura 1. Esquema que representa la anatomía de la glándula mamaria y la evolución del carcinoma in situ a infiltrante. A) se observa el ducto normal, el cual está constituido por tres partes principales: membrana basal del conducto, epitelio ductal y la capa superficial constituida por las células ductales. B) Crecimiento de las células epiteliales intraductales. C) Cambio en la morfología de las células epiteliales D) invasión de las luz del ducto. E) Invasión del estroma.



ración celular, la catepsina D, el c-erb-2, Bcl-2 y P53, entre otros. Sin embargo, el uso de estos marcadores no cubre la posibilidad de que otro tipo de moléculas estén participando activamente en los procesos de proliferación, transformación y metástasis.

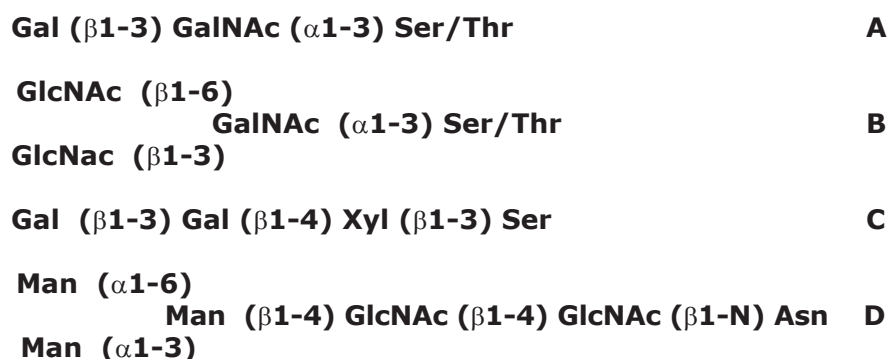
GLICOSILACIÓN Y CÁNCER DE MAMA

Los oligosacáridos son carbohidratos que están formados por cadenas cortas de monosacáridos unidos entre sí por medio de enlaces glicosídicos, los cuales se encuentran formando parte de glicoproteínas y glicolípidos, presentes en las membranas celulares, donde intervienen en funciones celulares al participar en procesos como: tráfico de proteínas, interacciones de ligandos con sus receptores, relación huésped-parásito. Las cadenas oligosacarídicas están constituidas por tres regiones principales: a) el núcleo o "core", es la región en donde se encuentran los carbohidratos más cercanos al sitio de unión con la cadena polipeptídica, b) el esqueleto, que es la región en donde se determina la longitud del oligosacárido y c) la región periférica, donde se encuentran antígenos de importancia biológica, como por ejemplo los antígenos de los grupos sanguíneos.

Las glicoproteínas se clasifican, de acuerdo a la unión entre el azúcar y el aminoácido, en N- y O-glicanos (Fig. 2). Los N-glicanos, generalmente presentan una N-acetil-D-glucosamina (GlcNAc) unida al nitrógeno del aminoácido asparagina

(Asn). Los N-glicanos presentes en las proteínas se clasifican en tres grandes grupos: a) con un alto contenido de manosa (Man) en su estructura, b) las estructuras del tipo lactosamínico, las cuales tienen como característica principal, la presencia de $\text{Gal}\beta(1-4)\text{GlcNAc}$ y c) las estructuras híbridas, las cuales contienen una mezcla de las estructuras lactosamínicas y de manosas. Hasta el momento no se han encontrados N-glicanos asociados al desarrollo de cáncer de mama. Los O-glicanos poseen una N-acetil-D-galactosamina (GalNAc) unida al hidroxilo del aminoácido serina (Ser) o del aminoácido treonina (Thr) de la cadena polipeptídica. Los O-glicanos muestran una mayor variedad de estructuras, que los N-glicanos, presentan ocho núcleos ("core") de las cuales se derivan el resto de estructuras oligosacarídicas presentes en glicoproteínas (Fig. 3). Por su gran complejidad y diversidad, los O-glicanos se encuentran participando en diversas funciones: pueden participar en la conformación de la estructura secundaria, terciaria e inclusive de la cuaternaria de algunas proteínas como en el caso de las mucinas, también participan evitando la agregación de las proteínas (2). Como consecuencia de la transformación maligna (cáncer) ocurren cambios muy importantes en la glicosilación, sobre todo en la etapa de elongación de los O-glicanos. Esto determina que algunos tipos de núcleos ("cores"), que en las células normales se encuentran enmascarados por la adición de otros azúcares, queden expuestos en la superficie celular, resultando en la forma-

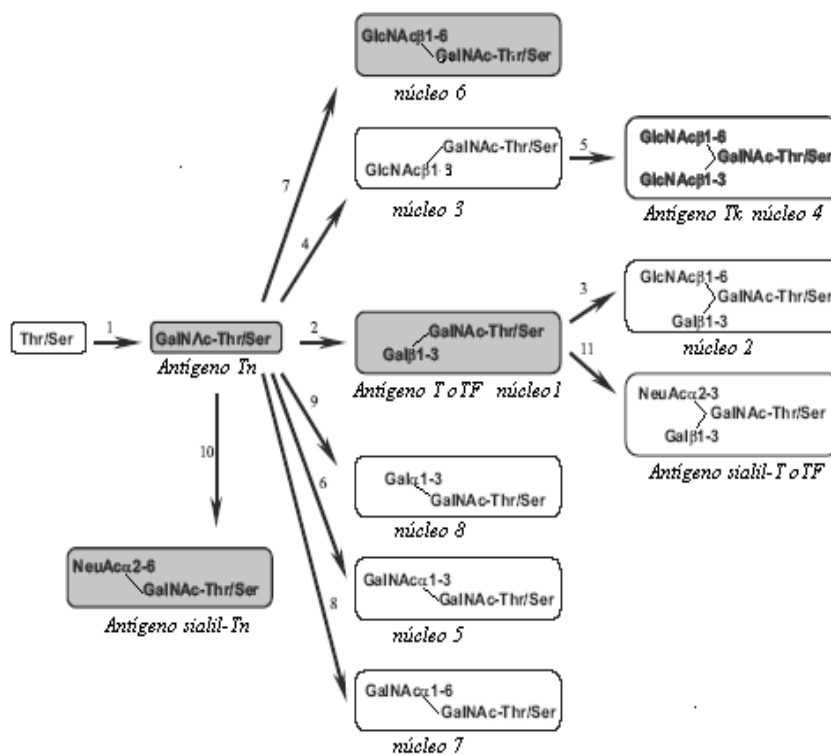
Figura 2. Núcleos sacarídicos internos más comunes identificados en glicoproteínas. A, B y C corresponden a O-glicanos, siendo las estructuras B y C las que se encuentran en O-glicoproteínas tipo mucina; el núcleo C constituye la secuencia terminal de casi todos los glicosaminoglicanos de los proteoglicanos. La estructura D es común en todas las N-glicoproteínas. Gal= Galactosa, GalNAc= N-acetil-galactosamina, GlcNAc= N-acetil-glucosamina, Man= Manosa y Xil= Xilosa. Tomado de referencia 3.



ción de nuevos antígenos asociados al cáncer. Los antígenos mejor caracterizados en el cáncer de mama son los antígenos Tn, [GalNAc(α 1-O-)Ser/Thr], sialil-Tn [Neu(α 2-6)GalNAc(α 1-O-)Ser/Thr], T o TF [Gal(α 1-3)GalNAc(α 1-O-)Ser/Thr] y sialil-T [Neu(α 2-6)Neu(α 2-3)Gal(β 1-3)GalNAc(α 1-O-)Ser/Thr] (4) (Fig. 3). La expresión de estos antígenos es el resultado de una glicosilación incompleta, lo que origina que las cadenas oligosacarídicas de las proteínas se acorten, exponiendo carbohidratos que normalmente se encuentran enmascarados por la adición de otros azúcares, queden expuestos

en la superficie celular, originando nuevos antígenos. La expresión de estos antígenos suele ser discontinua a lo largo de la cadena polipeptídica. El antígeno Tn es el precursor del antígeno T o TF: por la acción de una β galactosil transferasa, se ha observado que la actividad de la enzima β galactosil transferasa puede estar bloqueada, por un amento en la actividad de las sialil transferasas, lo que provoca una temprana terminación del antígeno Tn, (5), que normalmente se encuentra sustituido con galactosa (Gal) o N-Acetilglucosamina (GlcNAc). La expresión del antígeno sialil-Tn se ha asociado con

Figura 3. Estructura y biosíntesis del núcleo (core) de los O-glicanos. En color oscuro se indican los antígenos asociados a tumores en el cáncer de mama identificados hasta el momento. La primera etapa de la O-glicosilación ocurre por la adición de GalNAc a un residuo de Thr o de Ser de la cadena polipeptídica, catalizada por una GalNAc-Transferasa (paso 1). Ocho tipos diferentes de núcleos de O-glicanos pueden luego formarse por la actividad de distintas glicosiltransferasas: núcleo 1 β 3Gal-Transferasa (paso 2), núcleo 2 β 6GlcNAc-Transferasa (paso 3), núcleo 3 β 3GlcNAc-Transferasa (paso 4), núcleo 4 β 6GlcNAc-Transferasa (paso 5), núcleo 5 α 3GalNAc-Transferasa (paso 6), núcleo 6 β 6GlcNAc-Transferasa (paso 7), núcleo 7 α 6GalNAc-Transferasa (paso 8) y núcleo 8 α 3Gal-Transferasa (paso 9). Las estructuras sialil-Tn y sialil-TF se forman mediante sialilación de los antígenos Tn y TF, en reacciones catalizadas por la α 6-sialil-T (paso 10) o la α 3sialil-T (paso 11), respectivamente. Con fondo gris se observan los antígenos asociados a cáncer de mama



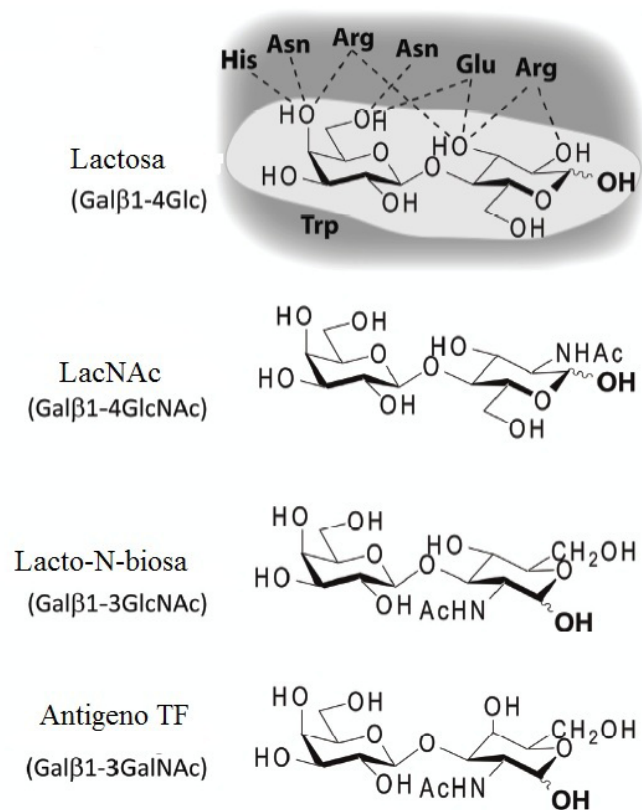


Figura 4. Especificidad de las galectinas hacia β -galactosidos, en la interacción con la lactosa se observan aminoácidos que participan en el reconocimiento al carbohidrato, las líneas punteadas representan los puentes de hidrogeno que se establecen en el dominio de reconocimiento a carbohidratos (DRC), en el caso de la lactosamina, lactobiosa y el antígeno TF, la conformación que adquieren en el DRC, es muy similar a la de la lactosa, cambios en la conformación de los oligosacáridos y en los aminoácidos del DRC, determinan la especificidad de las galectinas hacia los β -galactosidos.

carcinomas, como por ejemplo: adenocarcinoma gástrico difuso, cáncer de pulmón, cáncer cervicouterino y cáncer de hígado (6). Al antígeno Tn, también se le puede adicionar N-Acetilglucosamina (GlcNAc) formando los "cores" 3, 4 y 6 (Fig. 4) y N-Acetilgalactosamina (GalNAc) formando los "cores" 5, 7 y 8 (Fig. 3). La expresión de estos "cores", no se ha relacionado con cáncer de mama.

La expresión de antígenos del tipo sialil-Lewis, se ha asociado con la capacidad de las células transformadas para invadir otros tejidos, debido a que son ligandos para moléculas de adhesión, como por ejemplo: la E-selectina y así, poder evadir al sistema inmune. Estos O-glicanos algunas veces están unidos a glicoproteínas que pueden ser expresadas en las membranas celulares, lo que permitiría la búsqueda de nuevos marcadores

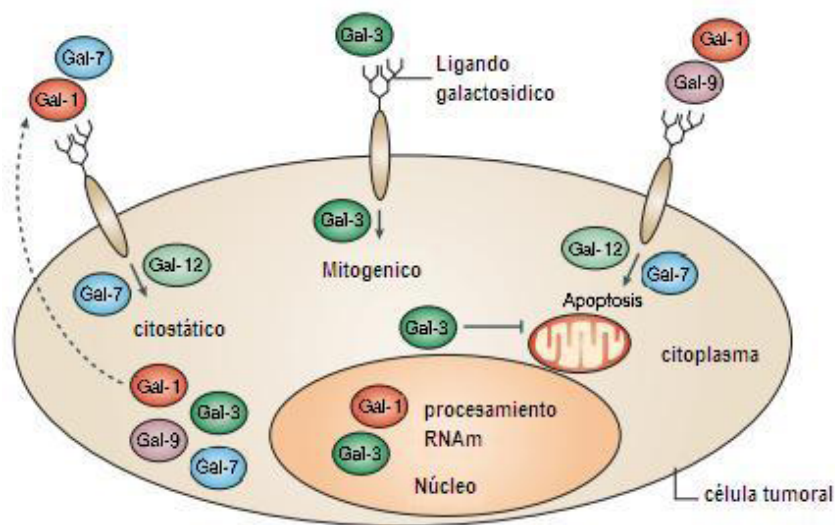
glicosilados para la detección del cáncer de mama desde sus fases iniciales en donde los métodos histológicos no logran diferenciar la morfología celular.

LECTINAS

El término lectina se aplica a proteínas o glicoproteínas de origen no inmune que reconocen de manera específica carbohidratos de la superficie celular o en suspensión, aglutinan células y precipitan glicoconjugados; las lectinas poseen por lo menos dos sitios de reconocimiento a carbohidrato, de ahí su capacidad para aglutinar células, aunque en la actualidad el término de lectina se ha aplicado a proteínas con un solo sitio de reconocimiento a carbohidrato como es el caso de las selectinas. Las lectinas no poseen actividad enzimática y no son producto de una respuesta inmune. Estas proteínas se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza y han sido identificadas en diversos organismos como virus, bacterias, hongos, plantas, así como en vertebrados superiores. Aunque varias de estas proteínas poseen especificidad por estructuras sacarídicas semejantes, presentan actividades biológicas diversas, como son: la aglutinación de eritrocitos de diferentes especies, la estimulación mitógena de linfocitos e inhibición de la fagocitosis. Debido a la capacidad de estas proteínas para interactuar con células de la respuesta inmune, algunas lectinas poseen efectos inmunosupresores, otras también son tóxicas, inhiben el crecimiento de células tumorales y participan en la adhesión celular. Todas las actividades biológicas reportadas para las lectinas tienen en común el reconocimiento de un receptor de carácter oligosacárido (7). Las lectinas se consideran valiosas herramientas en el campo de la genética, la biomedicina y la inmunología. Su utilidad se basa en la propiedad para enlazarse con varios tipos de glicoconjugados presentes en las superficies celulares y fluidos corporales, así como la actividad mitogénica que poseen que permiten ser utilizadas en estudios de proliferación de células como los linfocitos.

Actualmente se han empleado lectinas para investigar el desarrollo de cáncer, como por ejemplo por medio de histoquímica, se ha demostrado que la lectina de *Vicia villosa* (VVA), (8) y la lectina de *Helix pomatia* (HPA) (9), ambas con especificidad hacia GalNAc, han sido utilizadas como factor pronóstico en el cáncer de mama. La lectina de *Arachis hypogaeae* (PNA), específica para el antígeno TF, ha demostrado servir como marcador pronóstico en el cáncer de mama (10), la lectina de *Amaranthus leucocarpus* (ALL), específica para los antígenos Tn y TF, se ha empleado en el estudio del cáncer

Figura 5. Funciones biológicas de las galectinas. Las galectinas (mostradas aquí como Gal-1 a Gal-12) se pueden encontrar intracelularmente o secretadas en el espacio extracelular. Extracelularmente, pueden entrecruzar a los glicoconjugados de la superficie celular que contengan oligosacáridos ricos en galactosa y pueden enviar señales hacia el interior de la célula. A través de este mecanismo, modulan mitosis, apoptosis y progresión del ciclo celular. Intracelularmente, las galectinas, se pueden encontrar en el núcleo y el citoplasma y están comprometidas en procesos fundamentales como el empalme del pre-mRNA regulan el crecimiento de la célula, la progresión del ciclo celular, al interactuar con intermediarios de vías de señalización que participan en la regulación de estos procesos.



cervicouterino y en fibroadenoma (11, 12). En los tejidos animales, se han aislado lectinas que son receptores potenciales de las estructuras oligosacáridicas, expresadas en las células y que pueden tener participación en diversos fenómenos biológicos, un ejemplo de estas lectinas, son las galectinas.

GALECTINAS

Es una familia de proteínas extremadamente conservadas a través de la evolución; que participan en diversos eventos biológicos. Son capaces de descifrar glicocódigos específicos en macromoléculas complejas situadas en las membranas celulares o en la matriz extracelular (13, 14), a través de un dominio de 130 aminoácidos filogenéticamente conservado desde invertebrados inferiores a mamíferos, denominado dominio de reconocimiento de carbohidratos (DRC), con el cual reconocen β -galactósidos (Fig. 4) (13, 14). Su amplia distribución en la naturaleza y sus secuencias aminoácidas conservadas a través de la evolución, sugieren que estas proteínas podrían cumplir papeles fisiológicos esenciales (Fig. 5), estas proteínas han sido involucradas en fenómenos de inmunomodulación (13, 14), adhesión celular (13, 14), regulación del crecimiento (13, 14), metástasis (15) y proliferación (16, 17). Se ha observado que estas proteínas de unión a carbohidratos ejercen sus efectos biológicos a través del reconocimiento de azúcares específicos en ligandos intracelulares, receptores de membrana y glicoproteínas extracelulares. La ejecución de sus funciones varía en forma considerable de acuerdo a su localización subcelular.

Las galectinas pueden tener efectos contrarios, así por ejemplo mientras que la galectina-1 inhibe la desgranulación de mastocitos y la migración de los leucocitos, la galectina-3 promueve la migración de los mastocitos y migración leucocitaria. La familia de las galectinas, pueden ser clasificadas en tres grupos: aquellas que tienen un dominio de reconocimiento de carbohidratos (DRC) y son las galectinas -1, -2, -5, -7, -10, -11, -13, -14 y -15, las que tienen dos DRC, uno encima de otro, y se unen por un fragmento peptídico de 70 aminoácidos y corresponden a las galectinas -4, -6, -8, -9 y -12 y las de tipo quimérico que tienen un dominio proteico amino terminal con secuencias repetitivas de glicina y prolina como la galectina-3 (Fig. 6) (18).

GALECTINA-3

Hallada en el núcleo de los fibroblastos 3T3 de ratón en 1986, utilizando inmunofluorescencia, descrita en un principio como PFC-35 (19), posteriormente llamada también CBP-35 proteína ligante de carbohidratos 35, Mac-2, IgEBP proteína ligante de Ig E, CBP-30, RL-29, L-29, L-31, L-31, L-34 Y LBL. La galectina-3 es una proteína de 26 kDa, cuyo gen que la sintetiza se encuentra en el cromosoma 14q21.3 (20). Funciona como un receptor para ligandos que contienen poli-N-acetil-galactosamina. Normalmente se encuentra en el epitelio de diferentes órganos y en células de respuesta inflamatoria como los macrófagos, células dendríticas y de Kupffer. La galectina-3 tiene funciones tanto intracelulares como extracelulares.

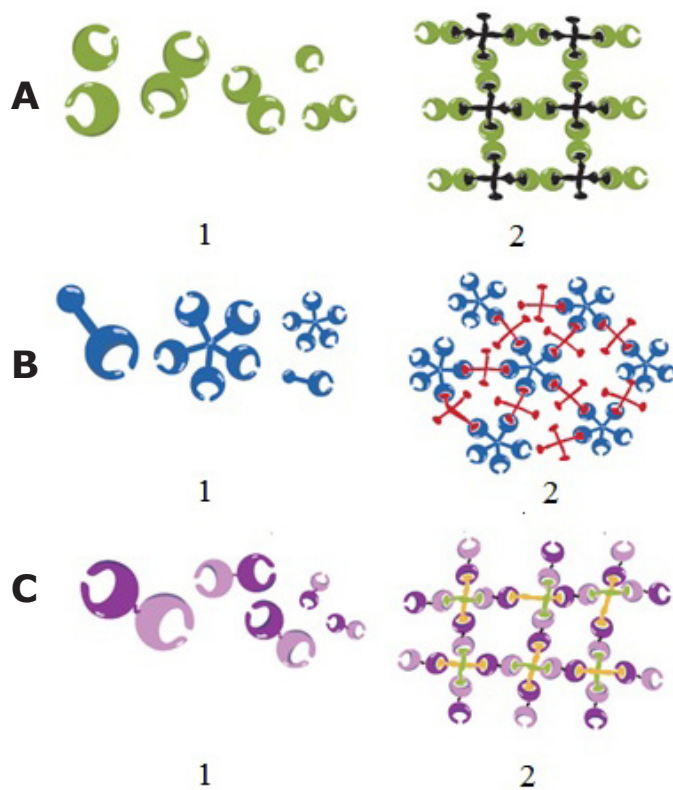


Figura 6. Las galectinas se clasifican en tres grupos según su estructura: (A) prototipo, las cuales solo contienen un sitio de reconocimiento a carbohidratos (A1) y que incluye a las galectinas -1, -2, -5, -7, -10, -11, -13, -14 y -15, estas galectinas se pueden asociar formando dímeros, lo que facilita la formación de redes estables con los glicoconjugados a los que se unen (A2). Quimera, a este tipo de galectina corresponde la galectina-3, la cual tiene un sitio de reconocimiento a carbohidrato, además una región de segmentos repetidos, los cuales contienen los aminoácidos prolina y glicina (B1), La galectina-3, se encuentra formando pentámeros, que forman redes estables con sus ligando (B2) y las galectinas que presentan repeticiones en tándem, las cuales contienen dos sitios de reconocimiento a carbohidratos, unidos por un segmento peptídico de 70 aminoácidos (C1), al igual que el resto de las galectinas, también forman redes estables con sus ligandos (C2) El dominio de reconocimiento a carbohidrato (DRC) de la mayoría de galectinas es de 130 aminoácidos.

En relación con sus funciones intracelulares se le ha identificado como un componente de ribonucleoproteínas heterogéneas y como un factor en el empalme del RNA mensajero. Así mismo, participa en el control del ciclo celular y reduce la apoptosis de las células T probablemente a través de la interacción con miembros de la familia del Bcl-2. La galectina-3 se secreta por monocitos, macrófagos y células epiteliales. Como molécula extracelular activa a monocitos, macrófagos, mastocitos, neu-

trófilos y linfocitos e interviene en las interacciones entre célula y célula, así como entre célula y matriz extracelular. Promueve el crecimiento de las neuritas, induce la diferenciación y angiogénesis de las células endoteliales y funciona como una sustancia quimio-atrayente de los monocitos y células endoteliales. La galectina-3, se sintetiza en el citoplasma y habitualmente se localiza en el núcleo, en el líquido extracelular y en la superficie celular, donde la enriquecen y se acoplan a glicoconjugados de la membrana plasmática y de la matriz extracelular aunque también ejercen interacciones homo- y heterotípicas con otras lectinas multivalentes (21). La localización intracelular de la galectina-3 juega un papel importante en la protección contra apoptosis, la regulación de la expresión génica ciclina D1 (22) y la regulación del corte y empalme o "splicing" (23), siendo este un proceso de eliminación de los intrones del transcrito primario y la posterior unión de los exones en el pre-RNA nuclear. Por otra parte, su localización en la superficie celular y en el medio extracelular indica su participación en la interacción célula-célula, adhesión celular, proliferación, angiogénesis, crecimiento celular (Fig. 5).

PARTICIPACION DE LA GALECTINA TRES EN EL DESARROLLO DEL CÁNCER DE MAMA

El papel de la galectina-3 en el desarrollo de cáncer se debe, a su participación en varios mecanismos, como por ejemplo: adhesión célula-célula, interacción matriz extracelular-célula, apoptosis y angiogénesis (24). Existe evidencia que la expresión de la galectina-3 es necesaria para el inicio de la transformación celular, en el desarrollo del tumor (Fig. 7a) (25). El mecanismo por el cual la galectina-3 participa en la transformación celular, no ha sido esclarecido con certeza, pero puede estar relacionado con su habilidad para interactuar con K-RAS y facilitar la transducción de la señal hacia RAF y fosfatidilinositol 3 cinasa (Fig. 7a). La galectina-3 también puede estimular la producción de ciclina D y c-MYC (Fig. 7b). Estudios en líneas celulares de carcinoma mamario han demostrado que después de inhibir la expresión de la galectina-3, pierden su fenotipo característico en el medio de cultivo celular (26)

La función mas estudiada de la galectina-3, se relaciona con la inhibición de la apoptosis (27). El mecanismo por el cual la galectina-3 lleva a cabo esta función, no ha sido esclarecido, pero se cree que después de un estímulo apoptótico, la galectina-3 puede traslocar del citosol o núcleo hacia la mitocondria, donde bloquea cambios en el potencial de membrana de la mitocondria, previniendo

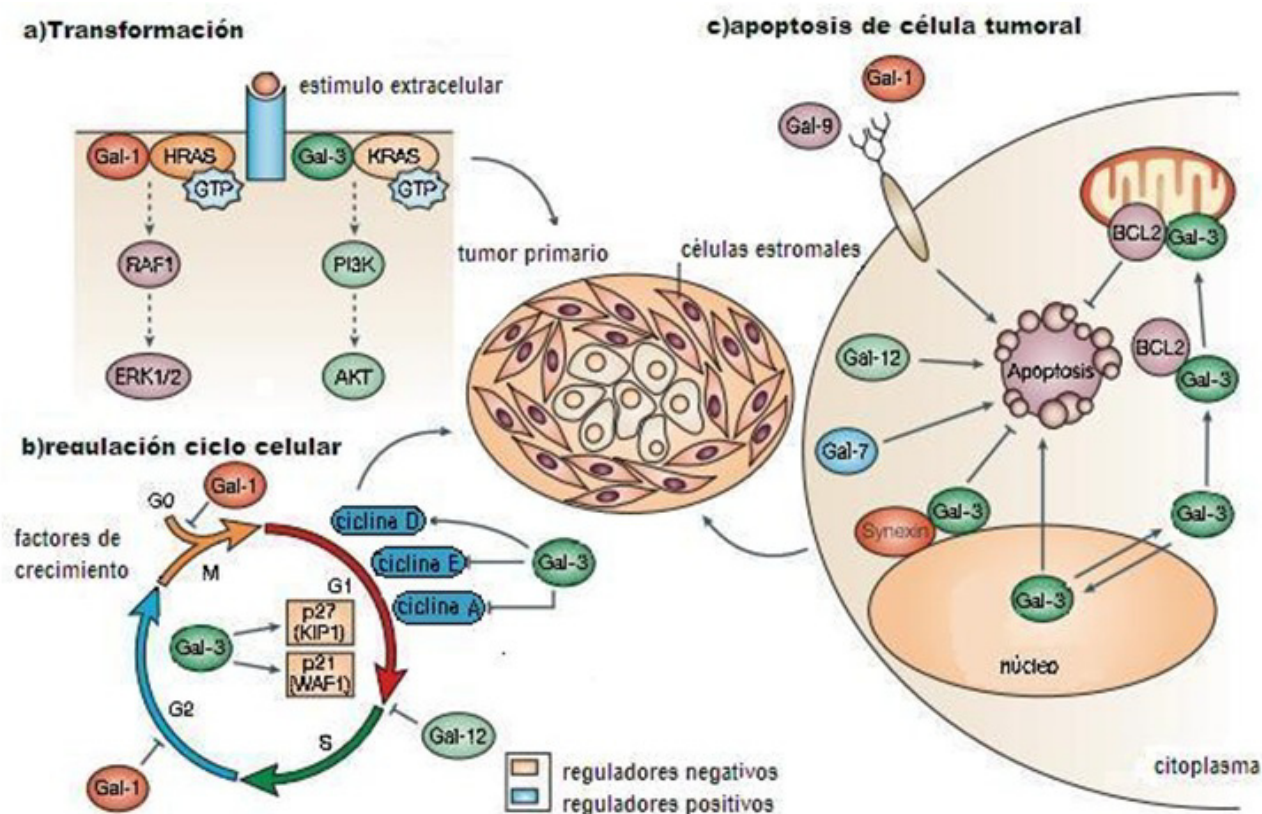


Figura 7. El papel de las galectinas en la tumorigénesis. a) las galectinas -1 y -3, median la transformación neoplásica, debido a su interacciones con proteínas oncogénicas HRAS y KRAS, facilitando la vía de transducción de señales de ras, por la participación de RAF1, cinasa de señal extracelular (EPK) $\frac{1}{2}$, la fosfatidilinositol 3 cinasa y la serina/treonina cinasa (AKT). b) las galectinas también pueden tener el control de la progresión del tumor, por modulación del ciclo celular, en particular la galectina-3; regula niveles de las ciclinas A, D y E, además de regular los niveles de moléculas inhibidoras del ciclo celular p21 (WAF 1) y p27 (KIP1), resultando en el arresto del ciclo. Las galectinas -1 y -12 también provocan arresto del ciclo celular, sin embargo el mecanismo por el cual producen este efecto, no ha sido esclarecido. c) las galectinas regulan la apoptosis, en el caso de las galectinas -1 y -9, pueden inducir la apoptosis de la célula tumoral cuando se adicionan a la célula; mientras que las galectinas -7 y -12, promueven la apoptosis por mecanismos intracelulares. La galectina-3 tiene efectos anti-apoptóticos y trasloca de la membrana perinuclear a la mitocondria en las células que han recibido el estímulo apoptótico, la translocación es dependiente de sinexina, un fosfolípido y de una proteína que une calcio, que ha sido identificada como proteína que interactúa con galectina-3. La galectina-3 puede interactuar o facilitar la localización de BCL2.

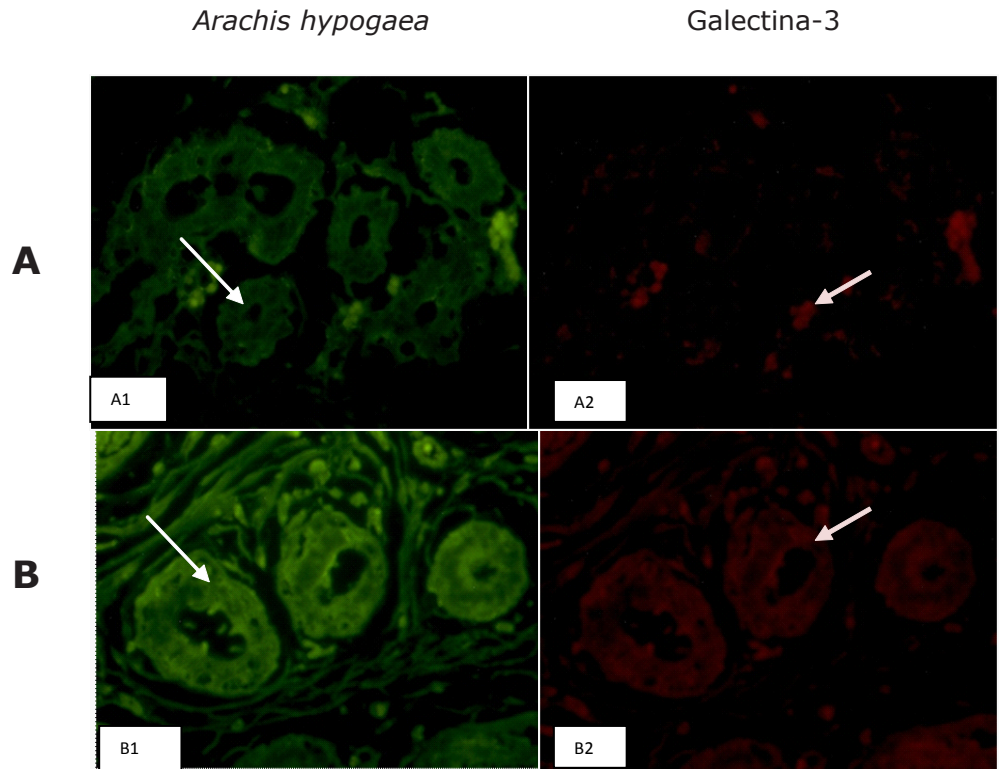
la apoptosis, sin embargo, la galectina-3 presente en el núcleo debe ser fosforilada, para poder emigrar del núcleo, así mismo la galectina-3, regula la vía de la proteína cinasa activada por nitrógeno (MAKP), implicada en la regulación de la apoptosis (fig. 7c).

El papel de la galectina-3 en el desarrollo del cáncer de mama no es muy claro, sin embargo, en estudios *in vitro* (28) se determinó que el bloqueo de la expresión de galectina-3 en el núcleo y el citoplasma de la línea celular cancerígena de alta malignidad MDA-MB-435 inyectada a ratones desnudos suprimía el crecimiento de tumores, sugiriendo que la expresión de galectina-3 es necesaria para la tumorigenidad en el cáncer de

mama MDA-MB-435. Más tarde, (29) se proporcionó evidencia en la cual la galectina-3 promovía el potencial metastásico en las células de cáncer de mama BT549 quedando sobre entendido que la sobre expresión otorga esta propiedad. Mayoral et al., analizaron diferentes tejidos glandulares de autopsias (30) sometidas a inmunohistoquímica con anticuerpos anti-galectina-3, encontrando que no existe reacción hacia galectina-3 en el tejido normal de mama en contraste con la fuerte inmunorreactividad hacia galectina-3 en el cáncer de mama metastásico al cerebro. En estos tejidos se observó la inmunorreactividad ante la galectina-3 tanto intracelular como extracelular se reporta una baja reactividad hacia galectina-3 en el cáncer

Figura 8.

Inmunofluorescencia con Arachis hypogaea (PNA) y con anti-galectina-3. A corresponde a muestras con cáncer ductal infiltrante grado II, en A1, se observa el reconocimiento de la lectina de Arachis hypogaea principalmente en ductos mientras que en A2, se observa un marcaje débil con el anticuerpo anti-galectina-3 en el los ductos. B corresponde a muestras con cáncer ductal infiltrante grado III, en B1, se observa el reconocimiento de la lectina de Arachis hypogaea principalmente en ductos mientras que en B2, se observa un marcaje con el anticuerpo anti-galectina-3 en el los ductos. 40 X.



metastásico hacia el cerebro de origen mamario comparado con la reacción en el tejido de cáncer de mama. En nuestro laboratorio estudios preliminares demuestran que la expresión de antígeno T, no varía según el estadio del cáncer de mama, mientras que la galectina-3 varía según el grado de diferenciación del cáncer ductal infiltrante (Fig. 8). Estudios recientes han correlacionado la presencia del antígeno TF y de la galectina-3 en la adhesión de las células transformadas al endotelio, promoviendo su migración los ganglios localizados en las axilas (31).

EL POTENCIAL USO DE LA GALECTINA TRES COMO MARCADOR PARA EL DIAGNOSTICO DE CANCER DE MAMA

La galectina-3 es una proteína, que realiza diversas funciones, según el lugar donde se encuentre localizada, en el citosol, se puede transportar al núcleo, puede encontrarse en la superficie de la célula o en algunos casos puede ser secretada. Poco se sabe sobre el papel de la galectina-3 cuando se

encuentra en circulación, se ha observado que puede regular la actividad anti-tumoral de los linfocitos T; ya que su unión a la superficie celular provoca la expresión de citosinas inmunosupresoras como el IF γ ; y por lo tanto inducir la apoptosis, este fenómeno, se ha observado que no ocurre en las células T vírgenes, lo que sugiere que la activación del receptor de células T, puede inducir cambios en la glicosilación, lo que hace que estas células T, sean blancos potenciales para la galectina-3 soluble (32). También se ha observado que los niveles de la galectina-3 en circulación aumenta en ciertos tipos de cánceres, cuando se hace la comparación con pacientes clínicamente sanos, como es el caso del cáncer mama (32). La técnica empleada para la detección de la galectina-3 en circulación es la de ensayo por inmunoabsorción ligado a enzima (ELISA, por sus siglas en inglés), esto hace que la determinación de los niveles séricos de galectina-3, se podría convertir en una prueba de rutina, junto con el ultrasonido y mastografía, para la detección oportuna del cáncer de mama. 

REFERENCIAS

1. Bloom HJG, Richardson WW (1957) Histologic grading and prognosis in breast cancer: A study of 1.709 cases of which 359 have been followed for 15 years. *Br J Cancer* 2:353-377.
2. Carraway KL, Hull SR (1991) Cell surface mucin-type glycoprotein and mucin like domains. *Glycobiology* 1:131-138.
3. Montreuil J (1995) *Methods on Glycoconjugates. A Laboratory Manual*, Editor: André Verbert. Harwood Academic Publishers. Austria. pp 1-23.
4. Brockhausen I (2006) Mucin-type O-glycans in human colon and breast cancer: glycodynamics and functions. *EMBO Rep* 7:599-604.
5. Zhuang D, Yousefi S, Dennis JW (1991) Tn antigen and UDP-Gal:GalNAc alpha-R beta1-3Galactosyltransferase expression in human breast carcinoma. *Cancer Biochem Biophys* 12:185-98.
6. Cao Y, Karsten U, Otto G, Bannasch P (1999) Expression of MUC1, Thomsen-Friedenreich antigen, Tn, sialosyl-Tn, and alpha2,6-linked sialic acid in hepatocellular carcinomas and preneoplastic hepatocellular lesions. *Virchows Arch* 434:503-9.
7. Van den Steen P, Rudd MP, Dwek AR, Opdenaker G (1998) Concepts and Principles of O-glycosylation. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 33:151-208.
8. Kawaguchi T, Takazawa H, Imai S, Morimoto J, Watanabe T, Kanno M, Igarashi S (2006) Expression of *Vicia villosa* agglutinin (VVA)-binding glycoprotein in primary breast cancer cells in relation to lymphatic metastasis: is atypical MUC1 bearing Tn antigen a receptor of VVA? *Breast Cancer Res Treat* 98:31-43.
9. Brooks S A, Hall D M, Buley I (2001) GalNAc glycoprotein expression by breast cell lines, primary breast cancer and normal breast epithelial membrane. *Br J Cancer* 28:1014-22.
10. Stanley M W, Kiang D T, Sibley RK (1986). Peanut lectin binding in breast carcinoma. Lack of correlation with estrogen receptor content. *Cancer Nov* 1;58(9):2046-51.
11. Santaella A, Gallegos B, Perez E, Zenteno E, Hernández P (2007) Use of *Amaranthus leucocarpus* Lectin to Differentiate Cervical Dysplasia (CIN) *Prep Biochem Biotechnol* 37:219-228.
12. Gallegos B, Pérez-Campos E, Martinez R, Leyva P, Martinez M, Hernández R, Pina S, Hernández C, Zenteno E, Hernández P (2010) O-glycosilation expression in fibroadenoma. *Prep Biochem Biotechnol* 40:1-12.
13. Rabinovich GA (1999) Galectins: an evolutionarily conserved family of animal lectins with multifunctional properties; a trip from the gene to clinical therapy. *Cell Death Differ* 6:711-22.
14. Kasai K, Hirabayashi J (1996) Galectins: a family of animal lectins that decipher glycodes. *J Biochem* 119:1-8.
15. Yoshimasa I (2000) Oxidized galectin-1 promotes axonal regeneration in peripheral nerves but does not possess lectin properties. *Eur J Biochem* 267:2955-64.
16. Dagher SF, Wang JL, Patterson RJ (1995) Identification of galectin-3 as a factor in pre-mRNA splicing. *Proc Natl Acad Sci USA* 92:1213-7.
17. Gillenwater A, Xu XC, Estrov Y, Sacks PG, Lotan D, Lotan R (1998) Modulation of galectin-1 content in human head and neck squamous carcinoma cells by sodium butyrate. *Int J Cancer* 75:217-24.
18. Leffler H (1997) Introduction to galectins. *Trends Glycosci. Glycotechnol* 9:9-19.
19. Moutsatsos IK, Davis JM, Wang J (1986) L. Endogenous lectins from cultured cells: subcellular localization of carbohydrate-binding protein 35 in 3T3 fibroblasts. *Journal of Cell Biology* 102:477-483.
20. Krzeslak A, Lipinska A (2004) Galectin-3 as a multifunctional protein. *Cell Mol Biol Lett* 9:305-328.
21. Brewer CF (1997) Cross-linking activities of galectins and other multivalent lectins. *Trends Glycotech* 9:155-165.
22. Lin HM, Pestell RG, Raz A, Kim HRC (2002) Galectin-3 enhances cyclin D(1) promoter activity through SP1 and Camp-responsive element in human breast epithelial cells. *Oncogen* 21:8001-8010
23. Yang R, Hsu D, Liu T (1996) Expression of galectin-3 modulates T-cell growth and apoptosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:6737-6742.
24. Roland J Pieters (2006) Inhibition and Detection of Galectins. *ChemBioChem* 7:721-728.
25. Lu-Gang Yu, Nigel Andrews, Qicheng Zhao, Daniel McKean, Jennifer F. Williams, Lucy J. Connor, Oleg V. Gerasimenko, John Hilken Jun Hirabayashi, Kenichi Kasai, Jonathan

- M. Rhodes (2007) Galectin-3 Interaction with Thomsen-Friedenreich Disaccharide on Cancer-associated MUC1 Causes Increased Cancer Cell Endothelial Adhesion *Journal of Biological Chemistry* 282:773-781.
26. Honjo Y, Nangia-Makker P, Inohara H, Raz A (2001) Downregulation of galectin-3 suppresses tumorigenicity of human breast carcinoma cells. *Clin Cancer Res* 7:661-668.
27. Liu FT, Rabinovich GA (2005) Galectins as modulators of tumour progression. *Nat Rev Cancer* 5:29-41.
28. Honjo Y, Nangia-Makker P, Inohara H, Raz A (2001) Down-regulation of galectin-3 suppresses tumorigenicity of human breast carcinoma cells. *Clin Cancer Res* 7:661-668.
29. Song YK, Billiar TR, Lee YJ (2002) Role of galectin-3 in breast cancer metastasis. Involvement of nitric oxide. *Am J Pathol* 160:1069-1075.
30. Mayoral MA, Mayoral C, Meneses A, Villalvazo L, Guzman A, Espinosa B, Ochoa JL, Zenteno E, Guevara J (2007) Identification of Mucin-type O-glycans and Galectin-3 in breast cancer and brain metastasis. *Cancer Invest* 26:615-23.
31. K. Sujathan¹, Thara Somanathan¹, Nimi GK, Preethi Sara George, Elizabeth K. Abraham y P. Remani. (2011) Down regulation of galectin-3 in primary tumor tissues of breast predict axillary lymph node metastasis. *Journal of Cancer Research and Experimental Oncology* Vol. 3:37-49.
32. Iurisci I, Tinari N, Natoli C, Angelucci D, Cianchetti E, Iacobelli S (2000) Concentrations of galectin-3 in the sera of normal controls and cancer patients. *Clin Cancer Res* 6:1389-1393.

MÉXICO COMO ENTE INNOVADOR*

Javier Cuervo Escalona¹ y José Victor Calderón Salinas²

¹Director General y Asesor Independiente. Advertising & Promotion. Correo E: jcuervo@app.com.mx

²Departamento de Bioquímica. Centro de Investigación y Estudios Avanzados. IPN. Correo E: jcalder@cinvestav.mx

RESUMEN

México requiere entrar de lleno a una etapa de aplicación innovadora del conocimiento, donde la información obtenida por el trabajo científico y el desarrollo tecnológico se traduzca en aplicación tecnológica, patentes y obtención de satisfactores directamente involucrados con la inversión que se hace a ciencia y tecnología. Hasta ahora los datos muestran que hay una disociación entre ambos parámetros y lo que hace parecer que la inversión en ciencia y tecnología alimentaría a la innovación de otros países, lo que a su vez nos deja siendo un país eminentemente maquilador, hasta en estos rubros. Los datos y la información disponible se presentan y analizan a lo largo del trabajo.

ABSTRACT

Mexico needs to fully enter a stage of innovative application of knowledge, where information obtained by the scientific and technological development will lead to technological applications and obtaining patents and applications directly involved with the investment made in science and technology. So far the data shows that there is a dissociation between both parameters, and making it seem that investment in science and technology innovation feeds the development of other countries, continuing to be an eminently manufacturer in these areas. The data and information available are presented and discussed throughout the paper.

La innovación, (Innovar; del lat. Innovāre- Mudar o alterar algo, introduciendo novedades) según todos los indicadores internacionales, es una fuente natural y obligada entre otros campos del crecimiento económico, las sociedades que innovan tienen la posibilidad de obtener rentas superiores y generar valor agregado al comercializar los productos y los servicios, resultado de la innovación, logrando un desarrollo sano y sustentable de su economía. En tal sentido, los niveles de innovación se encuentran por demás correlacionados con el nivel de ingreso de los países como se muestra en la figura 1 modificada del reporte del índice global de innovación 2012 publicada por el INSEAD (The Business School of the World) y la WIPO (World Intellectual Property Organization), en la que se observa que los países con mayor ingreso tienen un mayor índice de innovación, tanto de inversión ("input") como de aprovechamiento ("output").

Según los datos del sistema de cuentas nacionales de México del INEGI, la industria de manufactura representó el 18.2% del PIB en los dos primeros trimestres del 2012, siendo éste el rubro más importante; mientras que de acuerdo con el Índice Global de Innovación 2012, nuestro país se encuentra en el número 79 de la lista de 141 países, encontrándose por debajo de los países comparables en desarrollo económico (Tabla I). En este sentido es evidente que México tiene una economía principalmente manufacturera y con un bajo nivel de innovación, repitiéndose esta situación incluso cuando se compara con las otras economías de América Latina, quedando por debajo de Chile, Brasil, Costa Rica, Colombia, Uruguay, Argentina, Perú y Guyana (Tabla I).

En las figuras 2 y 3, se presenta el índice de innovación global y ambos indicadores de innovación (inversión y aprovechamiento) respectivamente, para el grupo BRIC (las economías emergentes de

PALABRAS CLAVE:

Innovación, patentes, ciencia, desarrollo, tecnología, inversión.

KEY WORDS:

Innovation, patent, science, technology, investment.

TABLA I

Posición de México en el mundo de acuerdo al Índice Global de Innovación, mostrando los países latinoamericanos.

Tomada de la información del Índice Global de Innovación 2012. INSEAD & WIPO.

Posición	País	Índice
39	Chile	42.66
58	Brasil	36.58
60	Costa Rica	36.33
65	Colombia	35.49
67	Uruguay	35.13
70	Argentina	34.43
75	Perú	34.07
77	Guyana	33.67
79	México	32.86
80	Belice	32.52
81	Trinidad y Tobago	32.47
84	Paraguay	31.62
86	Republica Dominicana	30.94
87	Panamá	30.92
91	Jamaica	30.16
93	El Salvador	29.51
98	Ecuador	28.54
99	Guatemala	28.39
105	Nicaragua	26.67
111	Honduras	26.33
114	Bolivia	25.84
118	Venezuela	25.45

Brasil, Rusia, India y China). Al compararlas con México, los diferentes indicadores que presenta el reporte, se destaca la diferencia entre lo que se identifica como innovación ("input"), es decir la inversión en innovación y el índice de aprovechamiento ("output") de la misma; subrayando que en México, en mayor grado, hay una desproporción entre el "input" que es similar al de los BRIC y el bajo nivel del "output" comparado con estos países. Esto parece indicar que si bien en nuestro país existe cierto nivel de infraestructura y de apoyo para la generación de innovación a través de investigación científica y tecnológica, la misma no logra convertirse en productos, servicios, modelos de negocio o "software" innovadores que generen

las patentes nacionales e internacionales correspondientes y puedan ser explotadas con beneficios para nuestro país.

Es decir, las evidencias indican que nuestro país es poco eficiente en el tránsito de la generación de conocimiento a su aplicación práctica y la generación de beneficios económicos derivados de su aplicación.

De acuerdo con Ley de la Propiedad Industrial, las patentes que son el conjunto de derechos exclusivos concedidos por un Estado a un inventor o a su cesionario, por un período limitado de tiempo a cambio de la divulgación de una invención y que otorgan el derecho exclusivo de explotación del invento en cuestión, en provecho de la persona física o moral que obtenga la patente y define que serán patentables las invenciones que sean (i) nuevas, (ii) resultado de una actividad inventiva y (iii) sean susceptibles de aplicación industrial en donde la patente de invención es el documento en que oficialmente se le reconoce a alguien una invención y los derechos que de ella se derivan. Debido principalmente a la última característica mencionada como la iii, la cantidad de patentes son un buen indicador de la cantidad de mejoras potenciales que produce una sociedad, así como de la cantidad de beneficios económicos que se pueden derivar de estas mejoras, y de acuerdo a los numerales i y ii éstas son el resultado del trabajo de investigación, la inversión en investigación y la forma como un país convierte los resultados del trabajo de investigación en productos de consumo e incluso de exportación. En este sentido, la falta de patentes y de desarrollo innovador, pueden derivar del desinterés o desconocimiento de los generadores de los conocimientos científicos que son los sistemas e instituciones de investigación, de la burocracia y dificultades administrativas en la consecución de las patentes y además en la falta de interés de los industriales por aplicar o desarrollar tales patentes.

Lo anterior hace parecer que el trabajo de investigación y desarrollo tecnológico termina siendo usado en patentes en el extranjero y explotada por compañías extranjeras que obtienen beneficios por la aplicación de las mismas en nuestro país.

Llama la atención que al igual que en el caso del índice de innovación, la cantidad de aplicaciones de patentes se encuentran correlacionadas con el índice de ingreso de ese país, remarcando que ambos factores deben de estar causalmente relacionados (Fig. 4).

México se encuentra por debajo de la línea de tendencia y de acuerdo al tamaño de nuestra economía sería de esperar que hubiera tenido por lo menos 10 veces más aplicaciones que las que ahora tiene (Fig. 5).

Figura 1. *Índices de Inversión y de Aprovechamiento de varios países. Tomada del Índice Global de Innovación 2012. INSEAD & WIPO. Nota: Clasificación grupal de ingresos del Banco Mundial (Abril 2012).*

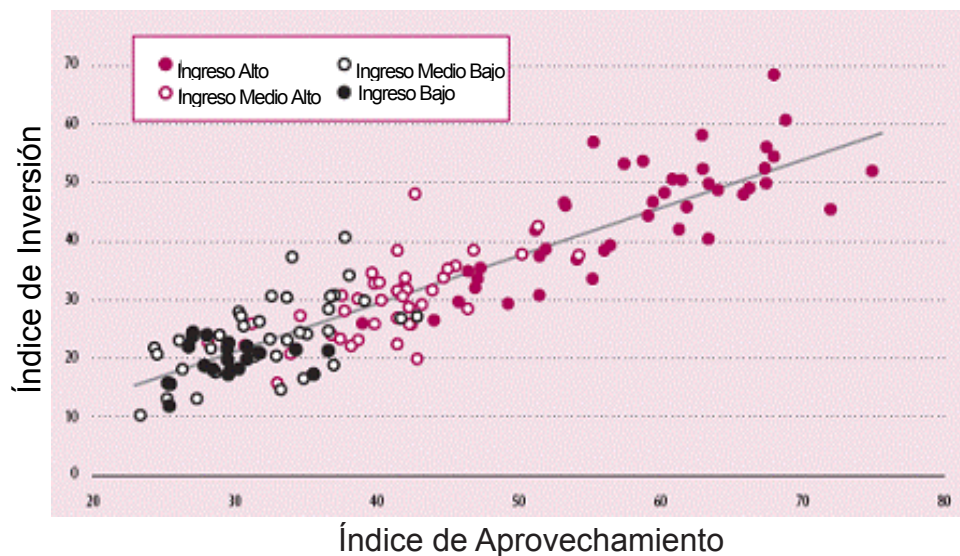


Figura 2. *Innovación global en los países BRIC y en México. Tomada del Índice Global de Innovación 2012. INSEAD & WIPO.*

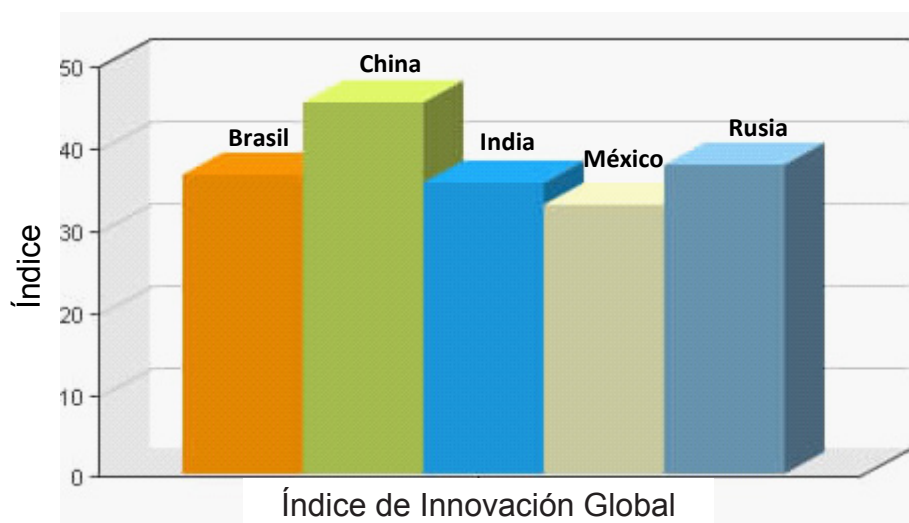


Figura 3. *Índices de innovación de inversión y de aprovechamiento de los países BRIC (Brasil, Rusia, India y China), comparados con México. Tomada del Índice Global de Innovación 2012. INSEAD & WIPO.*

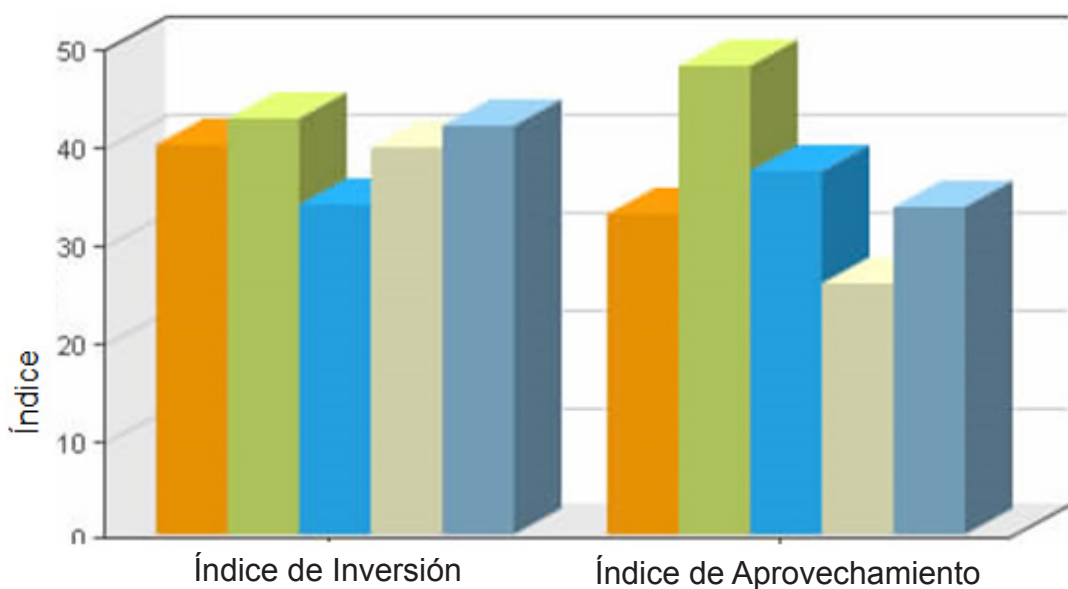


Figura 4. Aplicación de patentes e ingreso nacional neto mensual de los países de la OCDE, ■ Ingreso Alto, ■ Ingreso Medio Alto, ■ Ingreso Medio Bajo Formada por los datos del Banco Mundial 2012.

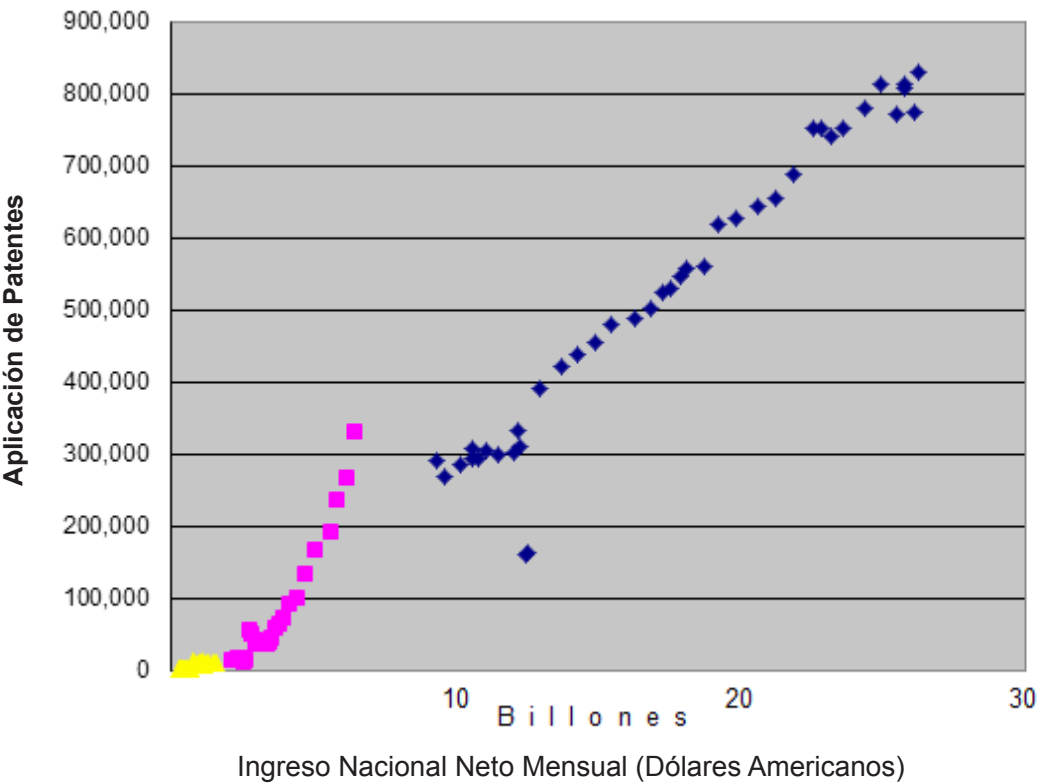
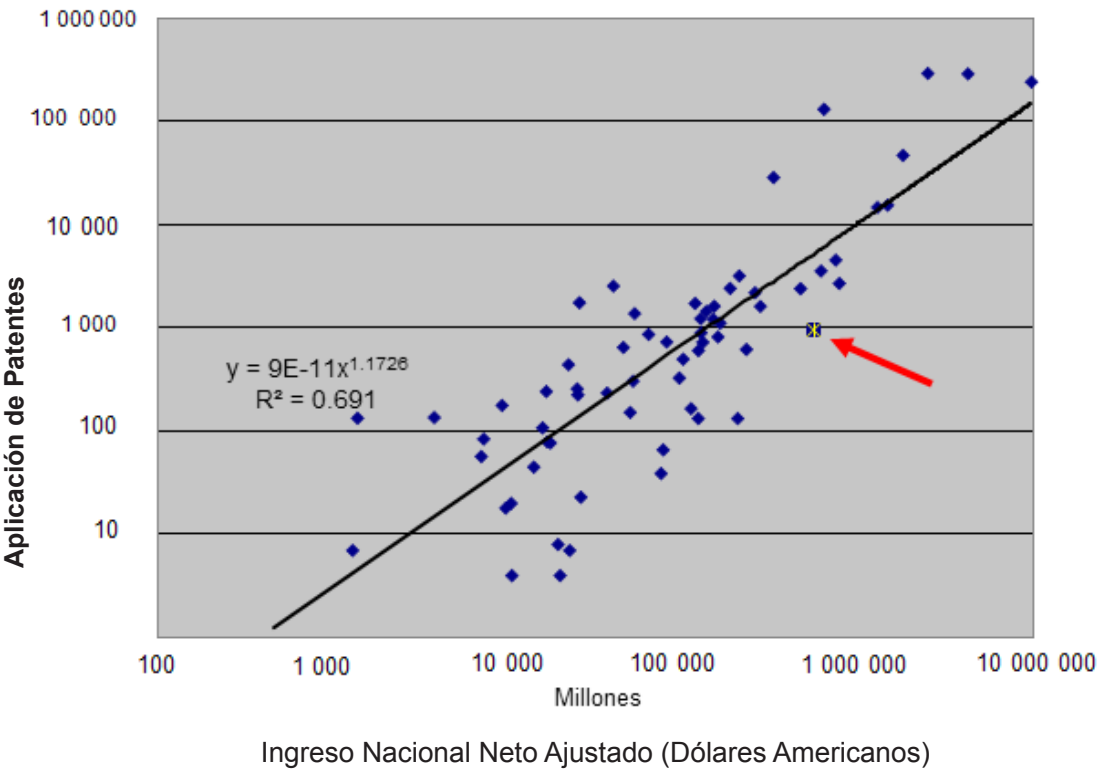


Figura 5. Relación entre ingreso nacional neto y patentes en los países de la OCDE. México se marca con una flecha. Formada por los datos del Banco Mundial 2012.



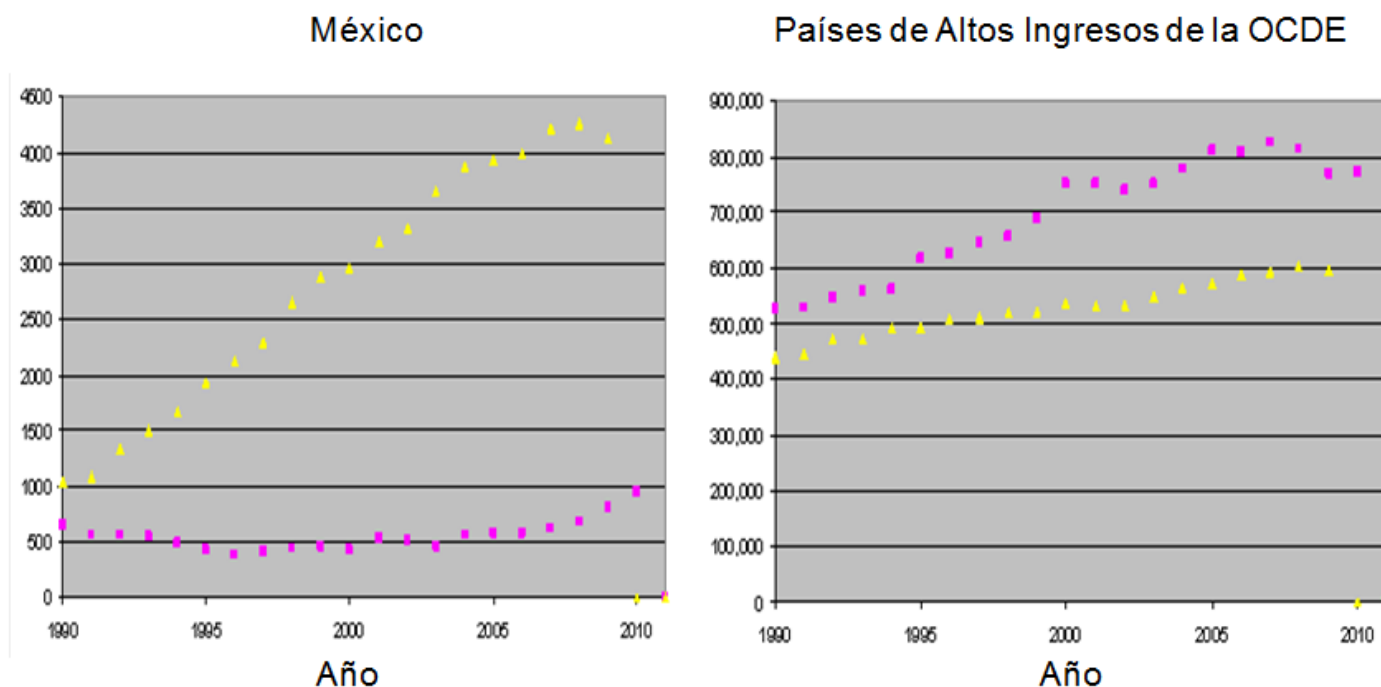


Figura 6. Número de patentes y artículos publicados. ■ Patentes ▲ Artículos

Esta falta en la aplicación de conocimiento a través de patentes, resulta aun más clara cuando se añade al análisis la comparación de la tendencia entre las patentes otorgadas y los artículos publicados en revistas arbitradas entre 1990 a 2010 (para México y como comparación para los países de alto ingreso de la OCDE en la figura 6). Lo cual nos lleva a pensar que México genera una cantidad creciente de conocimiento científico y tecnológico, más sin embargo no ha logrado concretar la transición hacia las patentes que le permitan la aplicación de conocimientos y el desarrollo para la aplicación de éstos que es uno de los pasos iniciales y la llave que permite aprovechar los beneficios económicos derivados de esa innovación científica o tecnológica.

La función primordial de una patente es la de otorgar un derecho exclusivo de explotación del invento en cuestión. Dicha exclusividad asegura a los futuros inversionistas un periodo definido en el cual gozaran de rentas extraordinarias por el conocimiento aplicado, lo que a su vez fomenta la inversión de riesgo en los siguientes pasos del desarrollo de la generación de conocimiento científico y tecnológico. La construcción de prototipos, pruebas clínicas, registros sanitarios, pruebas de mercado, entre otras actividades, son ejemplos de la multiplicidad de actividades que se necesitan llevar a cabo para transformar el descubrimiento o la innovación tecnológica del laboratorio de

desarrollo a la empresa, la fábrica y de allí a su aplicación y producción masiva. Estos pasos usualmente conllevan una inversión en una etapa en la que el riesgo todavía es alto; sin embargo, la titularidad de una patente pone un incentivo mayor al final del camino del desarrollo de un producto o servicio innovador y de alto valor agregado, con la resultante del "plus" económico necesario para recompensar los riesgos iniciales necesarios a nivel institucional y empresarial.

La falta de patentes que se hace evidente en la comparación de México contra el resto de los países ordenados de acuerdo con su ingreso nacional (Fig. 6), explica, por lo menos en parte, la baja calificación en el índice de "output" de innovación, lo que afecta y reduce a su vez el índice de innovación general, lo que nos continúa colocando como una economía de manufactura y con una competitividad basada principalmente en el bajo costo laboral y no en sus procesos de innovación o en la venta de productos con valor agregado, y mucho menos en un país que sea capaz de aplicar sus conocimientos básicos en elementos que permitan desarrollar su economía.

Existe una gran cantidad de factores que afectan nuestro índice global de innovación como país, los cuales van desde la falta de inversión privada en investigación y el desarrollo tecnológico, que pasan por el bajo nivel de contacto y coordinación entre la academia y las empresas privadas interesadas

en aplicar conocimientos desarrollados en México, hasta la inseguridad económica y laboral y la baja proporción de egresados que se quieren y pueden dedicar a la investigación básica, a la investigación aplicada y al desarrollo tecnológico.

Parece evidente, por la cantidad de artículos publicados en revistas arbitradas, el crecimiento en la generación de conocimiento científico y tecnológico en el país; sin embargo, este incremento constante en la producción de conocimiento no tiene una contraparte en la aplicación de patentes, lo que nos debe de cuestionar si lo que está fallando es la orientación en la obtención del conocimiento y sus objetivos o hay deficiencias en las instancias institucionales científicas, educativas y gubernamentales para capitalizar el mismo, en aplicaciones concretas y económicamente redituables, como lo hacen eficientemente los países de altos ingresos económicos. Lo que sería el colmo, es que un análisis más detallado diera por resultado que estamos haciendo maquila también en el trabajo científico y tecnológico. Lo cual sin duda nos pondría en una situación todavía más lamentable, análisis que por supuesto requiere de mayores indicadores y una evaluación en la calidad y pertinencia internacional

de la información obtenida y que escapa al análisis y alcance del presente trabajo.

Tenemos enfrente un trabajo institucional enorme que permita facilitar e incentivar a la generación de patentes a las instituciones que hacen investigación; iniciando un cambio de actitud en los creadores de conocimientos y en el trato y forma como el país enfrenta la conversión a una sociedad que genera y es capaz de aplicar conocimientos, tarea que no puede seguir en espera.

Seguramente habría que cuestionarnos qué tanto más podemos hacer en lo individual para convertir los proyectos de investigación en patentes que sirvan de soporte para una futura comercialización o solo seguir aportando conocimientos para que otros países comercialicen esos conocimientos, de forma que el país termine también maquilando conocimientos científicos y tecnológicos para el extranjero, sin obtener un valor agregado del conocimiento generado con recursos fiscales del erario público y del trabajo de nuestros investigadores.

Agradecimientos: A Angelica Gonzalez Ceja, por su asistencia técnica en la formación del presente trabajo. 

REFERENCIAS

1. 5ª edición del Índice Mundial de Innovación por países, elaborado a partir del análisis de 84 indicadores, publicado por la escuela de negocios para el mundo INSEAD (Institut Européen d'Administration des Affaires) conjuntamente con la WIPO (World Intellectual Property Organization), totalmente accesible en línea como: Global Innovation Index 2012 <http://www.globalinnovationindex.org/gii/>

COMPARACIÓN DE LOS DIFERENTES MÉTODOS DE ANÁLISIS CINÉTICOS PARA DETERMINAR EL TIPO DE INHIBICIÓN DE DOS COMPUESTOS*

Elizabeth Lira Silva y Ricardo Jasso Chávez

Departamento de Bioquímica, Instituto Nacional de Cardiología, Distrito Federal, México.
Correo E: eli_lira_sil@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

El estudio de los mecanismos cinéticos de enzimas y transportadores así como el efecto de sus inhibidores y activadores sigue siendo una herramienta útil para entender mejor la naturaleza y regulación de las vías metabólicas involucradas en los procesos bioquímicos de todas las células. El mejor entendimiento de los mecanismos catalíticos ha cobrado mayor relevancia biotecnológica ya que nos acerca a un mejor diseño de fármacos en el caso del tratamiento de enfermedades o para realizar modificaciones puntuales y obtener así una mayor producción de metabolitos. De esta forma, para obtener datos que permitan una mejor entendimiento de la participación de enzimas y transportadores en la fisiología de las células, se siguen diseñando compuestos cada vez más específicos que afecten la actividad (V_{max}) o afinidad (K_m) por sus sustratos. Sin embargo, en muchos trabajos de la literatura donde se realizan estudios cinéticos, en ocasiones el análisis de los resultados es sobre-interpretado, incompleto o en el peor de los casos erróneo.

El objetivo de este trabajo es realizar una revisión de los métodos utilizados para analizar el tipo de inhibición de un compuesto. Estos métodos permiten comparar los datos experimentales con patrones predichos para diferentes mecanismos cinéticos, utilizando datos de velocidad inicial (es decir la velocidad de la reacción durante los primeros minutos o segundos, cuando la formación de producto es lineal con respecto al tiempo y la concentración de sustrato es mucho mayor que la concentración de enzima), experimentalmente el método para determinar los patrones de velocidad inicial consiste en variar la concentración de un sustrato frente a concentraciones fijas de otros sustratos y en ausencia de productos.

Existen dos estrategias para analizar el tipo de inhibición de un compuesto, el ajuste por regresión lineal y el ajuste por regresión no lineal.

AJUSTE POR REGRESIÓN LINEAL

Este análisis es ampliamente utilizado en cinética enzimática, los datos se grafican de tal manera que en el eje x se representa la variable independiente y en el eje y la variable dependiente, la línea trazada por regresión lineal se elige para minimizar la suma de los cuadrados de las distancias de los puntos a partir de esa línea. Un método para tratar con relaciones curvas es transformar los datos en una línea recta y después realizar la regresión lineal. Algunos métodos de linearización utilizados son: Lineweaver-Burk ($1/v$ versus $1/S$), Eadie-Hofstee (v versus v/S), Hanes (S/v versus S) y Scatchard (v/S versus v) donde v es velocidad inicial, S la concentración de sustrato. Estos métodos se pueden aplicar a la ecuación de Michaelis-Menten $v = (V_{max} [S]) / (K_m + [S])$, para determinar la K_m y V_{max} a partir de la pendiente y el intercepto. Entre ellos, el método de Lineweaver-Burk (dobles recíprocos) es el más utilizado como una herramienta gráfica para calcular los parámetros cinéticos de una enzima, cuyo recíproco es $1/v = K_m / (V_{max} [S]) + 1/V_{max}$, donde v es la velocidad de reacción, K_m es la constante de Michaelis-Menten, V_{max} es la velocidad máxima, y $[S]$ es la concentración de sustrato. El gráfico de Lineweaver-Burk permite identificar la K_m y V_{max} ; a partir del punto de intersección con el eje de las ordenadas es ($1/V_{max}$), y el de las abscisas al origen se puede obtener ($-1/K_m$). Realizar el ajuste por regresión lineal sobre datos transformados tiene algunas ventajas ya que es muy sencillo y no requiere un software específico, además resulta fácil de evaluar estadísticamente.

Sin embargo, estos métodos son muy dependientes de la calidad de los datos de velocidad y se aplican sólo para mediciones de velocidad inicial (4). Los errores en la determinación de velocidad a bajas concentraciones de sustrato se amplifican en el método Lineweaver-Burk y Eadie-Hofstee y en menor medida al utilizar Hanes, debido a que estas distorsiones se incrementan en transformaciones que combinan los valores de x y y .

Otra alternativa para determinar los mecanismos cinéticos es realizar ensayos de inhibición utilizando productos, altas concentraciones de sustratos alternos u otras moléculas análogas a cualquiera de estos. Se busca que los inhibidores utilizados sean reversibles, es decir deben formar complejos dinámicos (asociación-disociación) con propiedades catalíticas diferentes a las que tiene la enzima en ausencia del inhibidor. Los inhibidores reversibles pueden ser totales (lineales), es decir al saturar una enzima con un inhibidor total la actividad enzimática se abate por completo y al realizar los regraficos de la ordenada ($1/V_{max}$ versus $[I]$) y la pendiente (K_m/V_{max} versus $[I]$) del gráfico de dobles recíprocos se generan líneas rectas o inhibidores parciales (hiperbólicos) cuando se observa cierta actividad enzimática residual en presencia de una concentración saturante de inhibidor y en los regraficos de dobles recíprocos se obtiene una curva hiperbólica (2). Además existe otra clasificación para estos tipos de inhibición con base en el efecto que el inhibidor tiene sobre la eficiencia catalítica (V_{max}/K_m) y la velocidad máxima. La inhibición competitiva se caracteriza por disminuir la afinidad de la enzima por su sustrato sin afectar la velocidad máxima aparente (en presencia de inhibidor). La inhibición incompetitiva disminuye la V_{max} y no afecta la eficiencia catalítica. Y la inhibición no competitiva disminuye el valor de ambos parámetros (V_{max} y V_{max}/K_m).

Para el caso específico de sistemas con inhibidor se puede utilizar el método de Dixon, donde se grafica ($1/v$ versus $[I]$) y si la cinética se puede describir por la ecuación $v = (V_{max} [S]) / (K_s (1 + [I]/K_i) + [S](1 + [I]/K_i))$, donde, V_{max} es la velocidad máxima, $[S]$ es la concentración del sustrato, K_s es la afinidad de la enzima por el sustrato (asumiendo equilibrio rápido, ver referencia 2), $[I]$ es la concentración del inhibidor, K_i es la constante de inhibición (2), el patrón de líneas rectas para diferentes concentraciones de sustrato se intersectan en $[I] = -K_i$ y $1/v = [1 - (K_i/K_i')]/V_{max}$ para determinar la K_i , pero tiene la desventaja de que solo se aplica para mediciones de velocidad inicial y no siempre se puede distinguir entre inhibición mixta e inhibición competitiva (4).

AJUSTE POR REGRESIÓN NO LINEAL

Este método permite ajustar los datos experimentales a cualquier ecuación, como en la regresión lineal el procedimiento por regresión no lineal permite determinar los valores de los parámetros que minimizan la suma de los cuadrados de las distancias de los puntos de la curva, con el objetivo de minimizar el residual de la suma de cuadrados. Este método presenta varias ventajas: se pueden determinar simultáneamente varios parámetros cinéticos a diferencia de los métodos lineales, menor restricción en la elección de las variables controladas comparado con los métodos lineales donde los datos se limitan a un intervalo lineal y por lo tanto disminuyen las desviaciones estándar y aumenta la precisión al estimar los parámetros cinéticos, debido a que no se requiere realizar transformaciones lineales a las variables. Sin embargo el ajuste por regresión no lineal no puede resolverse en un solo paso, este debe resolverse de forma iterativa. Realizando iteraciones matemáticas de la ecuación de velocidad mediante software específico. Existen algunos programas comerciales de computadora que realizan regresiones no lineales como Origin, Sigma Plot, Graf fit y Curve fit. Se debe proporcionar una estimación inicial del valor de cada parámetro, después se ajustan estos valores para mejorar el ajuste de la curva a los datos, a continuación se ajustan los valores nuevos para mejorar nuevamente el ajuste y de esta forma estas iteraciones matemáticas continúan hasta que la mejora es mínima. En este trabajo, el análisis no lineal se realizó mediante el "software" Origin 5.0, el cual, da un valor estadístico de Chi cuadrada (χ^2 , distribución de probabilidad continua) que ayuda a discernir sobre el mejor ajuste de los datos experimentales a las ecuaciones de los diferentes tipos de inhibición. Se puede aplicar a mediciones de velocidad inicial y a curvas de progreso. Sin embargo, en ocasiones es necesario realizar la estimación de los parámetros cinéticos por métodos lineales antes de realizar las iteraciones, se necesita un "software" específico y las consideraciones no tomadas en cuenta en el modelo pueden causar ajustes poco satisfactorios, por ejemplo para analizar diferentes tipos de inhibición los métodos lineales son la mejor opción. Además se debe tener cuidado al analizar y realizar un ajuste no lineal, debido a que se pueden producir resultados engañosos si el programa se usa de manera inapropiada.

La selección de un método por regresión lineal o por regresión no lineal para analizar el mecanismo cinético de un compuesto, debe ser cuidadosa y tomar en cuenta tanto sus ventajas y desventajas,

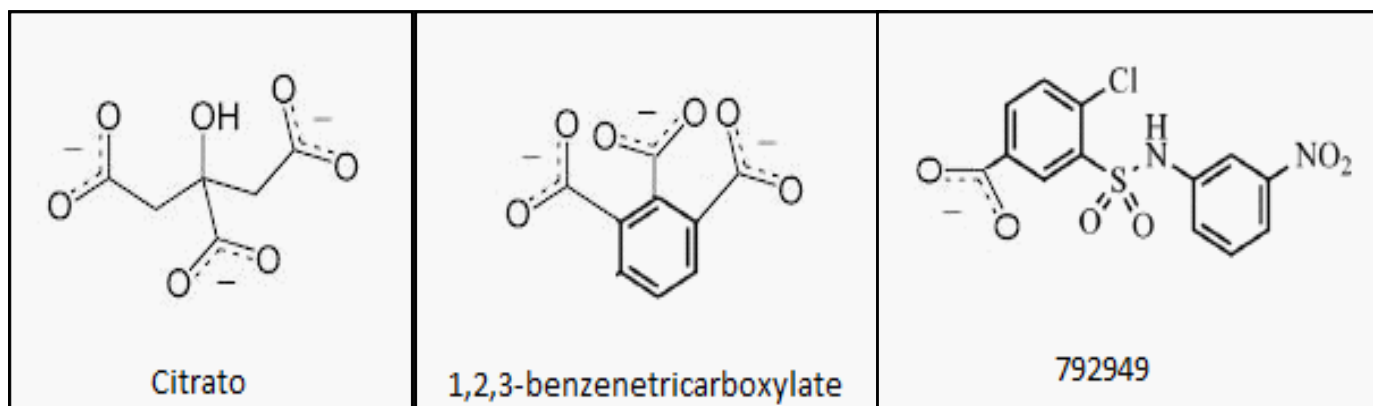


Figura 1. Comparación de las fórmulas estructurales del Citrato, el BTC y el compuesto 792949.

el objetivo del análisis; así como sus excepciones para poder predecir de manera precisa el tipo de inhibición esperado, se ha descrito que el tipo de inhibición se puede modificar si se consideran concentraciones saturantes o no saturantes de los sustratos (2).

En este trabajo se hace una revisión de los diferentes métodos de análisis cinético para el estudio del efecto de inhibidores sobre el transportador mitocondrial de citrato publicado en la Revista Molecular Pharmacology titulado Inhibitors of the Mitochondrial Citrate Transport Protein: Validation of the Role of Substrate Binding Residues and Discovery of the First Purely Competitive Inhibitor, con esto se pretende exhortar al lector y en especial al estudiante de posgrado a revisar críticamente la literatura consultada relevante para su proyecto.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El transportador mitocondrial de citrato (CTP) es crítico en el metabolismo energético y biosintético de células eucariontes, debido a que el citrato es un intermediario esencial en el metabolismo de carbohidratos y lípidos. Es un antiportador que media el intercambio de la forma dibásica de los ácidos dicarboxílicos (malato, succinato) o fosfoenolpiruvato en eucariontes superiores, con los ácidos tricarboxílicos (citrato o isocitrato) en levadura (1).

Los estudios de estructura y función de transportadores de membrana se facilitan en gran medida por la disponibilidad de potentes inhibidores específicos. Sin embargo, para el CTP se conocen pocos inhibidores que además son de bajo potencial. El mejor inhibidor disponible es el 1,2,3-benzenetricarboxylate (BTC), el cual muestra una inhibición de tipo competitivo (1). Con la finalidad de encontrar otros inhibidores más específicos se analizó el 4-chloro-3-[(3-nitrophenyl)sulfamoyl]

benzoic acid (compuesto 792949); cuyas fórmulas estructurales se muestra en la figura 1.

Para determinar la naturaleza de inhibición de un CTP-Cys (transportador mitocondrial reconstituido de levadura) por BTC y el compuesto 792949, el ensayo se realizó en proteoliposomas incubados por 10 min a 21°C, midiendo el transporte durante 13-50 segundos (parte lineal) e iniciando la reacción adicionando citrato marcado radioactivamente a concentraciones de 0.05-14 mM, (radioactividad específica de $43 - 430 \times 10^2$ cpm/nmol citrato) más concentraciones variables de BTC (0-1.5 mM) o del compuesto 792949 (0-2 mM). La reacción se detuvo por la adición de un exceso de BTC (9 mM). Después del transporte, el citrato intraliposomal marcado radioactivamente fue separado del externo por cromatografía y cuantificado en un contador de centelleo. La velocidad de transporte sensible a BTC se calculó restando el valor control del valor experimental (1). Los datos de velocidad inicial se muestran en las Tablas 1 y 2.

Con estos valores se determinaron mediante diferentes métodos, el tipo de inhibición que ejerce el BTC y el compuesto 792949 sobre el CTP-Cys, los correspondientes parámetros cinéticos (V_{max} , K_S , K_i), así como las diferentes constantes que afectan la V_{max} (factor β) y la afinidad por el sustrato (factor α).

Se debe aclarar que la cinética del transporte facilitado puede analizarse mediante las ecuaciones utilizadas para una enzima, debido a que este tipo de transportadores presentan un sitio específico expuesto en la cara externa de la membrana al cual se enlaza la molécula (y posee un valor K_S o K_d) y un valor de V_{max} (3).

INHIBICIÓN PARA EL COMPUESTO BTC

Para determinar el tipo de inhibición del BTC se debe realizar como primera aproximación un

TABLA 1
Determinación del transporte de citrato en presencia del compuesto BTC

BTC (mM)	Velocidad ($\text{nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg proteína}^{-1}$)													
	Citrato (mM)													
	0.1	0.2	0.4	0.6	0.8	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	444	481	621	758	877	1100	1310	1111	1136	1163	1250	-	-	-
0.157	190	238	290	415	641	769	1054	1020	1053	1111	1190	-	-	-
0.524	120	125	234	250	315	452	599	806	820	1000	1125	1000	-	-
1.5	116	126	228	243	280	424	510	375	549	500	529	725	741	752

TABLA 2
Determinación del transporte de citrato en presencia del compuesto 792949

Compuesto 792949 (mM)	Velocidad ($\text{nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg proteína}^{-1}$)													
	Citrato (mM)													
	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	1	2	3	4	5	6	8	10	12
0	200	385	518	721	800	1050	1100	1220	1190	-	-	-	-	-
0.3	87	190	249	262	378	446	749	795	964	900	1195	-	-	-
0.9	-	-	-	-	53	221	289	405	400	490	465	485	912	780
2	-	-	-	-	37	189	210	260	361	385	460	492	487	500

TABLA 3
Parámetros cinéticos obtenidos para el compuesto BTC y el compuesto 792949
mediante los métodos por ajuste lineal y no lineal

Inhibidor	Compuesto BTC				Compuesto 792949	
	[citrato] < 2 mM		[citrato] > 2 mM			
Tipo de Inhibición	Mixta parcial		Competitiva simple		Competitiva simple	
Método	Lineal	No lineal	Lineal	No lineal	Lineal	No lineal
V_{max} ($\text{nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg proteína}^{-1}$)	1031	1500	1369	1505.5	1545	1370.9
K_s (mM)	0.15	0.5	0.72	0.49	0.38 - 0.66	0.41
K_i (mM)	0.06	0.47	0.07 - 0.15	0.21	0.064 - 0.080	0.095
α	6.5	0.8	---	---	---	---
β	0.51	1.03	---	---	---	---

Figura 2.
Gráfico de
Dixon para
el inhibidor
BTC.

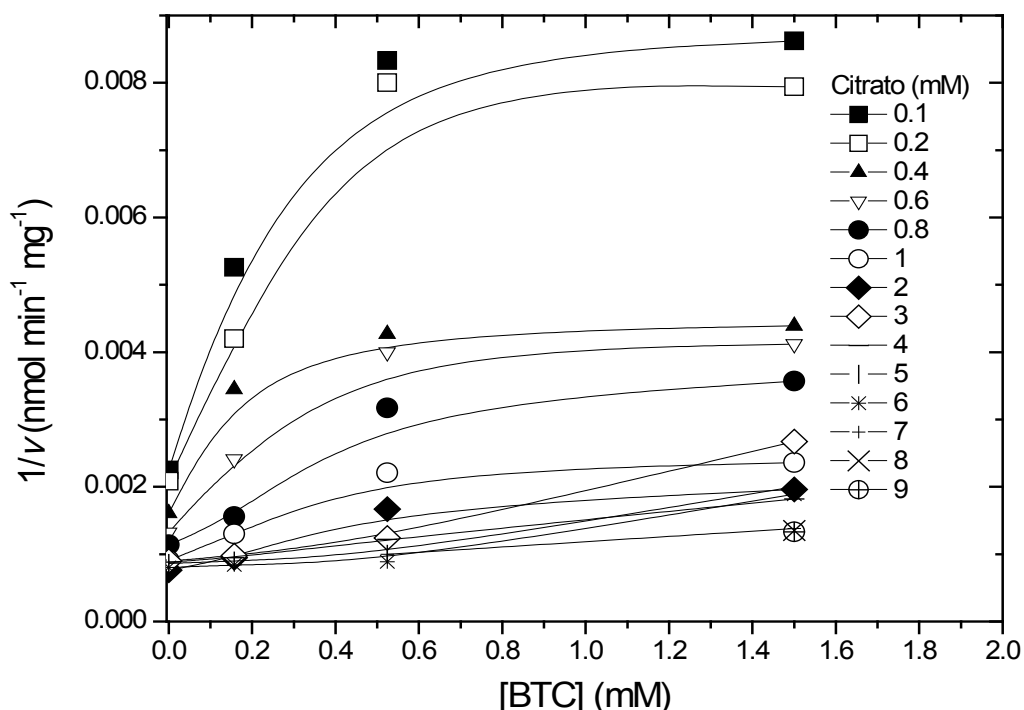


gráfico de Dixon, el cual consiste en graficar el inverso de las velocidades iniciales a diferentes concentraciones de citrato *versus* la concentración del inhibidor BTC (Fig. 2). Se pueden observar dos comportamientos: a concentraciones bajas se observan hipérbolas lo que sugiere una inhibición parcial, es decir que el complejo transportador-sustrato-inhibidor es catalíticamente activo; mientras que a concentraciones altas se observan líneas rectas lo que sugiere una inhibición simple. Por lo que el análisis de estos dos comportamientos se debe realizar de manera independiente: a) concentraciones de sustrato < 2 mM y b) concentraciones de sustrato > 2 mM.

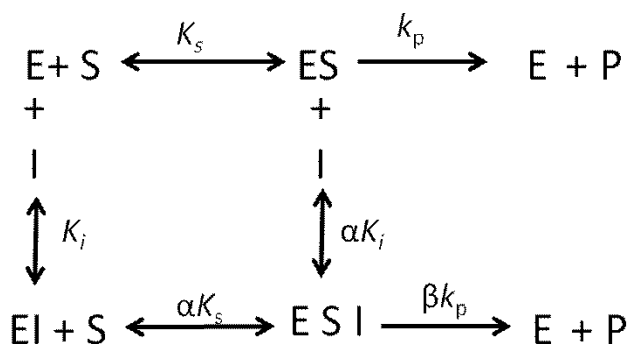
a) [Citrato] < 2 mM

Se grafica el inverso de las velocidades iniciales contra el inverso de la concentración de sustrato a diferentes concentraciones de inhibidor (gráfico Lineweaver-Burk) para el BTC (Fig. 3a). En la figura 3a se observa que el BTC modifica tanto el valor de la ordenada al origen (inverso de la velocidad máxima) como las pendientes (K_s/V_{max}). En este gráfico el punto de intersección de todas las rectas está en el 2º cuadrante, lo que indica que es una inhibición de tipo mixto y en este caso, mixto parcial (Fig. 4).

Un regráfico $m_{1/5}$ *versus* [I] o $b_{1/5}$ *versus* [I] (a partir del gráfico Lineweaver-Burk) ayuda a diferenciar un inhibidor simple de un inhibidor parcial,

debido a que con éste último se obtiene una hipérbola (2), lo cual se aplica para el inhibidor BTC (Fig. 5).

El esquema cinético para un inhibidor mixto parcial, se muestra a continuación:



Donde: E es el transportador CTP-Cys, I es el inhibidor, S es el sustrato, P es el producto, K_s es la afinidad de la enzima por el sustrato (asumiendo equilibrio rápido), K_i es la constante de inhibición, k_p es la constante catalítica, α es el factor que indica cuantas veces se modifica la K_s cuando la enzima o transportador está saturada (o) con inhibidor, mientras β expresa el cambio en la constante catalítica en presencia de inhibidor saturante. En este caso, para el inhibidor BTC la intersección en el segundo cuadrante indica que $\alpha > 1$ y β entre 0 y 1. La ecuación de velocidad para un inhibidor mixto parcial es:

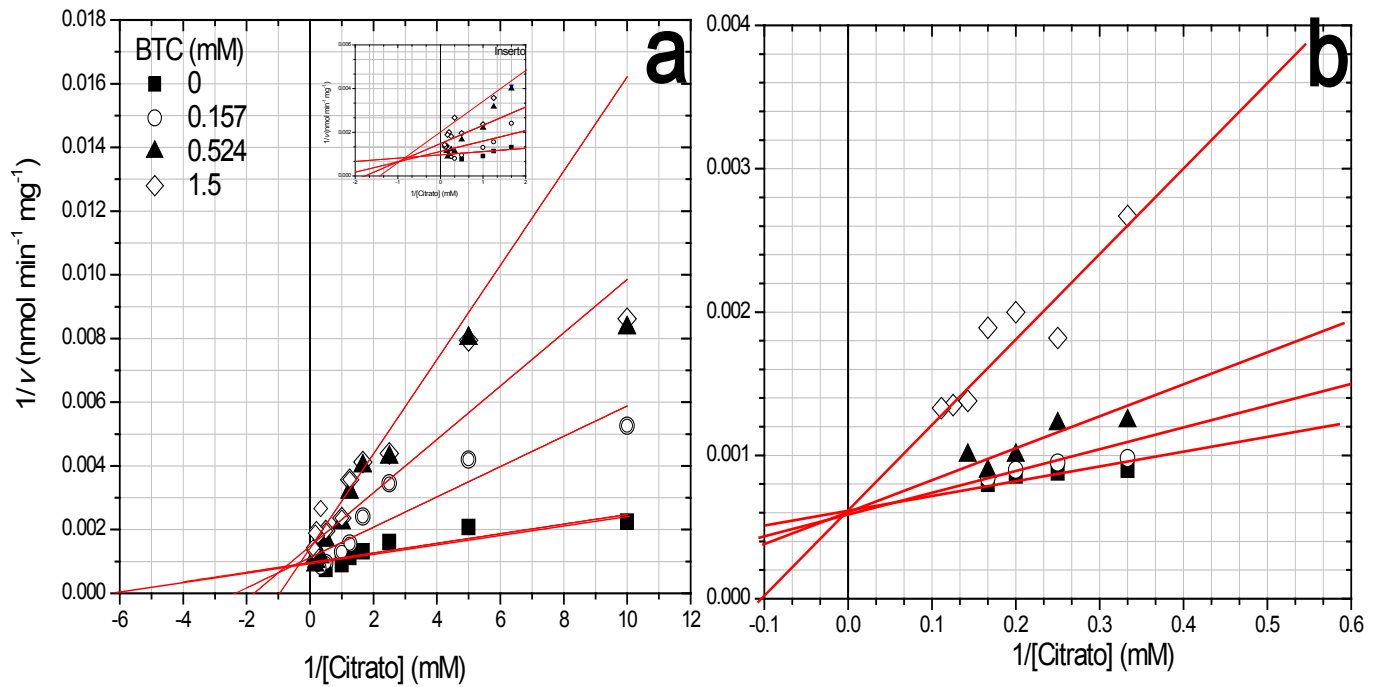


Figura 3. Gráfico Lineweaver-Burk para el inhibidor BTC a) $[Citrate] < 2 \text{ mM}$, b) $[Citrate] > 2 \text{ mM}$.

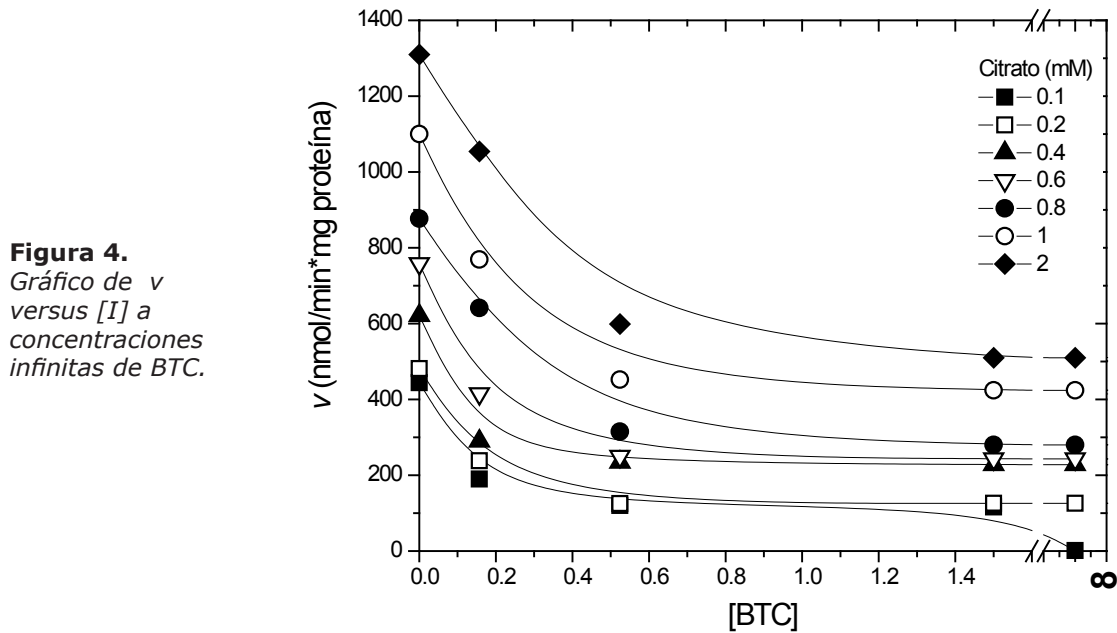


Figura 4. Gráfico de v versus $[I]$ a concentraciones infinitas de BTC.

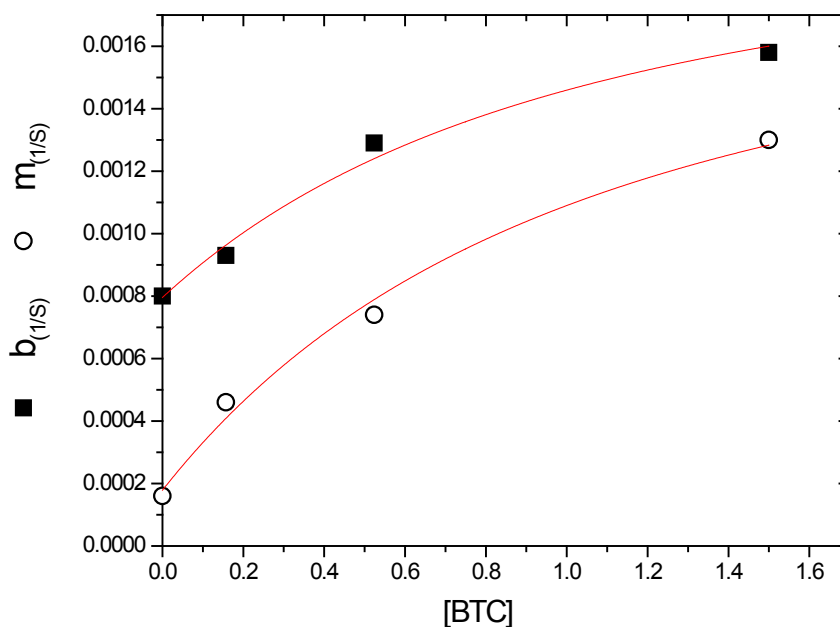
$$v = \frac{V_{max} [S] \left(\frac{\beta [I] + \alpha K_i}{[I] + \alpha K_i} \right)}{K_s \left(\frac{[I] + K_i}{[I] + \alpha K_i} \right) + [S]} \quad (1)$$

El inverso de la ecuación general 1 es:

$$\frac{1}{v} = \frac{\alpha K_s}{V_{max}} \frac{[I] + K_i}{\beta [I] + \alpha K_i} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}} \frac{[I] + \alpha K_i}{\beta [I] + \alpha K_i} \quad (2)$$

La ecuación 2 describe cada recta de la figura 3a (gráfico de Lineweaver-Burk). La V_{max} corresponde al inverso de la ordenada de la recta sin

Figura 5.
Regráfico $m_{1/S}$
versus $[I]$ o $b_{1/S}$
versus $[I]$ (a
partir del gráfico
Lineweaver-
Burk para el
inhibidor BTC).
Concentraciones
infinitas de BTC.



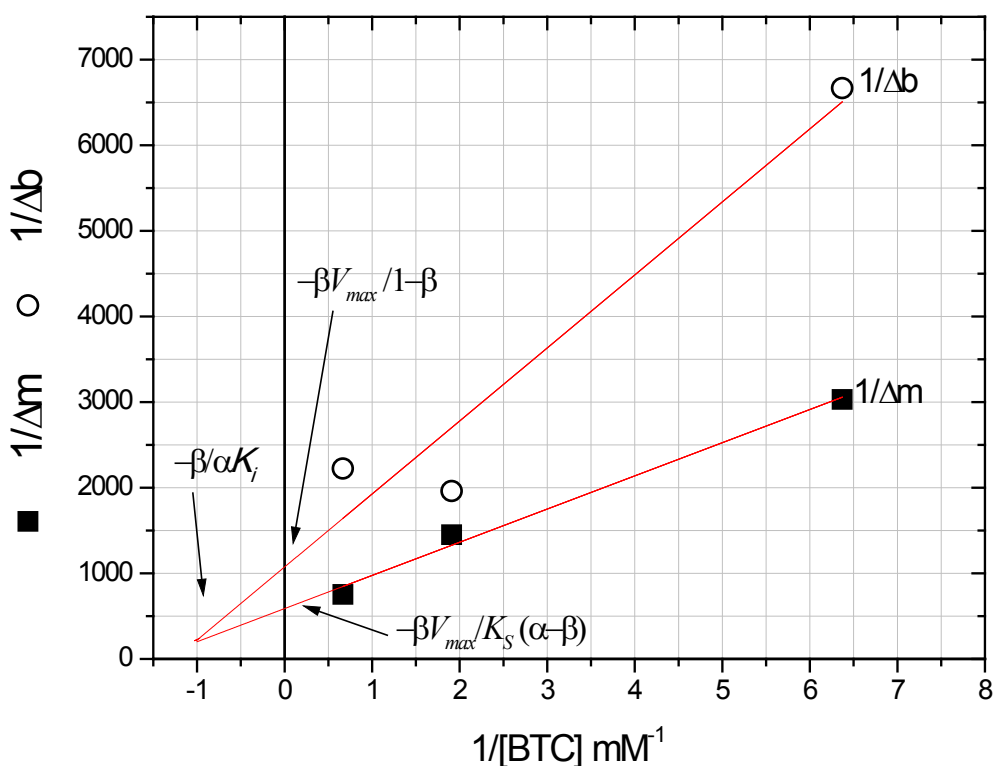
inhibidor, que en este caso fue $1/0.00097 = 1031$ nmol $\cdot$ min $^{-1}$ $\cdot$ mg proteína $^{-1}$. La K_S es el valor negativo del inverso de la abscisa de la misma recta sin inhibidor, en este caso $K_S = -1/-6.46 = 0.15$ mM.

Debido a que el regráfico de $m_{1/S}$ ó $b_{1/S}$ versus $[I]$ son hiperbólicos (Fig. 5), para calcular los valores de K_i , β , α es necesario obtener Δb (cambio en las ordenadas) y Δm (cambio en las pendientes) de las rectas con inhibidor con respecto a la recta sin inhibidor. Es decir, a cada una de las ordenadas

de las rectas con BTC se le resta la ordenada de la recta sin BTC y el mismo procedimiento se aplica a las pendientes y se grafica $1/\Delta b$ o $1/m$ versus $1/[BTC]$ (Fig. 6). A partir de la ecuación 2 se obtienen las siguientes ecuaciones:

$$\Delta b = \frac{1}{V_{max}} \frac{[I] + \alpha K_i}{\beta [I] + \alpha K_i} - \frac{1}{V_{max}} \quad (3)$$

Figura 6.
Regráfico
de $1/\Delta m$
versus $[I]$
y $1/\Delta b$
versus $[I]$.



$$\Delta m = \frac{\alpha K_S}{V_{max}} \frac{[I] + K_i}{\beta [I] + \alpha K_i} - \frac{K_S}{V_{max}} \quad (4)$$

A partir de las ecuaciones 3 y 4 se obtienen los inversos:

$$\frac{1}{\Delta b} = \frac{V_{max} \alpha K_i}{1 - \beta} \frac{1}{[I]} + \frac{\beta V_{max}}{1 - \beta} \quad (5)$$

$$\frac{1}{\Delta m} = \frac{V_{max} \alpha K_i}{K_S (\alpha - \beta)} \left(\frac{1}{[I]} \right) + \frac{\beta V_{max}}{K_S (\alpha - \beta)} \quad (6)$$

Las ecuaciones 5 y 6 definen las rectas obtenidas al graficar los inversos de los cambios en la ordenada y en la pendiente contra el inverso de la concentración de inhibidor, como se muestra en la figura 6. A partir de los valores obtenidos en estos regráficos, y conociendo los valores de V_{max} y K_S determinados en la gráfica de dobles recíprocos, es posible determinar el resto de los parámetros cinéticos.

El factor β se despeja de la ordenada obtenida de la recta $1/\Delta b$ versus $1/BTC$ y se obtiene:

$$\beta = \frac{b}{V_{max} + b} = \frac{1074}{1031 + 1074} = 0.51 \quad (7)$$

Lo que significa que la velocidad con la que el complejo ESI efectúa la catálisis disminuye un 50 % respecto al complejo ES.

El factor α se puede calcular utilizando el valor de la ordenada de la recta $1/\Delta m$ versus $1/BTC$, la cual despejando y sustituyendo se obtiene lo siguiente:

$$\alpha = \beta \left(1 + \frac{V_{max}}{b K_S} \right) = 0.51 \left(1 + \frac{1031}{588.4 * 0.15} \right) = 6.5 \quad (8)$$

Lo que significa que la afinidad del transportador por el sustrato (K_S) disminuye aproximadamente 6.5 veces cuando el transportador esta interactuando con el inhibidor (EI) para formar el complejo (ESI). Finalmente se obtiene el valor de la K_i a partir de la definición de la abscisa para cualquiera de las dos rectas utilizando los valores ya determinados de α y β , recordando que debe ser igual en ambos casos.

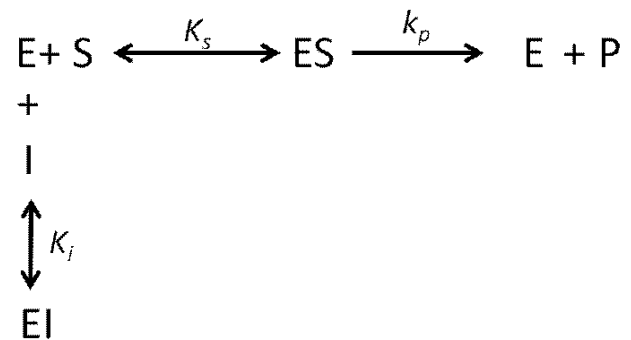
$$K_i = -\frac{\beta}{\alpha \alpha} = -\frac{0.51}{-1.26 * 6.5} = 0.06 \text{ mM} \quad (8)$$

Con base en el análisis realizado se puede decir que el BTC a concentraciones de citrato < 2 mM, es un inhibidor de tipo mixto parcial cuya unión al complejo transportador -sustrato (ES) aumentó aprox. 6.5 veces la K_i , es decir disminuye la afinidad con la que el inhibidor se une al complejo (ES) para formar el complejo productivo (ESI) cuya k_p se alteró y disminuyó un 50% ($\beta = 0.51$).

b) [Citrato] > 2 mM

En la figura 3b se grafica el inverso de las velocidades iniciales contra el inverso de la concentración de sustrato a diferentes concentraciones de inhibidor (gráfico Lineweaver-Burk). Se observa que el BTC modifica las pendientes (K_S / V_{max}) conforme aumenta la concentración de inhibidor, mientras que el valor de la ordenada al origen (inverso de la velocidad máxima) permanece constante. También se observa que conforme se incrementa la concentración de inhibidor, el intercepto sobre el eje $1/S$ se acerca al origen, esto es la K_m aumenta. Este patrón sugiere que el BTC a concentraciones de citrato > 2 mM presenta una inhibición de tipo competitivo simple. El regráfico de las pendientes del gráfico de Dixon (Fig. 7), el cual parte del origen, confirmó este tipo de inhibición.

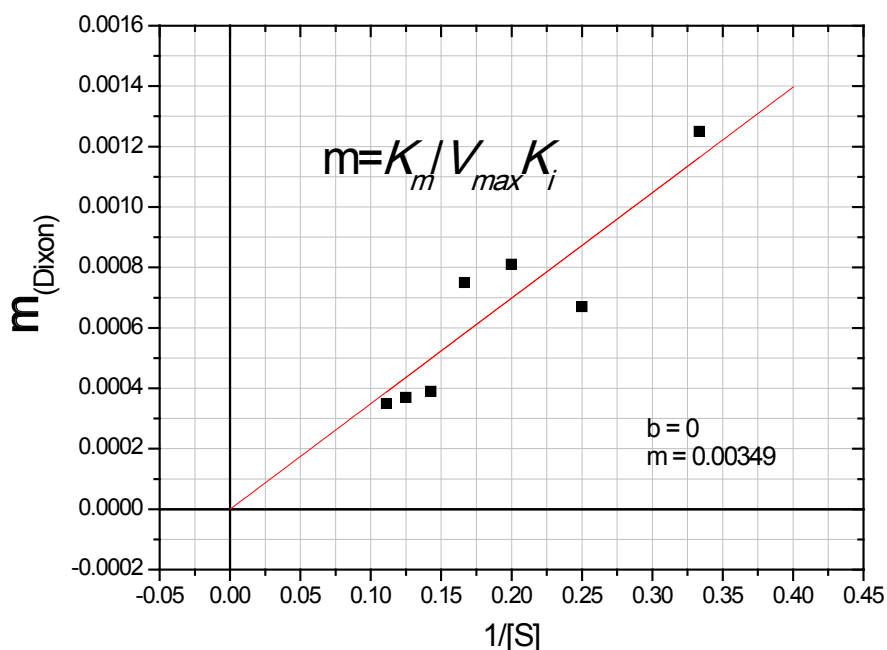
El esquema cinético para un inhibidor competitivo simple es:



Donde: E es el transportador CTP-Cys, I es el inhibidor, S es el sustrato, P es el producto, K_S es la afinidad de la enzima por el sustrato (asumiendo equilibrio rápido), K_i es la constante de inhibición y k_p es la constante catalítica.

La ecuación de velocidad para un inhibidor competitivo es:

Figura 7.
Regráfico de
 $m_{(Dixon)}$ versus
 $1/[S]$.



$$v = \frac{V_{max}[S]}{K_S \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) + [S]} \quad (10)$$

El inverso de la ecuación general es:

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{max}} \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}} \quad (11)$$

En el gráfico de dobles recíprocos (Fig. 3b), se obtuvo una $V_{max} = 1369 \text{ nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg proteína}^{-1}$, $K_S = 0.72 \text{ mM}$ para el BTC a $[\text{citrato}] > 2 \text{ mM}$, sin embargo para obtener la K_i es necesario realizar el regráfico de $m_{1/S}$ o K_m versus $[I]$. A partir de la ecuación 11, se obtienen las siguientes ecuaciones:

$$m_{1/S} = \frac{K_m}{V_{max}} \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) \quad (12)$$

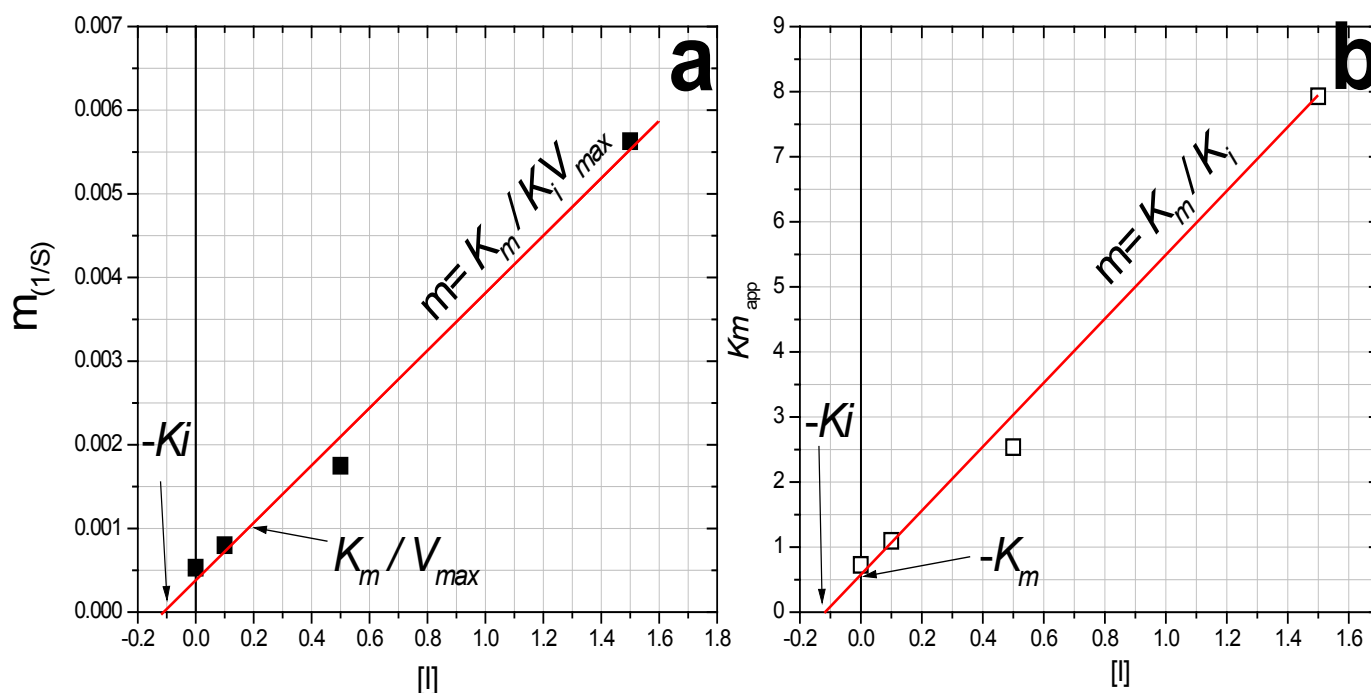
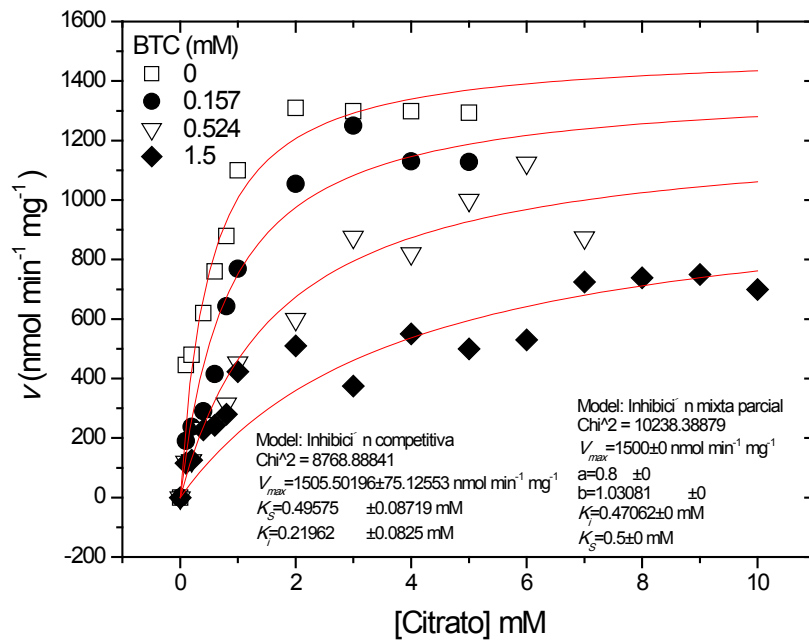


Figura 8. Regráfico a) versus $[I]$ o b) versus $[I]$ (a partir del gráfico Lineweaver-Burk para el inhibidor BTC a $[\text{citrato}] > 2 \text{ mM}$).

Figura 9.
Análisis por
ajuste no
lineal para el
compuesto
BTC.



$$m_{1/S} = \frac{K_m}{V_{max} K_i} [I] + \frac{K_m}{V_{max}} \quad (13)$$

$$\frac{K_m [I]}{[S] K_i} = \frac{K_m}{[S]} \quad o \quad [I] = K_i \quad (16)$$

$$K_m = \frac{K_m}{K_i} [I] + K_m \quad (14)$$

$$[I] = K_i = 0.07 \text{ mM}$$

Le pendiente de la grafica de Dixon es:

$$m = \frac{K_m}{V_{max} K_i} \frac{1}{[S]} \quad (17)$$

El regráfico $m_{1/S}$ versus $[I]$ o $b_{1/S}$ versus $[I]$ (obtenido a partir del gráfico Lineweaver-Burk) fue lineal, lo que confirma que el BTC a altas concentraciones de citrato actúa como un inhibidor competitivo simple (Fig. 8a y 8b). Considerando las ecuaciones 13 y 14, así como los regráficos se obtuvo $K_i = 0.11 - 0.15$ mM.

Como se menciona al inicio el gráfico de Dixon ayuda a identificar el tipo de inhibición según el patrón de rectas obtenido, pero también es posible obtener la K_i .

La ecuación para el gráfico de Dixon (Fig. 2) para un inhibidor competitivo es:

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{max} [S] K_i} [I] + \frac{1}{V_{max}} \left(1 + \frac{K_m}{S} \right) \quad (15)$$

A partir de esta gráfico, se puede determinar el tipo de inhibición, si se sabe que la inhibición es competitiva y se conoce la V_{max} , se puede trazar una línea a la altura de $1/V_{max}$ y el valor de $-[I] = K_i$ en la intersección de esas dos líneas, las ecuaciones que describen este comportamiento son:

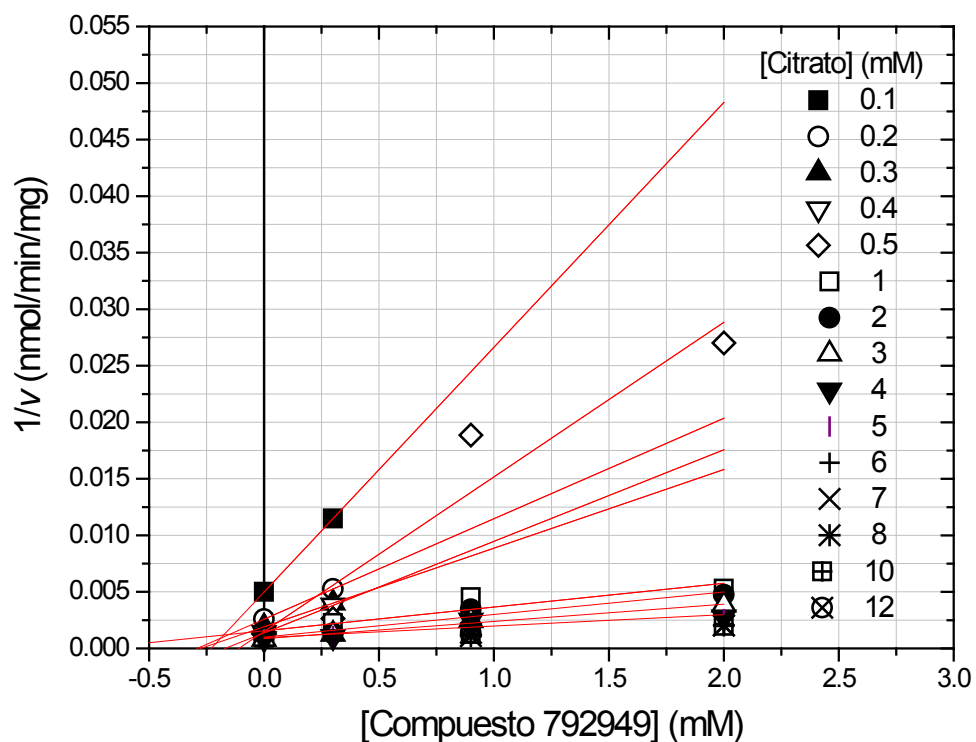
También se realiza el análisis por regresión no lineal utilizando las ecuaciones generales para un inhibidor de tipo mixto parcial y para un inhibidor competitivo, este método es una forma confiable para obtener los valores de K_S , K_i y V_{max} ; a partir del análisis global de datos, sin embargo en este caso el mejor ajuste no lineal se realizó utilizando la ecuación para un inhibidor competitivo simple, considerando que el valor de χ^2 fue menor (Fig. 9).

INHIBICIÓN PARA EL COMPUESTO 792949

A continuación se analiza el tipo de inhibición para el compuesto 792949 sobre el transporte de citrato (Fig. 10). Se observa que el gráfico de Dixon para el compuesto 792949, muestra un comportamiento lineal con pendiente positiva, lo que sugiere que se trata de un inhibidor simple.

Sin embargo, para conocer el tipo de inhibición se puede usar el inverso de las velocidades

Figura 10.
Gráfico de
Dixon para el
compuesto
792949.

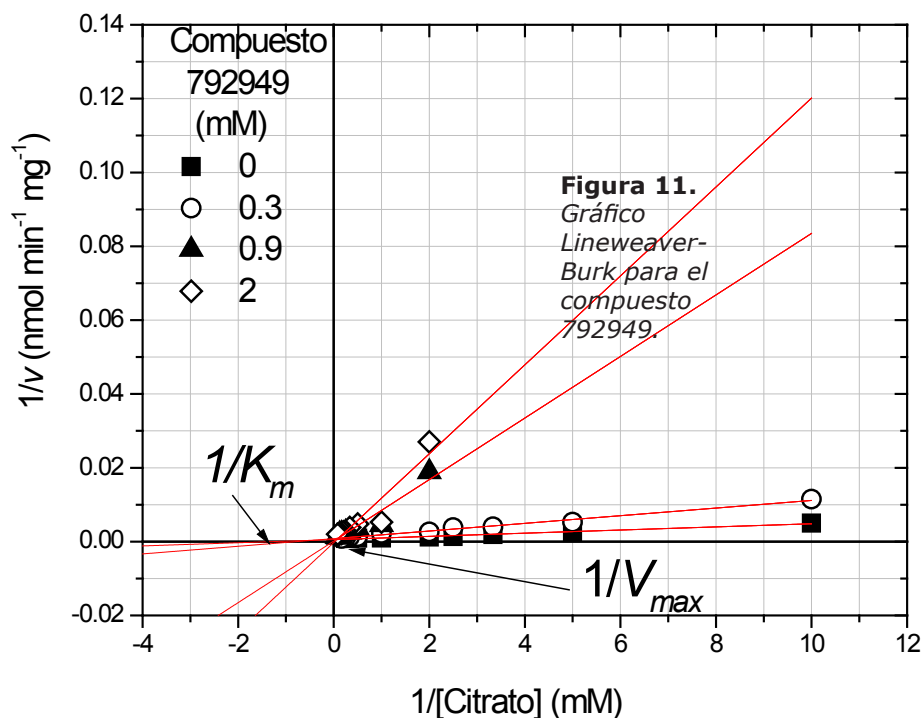


iniciales contra el inverso de la concentración de sustrato (gráfico Lineweaver-Burk) a diferentes concentraciones del compuesto 792949 (Fig. 11). Todas las rectas a diferentes concentraciones de inhibidor junto con la curva control se intersectaron en un punto sobre el eje $1/v$, el intercepto $1/V_{max}$. Además, conforme la concentración de inhibidor se

incrementa el intercepto sobre el eje $1/S$ se acerca al origen, esto es la K_m aumenta; este patrón sugirió que es una inhibición competitiva simple y que el compuesto 792949 es un inhibidor de tipo competitivo.

En el gráfico de dobles recíprocos (Fig. 11), se obtuvo una $V_{max} = 1545\text{ nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg proteína}^{-1}$,

Figura 11.
Gráfico
Lineweaver-
Burk para el
compuesto
792949.



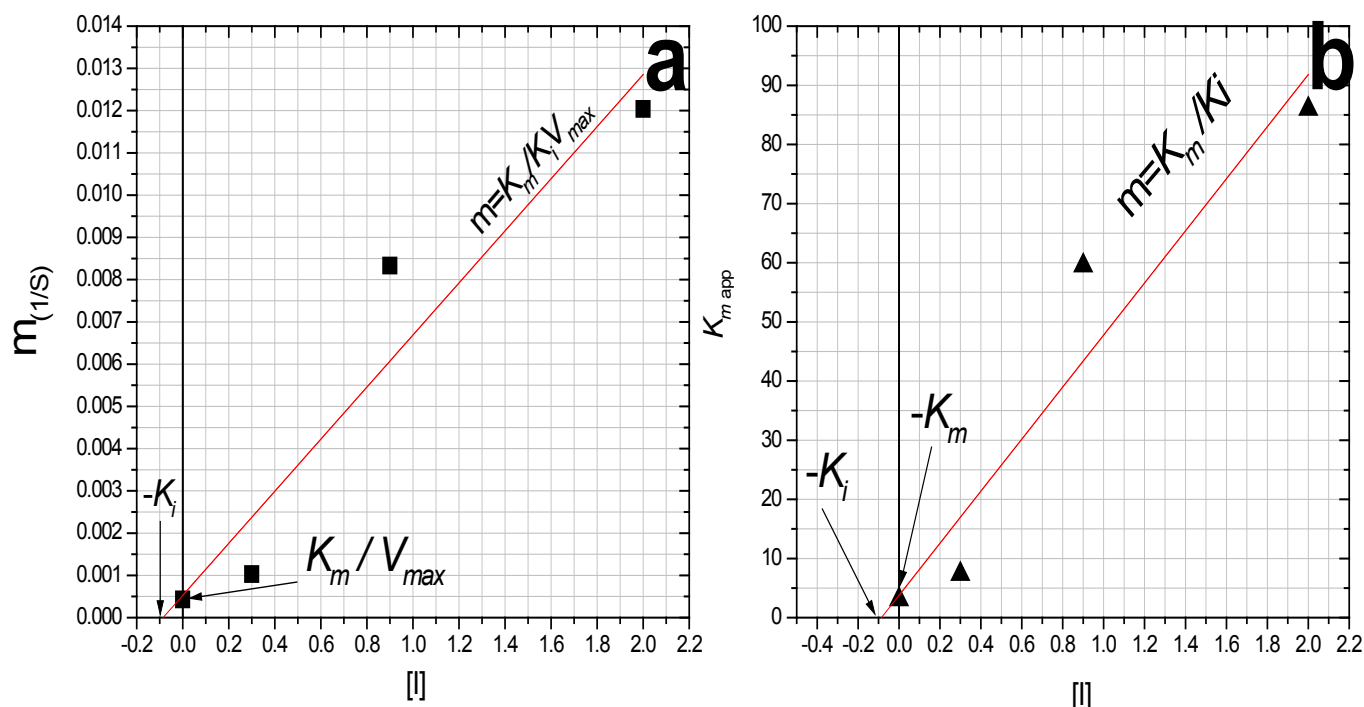


Figura 12. Regráfico a) $m_{1/S}$ versus $[I]$ o b) $b_{1/S}$ versus $[I]$ (a partir del gráfico Lineweaver-Burk para el compuesto 792949).

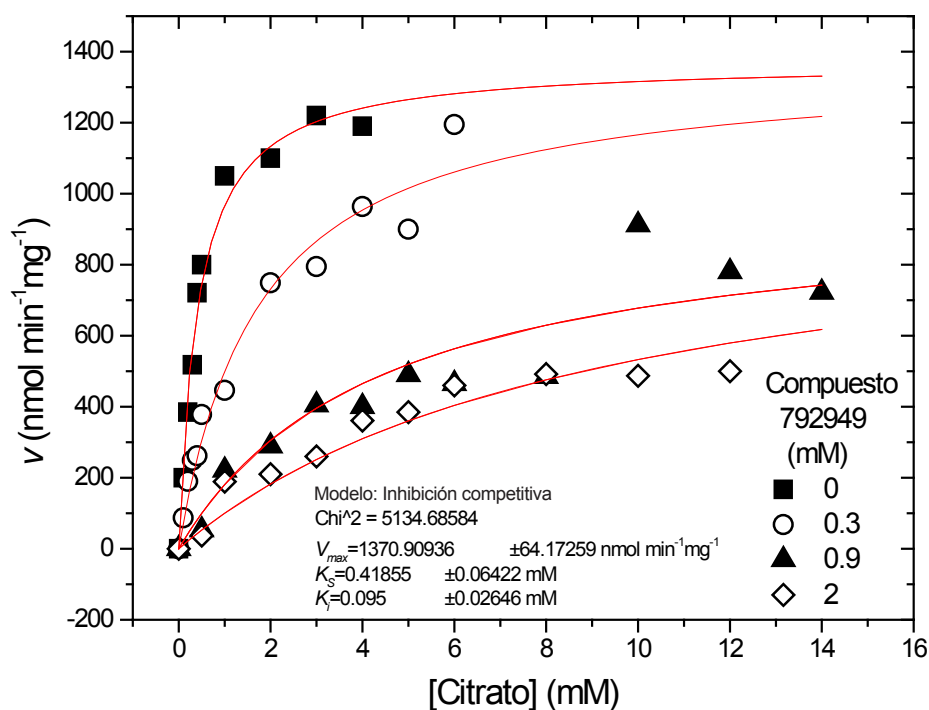
$K_S = 0.66$ mM para el compuesto 792949; sin embargo, para obtener la K_i es necesario realizar el regráfico de $m_{1/S}$ o K_m versus $[I]$. A partir de la figura 12 y considerando las ecuaciones 11, 13 y 14, se obtuvo que la $K_i = 0.064$ - 0.080 mM.

Con base en el patrón de líneas rectas obtenidas a partir del gráfico de Dixon y con el regráfico de

las pendientes, el cual parte del origen se sugiere que el compuesto 792949 es un inhibidor de tipo competitivo simple. Y utilizando las ecuaciones 15 y 16, se obtuvo la $K_i = 0.080$ mM.

También se realizó el ajuste no lineal para el inhibidor competitivo 792949 (Fig. 13) y se obtuvieron valores de V_{max} , K_S y K_i muy similares a los

Figura 13. Análisis por ajuste no lineal para el compuesto 792949.



obtenidos por los métodos lineales descritos.

Se puede decir que el compuesto 792949 es un inhibidor de tipo competitivo simple cuya unión al transportador no permite la unión del sustrato debido a que son mutuamente excluyentes (Tabla 1). Es posible que este nuevo compuesto pueda ser utilizado como otra alternativa para inhibir el CTP-Cys además del inhibidor clásico BTC, debido a que su K_s y K_i son similares. Sin embargo estos parámetros cinéticos fueron determinados en el CTP-Cys reconstituido en liposomas, es decir *in vitro* (, por lo que antes de utilizar estos compuestos *in vivo* se deben evaluar la permeabilidad y la toxicidad de este tipo de compuestos.

ANÁLISIS

En esta revisión se determinó el mecanismo cinético de inhibición del transportador CTP-Cys por BTC y por el compuesto 792949. Con base en el análisis realizado se puede decir que el BTC a concentraciones de citrato < 2 mM, es un inhibidor de tipo mixto parcial, mientras que el BTC a altas concentraciones de citrato actúa como un inhibidor competitivo simple. La diferencia en mecanismo de inhibición encontrado a bajas y a altas concentraciones de BTC, así como el compuesto 792949 fue un inhibidor competitivo simple habla de la importancia fisiológica que puede tener el transportador CTP en la regulación del metabolismo celular, específicamente en la reducción del transporte de un metabolito ya que permite la regulación de vías metabólicas, evitando la utilización de sustratos y formación de subproductos. Además la búsqueda y el análisis de los compuestos que inhiben una enzima o transportador y los que no, pueden proporcionar información sobre las propiedades de unión del transportador. Estos inhibidores también pueden proporcionar información sobre la especificidad de sustratos que podría ser útil en el estudio de vías metabólicas completas. Para esta evaluación se utilizaron tanto métodos por regresión lineal como el ajuste por regresión no lineal, debido a que el uso de uno solo de ellos puede arrojar un análisis poco confiable. De los métodos utilizados, el gráfico de Dixon permite predecir el tipo de inhibición, pero no es suficiente para distinguir entre inhibición mixta y competitiva, mientras

que a partir de la linearización de la ecuación para un inhibidor de tipo competitivo mediante el método de Lineweaver-Burk fue posible obtener los parámetros cinéticos como V_{max} , K_m . Sin embargo, estas manipulaciones matemáticas pueden resultar poco confiables debido a la distribución de los puntos experimentales a lo largo de las rectas como consecuencia de un ajuste poco satisfactorio debido a los rearrreglos realizados en la ecuación y del error presente en los datos originales (2). Por lo que para determinar con mayor precisión el mecanismo de inhibición mixto y competitivo para el BTC, así como la inhibición competitiva para el compuesto 792949 se realizaron los regráficos a partir de los gráficos de dobles recíprocos. Los regráficos lineales son útiles porque también permiten determinar el valor real de las constantes cinéticas como K_i , V_{max}/K_m y V_{max} , entre otras (2). Los datos aquí presentados también se analizaron por ajuste no lineal mediante el software Origin 5.0 a la ecuación que describe un mecanismo de inhibición mixto parcial y competitivo para el BTC con la finalidad de poder comparar entre estos mecanismos. Debido a que la χ^2 es más pequeña en el ajuste para la ecuación de inhibición competitiva y a que los errores experimentales y los valores de las constantes cinéticas determinadas a partir del ajuste (V_{max} , K_m y K_i) son mucho más reales que los obtenidos para el mecanismo mixto parcial. Se consideró como mejor ajuste el que corresponde a la ecuación del mecanismo de inhibición competitiva. Mientras que el ajuste para un inhibidor competitivo por regresión no lineal para el compuesto 792949, proporcionó parámetros cinéticos similares a los obtenidos por los métodos lineales.

CONCLUSIÓN

Esta revisión y el análisis realizado confirma que estos métodos no son excluyentes, por lo que la mejor forma para realizar el análisis cinético de una enzima y en este caso específico del transportador CTP-Cys fue utilizar de manera complementaria los métodos por regresión lineal y el ajuste no lineal; sin embargo, es necesario utilizar otras estrategias experimentales para confirmar el mecanismo cinético y el tipo de inhibición de los compuestos analizados. 

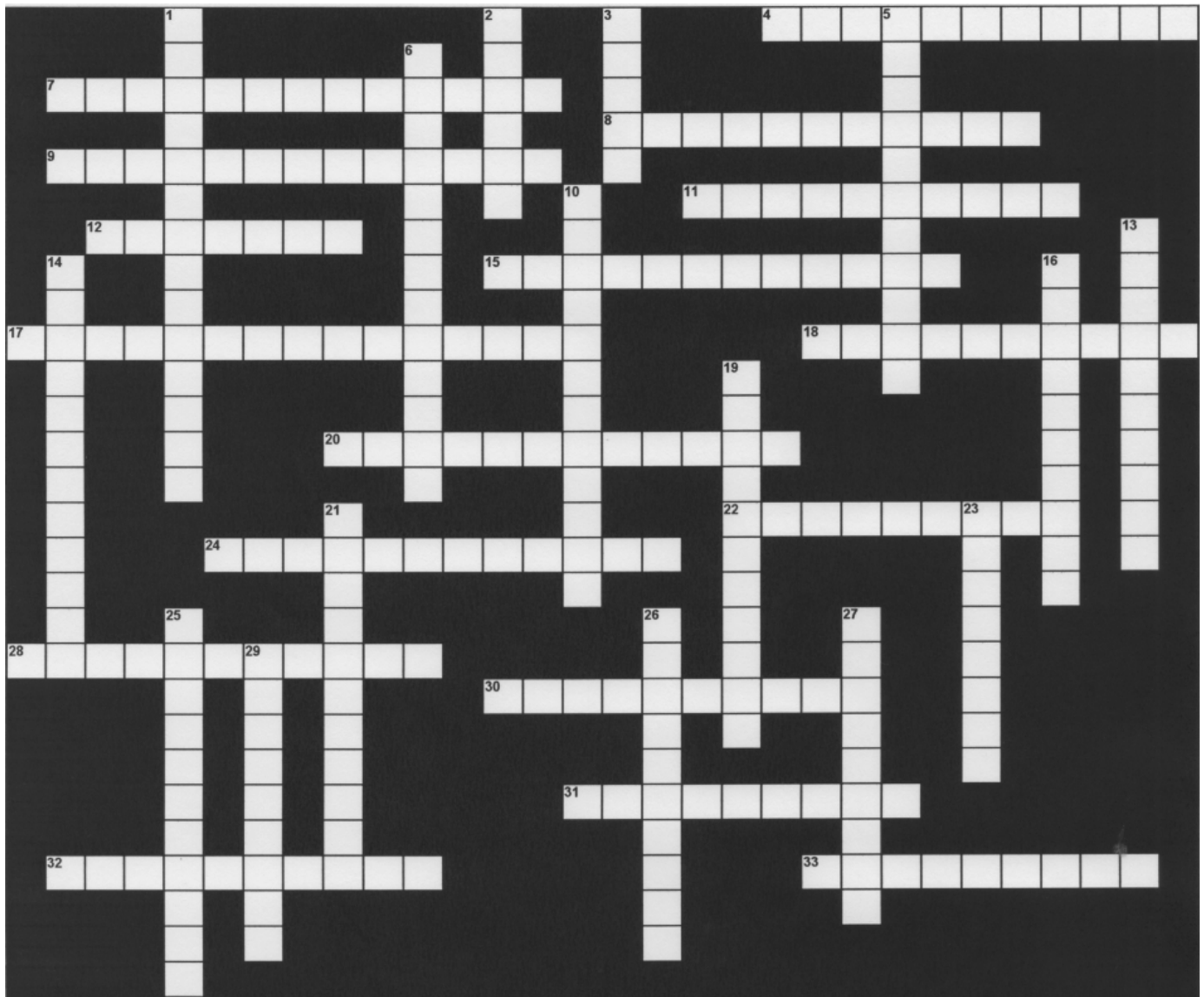
REFERENCIAS

1. Aluvila S, Sun J, Harrison DH, Walters DE, Kaplan RS.(2010) Inhibitors of the mitochondrial citrate transport protein: validation of the role of substrate binding residues and discovery of the first purely competitive inhibitor. *Mol Pharmacol* 77 (1): 26-34.
2. Segel I H (1975). *Enzyme Kinetics*, John Wiley and Sons, New York. pp. 957.
3. Keith Wilson and John Walker *Principles & Techniques of Practical Biochemistry*. 5th edition. Cambridge University Press 2000.
4. Marcus M. y B. HESS. 1976. The analysis of kinetic data in biochemistry a critical evaluation of methods. *FEBS Lett.* 63 (2): 225-230.

CRUCIBIOQ

ORIGEN DE LAS CÉLULAS

Yolanda Saldaña Balmori y Héctor Javier Delgadillo Gutiérrez
Correo E: balmori@laguna.fmedic.unam.mx



HORIZONTALES

- 4 Proceso bacteriano que está dividido en tres etapas: en la fase *lag* el proceso es lento y la biosíntesis proteica es elevada, en la etapa exponencial los nutrientes son metabolizados

hasta agotarse y en la tercera fase llamada estacionaria se reduce al máximo la actividad metabólica.

- 7 En un principio las bacterias _____ probablemente consumieron aminoácidos y azúcares para poder generar energía, después de su digestión, estas bacterias produjeron metano, alcohol y dióxido de carbono como producto de desecho.

- 8 Organismos procariotes llamadas bacterias verdaderas, generalmente unicelulares, anucleados, sin retículo endoplásmico, mitocondrias, lisosomas, ni membranas que proteja al material genético; algunos son patógenos como los cocos (neumococo, estafilococo, estreptococo) y los vibriones (colérico), además de algunos bacilos (lácticos) o las cianobacterias que son autótrofas.
- 9 Mecanismo por el cual se considera que se originaron las mitocondrias y los cloroplastos, las primeras porque una arqueobacteria ingirió a una proteobacteria la cual no fue digerida sino incorporada como el orgánulo presente en los eucariontes y los segundos por una relación semejante entre mitocondrias y cianobacterias.
- 11 Algunas bacterias Gram positivas pueden formar estas estructuras durmientes, no tienen un metabolismo observable y pueden sobrevivir a condiciones físicas y químicas extremas, en este estado, las bacterias pueden vivir durante millones de años, además pueden causar enfermedades, como el tétano producido por la contaminación de las heridas con estas estructuras de *Clostridium tetani*.
- 12 Filamento helicoidal de las bacterias formado por varias proteínas y utilizado para su desplazamiento, gira alrededor de 10,000 rpm y es impulsado por un motor que utiliza como energía un gradiente electroquímico a través de la membrana.
- 15 Debido a que estas estructuras y los cloroplastos poseen DNA propio que puede dividirse independientemente del resto de la célula, se apoya la hipótesis de que inicialmente fueron bacterias que invadieron a las células primitivas para establecer posteriormente una relación permanente con ellas.
- 17 Procariotas presentes en la Tierra desde hace unos 3,500 millones de años, pueden adaptarse a ambientes extremos, su nombre se debe a las condiciones de crecimiento que son semejantes a las de los primeros tiempos; en algunos, su pared celular es una capa paracrística de glucoproteína con simetría hexagonal, que no permite su lisis celular, en otros, su pared es de lípidos de membrana con enlaces éter; algunos representantes de este grupo son metanogénicas.
- 18 Las células de este tipo son relativamente autosuficientes ya que transforman la materia inorgánica del medio en el que se encuentran en materia orgánica para su sobrevivencia; el carbono proviene del CO₂ y el nitrógeno de nitratos y el azufre de sulfatos.
- 20 Bacterias anaeróbicas que posiblemente hayan sido de los primeros seres vivos, no podían elaborar su propio alimento y la energía la obtenían de procesos fermentativos; pueden degradar materia orgánica como celulosa, lignina, queratina y otras moléculas de difícil descomposición.
- 22 A los organismos anaerobios _____ les es tóxico el oxígeno ya que carecen de las enzimas catalasa, peroxidasa y superóxido dismutasa; como ejemplo de este grupo están las arqueas metanogénicas y las del género *Clostridium*.
- 24 El mecanismo de _____ de señales es el proceso por el cual las células, mediante receptores específicos, responden a la presencia de diferentes agentes del medio externo provocando ya sea una cascada de señalización o la ruta de segundo mensajero.
- 28 En este tipo de organismos el aceptor final de electrones es otro agente diferente del oxígeno (SO₂, NO₃ o CO₂); algunos de sus representantes ofrecen gran toxicidad como por ejemplo las bacterias *Clostridium*: el *C. tetani* (tétanos), *C. botulínica* (botulismo), *C. perfringens* (gangrena gaseosa) y *C. difficile* (colitis pseudomembranosa); por otro lado en este proceso se realizan las fermentaciones alcohólica y láctica.
- 30 Son las bacterias fotosintéticas que obtienen la energía para su crecimiento a partir de la luz solar y el carbono proviene del dióxido de carbono.
- 31 Son los organismos que sólo pueden desarrollarse en presencia del oxígeno; el tipo de metabolismo llevado a cabo por éstos, surgió durante las primeras etapas de vida en el Planeta debido a que en el recién iniciado proceso fotosintético se liberó gran cantidad de oxígeno con la consecuente toxicidad, de esa manera se pudo contrarrestar el posible daño oxigénico.
- 32 Mecanismo mediante el cual los organismos utilizan como sustrato a los compuestos químicos reducidos y que tienen al oxígeno como aceptor final de electrones, estas reacciones generan energía que se utiliza para la síntesis de ATP.
- 33 Es la rama de la biología que se dedica a la clasificación de los organismos: en un primer nivel están los reinos, después los *phyla*, las clases, los órdenes, las familias, los géneros y finalmente las especies.

VERTICALES

- 1** Procariotas de vida acuática, pueden formar estructuras filamentosas, es uno de los grupos más antiguos del planeta; una función muy importante es la fijación del nitrógeno al que transforman en amonio, nitratos y nitritos; poseen vesículas internas de gas que utilizan para regular sus posibilidades de flotación.
- 2** La teoría acerca del origen de la vida propuesta por este investigador, se apoya en que la atmósfera primitiva de la Tierra con altas concentraciones de CH_4 , H_2O , NH_3 e H_2 permitió la síntesis química de los primeros aminoácidos, los que al paso de millones de años integraron las proteínas; él propone que los coacervados tuvieron una participación en la evolución de las primeras células vivas.
- 3** La _____ está presente en algunos tipos de células y tiene como función proteger a la membrana además de ofrecer sostén estructural: en los vegetales está constituida por una mezcla de polisacáridos, en la levadura son polisacáridos con residuos de manosa y glucosa y en bacterias la constituyen lipoproteínas y lipopolisacáridos.
- 5** Órgano de células fotosintetizadoras, evolutivamente pudieron ser cianobacterias que confirieron sus propiedades a las células que en un principio les dieron alojamiento.
- 6** Constituido por una red de filamentos proteicos presente en el citosol de las células animales y vegetales, está constituido por microtúbulos, actina y filamentos intermedios, funciona como un soporte estructural y facilita el movimiento de orgánulos.
- 10** Nombre del mecanismo mediante el cual algunas bacterias llamadas autótrofas fueron capaces de elaborar su propio alimento en forma de carbohidratos mediante la energía del Sol, lo que dio lugar a la presencia del oxígeno en la Tierra.
- 13** La aparición de estas células con núcleo verdaderamente diferenciado y con caracteres bioquímicos propios se remonta a 1.2×10^9 años.
- 14** Proceso anaeróbico de oxidación incompleta que da lugar a productos como etanol, lactato, butirato; se debe a que los sustratos tienen mayor contenido energético que los productos, permitiéndose con ello que los organismos sinteticen ATP para su sobrevivencia.
- 16** Mecanismo presente en las células secretoras, se realiza como respuesta a una señal, que es el aumento en la concentración de Ca^{2+} que desencadena el proceso de fusión de las vesículas con la membrana plasmática, lo que conduce a la secreción de diferentes moléculas.
- 19** Sistemas constituidos por aminoácidos, proteínas y algunos carbohidratos que existieron en el océano primitivo; es posible que hayan sido los precursores de las primeras formas de vida sobre la Tierra.
- 21** Este mecanismo celular de nutrición implica la formación de vesículas que se forman con la invaginación de parte de la membrana que encierran líquido extracelular y su contenido, este último contiene macromoléculas que son digeridas y utilizadas por la célula.
- 23** Enfermedad ocasionada por la bacteria *Salmonella typhi* y *S. paratyphi* que se presenta con fiebre alta, bacteremia y cefalalgia, tumefacción de la mucosa nasal, lengua tostada, úlceras en el paladar, hepatoesplenomegalia, diarrea y perforación intestinal.
- 25** Células con ribosomas de tipo 70S, sin orgánulos citoplasmáticos delimitados por membranas, carecen de núcleo celular, mitocondrias, aparato de Golgi y retículo endoplásmico; el citoesqueleto bacteriano desempeña funciones de protección, determinación de la forma de la célula y en la división celular.
- 26** Son los organismos que tienen un nutrimento mineral, utilizan como donadores de electrones a compuestos inorgánicos: monóxido de carbono, amoniaco, iones metálicos reducidos entre otros, al ión ferroso.
- 27** Vesículas de las células eucariotas, funcionan tanto digiriendo al material que ingresa a la célula, como eliminando sus productos de desecho debido a la presencia de enzimas digestivas sintetizadas en el retículo endoplásmico y posteriormente son englobadas por el aparato de Golgi, estos orgánulos tienen un pH más bajo que el del resto de la célula, lo que la protege de la acción de estas hidrolasas.
- 29** Células que no tienen núcleo definido, generalmente tienen una pared celular formada por peptidoglucanos (polisacáridos unidos por aminoácidos D); algunas variedades son patógenas y pueden ocasionar enfermedades infecciosas como cólera, sífilis, difteria, lepra y tuberculosis entre otras; mientras que otras no patógenas intervienen en la fijación del nitrógeno atmosférico y en los metabolismos de azufre, hierro y fósforo.

PROBLEMA BIOQUÍMICO

David R. de Alba Aguayo y Angelica Rueda

Correo E: arueda@cinvestav.mx

Determinación del ciclo umbral y la eficiencia para la PCR cuantitativa en tiempo real

Introducción

Desde su implementación en 1985 (1) la reacción en cadena de la polimerasa (PCR del inglés "Polymerase Chain Reaction") ha sido extensamente empleada en la investigación. Esta técnica permite duplicar de manera exponencial una secuencia de ácido desoxirribonucleico (DNA) obteniéndose dos copias en cada ciclo de amplificación a partir de una cadena patrón de DNA. A lo largo del tiempo se han generado numerosas variantes de la PCR que permiten abordar diferentes estrategias experimentales, una de estas es la PCR cuantitativa en tiempo real (qPCR) que, mediante un termociclador acoplado a un espectrofluorómetro y haciendo uso de un agente intercalante fluorescente (como el SYBR Green) cuya fluorescencia aumenta

proporcionalmente con el aumento en la cantidad de DNA, nos permite cuantificar simultáneamente (en tiempo real) el número de copias que se están generando en cada ciclo de amplificación.

Existen dos variantes de qPCR, la primera es la qPCR de cuantificación absoluta que se basa en la elaboración de una curva de calibración que se construye mediante la determinación del ciclo umbral en diluciones conocidas de DNA y la segunda es la qPCR de cuantificación relativa que se basa en la relación entre los niveles de expresión de un gen de interés (GOI ó "Gene of Interest") con respecto a los niveles de expresión de un gen de referencia (Ref) que se expresa constitutivamente, ésta ultima estrategia de cuantificación es conveniente para investigar los cambios fisiológicos en los niveles de expresión génica (2).

La Figura 1A corresponde a una curva de amplificación representativa a partir de la cual es posible determinar el punto en el cual la fluorescencia de la

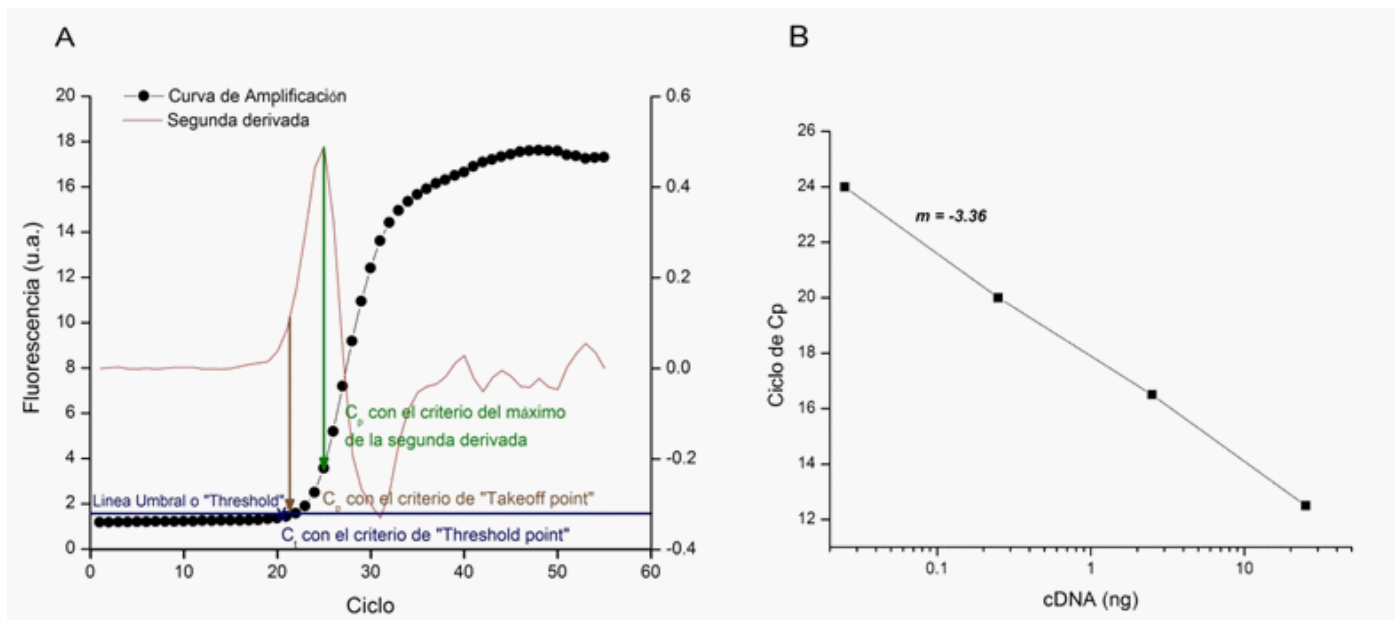


Figura 1. A) Curva de amplificación de qPCR (puntos negros) y segunda derivada correspondiente (línea roja) que muestra cómo se calcula de forma experimental el Ct o ciclo umbral con el criterio del "threshold point" (línea azul), o de forma matemática el Cp con el criterio del máximo de la segunda derivada (línea verde) o del 20% de ese máximo (línea café). B) Gráfica de Cp respecto a la dilución de cDNA (ng) para la determinación de la eficiencia de amplificación (3).

reacción sobrepasa la fluorescencia basal (umbral o "threshold"), y se considera como el punto en el cual la reacción de amplificación da comienzo. Este punto es conocido como C_p ("Crossing point") o C_t ("Threshold point" o ciclo umbral). El C_t es un valor definido de forma arbitraria por el usuario aunque es posible definirlo de forma matemática. Obteniendo la segunda derivada de la curva de amplificación, es posible definir el C_p como el ciclo que corresponde al valor máximo de la segunda derivada, adicionalmente, se puede definir el C_p como el punto de despegue ("takeoff point") que es el equivalente al 20% de ese máximo, ambos parámetros permiten encontrar de forma matemática el ciclo en el cual la fluorescencia aumenta significativamente con respecto a la fluorescencia basal.

Si se grafica el C_p obtenido con respecto a la dilución de cDNA correspondiente (en ng) se obtiene una curva de calibración (Fig. 1B) cuya pendiente permite calcular la eficiencia de la reacción de amplificación mediante la Ecuación 1 (3).

$$E = 10^{-1/m}$$

Ecuación 1 para el cálculo de la eficiencia en la amplificación de la qPCR (3). Donde E , eficiencia de la amplificación; m , pendiente.

Aunque comúnmente y con la finalidad de simplificar el análisis de la expresión relativa de un gen se asume que las eficiencias para todas las curvas son del 100%, es de vital importancia conocer la eficiencia real de la reacción y tomarla en cuenta al momento de calcular la expresión relativa del gen de interés, ya que al tratarse de un incremento exponencial en el número de copias se puede sobreestimar o subestimar los niveles de expresión relativa. Como ejemplo, una diferencia en la E o $\Delta E = 0.03$ dará una desviación en la relación de expresión del 46% si la $E_{GOI} < E_{ref}$ y de 209% si la $E_{GOI} > E_{ref}$ después de 25 ciclos (3).

Se han desarrollado diversos modelos matemáticos para el cálculo de la expresión relativa de un gen, uno de los más utilizados es el denominado delta delta C_t ($\Delta\Delta C_t$) (4) (Ecuación 2); sin embargo, su principal desventaja es precisamente no tomar en cuenta la corrección por cambios en la eficiencia de la reacción, asumiendo que siempre se tendrá una eficiencia del 100 % (4).

$$\text{expR} = 2^{-((C_{pGOI} - C_{pRef})_{Exp} - (C_{pGOI} - C_{pRef})_{Ctl})}$$

Ecuación 2 para el cálculo de la expresión relativa en la qPC (4). Donde expR , expresión relati-

va; Ctl , grupo control; Exp , grupo de tratamiento experimental; GOI , gen de interés; Ref , gen de referencia.

Otro método empleado para el cálculo de la expresión relativa del gen de interés es el propuesto por Pfaffl (3) (Ecuación 3). Este método sí toma en cuenta los cambios en las eficiencias de la amplificación y permite calcular de una manera más precisa la expresión relativa del gen de interés con respecto al gen de referencia (3). Este método es de gran utilidad pues también considera las variaciones intrínsecas entre los individuos de un mismo grupo experimental y no sólo las inducidas por las condiciones experimentales -previas y/o posteriores- debidas a algún tratamiento.

$$\text{expR} = \frac{(E_{GOI})^{(C_{pGOI}Ctl - C_{pGOI}Exp)}}{(E_{Ref})^{(C_{pRef}Ctl - C_{pRef}Exp)}}$$

Ecuación 3 para determinar la expresión relativa de un gen (3). Donde expR , expresión relativa; E_{GOI} , eficiencia del gen de interés; E_{Ref} , eficiencia del gen de referencia; ΔC_{pGOI} , diferencia del C_p del gen de interés del grupo control menos el C_p del gen de interés del grupo experimental ($C_{pGOI}Ctl - C_{pGOI}Exp$); ΔC_{pRef} , diferencia del C_p del gen de referencia del grupo control menos el C_p del gen de referencia del grupo experimental ($C_{pRef}Ctl - C_{pRef}Exp$).

Planteamiento experimental

Frecuentemente se define el C_t de forma arbitraria como se muestra en la Figura 1 (línea azul). Otro método rápido y sencillo para determinar el C_t consiste en calcular el promedio ($\bar{F}$) y la desviación estándar (DS) de la fluorescencia de los primeros ciclos de amplificación (se pueden usar los primeros 10 ciclos) y posteriormente realizar la suma del valor promedio calculado más 5 veces la DS para obtener un valor de fluorescencia umbral (C_{tf}) el cual se interpola en la curva de amplificación para determinar el ciclo que corresponderá al C_t (Ecuación 4).

$$C_{tf} = \bar{F} + 5DS$$

Ecuación 4 para determinar valor de fluorescencia umbral (C_{tf}) y determinar el C_t de una curva de amplificación de qPCR. Donde C_{tf} , fluorescencia umbral; $\bar{F}$, fluorescencia promedio de los primeros ciclos; DS , desviación estándar.

TABLA I

Número de ciclo (Ciclo) y valores de fluorescencia correspondientes (F), registrados a 522 nm para el *SYBR green* que se obtuvieron en una reacción de qPCR. Ref, gen de referencia; GOI, gen de interés; Ctl, control; Exp, condición experimental; *m*, pendiente.

Ref Ctl		Ref Exp		GOI Ctl		GOI Exp	
Ciclo	F	Ciclo	F	Ciclo	F	Ciclo	F
3	1.239	1	1.120	4	3.613	5	1.693
6	1.257	4	1.139	8	3.683	7	1.745
8	1.280	5	1.154	11	3.724	8	1.760
9	1.290	7	1.180	12	3.729	10	1.773
11	1.307	8	1.180	18	3.726	12	1.792
13	1.329	12	1.218	22	3.771	14	1.798
14	1.334	14	1.231	25	3.797	17	1.815
16	1.354	17	1.250	27	3.794	21	1.826
18	1.385	19	1.297	29	3.992	23	1.854
22	1.785	20	1.346	31	4.552	26	2.605
25	4.175	23	2.057	32	5.199	28	4.652
26	5.929	25	4.044	34	7.819	29	6.549
28	10.010	27	7.995	35	9.537	30	8.842
30	13.188	28	10.150	37	12.323	32	12.944
31	14.274	30	13.590	38	13.271	33	14.364
33	15.633	31	14.736	40	14.603	35	16.457
36	16.892	33	16.134	43	15.341	37	17.588
38	17.196	35	17.070	46	15.875	39	18.216
42	17.657	38	17.742	48	16.040	43	18.717
48	17.869	47	17.993	55	16.306	47	18.967
m	-3.955	m	-4.033	m	-3.917	m	-3.917

Datos

A continuación se presenta una tabla que contiene los resultados experimentales de una corrida de qPCR en un termociclador Rotor-Gene Q Serie 2.0.2. (Qiagen). Para el experimento se utilizaron 300 ng de cDNA en presencia de SybrGreen (Qiagen) más los *primers* específicos para un gen de referencia (en este caso GAPDH) y un gen de interés a una concentración final de 20 μ M, los *primers* fueron diseñados para amplificar regiones interexónicas en ambos casos. Las condiciones de reacción de la qPCR fueron las siguientes: 1 ciclo a 95°C por 5 minutos, 55 ciclos de 5 s a 95°C seguido de 10 s a 60°C y finalmente 1 ciclo de incremento de temperatura desde 60°C hasta 95°C.

Preguntas

- 1) Utilizando los datos de la Tabla I, grafica las curvas de amplificación tanto para el gen de interés como para el gen de referencia, en ambas condiciones (control y experimental), se . Se recomienda hacer uso de hojas milimétricas.
- 2) Calcula la *Ct* utilizando la Ecuación 4 para cada curva de amplificación.
- 3) Determina la eficiencia utilizando la Ecuación 1 para cada curva de amplificación y usando el valor de la pendiente (*m*) de la Tabla 1.
- 4) Calcula el cambio en la expresión relativa del gen de interés (GOI) con la ecuación de $\Delta\Delta Ct$ utilizando solamente los valores de *Ct* obtenidos.

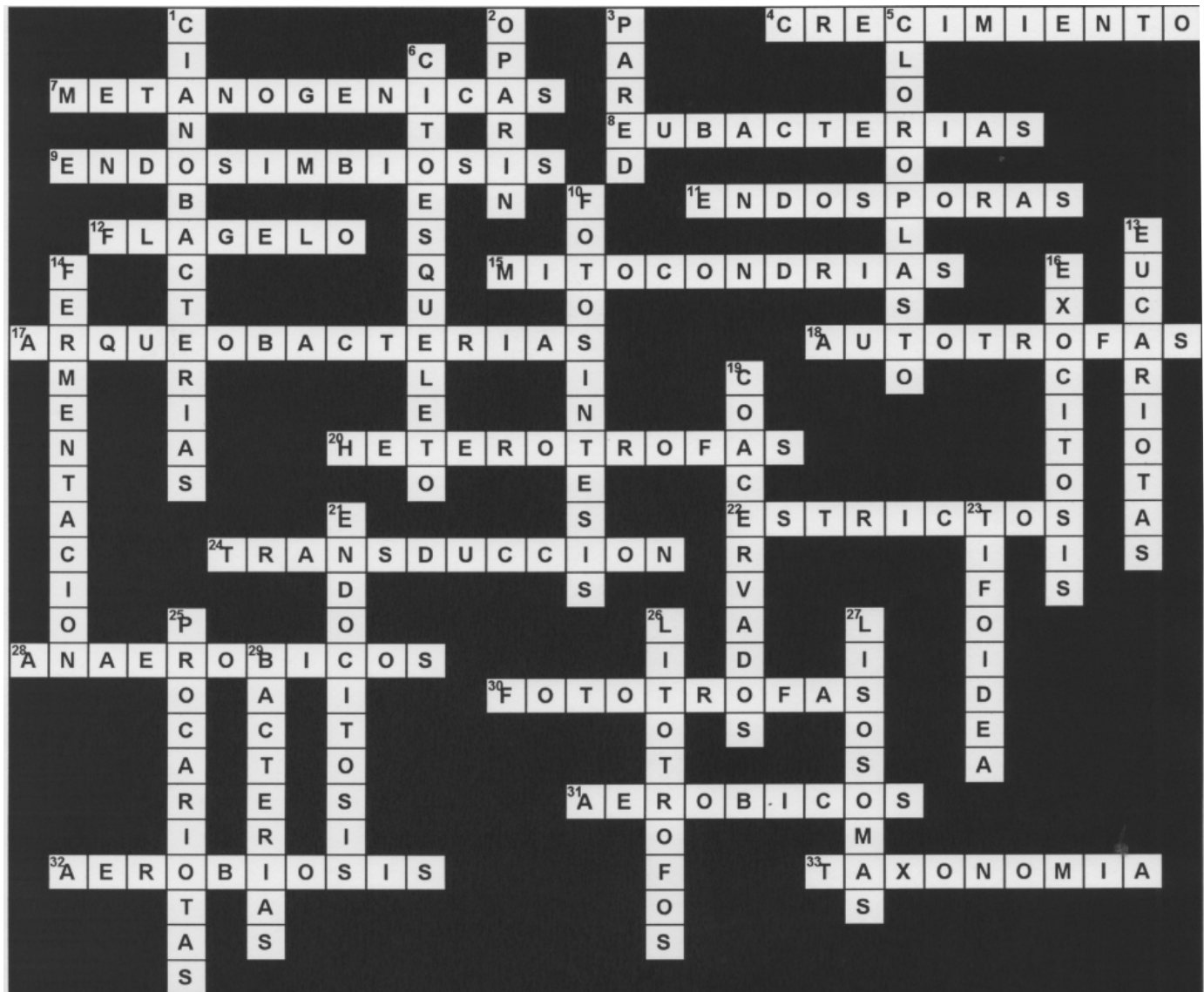
- 5) Calcula el cambio en la expresión relativa del gen de interés (GOI) con la ecuación de Pfaffl utilizando los valores de C_t y E obtenidos anteriormente.

Referencias

1. Saiki RK, Scharf S, Faloona F, Mullis KB, Horn GT, Erlich HA, Arnheim N (1985) Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* 230(4732):1350-4.
2. Pfaffl MW, Horgan GW, Dempfl L (2002) Relative expression software tool (REST) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR. *Nucleic Acids Res* 30(9): p. e36.
3. Pfaffl MW (2001) A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Res* 29(9): p. e45.
4. Livak KJ, Schmittgen TD (2001) Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C(T)}$ Method. *Methods* 25(4): p. 402-8.

SOLUCIÓN AL CRUCIBIOQ ORIGEN DE LAS CÉLULAS

Yolanda Saldaña Balmori y Héctor Javier Delgadillo Gutiérrez
Correo E: balmori@laguna.fmedic.unam.mx



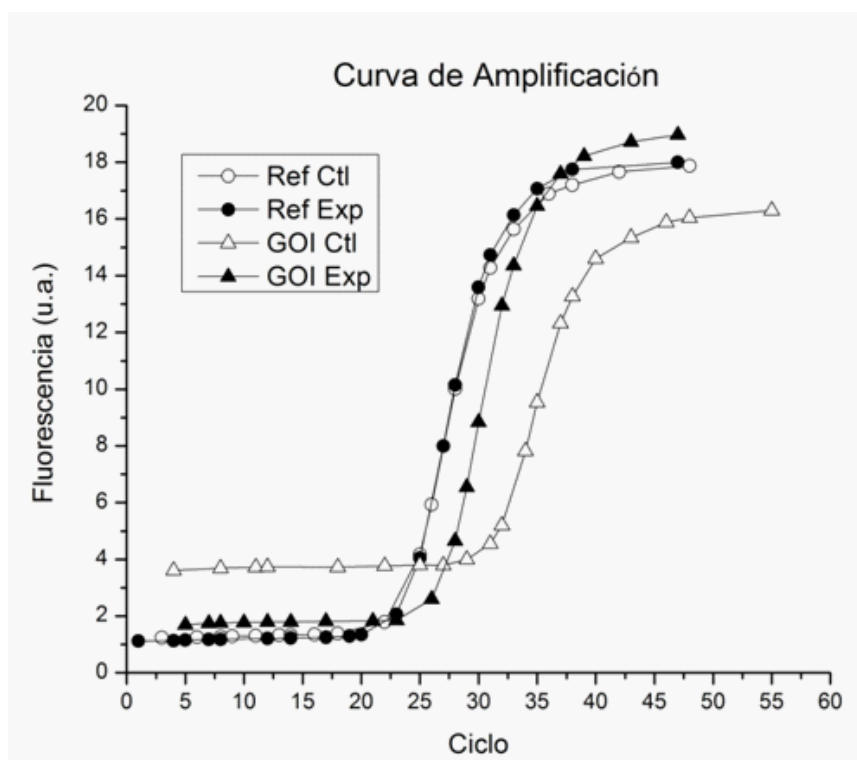
RESPUESTAS AL PROBLEMA BIOQUÍMICO

David R. de Alba Aguayo y Angelica Rueda

Correo E: arueda@cinvestav.mx

- 1) Graficando los valores de fluorescencia (eje Y: unidades arbitrarias, ua) vs el número de ciclo (eje X) para cada gen en ambas condiciones

(control, Ctl; y experimental, Exp) obtenemos la siguiente gráfica.



- 2) La Tabla II contiene los valores del promedio de fluorescencia de los primeros ciclos y la desviación estándar, para cada gen en ambas condiciones experimentales que sirven para

calcular la fluorescencia umbral (Ct_f) que nos permite determinar el ciclo umbral (Ct) con la Ecuación 4.

Tabla II

Variable	Ref CTL	GOI CTL	Ref Exp	GOI Exp
Promedio (primeros 9 o 10 puntos)	1.308	3.759	1.211	1.784
Desviación Estándar	0.047	0.105	0.072	0.048
Ct_f (u.a)	1.543	4.281	1.570	2.024
Ct (ciclo umbral)	19.600	29.900	20.900	23.700

- 3) La Tabla III contiene los datos calculados para la eficiencia de la reacción (E) mediante el uso de la Ecuación 1, para el gen de interés (GOI)
- y el gen de referencia (Ref) en ambas condiciones experimentales (control y experimental, CTL y Exp, respectivamente).

Tabla III				
Condición	GOI		Ref	
	<i>m</i>	<i>E</i>	<i>m</i>	<i>E</i>
CTL	-3.917	1.8	-3.955	1.79
Exp	-3.917	1.8	-4.033	1.77

- 4) Utilizando la Ecuación 2 obtenemos que la expresión relativa del gen de interés es de 181 veces más en la condición experimental con respecto a la condición control.
- 5) Por otra parte utilizando la Ecuación 3 obtenemos que la expresión relativa del gen de interés es de 81.5 veces más en la condición experimental con respecto a la condición control. Entonces, el cambio en la eficiencia si afecta las veces de expresión calculadas, de ahí la importancia de calcular la eficiencia real de la amplificación para no sobreestimar o subestimar las expresiones relativas de los genes de interés.



LA SOCIEDAD MEXICANA DE BIOQUÍMICA, A.C.

**Con base en el Artículo Sexagésimo Séptimo
de sus estatutos vigentes**

CONVOCA A TODOS LOS SOCIOS NUMERARIOS:

A presentar propuestas de candidaturas de socios numerarios para ocupar los puestos de Vicepresidente (uno), Subsecretario (uno) y Miembros de la Comisión de Admisión (cuatro) para el bienio 2013-2015. Las propuestas que realice la membresía deben hacerse llegar por escrito del 1 de abril al 31 de mayo a la Mesa Directiva actual (bienio 2011-2013) y estar firmadas (de puño y letra), acompañadas de un breve resumen curricular del candidato propuesto (una cuartilla) y de un escrito donde éste exprese su aceptación a participar en las elecciones. La propuesta o propuestas podrán ser enviadas desde un correo electrónico registrado en el directorio actualizado de la SMB o bien:

Enviar las propuestas por correo o mensajería a:

Sociedad Mexicana de Bioquímica, A.C.
Atención: Sra. Guadalupe Ramírez
Oficina SMB en el Instituto de Fisiología Celular, UNAM
Apdo. Postal 70-600
04510 México D.F.

por correo electrónico a: infosmb@ifc.unam.mx

La recepción de propuestas se cerrará durante la Asamblea General Ordinaria convocada para el día 6 de junio de 2013 a las 17:00 hrs en el Auditorio Antonio Peña Díaz del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM.

La convocatoria completa puede ser consultada en el portal de la SMB en la siguiente dirección:

<http://www.smb.org.mx>

Atentamente
Mesa Directiva 2011-2013

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

Con objeto de difundir el trabajo de los Profesores de Bioquímica y áreas afines e impulsar el intercambio de experiencia docentes y fortalecer la enseñanza de la Bioquímica

CONVOCA

A LOS PROFESORES A PARTICIPAR EN EL XXI CONGRESO NACIONAL DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA

Que se llevará a cabo los días 1 y 2 de agosto de 2013 en el Auditorio Fernando Ocaranza de la Facultad de Medicina, UNAM, Ciudad Universitaria. México D. F

El Congreso de la Asociación tiene como meta fortalecer la enseñanza de la Bioquímica y compartir las experiencias docentes, forma parte de las actividades de la Semana de Educación Bioquímica que junto con el XL Taller de Actualización Bioquímica se realiza con el apoyo del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNAM.

El eje temático central es **Evaluación educativa** que estará integrado por las participaciones de los profesores en las que expongan los métodos de evaluación que se ponen en práctica al enseñar Bioquímica en los diversos niveles educativos y profesionales del país, además de otros temas relacionados con la enseñanza.

Se invita a participar en este Congreso, al profesorado en general que imparte docencia en las diversas áreas en las que la Bioquímica forma parte de sus programas a participar.

BASES

- 1.- Podrán participar los(as) profesores(as) que imparten Bioquímica o áreas afines del nivel medio, medio superior, superior y posgrado.
- 2.- Las ponencias deberán ser propuestas en las que se haga énfasis en los aspectos didácticos preferentemente sobre los aprendizajes o contenidos de los programas vigentes, asociados con la realización de actividades frente a grupo, teóricas, experimentales, metodologías de aprendizaje, evaluación, planeación educativa, resultados educativos, competencias, materiales didácticos, tesis, entre otras.
- 3.- Todos los participantes en un trabajo deberán inscribirse al Congreso y asistir al evento, otorgándose el reconocimiento personal respectivo como ponente y asistente, siempre y cuando se cumpla con el requisitos de pago de la inscripción al Congreso.

4.- Para participar como ponente, se deberá enviar a más tardar el **20 de Junio de 2013**:

a.-El resumen del trabajo a presentar debe ser enviado a la dirección electrónica esther.revuelta@yahoo.com.mx el cual deberá estar elaborado de acuerdo al formato indicado en esta convocatoria (punto No. 8), con un máximo de 4 autores por trabajo; existe la posibilidad de aprobar un máximo de 5 trabajos para su presentación.

b.- Para profesores: el comprobante de pago bancario al Congreso (escaneado, cuidando de que el sello del banco esté en el anverso) por \$1000.00 (un mil pesos 00/100 MN) por participante y/o autor.

c.-Para estudiantes:

-Podrán asistir como ponentes al integrarse en trabajos que sean presentados por al menos un profesor participante en el Congreso, requiriendo el envío escaneado de identificación oficial que lo avale como alumno.

-Comprobante de pago bancario al Congreso (escaneado, cuidando que el sello del banco esté en el anverso) por \$500.00 (quinientos pesos 00/100 MN) por participante y/o autor.

La aportación incluye: para Socios, su inscripción como asistente y la renovación anual y para no Socios, su inscripción como asistente

5.- Las opciones de pago para participar como asistente únicamente son: Pago bancario de \$1000.00 (un mil pesos 00/100 MN) para profesores y \$500.00 (quinientos pesos 00/100 MN) para alumnos.

6.- El pago puede realizarlo en:

A.- Sucursal Bancomer al número de cuenta: 0133718123 a nombre de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica A.C. Enviando copia del voucher a la dirección electrónica esther.revuelta@yahoo.com.mx o a e-mail: ampbxampb@gmail.com (Conservar su voucher original para canjearlo por el recibo oficial de la asociación en fechas de Congreso).

B.-Pago personal en efectivo en las oficinas de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica A.C. en el Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNAM, con la Sra. Marivel Rojas, solicitando recibo oficial por dicho concepto.

C.- Las personas que sin ser ponentes asistan al Congreso y no hayan realizado su pago con anterioridad, podrán hacerlo en efectivo los días 1 y 2 de Agosto de 2013 en la mesa de Recepción del Congreso.

7.- Los trabajos participantes, se podrán presentar en las siguientes modalidades: ponencia oral (20 min) y en cartel.

8.- Para registrar ponencias orales y carteles se deberán enviar por escrito vía correo electrónico a la dirección: email: esther.revuelta@yahoo.com.mx el resumen del trabajo deberá tener una extensión de 3 a 5 cuartillas de acuerdo a las especificaciones siguientes:

Documento elaborado en Word versión 2003, 2007, letra Arial 12, interlineado 1.5 con siguiente formato:

- a.- ENCABEZADO: centrado, mayúsculas y minúsculas, (letra Arial 14 negrita, interlineado 1.5) que contenga:
- Título del trabajo a presentar
 - Autores (Apellidos, nombres)
 - Institución de procedencia.
 - Dirección de la Institución.
 - Direcciones electrónicas de los autores del trabajo.

b.- RESUMEN

c.- FUNDAMENTOS TEÓRICOS REFERENTES AL TEMA A PRESENTAR.

- d.- OBJETIVO(S)
- e.- METODOLOGÍA
- f.- RESULTADOS
- g.- DISCUSIÓN O ANÁLISIS DE RESULTADOS
- h.- CONCLUSIONES
- i.- REFERENCIAS

Indicar preferencialmente el tipo de presentación deseada: oral o cartel. Se notificará la modalidad de acuerdo a disponibilidad de espacios.

- 9.- Las presentaciones corresponderán a lo establecido en los Ejes Temáticos a tratar en este Congreso.

EJES TEMÁTICOS DEL CONGRESO:

- a.- *Evaluación (concepto y tipos).*
- b.- *Métodos de evaluación.*
- c.- *Evaluación por competencias.*
- d.- *Otros.*

- 10.- Los carteles se colocarán al inicio de la sesión y el o los autores deberán permanecer frente a ellos para su explicación, durante la franja horario en que sea programado.
- 11.- El registro se llevará a cabo a partir de la publicación de esta convocatoria hasta el 20 de junio de 2013, se les otorgará el orden de presentación conforme la recepción de los trabajos.
- 12.- Los trabajos serán revisados y en su caso, aceptados por el Comité Científico del Congreso, dándose a conocer el resultado del 25 de junio al 10 de julio de 2013.
- 13.- Cualquier situación no prevista en la convocatoria presente será resuelta por el Comité Organizador.

INFORMES

- María Esther Revuelta Miranda. Presidenta de la Asociación. (FES-Cuautitlán UNAM) Sección Bioquímica y Farmacología Humana .Campo I. Tel. celular 044 55 16 83 97 32 Correo E: esther.revuelta@yahoo.com.mx
- Juan Manuel Torres Merino. (FES-Cuautitlán UNAM) Sección Bioquímica y Farmacología Humana .Campo I. Teléfono 044 55 20 86 26 11. Correo E: torresmerino_manuel@yahoo.com.mx
- Marivel Rojas. Facultad de Medicina. UNAM. Tel 55 (55) 56 23 21 70 Correo E: amp_ac@bq.unam.mx



ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, A.C.

CONVOCA A LA COMUNIDAD ACADÉMICA NACIONAL A PARTICIPAR EN EL

XXI CONGRESO NACIONAL DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA

1 y 2 DE AGOSTO DE 2013

**A LLEVARSE A CABO EN EL AUDITORIO DOCTOR FERNANDO OCARANZA DE LA FACULTAD DE MEDICINA,
UNAM en CIUDAD UNIVERSITARIA**

TOPICO CENTRAL: "EVALUACIÓN EDUCATIVA"

Tópicos selectos en Bioquímica: Conferencias
magistrales

EJES TEMATICOS PARA PRESENTACIONES ORALES:

- A.-EVALUACIÓN, CONCEPTO Y TIPOS**
- B.-METODOS DE EVALUACIÓN**
- C.-EVALUACIÓN POR COMPETENCIAS**
- D.-OTROS.**

PRESENTACIONES EN CARTEL

Participación del profesorado de Educación Media Superior, Superior y Posgrado que imparte Bioquímica, Biología, Biología celular, Biología molecular, Nutrición, Química de alimentos, Fisiología, Farmacología, Genética y áreas afines, en compartir:

- Experiencias docentes
- Investigación educativa
- Intercambio académico
- Métodos de evaluación
- Materiales de apoyo a la docencia
- Enseñanza experimental
- Otros.

PARTICIPA, ASISTE, COMPARTE TU EXPERIENCIA

FECHA LÍMITE PARA INSCRIPCIÓN DE TRABAJOS: 20 DE JUNIO de 2013, formato en Word (2003, 2007), envío por correo electrónico. Ver Convocatoria

Informes e inscripciones:

María Esther Revuelta Miranda. Tel 044 55 16 83 97 32, e-mail: esther.revuelta@yahoo.com.mx

Juan Manuel Torres Merino. 044 55 20 86 26 11, e-mail: ampbxampb@gmail.com

Maribel Rojas. Tel (55) 56 23 21 70, e-mail: amp_ac@bq.unam.mx

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

La REB es una revista dedicada a la divulgación, difusión, discusión, análisis y presentación de resultados derivados de investigaciones originales en temas relevantes en el campo de la bioquímica y áreas afines. La Revista está dirigida a investigadores, profesores y estudiantes de posgrado, licenciatura y educación media superior. Los trabajos que se someten a evaluación para su posible publicación no deben de haberse presentado total o parcialmente en otras publicaciones.

Se aceptan únicamente contribuciones originales con estricto contenido científico en forma de artículos de investigación, de revisión, de crítica, de análisis y otras comunicaciones que tengan que ver con diversas formas de estimular el aprendizaje de la bioquímica y sirvan de apoyo a investigadores, profesores y alumnos, tanto en aspectos de investigación, académicos y de actualización.

I. Los artículos se deben ajustar a los siguientes lineamientos editoriales:

- 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 departamento, institución, ciudad, estado y 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) Resumen. Se deberán incluir dos resúmenes, uno en idioma español y uno en inglés (Abstract) de no más de 350 caracteres.
- 3) Palabras clave. Se deberá proporcionar de tres a seis palabras clave en idioma español y en inglés.
- 4) Texto. El artículo deberá ser escrito en el procesador de textos "Word", con una extensión máxima recomendada 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.
- 5) 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 para los artículos: 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, Ann Arbor, Michigan, USA, 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. 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 pueden presentarse en colores, con fondo y sombreado. Las tablas deben de estar en "Word" sin formatos especiales y 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 después de la reducción. En caso de emplear figuras previamente publicadas, deberá darse el crédito correspondiente y en su caso 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 y entre paréntesis (Fig. 2). Las tablas siempre llevarán la primera letra a mayúscula y entre paréntesis (Tabla 2).

7) Abreviaturas. Las abreviaturas seguirán las normas de la IUPAC, aquellas específicas o poco comunes deberán definirse entre paréntesis, la primera vez que se utilicen.

II. Otras comunicaciones incluyen: resúmenes de artículos científicos interesantes, relevantes o significativos, información científica o académica de interés general, avisos de reuniones académicas y cursos, problemas teóricos, ejercicios prácticos, juegos didácticos con orientación educativa, bolsa de trabajo o comentarios de artículos publicados previamente en la REB, cartas al editor, entre otras. Éstas deberán seguir los siguientes lineamientos:

- 1) El contenido deberá ser desarrollado en forma resumida y de una manera explícita.
- 2) Se aceptará un máximo de 10 referencias que se citarán entre paréntesis en el texto, como se indica en el inciso I-5. Se podrán incluir figuras o tablas, 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 lo menos por tres revisores seleccionados por el Comité Editorial a quienes se les enviará el trabajo con los

autores en anónimo y quienes en todo momento permanecerán anónimos para los autores y entre ellos; los revisores opinarán sobre la relevancia del trabajo en un lapso no mayor a un mes. Las correcciones y sugerencias de los revisores serán enviadas con anonimato entre ellos al Editor en Jefe. El resultado de la evaluación puede ser: rechazado, enviado para correcciones o aceptado. Una vez obtenida una evaluación global, el Editor en Jefe enviará las evaluaciones al autor responsable para que corrija e incorpore en el manuscrito las diferentes observaciones o en su caso, indique su opinión a observaciones que considere discutibles en los dictámenes de los revisores. El manuscrito corregido por los autores deberá ser devuelto a la Revista, en un lapso no mayor a 30 días naturales; de otra forma se considerará como un manuscrito enviado por primera vez. De ser necesario el Comité Editorial podrá enviar nuevamente el manuscrito corregido a los revisores para tener una nueva ronda de revisión, todo ello continuando con el anonimato. 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 indicar plenamente su adscripción con teléfono, dirección electrónica y postal para comunicaciones posteriores. En el texto del mensaje enviado se deberá 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. En el mismo texto se debe de aclarar que el trabajo no ha sido enviado a otra revista en su forma total o parcial, para su evaluación o que el mismo está en proceso de publicación en otra revista o en otro tipo de publicación. De igual manera se debe de aclarar que no existe conflicto de intereses entre los autores que envían el trabajo.