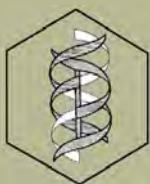


Revista de Educación Bioquímica

REB 2024



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



Sociedad Mexicana de
Bioquímica, A.C.

Departamento de Bioquímica
Facultad de Medicina
UNAM



Facultad de Medicina



EDITADO DESDE 1982 COMO BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA

COMITÉ EDITORIAL

EDITOR EN JEFE

JOSÉ VÍCTOR CALDERÓN SALINAS
Departamento de Bioquímica
Centro de Investigación y de Estudios Avanzados

EDITORES

FABIAN ARECHAVALETA VELASCO
Unidad de Investigación Médica en Medicina
Instituto Mexicano del Seguro Social

ARTURO BECERRA BRACHO
Facultad de Ciencias
Universidad Nacional Autónoma de México

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

KARLA GUADALUPE CARVAJAL AGUILERA
Instituto Nacional de Pediatría

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

VÍCTOR M. VALDES LÓPEZ
Facultad de Ciencias
Universidad Nacional Autónoma de México

ÁNGEL ZARAIN HERZBERG
Facultad de Medicina Universidad Nacional
Autónoma de México

EDITORES FUNDADORES

GUILLERMO CARVAJAL SANDOVAL
Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias
de 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

MARISELA AGUIRRE RAMÍREZ
Instituto de Ciencias Biomédicas
Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Chihuahua

MARÍA MALDONADO VEGA
Dirección de Planeación, Enseñanza e Investigación
Hospital Regional de Alta Especialidad del Bajío

JUAN RAFAEL RIESGO ESCOBAR
Instituto de Neurobiología, UNAM Campus Juriquilla,
UNAM

ERIKA TORRES OCHOA
Departamento Académico de Ingeniería en Pesquerías
Universidad Autónoma de Baja California Sur

EDICIÓN DE ESTILO

ROSA MARÍA LOZANO ORTIGOSA

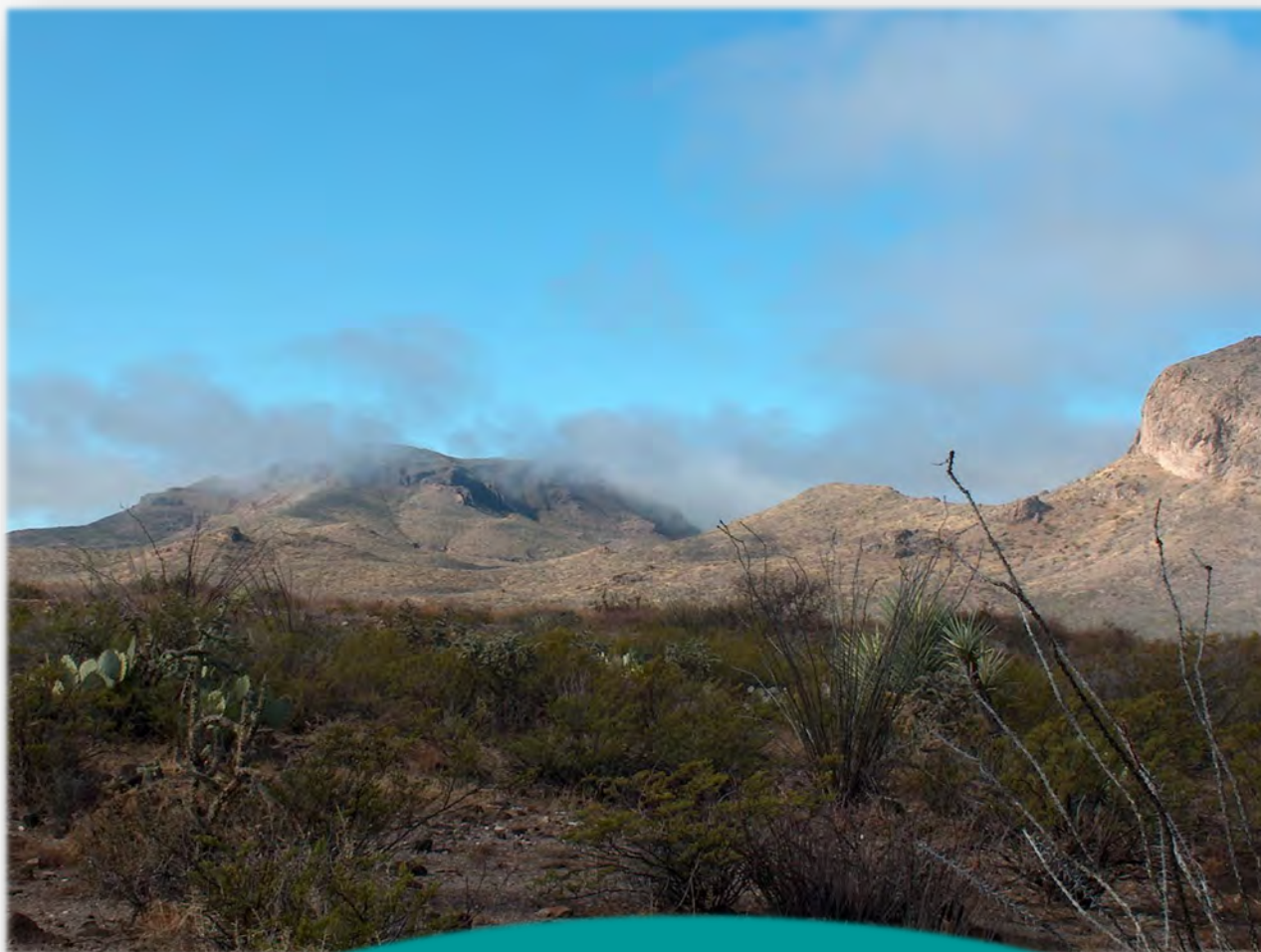
Publicación incluida por el Centro de Información Científica y Humanística de la
Universidad Nacional Autónoma de México.

REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA (REB), Volumen 43, Número 1, marzo de 2024, publicación trimestral, editada por Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A.C., Avenida Universidad No. 3000, Colonia Universidad Nacional Autónoma de México, Delegación Coyoacán, C.P. 04510. Ciudad de México, México. Correspondencia: Apartado Postal 70-281, Coyoacán, C.P. 04510, Ciudad de México, México. Correo E: reb@bq.unam.mx <http://www.facmed.unam.mx/publicaciones/ampb/index.html>
<https://rebeducation.wordpress.com/>

Editor responsable: Dr. José Víctor Calderón Salinas. ISSN: 1870-3690 y Reserva de derechos al Uso Exclusivo No. 04-2023-042414173600-203; ambos otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. Diseño: Rosa María Lozano Ortigosa. Disponible en marzo de 2024. El contenido de los artículos y las opiniones expresadas en ellos son responsabilidad de los autores y no reflejan necesariamente las del Comité Editorial. Se autoriza la reproducción parcial o total de los textos aquí publicados siempre y cuando se cite la fuente completa y la dirección electrónica de la publicación.

CONTENIDO

COMITÉ EDITORIAL	1	PROBLEMA BIOQUÍMICO	
CONTENIDO	2	Estimación del peso molecular de una proteína por electroforesis en gel de poliacrilamida	
EDITORIAL		<i>Hiram Lozano Ruiz</i>	
Contender con el estrés hídrico del planeta, un reto científico, tecnológico y político		<i>Angélica Rueda y Sánchez de la Vega</i>	48
<i>Rafael Camacho Carranza</i>			
<i>José Víctor Calderón Salinas</i>	3	ALGO MÁS QUE CIENCIA	
		Una luz en la oscuridad	52
		<i>Rosa María Lozano Ortigosa</i>	
ARTÍCULOS		<i>in memoriam</i>	
El factor liberador de corticotropina, las urocortinas y sus receptores: sus acciones más allá del estrés, la depresión y la ansiedad		Dr. Guillermo Álvarez Llera	
<i>Daphne Esperanza Cruz-Villarreal</i>		<i>Sara Morales Lopez</i>	57
<i>Carlos De Jesus-Quiroz</i>		<i>Rebeca E. Milán Chávez</i>	
<i>Richard Hauger</i>			
<i>Jesús Alberto Olivares-Reyes</i>	8	SOLUCIÓN AL CRUCIOBIOQ	
		Nucleótidos	60
		<i>Yolanda Saldaña Balmori</i>	
Las ROP GTPasas en las interacciones plantas-microorganismos		SOLUCIÓN AL PROBLEMA BIOQUÍMICO	
<i>Ivete García-Soto</i>		¿Cuánto ATP se produce en una mitocondria?	
<i>Mario Serrano</i>	25	<i>César Pastrana-Pineda</i>	
		<i>Jerónimo Gonze</i>	
		<i>Noé López</i>	
		<i>Emma Saavedra</i>	
OTRAS COMUNICACIONES		<i>Javier A. Belmont-Díaz</i>	62
CRUCIBIOQ		SOLUCIÓN AL PROBLEMA BIOQUÍMICO	
Nucleótidos		Estimación del peso molecular de una proteína por electroforesis en gel de poliacrilamida	
<i>Yolanda Saldaña Balmori</i>	35	<i>Hiram Lozano Ruiz</i>	
		<i>Angélica Rueda y Sánchez de la Vega</i>	67
Escasez del agua, salud y bienestar		Instrucciones para los colaboradores de la Revista de Educación Bioquímica	71
<i>Corín Hernández Palafox</i>			
<i>Verónica Mundo Rosas</i>	39		
PROBLEMA BIOQUÍMICO			
¿Cuánto ATP se produce en una mitocondria?			
<i>César Pastrana-Pineda</i>			
<i>Jerónimo Gonze</i>			
<i>Noé López</i>			
<i>Emma Saavedra</i>			
<i>Javier A. Belmont-Díaz</i>	42		



EDITORIAL
*Contender con el estrés hídrico
del planeta, un reto científico,
tecnológico y político*

tecnológico y político

EDITORIAL

CONTENDER CON EL ESTRÉS HÍDRICO DEL PLANETA, UN RETO CIENTÍFICO, TECNOLÓGICO Y POLÍTICO

El agua es la molécula más abundante en la superficie de nuestro planeta. El 5% de la masa de la corteza terrestre es agua; se encuentra en todas partes en forma líquida, sólida (hielo) o gaseosa (vapor), es esencial para la atmósfera y crucial para la vida. Existen organismos que pueden vivir sin oxígeno, pero no conocemos a ninguno que pueda vivir sin agua. Su abundancia y amplia distribución generaron el calificativo de “planeta azul” gracias a los grandes océanos, mares, lagos, lagunas y ríos, mismos que ocupan el 70% de la superficie terrestre, y a que la vista que se tiene de la Tierra desde el espacio es la de una impresionante esfera azul. Pero su importancia va más allá de la abundancia: sin agua, la vida en este planeta no hubiera podido aparecer, desarrollarse, sostenerse y seguir evolucionando.

El agua es una molécula muy pequeña, un átomo de oxígeno y dos átomos de hidrógeno (H_2O), apenas con un peso molecular de 18 Daltons, nada comparado con una molécula de hemoglobina cuyo peso molecular es 64,000 Daltons. Muchas de las características del agua dependen de que las moléculas se pueden estructurar entre ellas gracias a que la propia molécula tiene polaridad. Esto genera dos cargas parciales negativas hacia el oxígeno, por la atracción de los electrones hacia este átomo que es más electronegativo y deja una carga parcial positiva a cada hidrógeno. Esto permite que cada molécula de

agua se estructure con otras moléculas de agua acercándose con sus hidrógenos a los oxígenos de otras moléculas de agua y así sucesivamente hasta formar una estructura tipo cristal gracias a los llamados puentes de hidrógeno.

Estas estructuras se rompen y vuelven a formar a grandes velocidades (nanosegundos), lo que provoca que el agua esté en su forma líquida. Si bajamos la temperatura, estas estructuras se hacen más estables y reclutan a más moléculas; una vez que llegamos a la temperatura de solidificación (congelación), el agua toma su forma sólida (hielo); si aumentamos la temperatura, el hielo pasa a líquido (punto de fusión). Si se continúa aumentando la temperatura, las estructuras se hacen más débiles y se reclutan menos moléculas, hasta que se alcanza la temperatura de ebullición, donde el agua acelera notablemente su forma de vapor porque la molécula ya no se estructura con ninguna otra molécula y se convierte en gas. Es importante mencionar que la formación de vapor sucede a cualquier temperatura y presión, pero se acelera notablemente en el proceso de ebullición que se da con altas temperaturas y bajas presiones; de igual forma, al disminuir la temperatura, el vapor de agua se hace líquido (condensación).

En nuestro planeta, el 2 % del agua se encuentra en forma de hielo, la gran mayoría está en forma

líquida, pero con un intenso recambio con el vapor. Gracias al ciclo evaporación-precipitación se presentan 107,000 Km³ de lluvia por año y el agua total en la atmósfera se recicla completamente aproximadamente cada 10 días. Lo malo es que su distribución no es homogénea y la mayor parte de las precipitaciones cae en el mar.

También la estructuración del agua, su polaridad, y los puentes de hidrógeno permiten que el agua sea un disolvente, es decir, que en ella se puedan disolver muy diversos compuestos, a los que llamamos solutos polares. Estos solutos son de lo más diverso, tienen diferentes capacidades de disolución, tamaños, cargas y estructuras químicas. Esta capacidad de disolución del agua es una de sus características para permitir la vida, pero se puede convertir en dañina si lo disuelto es un tóxico o una toxina o cuando las cantidades disueltas de un compuesto son tan grandes que se convierte en perjudicial. En el agua también pueden vivir microorganismos y organismos más complejos, incluyendo grandes peces y mamíferos. Algunos microorganismos pueden ser nocivos y causar infecciones o producir toxinas al entrar en contacto con la piel o pueden ser ingeridos por otros organismos, incluyendo a los humanos y causar enfermedades e incluso la muerte.

El ejemplo de la sal común (cloruro de sodio) es muy ilustrativo. En nuestro plasma sanguíneo tenemos 9 g/L, mientras que en el agua de mar hay 32 g/L. Para los humanos, tener menos o más de 9 g/L en el plasma causa enfermedad y tener 32 g/L es mortal; es más, consumir agua con 32 g/L también sería mortal; por esta razón se debe desalinizar el agua de mar para poderse consumir. La llamada agua dulce contiene menos de 3 g/L. El problema es que en el planeta el agua dulce es muy escasa, sólo el 2.5%; el resto es agua salada y aún peor, el 1.9% del agua dulce está en glaciares y casquetes polares, el 0.5% está en aguas subterráneas y sólo el 0.02% está en aguas superficiales: lagos, lagunas, ríos y embalses.

Adicionalmente, el agua dulce no sólo tiene disuelto cloruro de sodio, también contiene múltiples compuestos, algunos de los cuales pueden ser tóxicos, por lo que a los escasos porcentajes de agua dulce que se pueden extraer (0.52% considerando las fuentes subterráneas) debemos agregar que ésta puede estar contaminada, por ejemplo, con arsénico, cadmio, mercurio o plomo y por organismos patógenos, por lo que se requiere de procesos complejos para convertirla en agua dulce potable, es decir satisfactoria para su consumo.

La vida depende del agua, no sólo porque en ella se disuelven los nutrientes y los compuestos de dese-

cho, sino también porque permite la estructuración en fases lipídicas que dan origen a las membranas celulares y con ello forma medios internos y externos como la membrana plasmática o la mitocondrial, entre otras. También gracias al ambiente acuoso se llevan a cabo eficientemente reacciones enzimáticas como el transporte, la señalización intra y extracelular y, por supuesto, la generación de energía.

El agua cumple un ciclo entre los organismos autótrofos y heterótrofos. Los autótrofos, gracias a la energía de la luz, rompen el agua para obtener electrones y protones que después utilizan para obtener energía (ATP) y cofactores reducidos (NADH y NADPH). Esto les permitirá, junto con el bióxido de carbono (CO₂), generar macromoléculas para su funcionamiento y crecimiento. Un producto adicional en esta ruptura de la molécula de agua es el oxígeno (O₂), que es liberado al medio. Los organismos heterótrofos, como los humanos, consumen alimentos cuyos nutrientes se disuelven en el agua, los rompen en el proceso de digestión, que requiere agua, los absorben, donde también interviene el agua, los distribuyen y redistribuyen a los diferentes órganos a través de sistemas acuosos y, junto con el agua intracelular, generan el crecimiento y las funciones propias de cada célula.

Para obtener energía, las células deben oxidar los nutrientes, obteniendo CO₂ como producto final y, como punto culminante, en la cadena respiratoria protones, electrones y O₂ forman agua y se obtiene la energía quimiosmótica que dará lugar a la síntesis de ATP. Con lo anterior se cierra el ciclo de los autótrofos consumiendo agua y CO₂ y generando macromoléculas (nutrientes) y O₂, mismo que emplearán los heterótrofos como alimento y oxidantes, que a su vez producen CO₂ y agua que utilizarán los autótrofos.

Lo descrito anteriormente son sólo unas cuantas funciones del agua en los organismos; el agua está involucrada en muchas más: la osmolaridad, el pH, la fuerza iónica, los gradientes de concentración, los potenciales de membrana, la transmisión nerviosa, la contracción, la eliminación de desechos por la orina o las heces, el sudor, por mencionar algunas.

En el humano, se requiere la ingesta de entre 2.5 y 3.5 L de líquidos al día, cantidad que considera cualquier bebida acuosa y el agua derivada de los alimentos (aproximadamente el 20%). Estos valores pueden incrementarse dependiendo de la masa corporal, las actividades, la temperatura del ambiente y la presencia de condiciones fisiológicas y fisiopatológicas particulares.

El agua dulce es sin duda un recurso básico e insustituible para el desarrollo de la humanidad, por lo que no es gratuito que las grandes civilizaciones se establecieron a las orillas de ríos como el Tigris, Éufrates, Nilo, Ganges, Volga, Huang He, Congo, Lena, Sena solo por nombrar algunos, o lagos como el Tanganica, Hurón, Malawi, Caspio, Victoria, Del Oso, Baikal, Michigan, entre muchos otros.

Se mencionó que la distribución de agua dulce es muy limitada y heterogénea. Hay zonas desérticas en Egipto que reciben 18.1 mm de lluvia al año, en contraste con la selva colombiana que tiene 3,240 mm; así, en el planeta hay lugares con lluvias escasas y otros con grandes inundaciones por desbordamiento de ríos. Como cualquier organismo, los humanos hemos dependido de las fuentes de agua para sostener las poblaciones. Sin embargo, nos encontramos actualmente ante un cambio climático que está modificando la distribución de este recurso, aumentando las diferencias y haciendo más extrema la sequía en algunos sitios y las inundaciones en otros; basta con recordar las sequías a finales de 2023 y principios de este año en España, Francia, Italia, EE. UU, sin olvidar a los países con mayor estrés hídrico: Bahrain, Kuwait, Qatar, San Marino, Singapur, Los Emiratos Árabes, Palestina e Israel. Lo anterior tarde o temprano obligará a la redistribución de las poblaciones en busca del agua disponible y la necesidad de agua generará conflictos sociales nacionales e internacionales.

En América, Chile y México son los países con mayor estrés hídrico (que se define como una demanda de agua superior a la cantidad disponible durante un periodo determinado de tiempo), sólo por debajo de países árabes claramente desérticos. México presenta grandes extensiones de su territorio en biomas desérticos o de chaparral. El estrés hídrico ya afecta a un porcentaje muy alto de la población: (10%) de 12.5 a 15 millones de habitantes no tienen acceso a agua potable y un 30% de quienes sí acceden al agua no cuentan con la cantidad ni la calidad suficiente, y el problema sigue en aumento.

En particular, la situación hídrica en México se está complicando rápidamente. Se estima que de no presentarse una fuerte temporada de lluvias para mediados de junio de este año (2024), el agua de las presas que alimentan el sistema Cutzamala se termine. Este sistema es una fuente importante que aporta el 26% del agua de la Ciudad de México y parte del Estado de México, donde viven unos 26 millones de personas. Hoy día, las presas del sistema Cutzamala están a un 39% de su capacidad.

Pero esta situación de alerta no es sólo para la región central del país; las 210 presas más importantes, que almacenan el 92% del agua disponible, se encuentran, en promedio, al 51% de su capacidad.

Estos datos, resaltan la importancia de implementar un uso racional y cuidadoso del agua. Para hacerlo, es necesario conocer cómo se emplea el agua para establecer las medidas adecuadas y no sólo acciones, que, si bien tranquilizan la conciencia social del público, son de poco impacto ante la problemática existente. Conciencia y acciones que tienen retrasos de por lo menos 50 años, cuando ya se alertaba de las consecuencias de no generar políticas públicas eficientes, tecnificar los sistemas de riego, invertir en mantenimiento de redes, diversificar las fuentes de abastecimiento y mejorar la socialización de la necesidad de utilizar el agua racionalmente; conciencia de un futuro que nos está alcanzando ahora con mayor rapidez.

En México se emplea el 14.66% del agua para uso público y urbano, esto es del orden de 13,127.77 hectómetros³ (hm³), pero sólo el 0.04% tiene uso doméstico, por lo que el ahorro que se hace en casa, si bien es útil y correcto, tiene poco impacto en el balance total. Es importante mencionar que sólo cinco entidades: Michoacán de Ocampo, Estado de México, Chihuahua, Jalisco y Querétaro, consumen el 68% de ese 0.04% de uso doméstico. La acuicultura emplea el 1.31% del total nacional, y sólo Nayarit hace uso del 30.26% de ese 1.31%. El uso agrícola del agua merece una atención especial; aquí se emplea el 67.52% del recurso total (60,460.3 hm³), mientras que el uso industrial requiere el 3.07%. Hay otro uso intermedio, entre industrial y agrícola, el uso agroindustrial que es el agua empleada para la transformación agropecuaria, y sólo emplea el 0.006% del agua nacional. El comercio emplea el 0.0002%, el pecuario un 0.26%, servicios el 1.9% y las termoeléctricas el 4.57%. En total, en estos 8 sectores se consume el 93.4% del total del agua del país.

También es de importancia considerar la huella hídrica de generar alimentos naturales y derivados de las industrias, sólo unos ejemplos: generar un Kg de lechuga gasta 237 L de agua; un Kg de tomate, 214 L; una docena de huevos, 12,300 L; un L de leche, 1,000 L; 1 Kg de carne de res, 15,000 L; una botella de vino, 720 L; una *pizza*, 1,250 L y, una hamburguesa, 3,500 L. No les abrumaremos más con cifras sólo mencionaremos que la construcción de un automóvil gasta en promedio 4,000 L y un teléfono celular, 70 L. Una persona en promedio gasta 100 L de agua al día entre consumo y aseo.

Es urgente tecnificar el riego del campo en México; esto es una necesidad impostergable para tratar de amortiguar el catastrófico impacto de la sequía del país. Según el Colegio Oficial de Ingenieros Agrónomos de Levante (COIAL), Madrid España, el riego por goteo permite ahorrar del 30 al 60% del agua que se emplea por métodos de aspersión o inundación por canal, como se usa en México en gran proporción (mayor al 70%). Si consideramos que el 67.52% del agua en México se emplea en la producción agraria, el poder ahorrar el 20% de esta agua, resolvería el problema de abasto para el uso público, urbano y doméstico ya que se dispondría de 17,908.8 hm³ adicionales a los 13,163.59 hm³ que se requieren básicamente.

Otro punto importante sobre el que se ha llamado la atención es la vigilancia del uso del agua para la generación de energía eléctrica. Según la Agencia Internacional de Energía es posible atribuir a la producción primaria de energía eléctrica aproxima-

damente el 10 % del volumen total de extracciones de agua en todo el mundo, y de acuerdo con la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos, se anticipa que la demanda de agua crezca hasta en un 55% para 2050, en comparación con los niveles registrados en el año 2000. Por tanto, es imperativo que los sistemas de producción, enfriamiento y conducción de energía en México se mantengan en constante modernización buscando no incrementar el consumo de agua de las termoeléctricas, el cual se ubica actualmente en el 4.57%.

El reto para atender el estrés hídrico en México y en el mundo es muy grande y no está por llegar, lo tenemos encima. Para afrontarlo, se requiere de la formación de recursos humanos de alto nivel, la aplicación de tecnologías de vanguardia y de políticas públicas enérgicas, las acciones decididas y responsables en la industria y la agricultura. Si no actuamos, será inevitable un mayor sufrimiento de las poblaciones. 

Dr. Rafael Camacho Carranza
Instituto de Investigaciones Biomédicas UNAM
Editor de la REB
rcamacho@iibiomedicas.unam.mx

Dr. José Víctor Calderón Salinas
Departamento de Bioquímica Cinvestav
Editor en Jefe de la REB
jcalder@cinvestav.mx

Carbajal Azcona A, González Fernández M. Propiedades y funciones biológicas del agua. En: Agua para la salud, pasado, presente y futuro. Vaquero y Toxqui, Eds. CSIC. 2012. ISBN: 978-84-00-09572-7. P. 33-45.

Uso del Agua en México. CONAGUA.
<https://sinav30.conagua.gob.mx:8080/UsosAgua/#/publico>

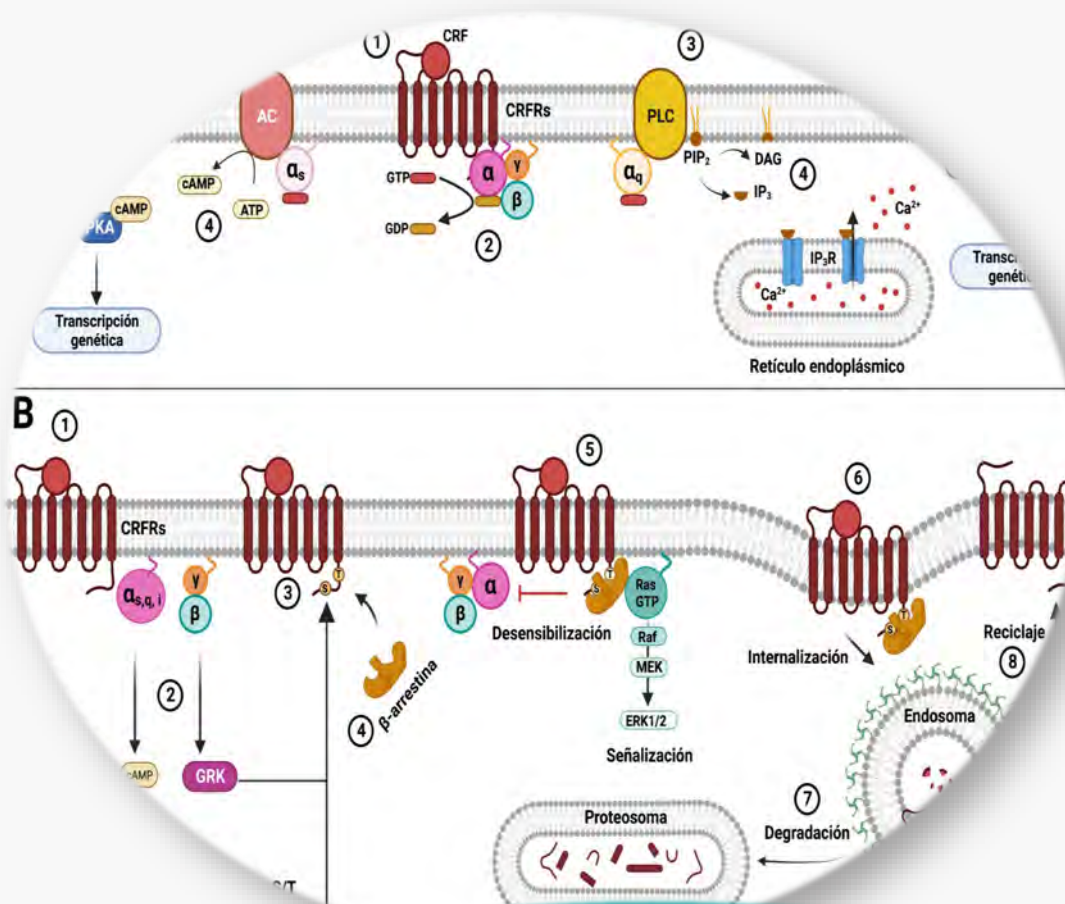
Los países con mayor escasez de agua del mundo. Fundación Aquae <https://www.fundacionaquae.org/wiki/ranking-de-paises-con-escasez-de-agua/>

210 presas más importantes del país, que almacenan el 92% del agua, se encuentran al 51% de su capacidad. El Financiero.

<https://www.elfinanciero.com.mx/cdmx/2024/02/01/llego-el-dia-cero-a-cdmx-y-edomex-presas-del-cutzamala-se-estan-quedando-sin-agua/>

El nexa agua-energía en plantas termoeléctricas. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua.

<https://www.gob.mx/imta/es/articulos/el-nexo-agua-energia-en-plantas-termoelectricas?idiom=es>



ARTÍCULO DE REVISIÓN

El factor liberador de corticotropina, las urocortinas y sus receptores: sus acciones más allá del estrés, la depresión y la ansiedad

más allá del estrés, la depresión y la ansiedad

ARTÍCULO DE REVISIÓN

EL FACTOR LIBERADOR DE CORTICOTROPINA, LAS UROCORTINAS Y SUS RECEPTORES: SUS ACCIONES MÁS ALLÁ DEL ESTRÉS, LA DEPRESIÓN Y LA ANSIEDAD

Daphne Esperanza Cruz-Villarreal* (1), Carlos De Jesus-Quiroz* (1),
Richard Hauger (2,3), Jesús Alberto Olivares-Reyes** (1)

(1) Departamento de Bioquímica, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, Ciudad de México, México. (2) Center of Excellence for Stress and Mental Health, VA Healthcare System, San Diego, CA, USA. (3) Department of Psychiatry, University of California, San Diego, San Diego, CA, USA.

*Ambos autores contribuyeron de igual forma en el presente manuscrito

**Autor de correspondencia E: jolivare@cinvestav.mx

RESUMEN

El factor liberador de corticotropina (CRF) y las urocortinas (Ucns), constituyen una familia de neuropéptidos con una función crítica en la regulación de la respuesta adaptativa al estrés, al modular la actividad del eje hipotalámico-pituitario-suprarrenal (HPA) en el sistema nervioso central (SNC). Las acciones de estos neuropéptidos se inician al unirse a receptores transmembranales denominados CRF tipo 1 (CRF₁R) y tipo 2 (CRF₂R), expresados en diferentes regiones del SNC y en tejidos periféricos. Además de regular al eje HPA, el CRF y las Ucns son importantes mediadores de procesos fisiológicos y fisiopatológicos de los sistemas nervioso central, cardiovascular, gastrointestinal, inmunológico, endocrino y reproductivo. Las alteraciones en las vías de señalización activadas por el CRF y las Ucns, no sólo se relacionan con el desarrollo de enfermedades asociadas al estrés, como la ansiedad y la depresión, sino también con la insuficiencia cardíaca, la hipertensión arterial, diversos desórdenes gastrointestinales, trastornos alérgicos e inflamatorios, además de obesidad y síndrome metabólico. En esta revisión se abordarán los mecanismos de acción y regulación del CRF, sus péptidos relacionados y sus receptores, así como su participación en la regulación de las respuestas al estrés y sus acciones en la periferia.

PALABRAS CLAVE

Eje hipotalámico-pituitario-suprarrenal;
receptores para CRF;
CRF y acciones cardiovasculares;
CRF y metabolismo;
CRF e inflamación;
CRF y COVID-19

ABSTRACT

The corticotropin-releasing factor (CRF) and urocortins (Ucns) constitute a family of neuropeptides with a central role in the regulation of the adaptive stress response by modulating the activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis in the central nervous system (CNS). Their actions require binding to and activating transmembrane receptors named CRF₁R and CRF₂R, expressed in different regions of the CNS and peripheral tissues. In addition to their role in regulating the HPA axis, CRF and Ucns are critical mediators of physiological and pathophysiological processes in several systems, namely CNS, cardiovascular, gastrointestinal, immunological, endocrine, and reproductive. Recent studies have shown that alterations in CRF and Ucns signaling are related to the development of stress-related diseases, such as anxiety and depression, and other types of clinically relevant conditions, such as cardiovascular diseases, arterial hypertension, gastrointestinal and inflammatory disorders, allergic-type disorders, obesity, and metabolic syndrome. This review addresses the mechanisms of action and regulation of CRF, its related peptides, their receptors, and their role in regulating stress responses and actions in the periphery.

KEYWORDS

Hypothalamic-pituitary-adrenal axis;
CRF receptors;
CRF and cardiovascular actions;
CRF and metabolism;
CRF and inflammation;
CRF and COVID-19

INTRODUCCIÓN

El estrés es un estado de alteración de la homeostasis del organismo ocasionado por factores que desafían el equilibrio óptimo del organismo, y que pueden ser extrínsecos o intrínsecos, reales o percibidos [1]. Cuando los factores estresantes se presentan de forma aguda (limitados en tiempo y repetición) desencadenan en el organismo cambios neuroendocrinos, autonómicos y conductuales que tienen como objetivo responder con conductas de lucha o huida. La activación del sistema cognitivo emocional permite tomar decisiones en el proceso de afrontamiento del estrés [2]; a la vez, el organismo produce temporalmente catecolaminas y glucocorticoides (GC) para mejorar la movilidad y la capacidad de respuesta al estrés [3]. Por lo tanto, el estrés agudo suele ser benéfico para el organismo [2]. En conjunto, estos mecanismos son conocidos como “respuesta al estrés”, la cual está mediada por una compleja y organizada red de comunicación entre diferentes sistemas del organismo [4]. De esta forma, la respuesta al estrés permite la supervivencia en eventos amenazantes y su regulación es crítica, ya que si los factores estresantes se presentan de manera crónica (sin limitación en tiempo y frecuencia) se originan efectos altamente perjudiciales en funciones como el crecimiento, el metabolismo, la reproducción y la respuesta inmunitaria [1, 5]. El estrés crónico está estrechamente

asociado a problemas de salud, y hoy en día se considera que abarca tanto el estrés laboral como el inducido por situaciones adversas poco frecuentes. Sus posibles efectos negativos incluyen insomnio, trastornos gastrointestinales, ansiedad y depresión, así como un mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares, trastornos mentales y cáncer [2, 3].

Sistemas de respuesta al estrés

Dos de los sistemas críticos para modular la respuesta al estrés son el sistema simpático suprarrenal (SSR) y eje hipotalámico-pituitario-suprarrenal (HPA). El sistema SSR es responsable de la primera fase de la respuesta al estrés, en la que la liberación de arginina-vasopresina (AVP) por el hipotálamo induce la activación de neuronas noradrenérgicas del *locus coeruleus* (LC), un núcleo localizado en el tallo cerebral, modulando respuestas inmediatas de lucha o huida por acción de la norepinefrina y la epinefrina. Además, se presenta una rápida adaptación fisiológica, como los estados de alerta y vigilancia, y la evaluación de la situación, lo que permite la toma de decisiones estratégicas para enfrentar los retos de la fase inicial de un evento estresante [5]. El segundo sistema, el eje HPA, interviene en la segunda fase de la respuesta al estrés e implica un mecanismo de secreción hormonal amplificado y de larga duración [1, 5]. La activación del eje HPA conlleva a la producción del factor liberador de corticotropina

(CRF, también conocido como CRH, hormona liberadora de corticotropina) en el núcleo paraventricular del hipotálamo (PVN). El CRF se une a receptores localizados en la glándula pituitaria anterior para inducir la síntesis y posterior secreción al torrente sanguíneo de la hormona adrenocorticotrófica (ACTH). La ACTH estimula la producción de GC (cortisol en humanos y corticosterona en roedores) en las glándulas suprarrenales. El cortisol regula distintos eventos funcionales de la respuesta al estrés, entre ellos la movilización de reservas energéticas, aumento de las capacidades cardiovascular y pulmonar, la inmunosupresión y la disminución de procesos digestivos y reacciones anabólicas. Mediante un mecanismo de retroalimentación negativa, el cortisol controla la actividad del eje HPA, al unirse a receptores presentes en el hipotálamo y la glándula pituitaria e inhibir la liberación de CRF y ACTH.

Sin embargo, la presencia crónica de factores estresantes conduce a un aumento en la síntesis del CRF y de la vasopresina, así como a hipersecreción de GC e hipertrofia suprarrenal. Además, el incremento crónico de GC se encuentra estrechamente relacionado con un aumento en los niveles del ácido ribonucleico mensajero (mRNA) del CRF en los depósitos de grasa abdominal, lo que conlleva un riesgo elevado de desarrollo de obesidad y alteraciones metabólicas [3]. Se ha reportado también expresión reducida de los receptores a glucocorticoides (GR) en órganos críticos para la retroalimentación negativa, produciendo hiperactividad del eje HPA, asociada al desarrollo de distintas patologías como el síndrome metabólico, diabetes mellitus tipo 2 (DM2), el síndrome de Cushing, depresión, anorexia nerviosa, y ansiedad, entre otras [6].

La familia de péptidos del CRF y sus receptores

El CRF desempeña una función central en la coordinación del eje HPA bajo condiciones basales y de estrés, e integra las respuestas endocrinas, autonómicas y conductuales a factores estresantes (Fig. 1) [7]. La forma madura y biológicamente activa del CRF es un péptido de 41 aminoácidos (aa), generado por escisión proteolítica de un precursor de 196 aa por acción de las prohormonas convertasas 1 y 2 [8]. El CRF se sintetiza en prácticamente todo el SNC, incluyendo el PVN, el bulbo olfatorio, el tallo cerebral y estructuras límbicas (amígdala e hipocampo) y la corteza cerebral (Tabla 1) [8-10]. Aunque de manera limitada, también se ha demostrado la presencia del CRF en tejidos periféricos animales y humanos, como el tracto gastrointestinal, el corazón, el pulmón, el bazo, los testículos y el tejido adiposo, así como en placenta humana [8, 11].

El CRF es el miembro principal de una familia de neuropéptidos que incluye a las urocortinas 1, 2 y 3 (Ucn1, Ucn2 y Ucn3), con una función esencial en la respuesta de recuperación del estrés [7, 9, 12, 13]. Estos neuropéptidos, de 38 a 41 aa, son codificados por genes distintos, presentan una alta homología en la secuencia de aa [13-15], y se encuentran ampliamente distribuidos en todo el SNC, así como en tejidos periféricos [16]. En este sentido, la Ucn1 se detectó en miocitos cardíacos de rata y en otros tejidos periféricos como los sistemas gastrointestinal e inmune, el timo, el hígado, la glándula suprarrenal, la placenta, la piel y el músculo esquelético. Las Ucn2 y Ucn3 se encuentran altamente expresadas en el colon, el intestino delgado, el músculo, el estómago, las glándulas tiroides y suprarrenales, el páncreas, el bazo y el corazón (Tabla 1) [15, 17].

Los efectos fisiológicos del CRF y las Ucn se deben a la activación de dos tipos de receptores, acoplados a proteínas G (GPCRs), identificados como receptor a CRF tipo 1 (CRF₁R) y tipo 2 (CRF₂R) [8]. Estos dos receptores comparten ≈70 % de homología de la secuencia de aa, pero presentan propiedades farmacológicas diferentes con respecto a los ligandos: el CRF se une al CRF₁R con mayor afinidad que al CRF₂R y la Ucn1 muestra una alta afinidad por ambos receptores, aunque es más potente que el CRF en su unión al CRF₂R. Las Ucn2 y Ucn3 son altamente selectivas para el CRF₂R y exhiben muy baja afinidad por el CRF₁R (Tabla 1) [9].

Los CRF₁R y CRF₂R se codifican por genes distintos; el gen del CRF₁R codifica 8 isoformas (CRF_{1A-H}), pero sólo la variante CRF_{1A}R presenta actividad biológica en humanos [8, 18]. Las otras isoformas pueden unir al ligando, pero no generan respuestas celulares, por lo que se ha propuesto que regulan la biodisponibilidad de los ligandos relacionados con el CRF [8]. Para el CRF₂R se han descrito tres isoformas funcionales en humanos como resultado del procesamiento (*splicing*) alternativo del mRNA correspondiente: CRF_{2α}R (411 aa), CRF_{2β}R (438 aa) y CRF_{2γ}R (397 aa), y dos isoformas funcionales en roedores (CRF_{2α}R y CRF_{2β}R) [15].

Con relación a su expresión, en humanos el CRF₁R se expresa en el SNC y en la glándula pituitaria anterior; de las tres variantes del CRF₂R, sólo la isoforma CRF_{2γ}R se expresa en el cerebro humano, la isoforma CRF_{2α}R se expresa en todo el SNC, y la CRF_{2β}R se expresa preferentemente en tejidos periféricos, como el corazón, la piel y el músculo esquelético [19]. Sin embargo, la mejor identificación de la distribución de los CRFRs se ha realizado en roedores, en los que la expresión del mRNA del CRF₁R es abundante en la pituitaria anterior, lo cual

se asocia directamente con la activación del eje HPA. No obstante, este receptor está distribuido prácticamente en todo el cerebro, con niveles elevados en las regiones neocortical, límbica, mesencéfala y troncoencefálica, así como en el cerebelo, mientras que la expresión del mRNA del CRF_{2R} (principalmente de la variante CRF_{2αR}) está más

restringida, con altas densidades en el bulbo olfatorio, el tabique lateral, el núcleo hipotalámico ventromedial y los núcleos del rafe dorsal [20]. La variante CRF_{2βR} de los roedores se expresa principalmente en tejidos periféricos con niveles elevados en el músculo esquelético, el corazón y la piel [9].

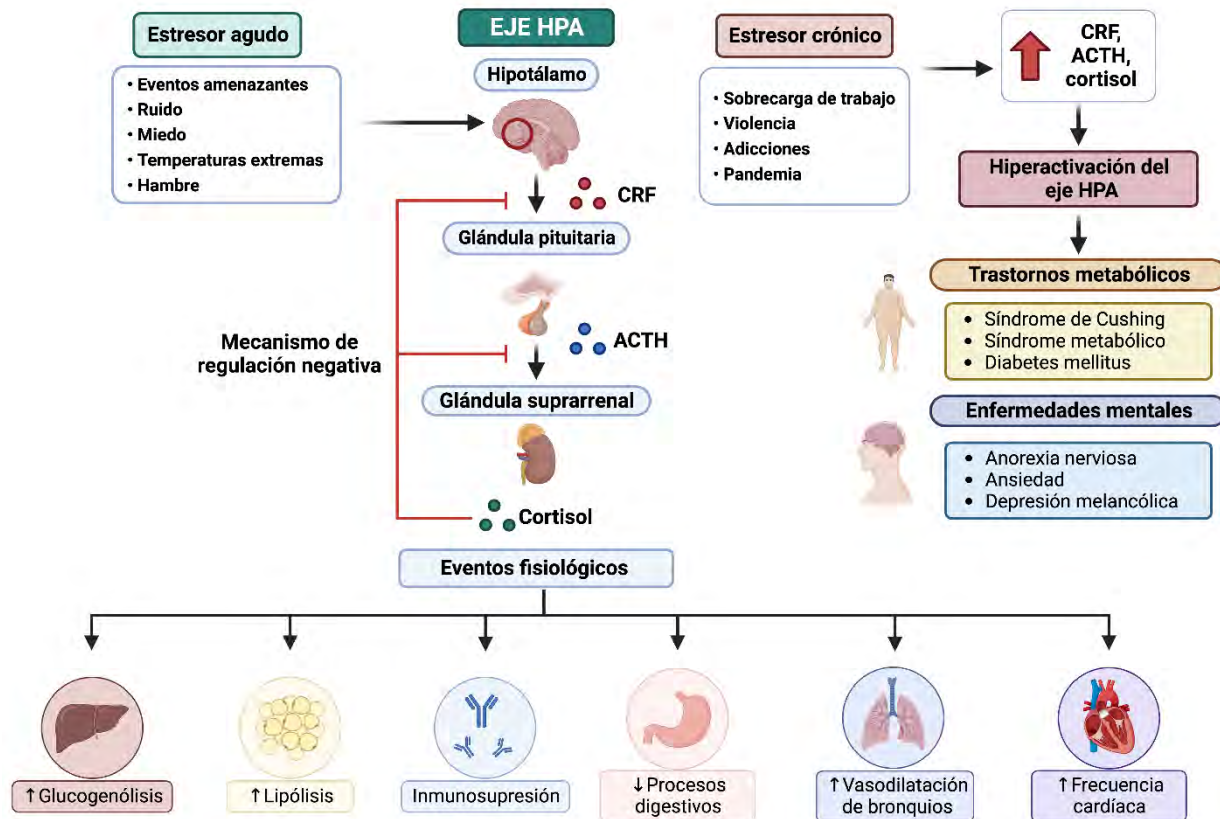


Figura 1. Modulación del eje HPA en el estrés. La presencia aguda (limitada en el tiempo y frecuencia) de factores estresores induce la producción de CRF en el hipotálamo, el cual se une a receptores expresados en la glándula pituitaria para producir y secretar ACTH, que en el torrente sanguíneo llega a las glándulas suprarrenales donde estimula la producción y secreción del cortisol. Esta hormona regula diversos eventos fisiológicos, como la movilización de reservas energéticas, el aumento de la capacidad cardiovascular y pulmonar, la inmunosupresión y la disminución de procesos digestivos y reacciones anabólicas, para generar la respuesta al estrés y garantizar la supervivencia del organismo. Mediante un mecanismo de retroalimentación negativa, el cortisol controla la actividad del eje HPA, al unirse a sus receptores presentes en el hipotálamo y la glándula pituitaria para inhibir la liberación de CRF y ACTH. La presencia de manera crónica (no limitada en tiempo y frecuencia) de factores estresantes aumenta las concentraciones de CRF, ACTH y cortisol conduciendo a un estado de hiperactividad del eje HPA, el cual se ha relacionado con el desarrollo de patologías metabólicas y psiquiátricas, entre otras. **HPA**, eje hipotalámico-pituitario-suprarrenal; **CRF**, factor liberador de corticotropina; **ACTH**, hormona adrenocorticotrófica. Figura creada con *BioRender.com*.

Señalización y regulación de los CRF_{1R} y CRF_{2R}

a) Vías de señalización. Diversos estudios han descrito que la mayoría de las funciones de los CRF_{1R} y CRF_{2R} depende del acople a proteínas G_s y la activación de la vía de señalización adenilato ciclasa (AC)/cinasa de proteínas A (PKA), que mo-

dula eventos metabólicos, proliferativos y transcripcionales [4, 8]. Sin embargo, también se ha reportado que ambos receptores pueden acoplarse a proteínas G_q, las cuales activan la vía fosfolipasa C (PLC)/cinasa de proteínas C (PKC), que participa en la transcripción de genes blanco involucrados en modular respuestas fisiológicas del CRF en los sis-

temas nervioso central, cardiovascular y muscular (Fig. 2A) [4, 8].

Los receptores a CRF pueden también señalar mediante la activación de las MAPKs y PI3K/Akt, la síntesis de los segundos mensajeros Ca^{2+} , óxido

nítrico (NO), GMPc y prostaglandinas, así como de vías que regulan la apoptosis [14, 21]. Esta diversidad de vías de señalización activadas por los CRFRs muestra la importancia del sistema del CRF/Ucns en una gran variedad de efectos biológicos [21].

Péptido	No. de Aminoácidos	% de Homología con hCRF	Distribución	Receptores			Afinidad por los CRFRs
				hCRF ₁ R (Ki)	hCRF _{2α} R (Ki)	hCRF _{2β} R (Ki)	
CRF (h/r)	41	100	Núcleo paraventricular, bulbo olfatorio, neocorteza, amígdala central, oliva inferior del tronco encefálico ^[11, 13] .	1.5 nM	42 nM	47 nM	CRF ₁ R > CRF ₂ R
			Placenta, tracto gastrointestinal ^[11] .				
Ucn1	40	44	Núcleo de Edinger-Westphal, oliva superior lateral, núcleo supraóptico, cerebelo, hipotálamo, neocorteza ^[11, 13] .	0.3 nM	0.4 nM	0.4 nM	CRF ₁ R ≈ CRF ₂ R
			Sistema entérico, mucosa del colon ^[11] .				
Ucn2	38	34	Núcleo paraventricular, núcleo supraóptico, <i>locus coeruleus</i> ^[12] .	3,500 nM	3.6 nM	4.5 nM	CRF ₂ R >>> CRF ₁ R
			Músculo esquelético, tejido adiposo, piel, cardiomiocito ^[11] .				
Ucn3	38	30	Amígdala medial, núcleo olivar superior, núcleo del lecho de la estría terminal ^[12, 13] .	>10,000 nM	9.1 nM	12.6 nM	CRF ₂ R >>>> CRF ₁ R
			Células β-pancreáticas ^[11] .				

	Expresión en el sistema nervioso central		Expresión en tejidos periféricos
--	--	--	----------------------------------

Tabla 1. Características generales y afinidades de unión de péptidos de la familia del CRF a los CRF₁R y CRF₂R de humano. CRF, factor liberador de corticotropina; hCRF₁R, receptor para el CRF tipo 1; hCRF_{2α}R, receptor para el CRF tipo 2α; hCRF_{2β}R, receptor para el CRF tipo 2β; Ucn1, urocortina 1; Ucn2, urocortina 2; Ucn3, urocortina 3; h, humano; r, rata [4, 10].

b) Mecanismos de regulación de las acciones del CRF. Las vías de señalización activadas por el CRF y las Ucns se atenúan rápidamente por la fosforilación de los CRF_{1/2}Rs en residuos de serina/treonina, localizados en el extremo carboxilo y/o la tercera asa intracelular, por acción de cinasas de los GPCRs (GRKs) y la consiguiente interacción con las proteínas β-arrestinas [4, 22]. La interacción CRF_{1/2}Rs/β-arrestinas conduce a la desensibilización de los receptores, mediante el desacoplamiento de la proteína G y la subsiguiente internalización de los receptores en vesículas recubiertas de clatrina (Fig. 2B) [23, 24]. Además, la internalización de los receptores desensibilizados conlleva a su desfosforilación en endosomas por acción de fosfatasa específicas de serina/treonina, y a su reciclamiento a la membrana plasmática. La exposición prolongada a

altas concentraciones de CRF/Ucns conduce a la degradación de los receptores por la vía lisosomal, reduciendo el número total de receptores en la superficie de la célula (Fig. 2B) [25, 26].

Estrés, depresión y ansiedad

Con base en numerosos estudios básicos y clínicos, se ha establecido que el sistema CRF/CRF₁R participa de manera crítica en los trastornos más comunes relacionados con el estrés, la ansiedad y la depresión [27]. Se ha propuesto que la hipersecreción de CRF y la desregulación de la transducción de señales del CRF₁R en el SNC contribuyen de manera importante al estrés, la ansiedad y los trastornos depresivos [24]. Además, existe evidencia de que la liberación central del CRF contribuye de

manera directa a un estado de ansiedad, independientemente de sus efectos en los sistemas pituitario y simpático asociados a la respuesta al estrés [22, 28]. En este contexto, la sobreexpresión central del CRF en roedores conduce a un fenotipo conductual de ansiedad [22, 28], mientras que la eliminación de la expresión del CRF provoca efectos ansiolíticos tanto en la ansiedad basal como en la inducida por

estrés [8, 28]. De manera relevante, los niveles de CRF se encuentran elevados en el SNC de pacientes con enfermedades psiquiátricas relacionadas con el estrés, como el trastorno depresivo mayor y el trastorno de estrés postraumático (PTSD), que en algunos casos se normalizan con tratamiento con antidepresivos [20, 28, 29].

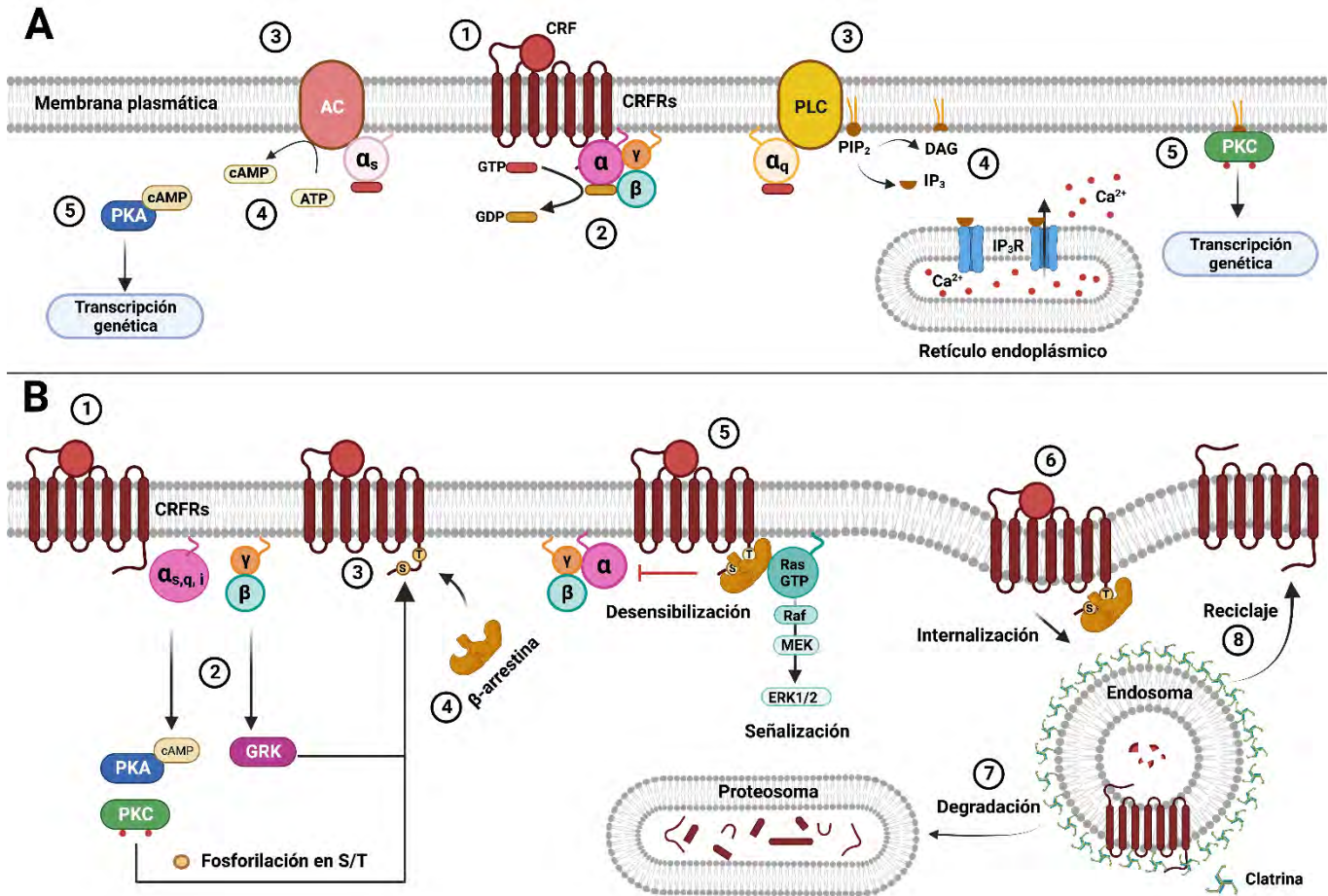


Figura 2. Mecanismos de señalización y regulación de los CRFRs. **A) Vías de señalización.** 1) Una vez activado por un agonista, la conformación adquirida por el receptor favorece 2) el acople de proteínas G heterotriméricas (Gs/Gq), que permite el recambio de GDP por GTP en la subunidad Gα para su activación y disociación del dímero Gβγ. Tanto la subunidad Gα como el dímero Gβγ libres promueven 3) la activación de proteínas efectoras como la AC y la PLC, responsables de 4) la generación de segundos mensajeros intracelulares, los cuales 5) activan cinasas específicas (PKA, PKC) que fosforilan proteínas blanco, encargadas de mediar distintas respuestas celulares. **B) Mecanismos de regulación.** Los CRFRs experimentan el mecanismo clásico de regulación de los GPCRs. 1) Una vez activado el receptor, se promueve 2) la activación de cinasas (PKA, PKC, GRKs) para la posterior 3) fosforilación del receptor en residuos de serina/treonina, particularmente en la tercera asa intracelular y/o en la región carboxilo-terminal. 4) El receptor fosforilado interacciona con la proteína β-arrestina, la cual promueve 5) la desensibilización de la señal inducida por la proteína G al impedir su acople por impedimento estérico, y 6) la internalización del receptor en compartimentos endosomales, en donde el receptor prosigue a 7) la degradación por la vía proteosomal o 8) es reciclado a la membrana plasmática. AC, adenilato ciclasa; AMPc, monofosfato de adenosina cíclico; CRF, factor liberador de corticotropina; CRFRs, receptores del CRF; DAG, diacilglicerol; ERK1/2, cinasas reguladas por señales extracelulares 1 y 2; GRKs, cinasas de los receptores acoplados a proteínas G; IP₃, inositol trifosfato; IP₃R, receptor de IP₃; PKA, proteína cinasa A; PKC, proteína cinasa C; PLC, fosfolipasa C; S, serina; T, treonina. Figura creada con BioRender.com.

De manera general, los efectos ansiogénicos del CRF se han atribuido a la activación del CRF_1R ya que su inactivación o disminución de su expresión mediante el uso de antagonistas y oligonucleótidos antisentido, respectivamente, previenen el comportamiento de ansiedad inducido por el CRF en roedores [8, 20]; adicionalmente, los ratones *knockout* (KO) del CRF_1R muestran un comportamiento de reducción de la ansiedad [20, 28]. Estos hallazgos sugieren que la sobreactivación del CRF_1R se relaciona con psicopatologías asociadas al estrés, lo que ha llevado al desarrollo de antagonistas del CRF_1R para estrategias terapéuticas de trastornos mentales relacionados con estrés [28].

En contraste con el CRF_1R , la participación del sistema Ucn/CRF₂R en la ansiedad y la depresión aún es poco clara y consistente, y se han propuesto dos hipó-

tesis principales para explicar su participación. La más aceptada indica que la activación del CRF_2R por las Ucn, además de contribuir a la homeostasis funcional y psicológica, contrarresta los efectos iniciales de la respuesta al estrés y los comportamientos similares a la ansiedad y depresión inducidos por la activación del sistema CRF/CRF₁R (Fig. 3A) [10]. Esta hipótesis se basa principalmente en evidencias obtenidas en ratones KO para el CRF_2R , que muestran una respuesta a corticosterona aumentada por estrés [28, 30], un fenotipo ansiogénico [28, 30], y una recuperación alterada al estrés [8, 9, 28]. La hipótesis alternativa sugiere que ambos receptores de CRF actúan de manera opuesta en los comportamientos de enfrentamiento al estrés: el CRF_1R participa en el comportamiento defensivo activo (respuestas de lucha o huida, desencadenadas por el

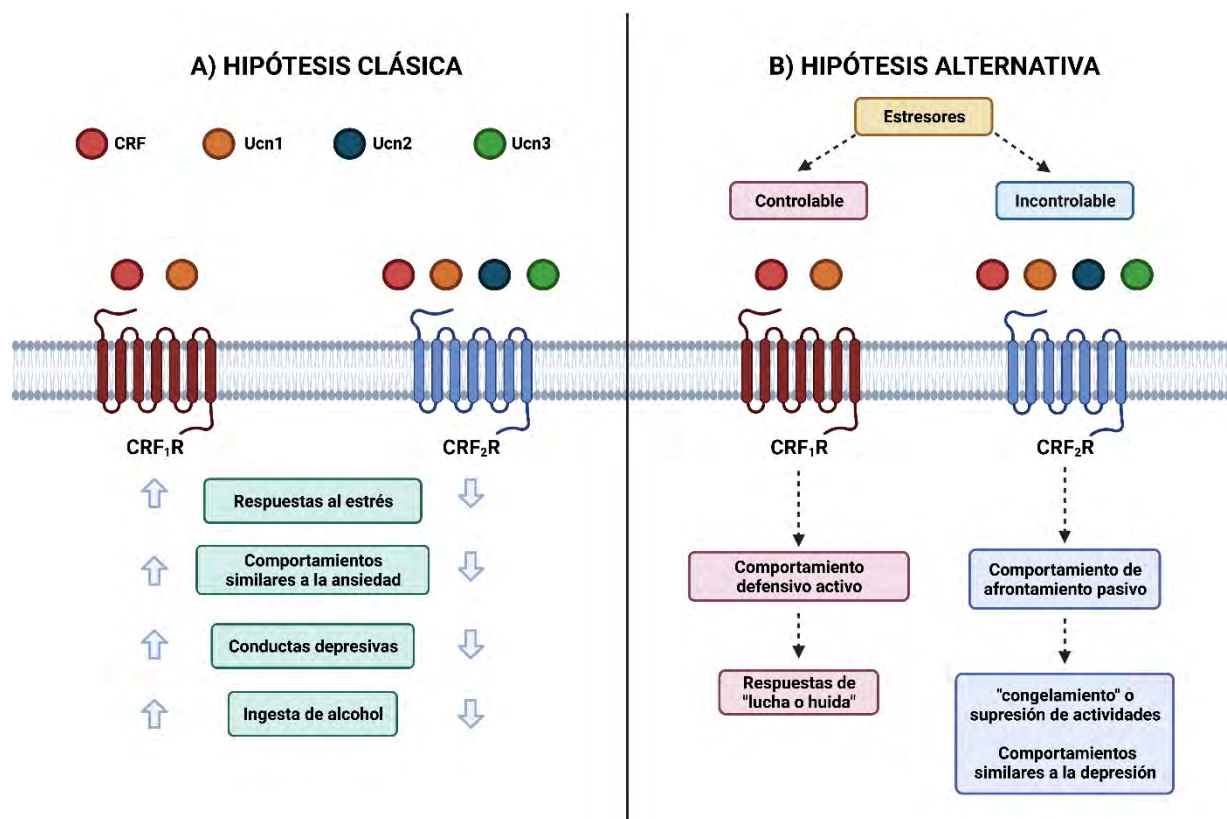


Figura 3. Participación de los CRF_1R y el CRF_2R en la respuesta al estrés. A) Hipótesis clásica. Plantea que el CRF_1R está involucrado en el inicio de las respuestas al estrés, y el CRF_2R en la terminación de éstas, actuando como un "receptor modulador" para amortiguar las acciones del CRF_1R . En este sentido, se ha propuesto que el CRF_1R participa en comportamientos similares a la ansiedad, conductas depresivas e ingesta de etanol, mientras que el CRF_2R media la reducción de estas respuestas. **B) Hipótesis alternativa.** Sugiere que los comportamientos durante el estrés mediados por el CRF_1R y el CRF_2R dependen del tipo de estresor que se presente: el CRF_1R media las respuestas a estresores controlables (es decir que pueden ser evitados o escapar de ellos), induciendo comportamientos defensivos activos como las respuestas de lucha o huida, mientras que el CRF_2R es responsable de los efectos de estresores incontrolables (estresores ineludibles o que no pueden evitarse), induciendo comportamientos de afrontamiento pasivo como la supresión de actividades o "parálisis" y comportamientos similares a la ansiedad. Figura creada con *BioRender.com*.

estrés controlable o escapable) mientras que el CRF₂R es responsable del comportamiento de afrontamiento pasivo (respuestas de “congelamiento/parálisis” o supresión de la actividad en curso) y de las respuestas similares a la depresión (como la indefensión aprendida), que se desencadenan por el estrés incontrolable o ineludible (Fig. 3B) [10, 22].

El CRF y las urocortinas: más allá de la respuesta al estrés

a) Acciones en el metabolismo. Diversos estudios sugieren que la expresión del sistema CRF/Ucns en tejidos como el muscular, el pancreático y el adiposo, podría ser importante en la modulación de la homeostasis energética y en la regulación metabólica [9, 31]. Por ejemplo, la deficiencia de Ucn2 en el músculo esquelético de ratones aumenta la sensibilidad a la insulina y mejora la utilización de la glucosa; además, la Ucn2, a través del CRF_{2β}R, reduce la fosforilación de Akt y ERK1/2 inducida por insulina en cultivos primarios de células de músculo esquelético de ratón y en miotubos C2C12 [32]. También se ha sugerido la participación del CRF₂R en la modulación de los efectos de la insulina, pero el mecanismo aún no es claro. En este sentido, la estimulación del CRF₂R en células de músculo esquelético de ratón atenúa la captación de glucosa y disminuye la fosforilación en residuos de tirosinas del IRS-1 inducida por insulina, efectos que involucran a la PKA y mTOR, lo que en términos generales provoca una respuesta de resistencia a la insulina [33].

Por otra parte, la función de la Ucn3 es todavía controversial; por ejemplo, las concentraciones plasmáticas elevadas de glucosa aumentan la secreción de Ucn3, incrementando la secreción de insulina y contribuyendo a largo plazo al desarrollo de resistencia a la insulina [31, 34]. Sin embargo, también se reportó que la Ucn3 está notablemente disminuida en células β-pancreáticas tanto en modelos animales de obesidad y resistencia a la insulina como en pacientes diabéticos [35]. Adicionalmente, se propone que la Ucn3 participa en la liberación de somatostatina para asegurar la reducción oportuna de la secreción de insulina una vez que las concentraciones de glucosa plasmática se normalizan. Estos resultados indican que la Ucn3 es un factor clave para el control glucémico, y que su reducción durante la diabetes podría contribuir a la fisiopatología de esta enfermedad [35].

El CRF y las Ucns, así como sus receptores, se expresan en el tejido adiposo, incluidos los adipocitos blancos viscerales y subcutáneos en los huma-

nos [36]; sin embargo, a la fecha se desconoce su función en este tejido. Estudios recientes han propuesto que el sistema Ucn2-3/CRF₂R participa en el metabolismo energético y que, bajo condiciones de estrés, como la hipoxia, aumenta significativamente la lipólisis [37]. Por otro lado, el aumento de la actividad de la vía del CRF₂R, por mecanismos autocrinos, induce la transdiferenciación de los adipocitos blancos a adipocitos beige metabólicamente activos y promueve la diferenciación del tejido adiposo marrón, exhibiendo protección al aumento de peso inducido por una dieta alta en grasa y promoviendo la sensibilidad a la insulina (Fig. 4) [38].

b) Acciones cardiovasculares. Las Ucns y sus receptores se encuentran altamente expresados en el sistema cardiovascular, asociados a diferentes funciones como la relajación vascular, el inotropismo positivo y acciones cardioprotectoras [18, 39, 40]. Así, alteraciones en la expresión de estos péptidos y sus receptores se asocian con condiciones patológicas del sistema cardiovascular, como la insuficiencia cardíaca, la hipertensión arterial, miocardiopatía hipertrófica e infarto al miocardio [39].

En los vasos sanguíneos, la hiperactividad del eje HPA, que involucra la acción del CRF, se ha asociado con hipertensión arterial y enfermedades cardiovasculares [18]. La administración central del CRF a ratas aumenta la presión arterial media (PAM) por medio del eje HPA, y la antalarmina (un antagonista del CRF₁R) o el CRF₉₋₄₁-α-helicoidal (un antagonista no selectivo de los receptores de CRF) impiden el incremento de la presión arterial (PA) [18]. Se ha propuesto que la hipertensión inducida por el CRF implica disfunción microvascular y la reducción irreversible del número de nefronas por acción del cortisol. Sin embargo, también se ha mostrado que la administración periférica del CRF disminuye la PAM en ratas, efecto revertido por la administración de CRF₉₋₄₁-α-helicoidal, pero no de antalarmina. Adicionalmente, ratones KO del CRF₂R mostraron elevación de la PAM basal y de la presión diastólica en comparación con ratones silvestres. Por otra parte, la administración intravenosa de Ucn2 redujo la PAM en ratas, y la astresina 2-B (un antagonista del CRF₂R) bloqueó este efecto sin modificar la PAM basal. De esta forma, los receptores a CRF ejercen un efecto bifásico en la PA: a nivel central la activación del CRF₁R eleva la PA; mientras que a nivel periférico, la estimulación del CRF₂R causa vasodilatación (Fig. 4) [18].

Mediante análisis por PCR cuantitativa, se indicó, por una parte, que el CRF₂R es uno de los GPCRs más abundantes en los cardiomiocitos de roedores

adultos, mientras por otra, que existe una expresión diferencial de las isoformas α y β del CRF₂R en las cámaras de corazón humano, además de que la expresión del CRF₁R no resultó evidente en este tejido [18, 41]. En ensayos *in vitro*, la administración de las Ucn2 y Ucn3 aumentó significativamente la contractilidad de los cardiomiocitos de manera dependiente de la concentración, involucrando vías de señalización dependientes del segundo mensajero AMPc y de la cinasa de proteínas dependiente de Ca²⁺/calmodulina tipo II, además de inducir efectos arritmogénicos [18]. La administra-

ción de Ucn en diferentes modelos animales aumenta la contractilidad, la frecuencia y el gasto cardíacos. La acción directa de las Ucn2 y Ucn3, los modelos KO del CRF₂R, y el uso de antagonistas selectivos, como la astresina 2-B, sugieren que los efectos mencionados se deben primariamente a la activación del CRF₂R (Fig. 4) [18, 42].

También se han investigado las posibles acciones terapéuticas de las Ucn en enfermedades cardiovasculares. Se ha mostrado que la administración de Ucn2 puede reducir el área de infarto y la insuficien-

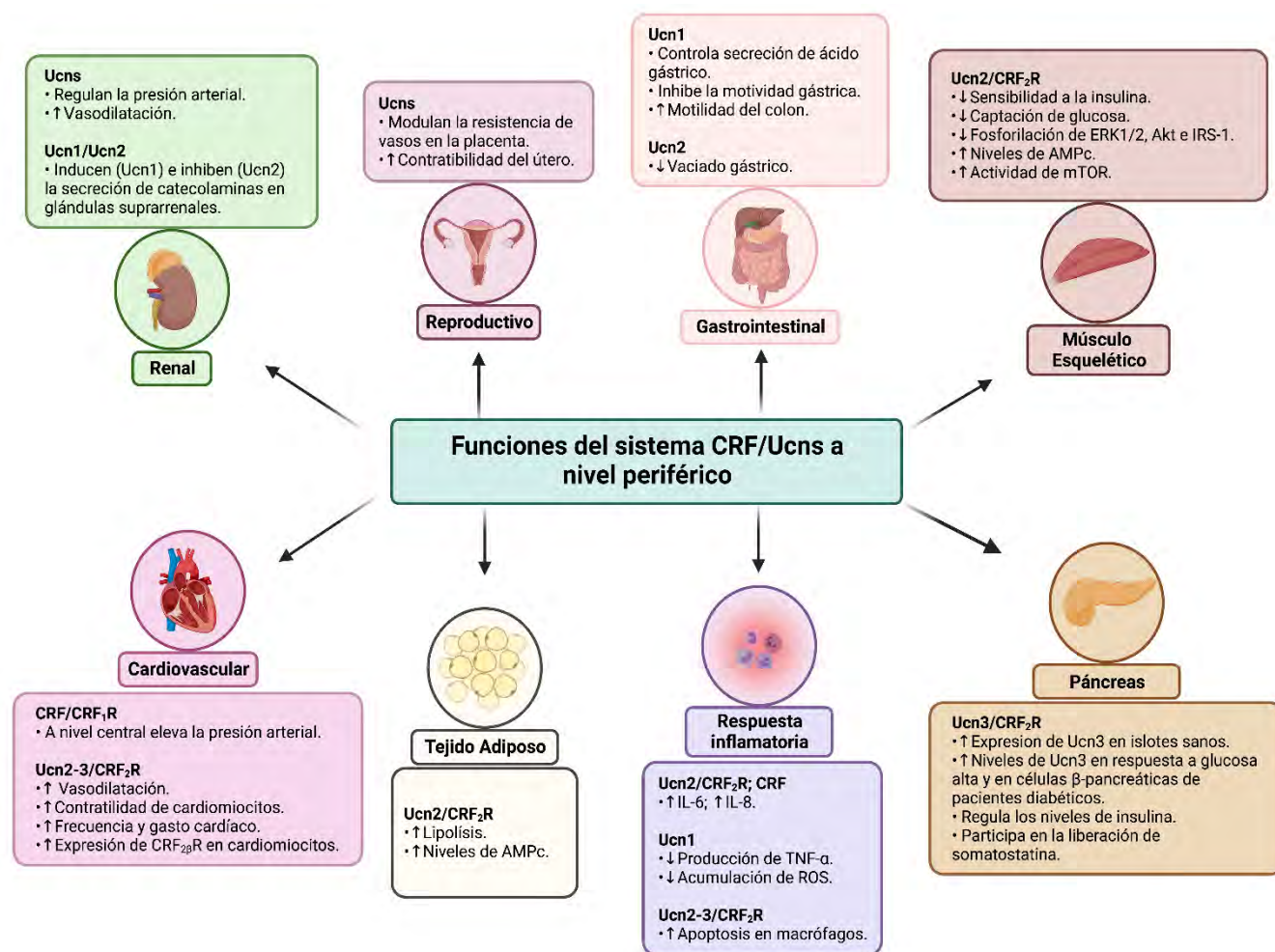


Figura 4. Resumen de las funciones del sistema CRF a nivel central y periférico. El sistema CRF tiene una participación bien caracterizada a nivel central en la que la activación del eje HPA por CRF/CRF₁R induce mecanismos de respuesta al estrés, y por CRF-Ucn/CRF₂R mecanismos de recuperación. A nivel periférico, los péptidos y receptores del sistema CRF están implicados en diferentes eventos: en el músculo esquelético Ucn2/CRF₂R regulan la captación de glucosa al disminuir la activación de elementos presentes en la vía de señalización de la insulina (Akt, ERK1/2, IRS-1), probablemente a través de mTOR; en el páncreas Ucn3/CRF₂R regulan la secreción de insulina inducida por glucosa, aunque no está claro si participa de manera directa o a través de un mecanismo de retroalimentación negativa dependiente de somatostatina; en el tejido adiposo Ucn2/CRF₂R favorecen la lipólisis en condiciones de hipoxia; CRF/CRF₁R participan en la regulación de la presión arterial al inducir vasodilatación, y Ucn2-3/CRF₂R participan en la modulación de la frecuencia y gasto cardíacos regulando la contractilidad de los cardiomiocitos. Figura creada con BioRender.com.

cia cardíaca en modelos de roedores, mientras que en ovinos la Ucn1 evitó un mayor deterioro de la disfunción cardíaca inducida por la estimulación rápida del ventrículo izquierdo. Además, la infusión intravenosa de Ucn2 en corazones normales y con insuficiencia mejoró el gasto cardíaco [43]. Sin embargo, los efectos de la activación a largo plazo del CRF₂R siguen sin ser claros. Por ejemplo, la infusión continua de Ucn2 resultó en disfunción cardíaca, mientras que los antagonistas del CRF₂R suprimieron la disfunción cardíaca crónica inducida por sobrecarga de presión, lo que sugiere que a largo plazo la Ucn2 puede tener efectos cardiotóxicos [18, 41].

c) El CRF y las Ucns en la respuesta inflamatoria.

En relación con la función del CRF y las Ucns en la inflamación, existe evidencia experimental y clínica de la participación de estos péptidos en la regulación de efectos pro y antiinflamatorios [44].

Acciones proinflamatorias. El CRF participa indirectamente en la respuesta inmunitaria/inflamatoria del estrés al activar la secreción de GC y catecolaminas por medio del eje HPA. Además, a nivel periférico el sistema CRF participa directamente como un elemento crucial en la modulación endocrina (autocrina/paracrina) de la respuesta inflamatoria [45, 46]. En este sentido, se ha observado la expresión del sistema CRF en tejidos con procesos inflamatorios y en órganos y células del sistema inmune como el timo, el bazo y los linfocitos T [45, 46]; además, se han descrito efectos proinflamatorios de la familia del CRF en varios modelos de inflamación intestinal [47, 48]. La exposición a la toxina A de *Clostridium difficile* o al factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) de células de colon humano HT-29, xenoinjertos humanos y células de pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal aumenta la expresión del mRNA y de la proteína del CRF₂R y de la Ucn2, mientras que la estimulación de colonocitos con Ucn2 incrementó la expresión y secreción de la interleucina-8, un poderoso quimioatrayente y activador de neutrófilos en regiones con inflamación [48]. Además, la administración intravenosa de CRF a ratas adrenalectomizadas aumentó la concentración plasmática de interleucina-6, un mediador clave de la respuesta inflamatoria, mientras que en ratas normales se observó el efecto contrario, probablemente por activación del eje HPA y la liberación de GC, con acciones antiinflamatorias (Fig. 4) [49].

Acciones antiinflamatorias: En contraste con lo antes mencionado, se ha reportado que las Ucns pueden ejercer efectos antiinflamatorios importantes en el organismo [50]. Por ejemplo, en biopsias

gástricas de pacientes con gastritis inducida por *Helicobacter pylori*, la síntesis de Ucn1 aumenta de manera significativa durante la etapa de erradicación de *H. pylori* con mejora en la respuesta inflamatoria [51]. Además, en un modelo de inflamación sistémica inducida por lipopolisacárido, la Ucn1 suprime la producción de TNF- α de manera independiente del efecto central de la corticosterona [52]. También se evidenció que la activación del CRF₂R por las Ucn1 y Ucn2 regula la respuesta inflamatoria al promover apoptosis en macrófagos, efecto dependiente de las proteínas proapoptóticas Bad y Bax [53].

La administración de Ucn1 en el corazón de ratas diabéticas suprime, mediante la activación del CRF₂R, la respuesta inflamatoria asociada a la disfunción del miocardio y la fibrosis cardíaca [54], y elimina la respuesta proinflamatoria inducida en adipocitos maduros [36]. De manera relevante, las células del endotelio vascular humano sintetizan y secretan Ucn1 en respuesta a citocinas inflamatorias, como IFN- γ y TNF- α , y se ha planteado que esta respuesta disminuye los efectos dañinos del estrés oxidativo ya que la incubación de células HUVEC con Ucn1 suprime la acumulación de especies reactivas de oxígeno (ROS) inducida por Ang II (Fig. 4) [55]. Así, se ha propuesto que, al mediar respuestas antiinflamatorias, las Ucns ejercen efectos cardioprotectores mediante la disminución de ROS y el aumento en la producción de NO [40].

d) CRF, Ucns, estrés postraumático y COVID-19.

La emergencia sanitaria a nivel mundial por el coronavirus tipo 2 del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV-2), causante de la enfermedad por coronavirus-2019 (COVID-19), ha alcanzado una alta tasa de mortalidad, costando, hasta el mes de abril del 2023, la vida a cerca de 7 millones de personas

(<https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>). Además de la sintomatología y las afecciones pulmonares y cardiovasculares reportadas en pacientes con COVID-19, se ha reportado que la enfermedad puede desregular al eje HPA, desarrollando una serie compleja de respuestas y desórdenes asociados al estrés que podrían condicionar el desarrollo de enfermedades mentales [56]. En este sentido, la información actual proviene de la infección provocada por la variante SARS-CoV, reportada en el año 2003 por la Organización Mundial de la Salud, identificándose entre los órganos afectados las glándulas pituitaria y suprarrenal, importantes componentes del eje HPA [57]. Asimismo, los virus han desarrollado estrategias de evasión del sistema inmune del hospedero para garantizar su replicación dentro del organismo. Una

de las principales estrategias de inmuno-evasión empleada por el SARS-CoV implica un mecanismo conocido como mimetismo molecular, que involucra secuencias de aminoácidos en proteínas inmunogénicas virales, como las proteínas *spike* (S) y de la envoltura (E), las cuales presentan una alta homología con secuencias de proteínas del huésped, en particular con la ACTH. Cuando el huésped produce anticuerpos contra los antígenos virales (proteínas S y E), estos anticuerpos también pueden reconocer y unirse a la ACTH del huésped, limitando la actividad del eje HPA al disminuir la producción y secreción de cortisol (hipocortisolismo) y, en general, de GC, conduciendo a insuficiencia suprarrenal [56, 58]. El hipocortisolismo se ha asociado a la persistencia de síntomas observados en pacientes post-SARS o con COVID crónico, como la apatía, el letargo, el síndrome de fatiga crónica, debilidad, fibromialgia, y anorexia [59, 60]. A pesar de lo anterior, se ha sugerido que los corticosteroides reducen los signos clínicos de los pacientes infectados con coronavirus y con insuficiencia suprarrenal, lo que conlleva a disminuir la hiperreactividad del sistema inmune [61]; sin embargo, aún existe controversia sobre su uso en el tratamiento de pacientes con COVID-19 ya que varios estudios indican que el tratamiento con corticosteroides puede ser perjudicial [62].

La infección viral de células humanas por SARS-CoV o SARS-CoV-2 depende de la unión de la glicoproteína viral S a la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2), que el virus utiliza como receptor de entrada. Diferentes estudios han mostrado que la ACE2 tiene efectos en la respuesta al estrés y la ansiedad. Por ejemplo, la sobreexpresión de la ACE2 disminuye conductas sugerentes de ansiedad en ratones macho, quienes muestran concentraciones plasmáticas reducidas de corticosterona y menor expresión hipofisaria de *proopiomelanocortina* (POMC, proteína precursora de la hormona estimulante de los melanocitos, MSH, de la ACTH y de la β -endorfina) [63, 64]. Adicionalmente, se observó un efecto similar cuando la ACE2 se sobreexpresó en el PVN, suprimiendo la síntesis del CRF, atenuando la actividad del eje HPA, y alterando la respuesta al estrés [65]. Por otra parte, mediante la generación de ratones transgénicos para expresar la ACE2 humana, se encontró que el bulbo olfatorio se convierte en un órgano blanco importante para la infección por SARS, conduciendo a la diseminación del virus de manera transneuronal [56, 66].

Se ha confirmado que el SARS-CoV-2 puede cruzar la barrera hematoencefálica (BH) e infectar neuronas y células gliales que expresan ACE2, lo que

provoca neuroinflamación y neuropatogénesis en diferentes regiones del cerebro, incluidos el hipotálamo y la pituitaria, por lo que el eje HPA se considera un blanco directo de la infección por coronavirus [56, 58]. Lo anterior está además relacionado con el hipocortisolismo detectado en sobrevivientes de la infección viral por SARS-CoV-2 [58, 67]. De esta forma, la liberación de GC por las glándulas suprarrenales se ve severamente comprometida, así como la retroalimentación negativa dada por los GC sobre las células inmunitarias para suprimir la síntesis y liberación de citocinas, por lo que el huésped pierde protección ante los efectos perjudiciales de una respuesta inmunitaria hiperactiva (como daño tisular, autoinmunidad o choque séptico) aunado a la disminución de los niveles de ACTH provocada por una respuesta autoinmune [56].

La pandemia también ha tenido un impacto negativo en la sociedad a nivel psicológico. El estrés psicológico induce la activación del eje HPA que, dependiendo de la duración, la intensidad y la capacidad de recuperación fisiológica del eje, tiene como consecuencias la ansiedad, el PTSD, depresión y alteraciones de la respuesta inmune [56, 68]. El PTSD es el resultado de la exposición a un evento traumático, y se caracteriza por un trastorno de ansiedad crónico, que implica varios sistemas de neurotransmisión como el noradrenérgico, serotoninérgico, cannabinoide, opioide y el eje HPA [69]. El PTSD también puede ser consecuencia del hipocortisolismo detectado en pacientes post-SARS o con COVID crónico o extendido, ya que niveles plasmáticos bajos de cortisol son un rasgo característico del PTSD [56, 67].

Sin duda, la infección por SARS-CoV-2 es altamente estresora y ha afectado de manera significativa la salud física y mental de los pacientes a través de la desregulación de la respuesta al estrés, impactando directamente en la homeostasis endocrina del organismo. Alteraciones en las respuestas inmune, metabólica y mental, son atribuidas a desórdenes en el sistema CRF y el eje HPA (Fig. 5). Estos sistemas son los principales reguladores de la homeostasis cuando ésta se ve amenazada o alterada, por lo que adquiere relevancia continuar el estudio del sistema CRF y el eje HPA para profundizar su comprensión y desarrollar nuevos tratamientos dirigidos a este sistema neuroendocrino.

CONCLUSIONES

Esta revisión aborda la función crítica del sistema CRF en el SNC y en tejidos periféricos como mediador clave de las respuestas al estrés. El estudio del sistema CRF ha adquirido un interés creciente debido a su participación en una amplia gama de eventos metabólicos, proinflamatorios, antiinflamatorios y

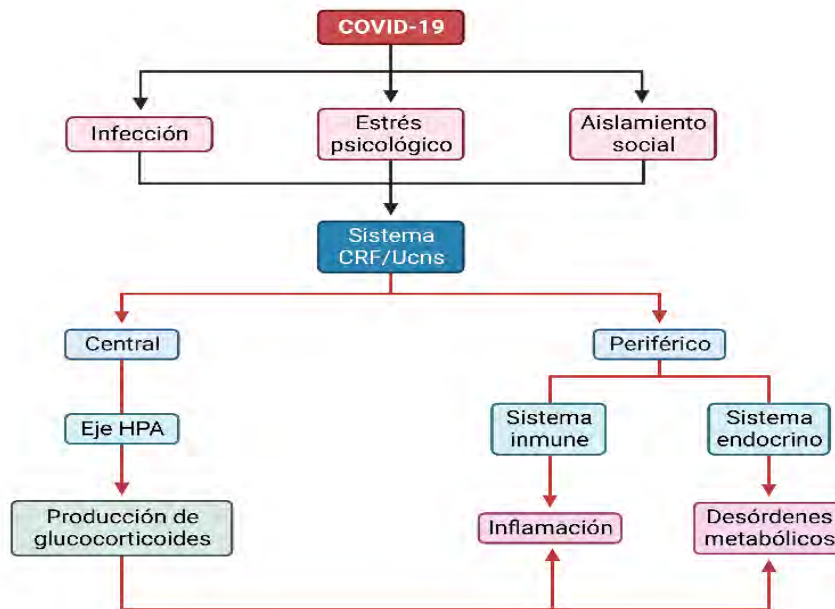


Figura 5. Relación entre la regulación central y periférica del sistema CRF en las implicaciones derivadas del COVID-19. Los factores estresantes, como la infección por SARS-CoV-2, y los problemas mentales provenientes de la pandemia por COVID-19, afectan el sistema CRF provocando desórdenes metabólicos e inflamatorios por alteración de la concentración plasmática de corticosteroides, consecuencia de la desregulación del eje HPA. A nivel autocrino/paracrino, el sistema del CRF podría tener efectos reguladores en las alteraciones inflamatorias y desórdenes metabólicos. Figura creada con BioRender.com

conductuales. La amplia diversidad de respuestas moduladas por el CRF y las Ucn sugiere la existencia de numerosos mecanismos reguladores activados a diferentes niveles en el organismo, muchos de los cuales aún no se conocen en su totalidad.

Gran parte de la comprensión de las acciones del CRF y las Ucn se debe a estudios con animales modificados genéticamente para eliminar estos péptidos o sus receptores, y antagonistas de los CRF₁R/CRF₂R. Sin embargo, aún no se conocen totalmente las respuestas autocrinas y paracrinas de las Ucn a nivel molecular, por lo que son necesarios modelos fisiológicos que proporcionen más información sobre la función de estos sistemas en el organismo.

Un ejemplo destacado de un área de investigación en evolución es el impacto de las secuelas del COVID-19, en donde es necesario determinar si los niveles de cortisol se ven afectados en pacientes que han experimentado esta enfermedad. Existe evidencia de que en individuos expuestos a estrés severo o que padecen trastornos relacionados con el estrés (inducido por agentes etiológicos), la secreción de cortisol puede estar disminuida en lugar de aumentada a largo plazo, a causa de alteraciones en los mecanismos reguladores del eje HPA.

Finalmente, las investigaciones futuras del sistema CRF/Ucn se deben enfocar en conocer cómo se modulan las respuestas autocrinas y paracrinas en

tejidos periféricos en condiciones fisiológicas, y contrastarse bajo condiciones patológicas. Uno de los campos clave de estudio son las alteraciones metabólicas, en donde es necesario conocer las implicaciones del CRF/Ucn particularmente a nivel cardiovascular en condiciones del síndrome metabólico. Por otra parte, se han iniciado estudios para determinar la posible participación de las Ucn y los CRF₂Rs, en particular la variante 2β, en la fisiopatología del cáncer bajo condiciones de estrés crónico, lo cual podría vincularse con el estudio de la función del estrés en el desarrollo del cáncer. 

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, Cinvestav, por el apoyo recibido (JAO-R) y al CONAHCyT por las becas otorgadas (DEC-V, CVU:1002080 y CDJ-Q, CVU:1002001) y por el apoyo al proyecto No. 167673 (aJAO-R). También dan las gracias al Dr. José Antonio Gilberto Arias Montaña por la revisión crítica y sugerencias para la mejora del texto.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

REFERENCIAS

1. Chrousos GP. Stress and disorders of the stress system. *Nat Rev Endocrinol*. 2009; 5(7):374-381.
2. Dai S, Mo Y, Wang Y, Xiang B, Liao Q, Zhou M, et al. Chronic Stress Promotes Cancer Development. *Front Oncol*. 2020; 10.
3. Dallman MF, Pecoraro N, Akana SF, La Fleur SE, Gomez F, Houshyar H, et al. Chronic stress and obesity: a new view of "comfort food". *Proc Natl Acad Sci*. 2003; 100(20):11696-11701.
4. Olivares-Reyes AJ, Hauger RL. Señalización y Estrés: Mecanismos de Acción y Regulación del Factor Liberador de Corticotropina. 2012. En: 7° Congreso de Biología Oral. México, D. F.: Buena Onda; [11-21].
5. Godoy LD, Rossignoli MT, Delfino-Pereira P, Garcia-Cairasco N, de Lima Umeoka EH. A Comprehensive Overview on Stress Neurobiology: Basic Concepts and Clinical Implications. *Front Behav Neurosci*. 2018; 12.
6. Tsigos C, Kyrou I, Kassi E, Chrousos GP. Stress: Endocrine Physiology and Pathophysiology. In: Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, Chrousos G, de Herder WW, Dhatariya K, et al., editors. *Endotext*. South Dartmouth (MA)2000.
7. Rivier C, Vale W. Modulation of stress-induced ACTH release by corticotropin-releasing factor, catecholamines and vasopressin. *Nature*. 1983; 305(5932):325-327.
8. Deussing JM, Chen A. The Corticotropin-Releasing Factor Family: Physiology of the Stress Response. *Physiol Rev*. 2018; 98(4):2225-2286.
9. Dedic N, Chen A, Deussing JM. The CRF Family of Neuropeptides and their Receptors-Mediators of the Central Stress Response. *Curr Mol Pharmacol*. 2018; 11(1):4-31.
10. Hauger R, Risbrough V, Brauns O, Dautzenberg F. Corticotropin Releasing Factor (CRF) Receptor Signaling in the Central Nervous System: New Molecular Targets. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2006; 5(4):453-479.
11. Stengel A, Taché YF. Corticotropin-releasing factor signaling and visceral response to stress. *Exp Biol Med*. 2010; 235:1168 - 1178.
12. Smith SM, Vale WW. The role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in neuroendocrine responses to stress. *Dialogues Clin Neurosci*. 2006; 8(4):383-395.
13. Vuppaladhiam L, Ehsan C, Akkati M, Bhargava A. Corticotropin-Releasing Factor Family: A Stress Hormone-Receptor System's Emerging Role in Mediating Sex-Specific Signaling. *Cells*. 2020; 9(4):839.
14. Halmos G, Dobos N, Juhasz E, Szabo Z, Schally AV. Hypothalamic Releasing Hormones. In: Litwack G, editor. *Hormonal Signaling in Biology and Medicine*: Academic Press; 2020. p. 43-68.
15. Squillacioti C, Pelagalli A, Liguori G, Mirabella N. Urocortins in the mammalian endocrine system. *Acta Vet Scand*. 2019; 61(1):46.
16. Oki Y, Sasano H. Localization and physiological roles of urocortin. *Peptides*. 2004; 25(10):1745-1749.
17. Calderón-Sánchez EM, Falcón D, Martín-Bórnez M, Ordoñez A, Smani T. Urocortin Role in Ischemia Cardioprotection and the Adverse Cardiac Remodeling. *Int J Mol Sci*. 2021; 22(22):12115.
18. Takefuji M, Murohara T. Corticotropin-Releasing Hormone Family and Their Receptors in the Cardiovascular System. *Circ J*. 2019; 83(2):261-266.
19. Balogh B, Vecsernyés M, Stayer-Harci A, Berta G, Tarjányi O, Sétáló G. Urocortin stimulates the ERK1/2 signaling pathway and the proliferation of HeLa cells via CRF receptor 1. *FEBS Open Bio*. 2023.
20. Henckens MJAG, Deussing JM, Chen A. Chapter 16 - The role of the CRF-urocortin system in stress resilience. In: Chen A, editor. *Stress Resilience*: Academic Press; 2020. p. 233-256.
21. Vasconcelos M, Stein DJ, Gallas-Lopes M, Landau L, De Almeida RMM. Corticotropin-releasing factor receptor signaling and modulation: implications for stress response and resilience. *Trends Psychiatry Psychother*. 2020; 42(2):195-206.
22. Hauger RL, Risbrough V, Oakley RH, Olivares-Reyes JA, Dautzenberg FM. Role of CRF Receptor Signaling in Stress Vulnerability, Anxiety,

- and Depression. *Ann N Y Acad Sci.* 2009; 1179(1):120-143.
23. Hauger RL, Olivares-Reyes JA, Braun S, Hernandez-Aranda J, Hudson CC, Gutknecht E, et al. Desensitization of human CRF2(a) receptor signaling governed by agonist potency and β arrestin2 recruitment. *Regul Pept.* 2013; 186:62-76.
 24. Oakley RH, Olivares-Reyes JA, Hudson CC, Flores-Vega F, Dautzenberg FM, Hauger RL. Carboxyl-terminal and intracellular loop sites for CRF1 receptor phosphorylation and β -arrestin-2 recruitment: a mechanism regulating stress and anxiety responses. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2007; 293(1):R209-R222.
 25. Kohout TA, Lefkowitz RJ. Regulation of G Protein-Coupled Receptor Kinases and Arrestins During Receptor Desensitization. *Mol Pharmacol.* 2003; 63(1):9-18.
 26. Moore CAC, Milano SK, Benovic JL. Regulation of receptor trafficking by GRKs and arrestins. *Annu Rev Physiol.* 2007; 69:451-482.
 27. Binder EB, Nemeroff CB. The CRF system, stress, depression and anxiety-insights from human genetic studies. *Mol Psychiatry.* 2010; 15(6):574-588.
 28. Henckens MJ, Deussing JM, Chen A. Region-specific roles of the corticotropin-releasing factor-urocortin system in stress. *Nat Rev Neurosci.* 2016; 17(10):636-651.
 29. Hauger RL, Olivares-Reyes JA, Dautzenberg FM, Lohr JB, Braun S, Oakley RH. Molecular and cell signaling targets for PTSD pathophysiology and pharmacotherapy. *Neuropharmacology.* 2012; 62(2):705-714.
 30. Bale TL, Contarino A, Smith GW, Chan R, Gold LH, Sawchenko PE, et al. Mice deficient for corticotropin-releasing hormone receptor-2 display anxiety-like behaviour and are hypersensitive to stress. *Nature Genetics.* 2000; 24(4):410-414.
 31. Kuperman Y, Chen A. Urocortins: emerging metabolic and energy homeostasis perspectives. *Trends Endocrinol Metab.* 2008; 19(4):122-129.
 32. Chen A, Brar B, Choi CS, Rouso D, Vaughan J, Kuperman Y, et al. Urocortin 2 modulates glucose utilization and insulin sensitivity in skeletal muscle. *Proc Natl Acad Sci.* 2006; 103(44):16580-16585.
 33. Chao H, Li H, Grande R, Lira V, Yan Z, Harris TE, et al. Involvement of mTOR in Type 2 CRF Receptor Inhibition of Insulin Signaling in Muscle Cells. *Molecular Endocrinology.* 2015; 29(6):831-841.
 34. Li C, Chen P, Vaughan J, Lee KF, Vale W. Urocortin 3 regulates glucose-stimulated insulin secretion and energy homeostasis. *Proc Natl Acad Sci.* 2007; 104(10):4206-4211.
 35. Van Der Meulen T, Donaldson CJ, Cáceres E, Hunter AE, Cowing-Zitron C, Pound LD, et al. Urocortin3 mediates somatostatin-dependent negative feedback control of insulin secretion. *Nat Med.* 2015; 21(7):769-776.
 36. Dermitzaki E, Liapakis G, Androulidaki A, Venihaki M, Melissas J, Tsatsanis C, et al. Corticotrophin-Releasing Factor (CRF) and the Urocortins Are Potent Regulators of the Inflammatory Phenotype of Human and Mouse White Adipocytes and the Differentiation of Mouse 3T3L1 Pre-Adipocytes. *PLoS ONE.* 2014; 9(5):e97060.
 37. Xiong Y, Qu Z, Chen N, Gong H, Song M, Chen X, et al. The local corticotropin-releasing hormone receptor 2 signalling pathway partly mediates hypoxia-induced increases in lipolysis via the cAMP-protein kinase A signalling pathway in white adipose tissue. *Mol Cell Endocrinol.* 2014; 392(1-2):106-114.
 38. Lu B, Diz-Chaves Y, Markovic D, Contarino A, Penicaud L, Fanelli F, et al. The corticotrophin-releasing factor/urocortin system regulates white fat browning in mice through paracrine mechanisms. *Int J Obes.* 2015; 39(3):408-417.
 39. Diaz I, Smani T. New insights into the mechanisms underlying vascular and cardiac effects of urocortin. *Curr Vasc Pharmacol.* 2013; 11(4):457-464.
 40. Popov SV, Prokudina ES, Mukhomedzyanov AV, Naryzhnaya NV, Ma H, Zurmanova JM, et al. Cardioprotective and Vasoprotective Effects of Corticotropin-Releasing Hormone and Urocortins: Receptors and Signaling. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 2021; 26(6):575-584.
 41. Tsuda T, Takefuji M, Wettschureck N, Kotani K, Morimoto R, Okumura T, et al. Corticotropin releasing hormone receptor 2 exacerbates chronic cardiac dysfunction. *J Exp Med.* 2017; 214(7):1877-1888.
 42. Monteiro-Pinto C, Adão R, Leite-Moreira AF, Brás-Silva C. Cardiovascular Effects of Urocortin-2: Pathophysiological Mechanisms and Therapeutic Potential. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2019; 33(5):599-613.

43. Chatzaki E, Kefala N, Drosos I, Lalidou F, Baritaki S. Do urocortins have a role in treating cardiovascular disease? *Drug Discovery Today*. 2019; 24(1):279-284.
44. Gravanis A, Margioris AN. The corticotropin-releasing factor (CRF) family of neuropeptides in inflammation: potential therapeutic applications. *Curr Med Chem*. 2005; 12(13):1503-1512.
45. Vecsernyés M, Kovács KJ, Tóth BE, Welke L, Nagy GM. New Aspects of the Immunoregulation by the Hypothalamo-Pituitary-Adrenal (HPA) Axis. *Adv Neuroimmune Biol*. 2012; 3:287-295.
46. Nezi M, Mastorakos G, Mouslech Z. Corticotropin Releasing Hormone And The Immune/Inflammatory Response: MDText.com, Inc., South Dartmouth (MA); 2015 2000.
47. Im E. Multi-facets of Corticotropin-releasing Factor in Modulating Inflammation and Angiogenesis. *J Neurogastroenterol Motil*. 2015; 21(1):025-032.
48. Moss AC, Anton P, Savidge T, Newman P, Cheifetz AS, Gay J, et al. Urocortin II mediates pro-inflammatory effects in human colonocytes via corticotropin-releasing hormone receptor 2. *Gut*. 2007; 56(9):1210-1217.
49. Baigent SM. Peripheral corticotropin-releasing hormone and urocortin in the control of the immune response. *Peptides*. 2001; 22(5):809-820.
50. Gonzalez-Rey E, Delgado M. Anti-inflammatory neuropeptide receptors: new therapeutic targets for immune disorders? *Trends Pharmacol Sci*. 2007; 28(9):482-491.
51. Chatzaki E, Charalampopoulos I, Leontidis C, Mouzas IA, Tzardi M, Tsatsanis C, et al. Urocortin in Human Gastric Mucosa: Relationship to Inflammatory Activity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003; 88(1):478-483.
52. Agnello D, Bertini R, Sacco S, Meazza C, Villa P, Ghezzi P. Corticosteroid-independent inhibition of tumor necrosis factor production by the neuropeptide urocortin. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 1998; 275(5):E757-E762.
53. Tsatsanis C, Androulidaki A, Dermitzaki E, Charalampopoulos I, Spiess J, Gravanis A, et al. Urocortin 1 and Urocortin 2 induce macrophage apoptosis via CRFR2. *FEBS Lett*. 2005; 579(20):4259-4264.
54. Liu X, Liu C, Li J, Zhang X, Song F, Xu J. Urocortin attenuates myocardial fibrosis in diabetic rats via the Akt/GSK-3 β signaling pathway. *Endocr Res*. 2016; 41(2):148-157.
55. Honjo T, Inoue N, Shiraki R, Kobayashi S, Otsui K, Takahashi M, et al. Endothelial Urocortin Has Potent Antioxidative Properties and Is Upregulated by Inflammatory Cytokines and Pitavastatin. *J Vasc Res*. 2006; 43(2):131-138.
56. Steenblock C, Todorov V, Kanczkowski W, Eisenhofer G, Schedl A, Wong M-L, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and the neuroendocrine stress axis. *Mol Psychiatry*. 2020; 25(8):1611-1617.
57. Ding Y, He L, Zhang Q, Huang Z, Che X, Hou J, et al. Organ distribution of severe acute respiratory syndrome (SARS) associated coronavirus (SARS-CoV) in SARS patients: implications for pathogenesis and virus transmission pathways. *J Pathol*. 2004; 203(2):622-630.
58. Bellastella G, Cirillo P, Carbone C, Scappaticcio L, Maio A, Botta G, et al. Neuroimmunoendocrinology of SARS-CoV-2 Infection. *Biomedicines*. 2022; 10(11):2855.
59. Agarwal S, Agarwal SK. Endocrine changes in SARS-CoV-2 patients and lessons from SARS-CoV. *Postgrad Med J*. 2020; 96(1137):412-416.
60. Yavropoulou MP, Tsokos GC, Chrousos GP, Sfrikakis PP. Protracted stress-induced hypocortisolemia may account for the clinical and immune manifestations of Long COVID. *Clin Immunol*. 2022; 245:109133.
61. Ho JC, Ooi GC, Mok TY, Chan JW, Hung I, Lam B, et al. High-Dose Pulse Versus Nonpulse Corticosteroid Regimens in Severe Acute Respiratory Syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003; 168(12):1449-1456.
62. Stockman LJ, Bellamy R, Garner P. SARS: Systematic Review of Treatment Effects. *PLoS Med*. 2006; 3(9):e343.
63. De Kloet AD, Cahill KM, Scott KA, Krause EG. Overexpression of angiotensin converting enzyme 2 reduces anxiety-like behavior in female mice. *Physiol Behav*. 2020; 224:113002.
64. Alenina N, Bader M. ACE2 in Brain Physiology and Pathophysiology: Evidence from Transgenic Animal Models. *Neurochem Res*. 2019; 44(6):1323-1329.
65. Wang LA, De Kloet AD, Smeltzer MD, Cahill KM, Hiller H, Bruce EB, et al. Coupling corticotropin-releasing-hormone and angiotensin

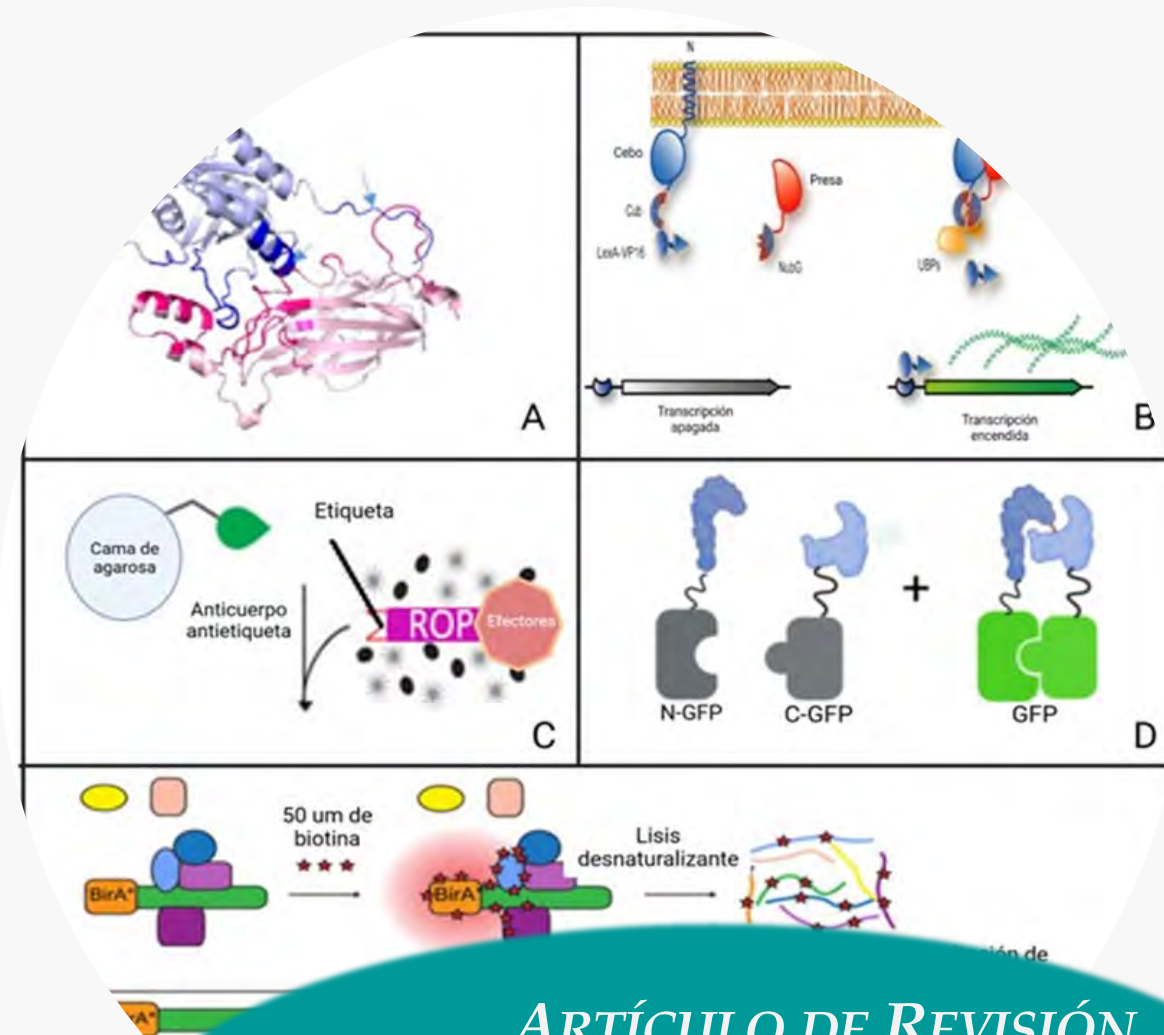
converting enzyme 2 dampens stress responsiveness in male mice. *Neuropharmacology*. 2018; 133:85-93.

66. Netland J, Meyerholz DK, Moore S, Cassell M, Perlman S. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Infection Causes Neuronal Death in the Absence of Encephalitis in Mice Transgenic for Human ACE2. *J Virol*. 2008; 82(15):7264-7275.

67. Leow MK-S, Kwek DS-K, Ng AW-K, Ong K-C, Kaw GJ-L, Lee LS-U. Hypocortisolism in survivors of severe acute respiratory syndrome (SARS). *Clin Endocrinol*. 2005; 63(2):197-202.

68. Rajkumar RP. Harnessing the Neurobiology of Resilience to Protect the Mental Well-Being of Healthcare Workers During the COVID-19 Pandemic. *Front Psychol*. 2021; 12(745):1-15.

69. Bailey CR, Cordell E, Sobin SM, Neumeister A. Recent Progress in Understanding the Pathophysiology of Post-Traumatic Stress Disorder. *CNS Drugs*. 2013; 27(3):221-232.



ARTÍCULO DE REVISIÓN *Las ROP GTPasas en las interacciones plantas-microorganismos*

plantas-microorganismos

ARTÍCULO DE REVISIÓN

LAS ROP GTPASAS EN LAS INTERACCIONES PLANTAS-MICROORGANISMOS

Ivette García-Soto (1,2), Mario Serrano*(1)

(1) Centro de Ciencias Genómicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca, Morelos, México.

(2) Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Bioquímicas. Universidad Nacional Autónoma de México.

Autor de correspondencia E: serrano@cgc.unam.mx

Correo E: ivette.garcia@ibt.unam.mx

RESUMEN

Las plantas se encuentran en constante interacción con diversos microorganismos del medioambiente. La correcta detección y activación de la señalización inducida por los microorganismos en las plantas, conduce a la inducción de mecanismos moleculares que las ayudan a discernir entre las interacciones positivas o negativas. Las proteínas GTPasas pequeñas son parte de este mecanismo de transducción de señales. Durante la interacción planta-microorganismos las ROP GTPasas reciben señales de los receptores transmembranales y activan efectores moleculares que permiten a la planta establecer el tipo de relación que establecerán con los microorganismos. Estas proteínas son consideradas como interruptores moleculares y están involucradas en funciones celulares como tráfico vesicular, señalización, rearrreglo del citoesqueleto, transporte nuclear, crecimiento polar, expresión genética y regulación hormonal. En esta revisión, describimos la información más reciente sobre el mecanismo de acción de las ROPs GTPasas, así como su papel en las interacciones planta-microorganismos.

PALABRAS CLAVE

ROP GTPasas,
simbiosis,
patogénesis,
plantas

ABSTRACT

Plants are in constant interaction with multiple microorganisms in the environment. The proper perception and activation of microbe-induced signaling in plants leads to the induction of molecular mechanisms that help them to discriminate between positive and negative interactions. These signaling mechanisms are mediated by small GTPases. During plant-microorganism interactions, ROP GTPases receive signals from transmembrane receptors and activate molecular effectors that allow the plant to establish relationships with microorganisms. These proteins are considered as molecular switches and are involved in cellular functions such as vesicular trafficking, signaling, and rearrangement of the cytoskeleton. This review summarizes the latest information on the mechanism of action of ROPs GTPases as well as their role during plant-microorganism interactions.

KEYWORDS

ROP GTPases,
symbiosis,
pathogenesis,
plants

INTRODUCCIÓN

Las plantas son organismos sésiles en constante interacción con factores ambientales tanto bióticos como abióticos. La correcta detección de los estímulos externos conduce a respuestas que garantizan su sobrevivencia. Existen muchas moléculas en las plantas que participan en la detección de los estímulos, así como en la señalización que se desencadena para responder ante las perturbaciones del medioambiente. Entre estas moléculas se encuentran las GTPasas pequeñas, las cuales son proteínas que funcionan como interruptores moleculares que están involucradas en la transducción de señales, ya que conectan estímulos externos con la respuesta celular [1].

Las GTPasas pequeñas están presentes en todos los organismos eucariotas, desde las levaduras hasta los mamíferos y plantas superiores. El papel regulatorio de estas proteínas fue descubierto en 1982 durante el estudio de células humanas enfermas de

cáncer como consecuencia de una infección viral [2]. Las GTPasas pequeñas se agrupan principalmente en 5 superfamilias en levaduras y animales; están divididas en RAB, RAS, ARF, RHO y RAN (Fig. 1). Excepto por la superfamilia RAS, todas se encuentran en plantas. A su vez, la superfamilia RHO ha sido dividida en cuatro subfamilias: RHO, RAC, CDC42 y ROP (*Rho of plants*, también nombradas RAC). Específicamente, las proteínas de la subfamilia ROP solamente han sido encontradas en plantas (Fig. 1) [3].

Las proteínas ROP están presentes en todos los linajes de plantas, desde algas verdes hasta musgos, tales como *Physcomitrella patens*, así como en angiospermas, incluyendo monocotiledóneas y dicotiledóneas [4]. Las ROPs están involucradas en muchas funciones en las plantas, incluyendo tráfico vesicular, señalización, rearrreglo del citoesqueleto, transporte nuclear, crecimiento polar, expresión genética, regulación hormonal, interacción planta-microorganismos, entre otras [1, 5].

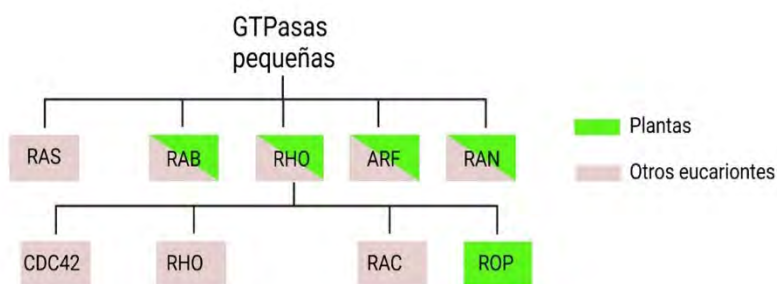


Figura 1. Las GTPasas pequeñas se subdividen en 5 superfamilias: RAB, RAS, ARF, RHO y RAN; todas están presentes en todos los organismos eucariotas, excepto las RAS, que no se encuentran en plantas. La superfamilia RHO se encuentra a su vez subdividida en 5 subfamilias; de éstas, las ROP constituyen una subfamilia única de plantas. Modificado de [3].

Mecanismo de acción de las ROPs

Desde el punto de vista molecular, las ROPs funcionan como interruptores, ya que cuando unen GDP, se encuentran inactivas y en respuesta a ciertas señales específicas se unen a GTP, cambiando a un estado activo. Se plantea que el estado activo conduce a la relocalización e interacción con sus efectores, con lo que se inicia una cascada de señalización (Fig. 2) [6].

Las proteínas ROP presentan dos características fundamentales en su funcionamiento. En primer lugar, debido a su ineficiente hidrólisis de GTP, mantienen su forma activa unida a GTP por largos períodos de tiempo. En segundo lugar, la liberación de GDP es ineficiente y depende de actividad enzimática. Debido a estas características, los ciclos de activación/inactivación dependientes de la unión GTP/GDP están regulados en tiempo y espacio por factores intercambiadores de nucleótidos (*GDP/GTP Exchange Factors: GEFs*), que facilitan la liberación de GDP, y por proteínas activadoras de

GTPasa (*GTPase Activating Proteins: GAPs*) que potencian la hidrólisis de GTP [7]. Por otro lado, las ROPs también son reguladas por la familia de proteínas de los inhibidores de la disociación de nucleótidos de guanosina (*Guanosine Nucleotide dissociation inhibitors: GDI*), las cuales inhiben el intercambio de GDP por GTP, manteniendo una reserva de GTPasas inactivas en el citosol (Fig. 2) [5].

ROPs, relación estructura-función

Las proteínas ROP presentan un peso molecular entre 21-24 KDa. Estructuralmente están compuestas por un dominio N terminal catalítico (dominio G), por el cual interactúan con los efectores y nucleótidos, y un dominio C terminal, responsable de la localización subcelular (Fig. 3). El dominio N terminal consiste en cinco secuencias conservadas conocidas como cajas G (G1- G5), las cuales son responsables de la unión GTP/GDP y Mg^{++} , así como de la actividad hidrolítica GTPasa. También poseen un dominio C-terminal hipervariable (defi-

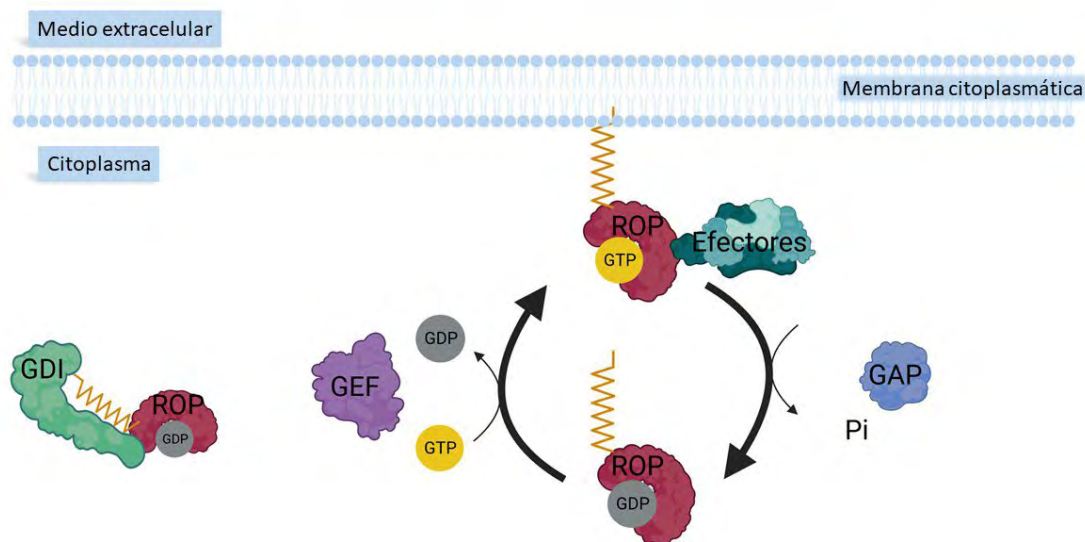


Figura 2. Ciclo regulador de las ROP GTPasas. Las ROPs alternan entre un estado activo unido a GTP y un estado inactivo unido a GDP. Esta acción está regulada por factores de intercambio de nucleótidos de guanina (GEF) que catalizan el intercambio de GDP por GTP, proteínas activadoras de GTPasas (GAP) que aumentan la velocidad de hidrólisis de GTP e inhibidores de la disociación de nucleótidos de guanosina (GDI) que inhiben el intercambio de GDP por GTP, manteniendo una reserva de GTPasas inactivas en el citosol. Creado con *BioRender.com*

nido así por ser la región menos conservada de la secuencia de aminoácidos) responsable de la localización subcelular (Fig. 3) [5]. Los dominios G2 y G3 son también conocidos como regiones *switch* I y II respectivamente y son las que contactan con el fosfato gamma (el grupo fosfato más alejado del azúcar ribosa) en la forma que une GTP. Esto conduce a cambios conformacionales que alteran la afinidad por proteínas regulatorias (GEF, GAP y GDI) y efectores moleculares (proteínas que son activadas por las ROPs) [5].

La asociación de ROPs con la membrana plasmática depende de una modificación lipídica post-traducciona que ocurre en la región hipervariable del C-terminal. Esta región puede encontrarse prenilada (incorporación de grupos lipídicos isoprenoides a las proteínas sintetizadas) o S-acilada (adición de una molécula lipídica de cadena larga sobre residuos de cisteína), según lo cual las ROPs se dividen en tipo I (preniladas) o tipo II (S-aciladas). La prenilación ocurre en los residuos de cisteína que son parte de los motivos CaaX o CaaL (C-Cys: a, residuo alifático; X, cualquier aminoácido; L, Leu). La S acilación ocurre en la cisteína de la secuencia GC-CG (-separación por 5 o 6 residuos de aminoácidos). Al parecer las ROP tipo II no están reguladas por GDIs debido a que no tienen prenilación, lo que es requerido para la interacción entre ROP y GDI [5].

Basado en la conservación estructural de las ROPs, se ha predicho que mutaciones puntuales en la lisina 1 (equivalente a G15 para las AtROPs1-7 y AtROP9; G17 en AtROP10 y AtROP11; G27 en AtROP8) o glutamina 3 (equivalente a Q64 para AtROPs1-7 y AtROP9; Q66 en AtROP10 y AtROP11; Q76 en AtROP8) resultan en la generación de mutantes constitutivamente activos (proteínas que siempre tienen unido GTP y siempre están activando a sus efectores), ya que la mutación en estas posiciones evita la hidrólisis de GTP. Mutaciones en Treonina 1 (equivalente a T20 para las AtROPs1-7 y AtROP9; T22 en AtROP10 y AtROP11; T32 en AtROP8) genera mutantes dominantes negativos (proteínas inactivas que siempre están unidas a GDP y por tanto son inactivas) pues se reduce la afinidad por nucleótidos y estabiliza la interacción con proteínas GEF que previenen la activación de ROPs [5]. En *Medicago truncatula*, cambios de la glicina 1 por valina en la secuencia GAVGKT, generan mutantes constitutivamente activos, y cambios de aspártico por alanina en la secuencia KLD del dominio G4 generan mutantes dominantes negativos [8] (Fig. 3). Estas versiones constitutivamente activas y dominantes negativas de las ROPs se conocen como mutantes de actividad y han sido ampliamente generadas para estudiar las funciones de estas proteínas en las plantas [8].

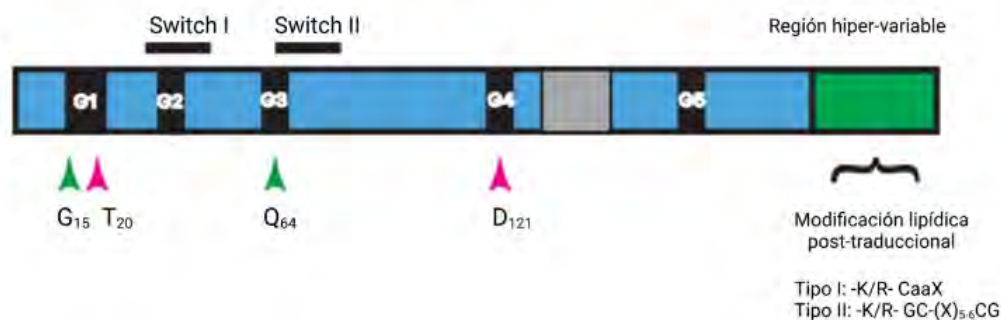


Figura 3. Motivos conservados en las ROP GTPasas. Las proteínas ROP GTPasas presentan un dominio N terminal catalítico (dominio G) y un dominio C terminal (Caja verde). El dominio G, consiste en cinco secuencias conservadas conocidas como cajas G (G1-G5), responsables de

la unión de GTP/GDP y Mg^{++} , así como de la actividad de GTPasa. Los dominios G2 y G3 son también conocidos como regiones "switch" I y II, respectivamente, y son las que contactan con el fosfato gamma en la forma que une GTP. El dominio C terminal está compuesto por una región hipervariable donde ocurre una modificación lipídica post-traducciona. Tomado de [5].

Posibles activadores de la señalización mediada por ROPs

En levaduras y animales, las GTPasas están involucradas en diferentes vías de señalización a través de receptores con actividad cinasas, y regulan varios procesos como la reorganización del citoesqueleto. La actividad cinasa de estos receptores está directamente regulada por las proteínas G y están involucradas en la regulación de procesos celulares básicos, incluyendo la morfología celular, la división y el tráfico vesicular [1]. Ninguna de estas familias de receptores con actividad cinasa están presentes en plantas, ni tampoco están sus mecanismos de acción. Por ello se ha planteado la posibilidad de que en plantas la recepción de señales extracelulares sea percibida por receptores similares a cinasas [7]. Empleando el sistema de doble híbrido de levaduras se determinó la unión de receptores específicos de plantas con actividad cinasas, con la forma constitutivamente activa de proteínas ROP en modelos experimentales como *Arabidopsis* y *Medicago* [8, 9]. Estos receptores con actividad de cinasas pertenecen a la familia de receptores específicos de plantas parecidos a cinasas citoplasmáticas (*plant-specific receptor-like cytoplasmic kinases*: RLCKs). Los receptores RLCKs están agrupados en 10 clases diferentes. Se ha encontrado que los miembros de la clase RLCKs VI se unen a ROP y tienen actividad cinasa ROP dependiente [10]. Estudios realizados en *Solanum lycopersicum* (tomate) determinaron la interacción entre RLCK-ROPGEFs-ROP. También se ha planteado la posibilidad de interacción entre ROPs y Proteínas G heterotriméricas [7].

Posibles efectores de ROPs

Una vez que las ROPs detectan las señales extracelulares a través de los receptores transmembranales,

se activan e interactúan con sus efectores. Se han planteado posibles efectores de ROP que están involucrados en la dinámica de los filamentos de actina; entre ellos se encuentra la subunidad PIR del complejo homólogo en plantas al complejo WAVE de levaduras y animales, cuya interacción con ROP induce la polimerización del filamento de actina. Diferentes estudios sugieren que el mecanismo por el cual las ROPs regulan la organización de la actina es mediante la fosforilación y supresión del factor ADF (Actin Depolymerizing Factor) que participa en la despolimerización de la actina [5]. Otros posibles efectores pueden ser las forminas en plantas, las cuales, en levaduras y animales, inducen la polimerización de la actina [5]. Entre los posibles efectores de ROPs se ha sugerido a la enzima fosfatidil inositol monofosfato cinasa, la cual está involucrada en la señalización dependiente de Ca^{++} , y la fosfolipasa D [5]. Por otro lado, se ha planteado la posible interacción de ROPs con la subunidad UDP-glucosa transferasa del complejo enzimático calosa sintasa, así como con las MAP cinasas [7]. También se han estudiado los efectores de las proteínas reguladoras de ROPs como la interacción de SPK1 (un ROPGEF) con proteínas ROPs en *Arabidopsis* [5]. Al parecer, SPK1 es responsable de la activación de ROP2, ROP6 y ROP4, ya que en plantas de *A. thaliana* mutantes dominantes negativas de SPK1 los niveles de AtROP2, AtROP6 y AtROP4 activas son inferiores comparados con los de la planta silvestre [11].

Otros posibles interactores de las proteínas ROPs son las proteínas RIC (*Rop-interacting CRIB-motif containing proteins*) [11]. Estas proteínas están involucradas en varias funciones celulares ya que son proteínas de unión a elementos del citoesqueleto como los microtúbulos [5]. Las proteínas RIC3 y RIC4 de *A. thaliana* se han propuesto como efectores

res de ROP y se ha visto que median la regulación de los filamentos de actina en el tubo polínico. Se ha planteado que ROP6 interactúa con RIC1, que a su vez interactúa con KTN1, una proteína involucrada en el corte de los microtúbulos y que permite el ordenamiento de los microtúbulos corticales y la expansión celular. En *A. thaliana* la auxina regula corriente arriba de AtROP6 y AtROP2 para controlar este proceso [11].

Las proteínas ROPs también interactúan con las proteínas RIP (*ROP Interacting Partner*), las cuales se asocian con cinesinas involucradas en la desestabilización de los microtúbulos. La proteína RIP ICR1 interactúa con el componente exocítico SEC3 y parece ser un vínculo entre la activación de ROP y la fusión de vesículas con la membrana plasmática [12]. Estos investigadores también propusieron que las proteínas RISAP se asocian con RAC5 (ROP) en *Nicotiana benthamiana* mediante ensayos de *pull down* y ensayo de doble híbrido en levaduras. Dichas proteínas presentan un dominio que se une al dominio GTD (*Globular Tail Domain*) de la miosina XI plasmática [12].

En *Oryza sativa*, la proteína RAC1 (una proteína ROP) activa a RBOH (*Respiratory Burst Oxidase Homologs*) en una ruta que es iniciada por la detección de quitina. En la ruta propuesta, la quitina es detectada por OsCERK1, que es un receptor similar a receptores con actividad cinasa, que forma un complejo con la proteína OsCEBiP (una proteína que une quitina). En presencia de quitina, OsCERK1 fosforila y activa a OsRACGEF, que a su vez activa a OsRAC1, quien activa a NADPH y participa en la biosíntesis de lignina y en la producción de especies reactivas del oxígeno. Sin embargo, cabe resaltar que la mayoría de estos posibles efectores necesitan ser esclarecidos ya que los procedimientos experimentales no son lo suficientemente contundentes y se basan en los efectores de Rho GTPasas en los modelos animales y fúngicos.

Las ROPs en las interacciones benéficas plantas-microorganismos

El papel de las ROP GTPasas durante la interacción plantas-microorganismos fue establecido desde hace 25 años. Las ROP GTPasas están involucradas tanto en interacciones positivas como negativas con los microorganismos [1]. Se ha propuesto que en la interacción leguminosas-rhizobios, las ROP GTPasas modulan la actividad de los filamentos de actina para permitir la entrada y el acomodamiento de las bacterias en el interior celular. Varios autores han sugerido que al igual que las proteínas de la familia

Rho en hongos y en mamíferos, las ROP GTPasas regulan la organización y la dinámica de los filamentos de actina y microtúbulos de las plantas [13, 14]. Un ejemplo de esto consiste en la propuesta realizada por [14], donde al estudiar plantas de *L. japonicus* silenciadas *rop6* observaron defectos en la reorganización de los filamentos de actina y en la colonización de los rhizobios. En este mismo modelo experimental, se observó que en plantas de *L. japonicus*, silenciadas *rop3* el número de nódulos estaba afectado, demostrando que *ROP3* está implicado en la simbiosis fijadora de nitrógeno [15]. También en *Medicago truncatula* [8] demostraron que ROP10 es necesario para la nodulación. Las ROP GTPasas también han sido estudiadas durante la interacción planta-micorrizas arbusculares. En *Medicago truncatula*, plantas deficientes en la expresión de ROP9, mejoran la penetración del hongo micorrízico arbuscular *Glomus intraradices*. Estas evidencias demuestran que algunas ROP ayudan en la penetración de los microorganismos beneficiosos en el tejido vegetal, mientras que otras la impiden.

Papel de ROPs en la patogénesis

Las proteínas RAC/ROPs están involucradas en diferentes funciones celulares como la reorganización del citoesqueleto, la polaridad celular, la síntesis de pared celular, en la respuesta a patógenos, el ciclo celular y la diferenciación [16]. Se cree que las RAC/ROPs están involucradas en la respuesta a patógenos a través de un incremento en la producción de especies reactivas del oxígeno, mediante su interacción con RBOH, la cual es una enzima implicada en la producción de especies reactivas del oxígeno. Otras vías en las que se ha planteado que están involucradas las ROPs durante la patogénesis es la activación de las MAPKs, y la síntesis de lignina y calosa para impedir la penetración del patógeno [17]. Sin embargo, también se ha planteado que las RAC/ROPs pueden tener un papel dual en la respuesta a patógenos, regulándola tanto de manera positiva como negativa [18].

El papel de las proteínas RAC/ROP durante la patogénesis ha sido estudiado principalmente en *Oryza sativa* (arroz), *Hordeum vulgare* (cebada), *Nicotiana tabacum* (tabaco) y *Arabidopsis thaliana*; de estos modelos, *O. sativa* ha sido el más estudiado. En arroz existen 7 RAC/ROPs, cuyo papel en la patogénesis fue evaluado por [19] mediante silenciamiento génico (el silenciamiento génico mediado por RNAi, se refiere al proceso que promueve la degradación del RNAm, así como la reducción de sus niveles de traducción). Estos investigadores silen-

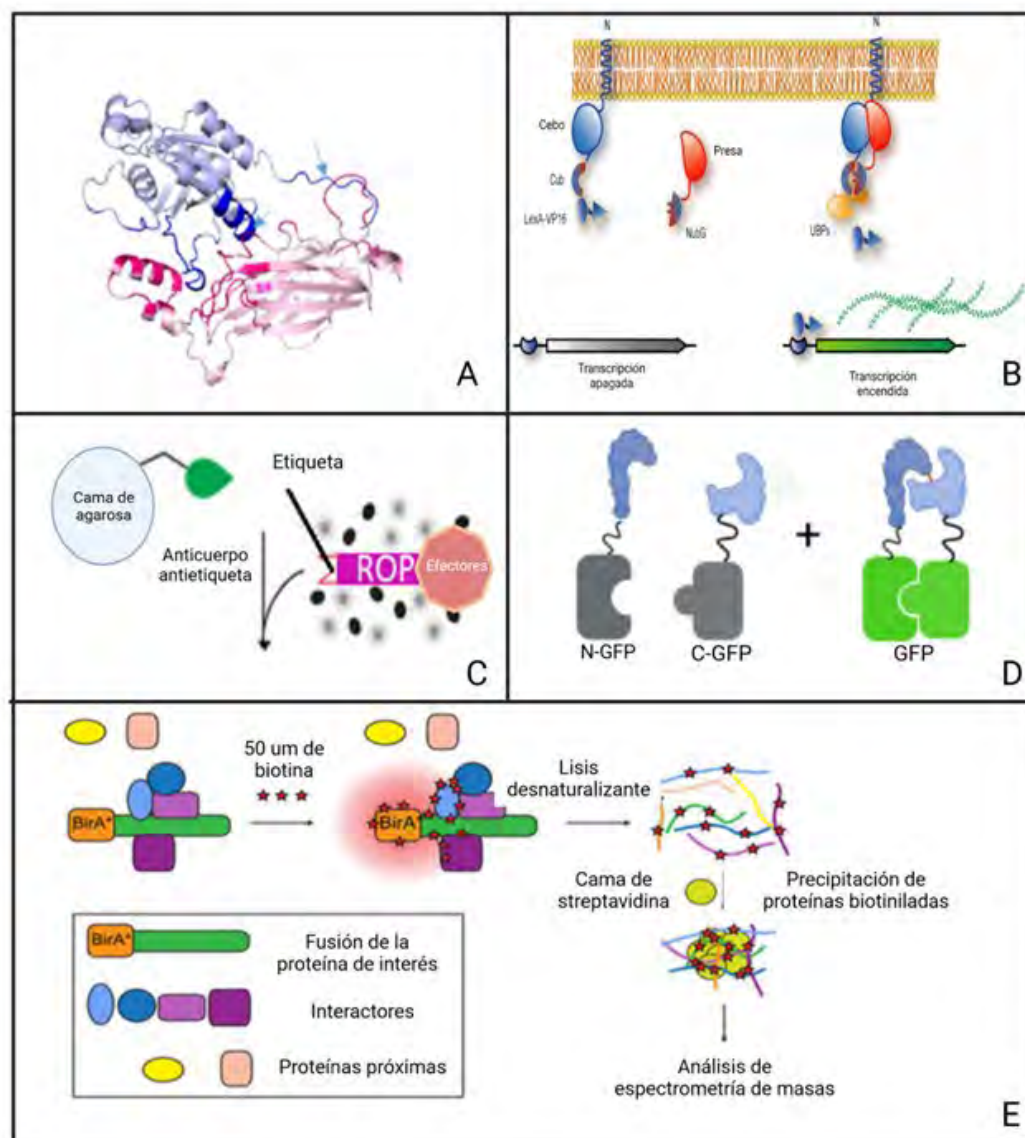


Figura 4. Técnicas empleadas en el estudio de los interactores de las ROP GTPasas. La determinación de los interactores de las ROPs se ha efectuado a través de estudios *in silico* de las ROPs con efectores predichos de los modelos animales y levaduras (A). Además, se han empleado técnicas heterólogas como el sistema de dos híbridos en levadura (B) o el *pull down* (C) para confirmar interacciones predichas o para atrapar nuevos interactores. Sin embargo, las técnicas de microscopía como el BIFC (D) han permitido corroborar *in vivo* algunos de los efectores identificados empleando las técnicas anteriores. Una de las técnicas actuales más prometedoras en la identificación *in vivo* de interactores de ROP pudiera ser el BiD (E), que consiste en la fusión traduccional de una ligasa de biotina con el gen de interés. Dicha ligasa adiciona biotina a todas las proteínas que se acerquen a no más de 10 nm de distancia de la proteína de interés. Las proteínas biotiniladas son posteriormente purificadas y enviadas a espectrometría de masas para su futura identificación. Modificado de (DUALhunter Kit; Firat-Karalar & Stearns). Creado con BioRender.com

viadas a espectrometría de masas para su futura identificación. Modificado de (DUALhunter Kit; Firat-Karalar & Stearns). Creado con BioRender.com

ciaron diferentes miembros de RAC/ROP, y determinaron que las plantas silenciadas *rac5* y *rac4* eran menos susceptibles a patógenos, mientras que silenciadas *rac1* incrementan la susceptibilidad frente *Magnaporthe grisea*. Estos resultados sugieren la posibilidad de la existencia de un papel dual de las proteínas ROP en la patogénesis. Un hecho similar se reportó en cebada donde el silenciamiento de *RACB* incrementó la resistencia a *Blumeria graminis* porque se redujo el establecimiento del haustorio en las células epidérmicas [16]. En este sentido, se ha propuesto que *RACB* interactúa con un péptido denominado ROIP1 (*ROP-interactive peptide 1*) y codificado por *B. graminis*, que al interactuar con *RACB*, “manipula” la reorganiza-

ción de los microtúbulos corticales y, de esta manera, favorece la entrada del patógeno [20].

Entre las proteínas RAC/ROP de arroz, *RAC1* ha sido la más estudiada. Varios investigadores [19, 21, 22] han propuesto que la sobreexpresión de la forma constitutivamente activa de esta proteína incrementa la susceptibilidad de *O. sativa* a *Magnaporthe grisea*. Por otro lado, la sobreexpresión de una versión dominante negativa de *AtRAC11/ROP1* en hojas de papa disminuye la infección por *P. infestans* [16]. Nosotros hemos determinado que al sobre expresar una ROP se reprimen mecanismos de defensa que llevan a un incremento de la susceptibilidad de *A. thaliana* frente a varios patógenos (García-Soto *et al.*, datos no publicados). Estos

resultados sugieren que las ROP GTPasas pueden regular la respuesta inmune en planta.

Perspectivas en el estudio de las ROP GTPasas

La mayoría de los estudios realizados con las proteínas ROP se han realizado sobre el fondo genético de plantas silvestres y expresando versiones de ROP constitutivamente activas o dominantes negativas. Teniendo en cuenta que la regulación de proteínas ROP por proteínas de las familias GEF, GAP y GDI es muy fina, y generalmente con igual estequiometría [7], es probable que la sobreexpresión de dichas proteínas pueda desequilibrar la regulación del resto de las proteínas ROP expresadas. Sin embargo, muchas veces la generación de mutantes de pérdida de función conduce a la no detección de fenotipos asociados [18]. Esto se debe a que las ROP GTPasas son una familia de proteínas con alto grado de conservación en secuencia y estructura por lo que, ante la carencia de una, otras pueden ejercer su función (redundancia funcional) [23]. Por ello, la generación de mutantes de actividad continúa siendo una de las mejores estrategias para el estudio de esta familia proteica.

Entre los mayores retos del estudio de las ROPs ha estado la identificación de sus interactores en diferentes procesos celulares. Muchos esfuerzos se han realizado para ello, desde aproximaciones *in silico*, modelos heterólogos (dos híbridos en levaduras), *pull-down* y técnicas de microscopía de fluorescencia (FRET: *fluorescence resonance energy transfer* y BIFC: *bimolecular fluorescence complementation*) (Fig. 4) [24 – 27]. Aunque todas ellas han aportado conocimiento sobre los interactores que hoy en día se conocen, aún hay muchas limitaciones que impiden la identificación *in vivo* de proteínas interactoras de las ROPs. Una de las técnicas más revolucionarias, que podría aportar muchas luces en la determinación del interactoma de las ROP, es la denominada BioID (*Proximity-dependent Biotin Identification*). Esta técnica fue estandarizada y empleada por primera vez en plantas en 2017 [28] y consiste en la fusión traduccional de una ligasa de biotina con el gen de interés. Dicha ligasa adiciona

biotina a todas las proteínas que se acerquen a no más de 10 nm de distancia de la proteína de interés. Las proteínas biotiniladas son posteriormente purificadas y enviadas a espectrometría de masas para su futura identificación (Fig. 4).

La identificación del interactoma de las ROPs aportaría grandes conocimientos a disímiles mecanismos de señalización en la célula. Además, conociendo los interactores en determinadas condiciones (por ejemplo, durante la interacción planta-patógeno) se podrían generar biosensores (herramientas moleculares que suelen combinar un componente de naturaleza biológica y otro físico-químico; por ejemplo, los glucómetros para medir la glucosa en la sangre) con amplias aplicaciones biotecnológicas (puesta en marcha de tecnologías que utilizan sistemas biológicos y organismos vivos o sus derivados para la creación o modificación de productos o procesos).

CONCLUSIÓN

El papel de las ROP GTPasas durante la interacción planta-microorganismo ha sido ampliamente documentada en las últimas décadas. Sin embargo, aún queda mucho por estudiar en cuanto al mecanismo de acción de estas proteínas, su activación y efectores. El conocimiento que se genere respecto al funcionamiento de estos interruptores moleculares podría conducir hacia importantes campos de acción para determinar proteínas blanco que ayuden a mitigar las enfermedades en las plantas, o que, por el contrario, favorezca la interacción de las plantas con microorganismos benéficos. Esto podría abrir nuevas puertas al camino de la agricultura ecológicamente amigable y contribuiría a mejorar la seguridad alimentaria. 

AGRADECIMIENTOS

M. Serrano agradece el apoyo brindado por el proyecto PAPIIT-UNAM IN203023. I.G.S. es estudiante de Doctorado del Programa de Ciencias Bioquímicas de la UNAM, con apoyo de beca de CONAHCYT No. 856458.

REFERENCIAS

1. Rivero C, Traubenik S, Zanetti ME, Blanco FA. Small GTPases in plant biotic interactions. Small GTPases [Internet]. 2019;10(5):350–60 Available from: <https://doi.org/10.1080/21541248.2017.1333557>
2. Cooper GM. Cellular transforming genes. Science (80-) [Internet]. 1982 [cited 2023 Apr 17];217(4562):801–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6285471/>

3. Engelhardt S, Trutzenberg A, Hückelhoven R. Regulation and Functions of ROP GTPases in Plant-Microbe Interactions [Internet]. Vol. 9, Cells. NLM (Medline); 2020 [cited 2022 Apr 11]. Available from: /pmc/articles/PMC7565977/
4. Yalovsky S. Protein lipid modifications and the regulation of ROP GTPase function. *J Exp Bot* [Internet]. 2015 Mar 1 [cited 2023 May 1];66(6):1617–24. Available from: <https://academic.oup.com/jxb/article-lookup/doi/10.1093/jxb/erv057>
5. Feiguelman G, Fu Y, Yalovsky S. ROP GTPases structure-function and signaling pathways. Vol. 176, *Plant Physiology*. 2018. 57–79 p
6. Bishop AL, Hall A. Rho GTPases and their effector proteins. *Biochem J*. 2000;348(2):241–55
7. Berken A. ROPs in the spotlight of plant signal transduction. *Cell Mol Life Sci*. 2006;63(21):2446–59
8. Lei MJ, Wang Q, Li X, Chen A, Luo L, Xie Y, et al. The small Gtpase ROP10 of medicago truncatula is required for both tip growth of root hairs and nod factor-induced root hair deformation. *Plant Cell* [Internet]. 2015 [cited 2023 May 1];27(3):806–22. Available from: /pmc/articles/PMC4558664/
9. Duan Q, Kita D, Li C, Cheung AY, Wu HM. FERONIA receptor-like kinase regulates RHO GTPase signaling of root hair development. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2010 Oct 12 [cited 2023 May 7];107(41):17821–6. Available from: www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1005366107
10. Molendijk AJ, Ruperti B, Singh MK, Dovzhenko A, Ditengou FA, Milia M, et al. A cysteine-rich receptor-like kinase NCRK and a pathogen-induced protein kinase RBK1 are Rop GTPase interactors. *Plant J* [Internet]. 2008 Mar [cited 2023 May 7];53(6):909–23. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18088316/>
11. Ren H, Dang X, Cai X, Yu P, Li Y, Zhang S, et al. Spatio-temporal orientation of microtubules controls conical cell shape in *Arabidopsis thaliana* petals. Oppenheimer D, editor. *PLOS Genet* [Internet]. 2017 Jun 23 [cited 2023 May 7];13(6):e1006851. Available from: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pgen.1006851>
12. Stephan O, Cottier S, Fahlén S, Montes-Rodriguez A, Sun J, Magnus Eklund D, et al. RISAP is a TGN-Associated RAC5 effector regulating membrane traffic during polar cell growth in tobacco. *Plant Cell* [Internet]. 2014 [cited 2023 May 7];26(11):4426–47. Available from: /pmc/articles/PMC4277221/
13. Hoefle C, Mccollum C, Hückelhoven R. Barley ROP-Interactive Partner-a organizes into RAC1- and MICROTUBULE-ASSOCIATED ROP-GTPASE ACTIVATING PROTEIN 1-dependent membrane domains. 2020;1–12
14. Liu J, Liu M, Qiu L, Xie F. SPIKE1 Activates the GTPase ROP6 to Guide the Polarized Growth of Infection Threads in *Lotus japonicus*. *Plant Cell*. 2020;tpc.00109.2020
15. García-Soto I, Boussageon R, Cruz-Farfán YM, Castro-Chilpa JD, Hernández-Cerezo LX, Bustos-Zagal V, et al. The *Lotus japonicus* ROP3 Is Involved in the Establishment of the Nitrogen-Fixing Symbiosis but Not of the Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis. *Front Plant Sci* [Internet]. 2021 Nov 12 [cited 2022 Feb 12];12:2618. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2021.696450/full>
16. Zhang Z, Yang F, Na R, Zhang X, Yang S, Gao J, et al. AtROP1 negatively regulates potato resistance to via NADPH oxidase-mediated accumulation of H₂O₂. *BMC Plant Biol*. 2014;14(1):1–14
17. Kawano Y, Chen L, Shimamoto K. The function of rac small GTPase and associated proteins in rice innate immunity. *Rice*. 2010;3(2–3):112–21
18. Kawasaki T, Koita H, Nakatsubo T, Hasegawa K, Wakabayashi K, Takahashi H, et al. Cinnamoyl-CoA reductase, a key in lignin biosynthesis, is an effector of small GTPase Rac in defense signaling in rice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103(1):230–5
19. Chen L, Shiotani K, Togashi T, Miki D, Aoyama M, Wong HL, et al. Analysis of the

Rac/Rop small gtpase family in rice: Expression, subcellular localization and role in disease resistance. *Plant Cell Physiol.* 2010;51(4):585–95

20. Nottensteiner M, Zechmann B, Mccollum C, Hückelhoven R. RESEARCH PAPER A barley powdery mildew fungus non-autonomous retrotransposon encodes a peptide that supports penetration success on barley. 2018;69(15):3745–58

21. Ono E, Wong HL, Kawasaki T, Hasegawa M, Kodama O, Shimamoto K. Essential role of the small GTPase Rac in disease resistance of rice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98(2):759–64

22. Kawasaki T, Henmi K, Ono E, Hatakeyama S, Iwano M, Satoh H, et al. The small GTP-binding protein Rac is a regulator of cell death in plants. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999;96(19):10922–6

23. Rong D, Zhao S, Tang W, Luo N, He H, Wang Z, et al. ROP signaling regulates spatial pattern of cell division and specification of meristem notch. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2022 Nov 22 [cited 2023 May 7];119(47):e2117803119. Available from: <http://www.pnas.org/lookup/suppl/doi:10.1073/pnas.2117803119/-/DCSupplemental>

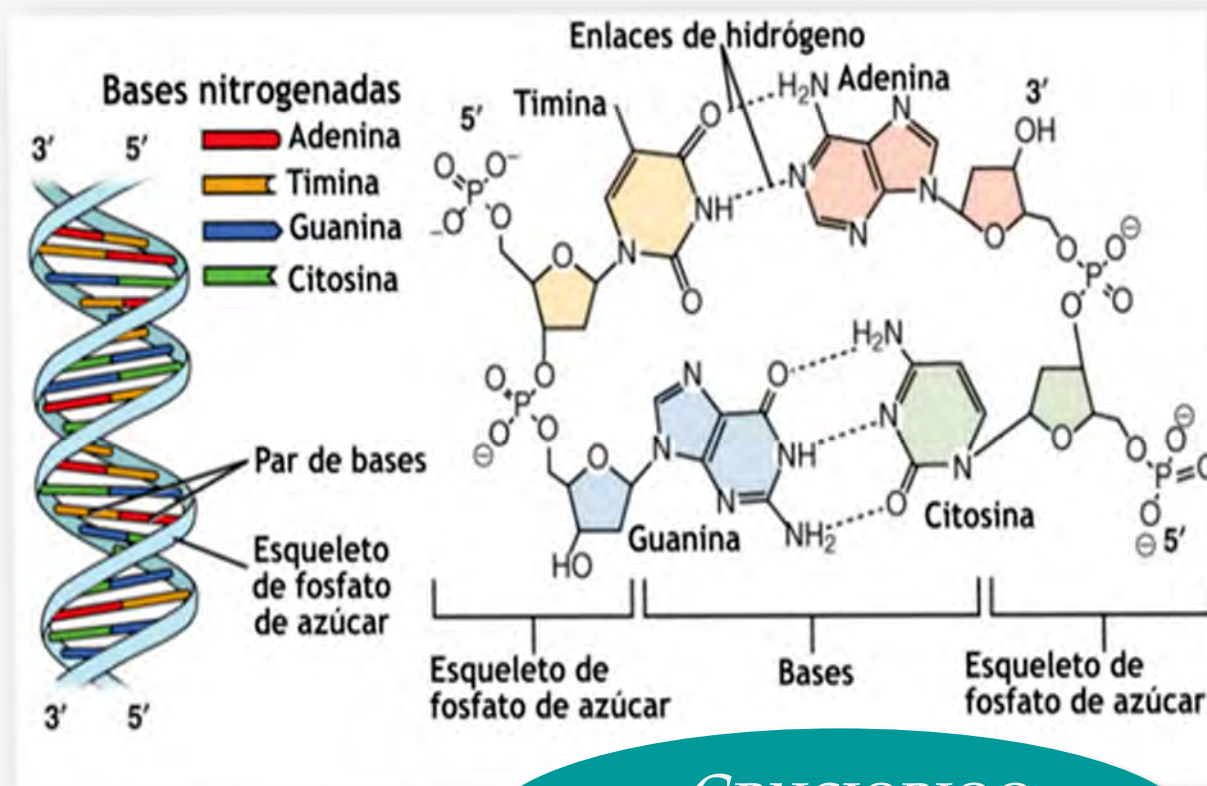
24. Ke D, Li X, Han Y, Cheng L, Yuan H, Wang L. ROP6 is involved in root hair deformation induced by Nod factors in *Lotus japonicus*. *Plant Physiol Biochem* [Internet]. 2016;108:488–98. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.08.015>

25. Wong HL, Pinontoan R, Hayashi K, Tabata R, Yaeno T, Hasegawa K, et al. Regulation of Rice NADPH Oxidase by Binding of Rac GTPase to Its N-Terminal Extension. 2007;19(December):4022–34

26. Akamatsu A, Wong HL, Fujiwara M, Okuda J, Nishide K, Uno K, et al. An OsCEBiP/OsCERK1-OsRacGEF1-OsRac1 module is an essential early component of chitin-induced rice immunity. *Cell Host Microbe* [Internet]. 2013;13(4):465–76. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chom.2013.03.007>

27. Gracia-Soto I. Identificación del interactoma de proteínas ROP durante el rearrreglo del citoesqueleto en *lotus japonicus* ante la endosimbiosis bacteriana. Universidad Nacional Autónoma de México; 2019

28. Lin Q, Zhou Z, Luo W, Fang M, Li M, Li H. Screening of proximal and interacting proteins in rice protoplasts by proximity-dependent biotinylation. *Front Plant Sci.* 2017;8(May):1–10



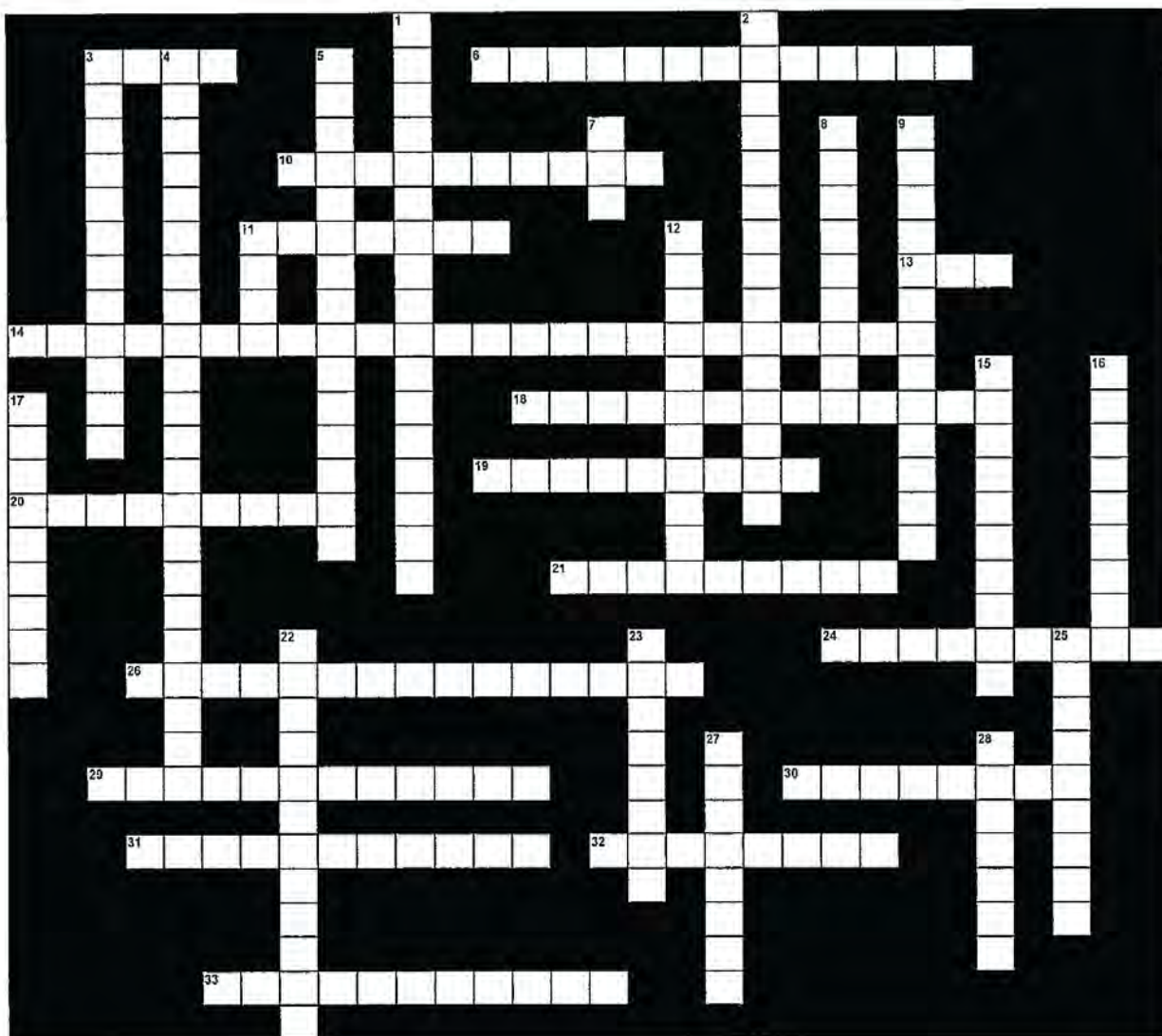
CRUCIOBIOQ
Nucleótidos

CRUCIBIOQ[®]

NUCLEÓTIDOS

Yolanda Saldaña Balmori

Correo E: balmori@bq.unam.mx



HORIZONTALES

3. Siglas de la molécula oxidada que en su forma reducida se obtiene en el ciclo de los fosfatos de hexosa y que es pieza fundamental para la síntesis de ácidos grasos y colesterol entre otras moléculas.

6. Debido a su composición a este grupo pertenecen el NAD^+ , el NADH , el NADP^+ , el NADPH , el FAD y el FADH_2 .

10. En este espacio se encuentran todas las enzimas del metabolismo de las purinas, el primer paso está mediado por la fosforribosil pirofosfato sintetasa que permite la pirofosforilación de la D-ribosa 5-fosfato con la intervención del ATP.

11. Base nitrogenada con la estructura de purina, se encuentra presente en ambos ácidos nucleicos; la estructura trifosforilada interactúa con proteínas transductoras de señales en donde un estímulo desencadena una cascada de actividades enzimáticas.

13. Siglas del nucleótido que al donar un grupo fosfato, le permite ser un intermediario que acopla reacciones endergónicas y exergónicas.

14. Es la forma activa de la vitamina B_2 , participa en la transferencia de partículas subatómicas que entran al sistema de transporte de electrones en el complejo II.

18. Hay dos reacciones de este tipo, la que se llama a nivel de sustrato es independiente de la cadena de transporte de electrones y se realiza cuando un sustrato de alta energía la pierde, permitiendo la incorporación de un fosfato al ADP, un ejemplo es la formación de ATP a partir de fosfoenolpiruvato.

19. Este tipo de ácidos son polímeros con información genética, presentes en todos los organismos, sus unidades se asocian mediante enlaces fosfodiéster.

20. Es la secuencia de tres nucleótidos presentes en el RNA de transferencia que se acoplan a otras tres del RNA mensajero para codificar a un aminoácido.

21. El cAMP actúa en el interior de las células como segundo _____, su formación a partir de la pérdida del pirofosfato del ATP, es estimulada por hormonas o por señales moleculares.

24. La conversión de esta molécula en glucosa es con la participación de la UDP-glucosa y de tres enzimas, si hay un defecto genético de alguna de ellas, puede ocasionar una enfermedad crítica en el recién nacido por cúmulo ya sea del sustrato original o por algunos de los intermediarios.

26. Molécula que en su composición tiene al sistema anular corrina con el que está coordinado el cobalto -estructura que recuerda al grupo hemo de la hemoglobina- las necesidades diarias en personas sanas son de $3 \mu\text{g}/\text{día}$. La anemia perniciosa se debe a la incapacidad para absorberla eficientemente a nivel intestinal.

29. Sustancia que en el proceso de transferencia electrónica impide que el ADP se fosforile, un ejemplo es el 2,4-dinitrofenol.

30. Estructura del grupo de las pirimidinas que en unión del azúcar correspondiente y de un grupo fosfato se encuentra presente tanto en el ácido ribonucleico como en el desoxirribonucleico.

31. La _____ de los nucleótidos se puede realizar por dos posibles rutas, la de *novo* y la de la recuperación, en donde la primera se realiza con sus precursores metabólicos (aminoácidos, ribosa 5-fosfato, CO_2 y NH_3) y en la segunda con los nucleósidos provenientes de los ácidos nucleicos.

32. La estructura conocida como _____ A, participa en reacciones de transferencia de grupos acilo, está constituida por 3'-fosfoadenosina difosfato, ácido pantoténico y β -mercaptoetilamina, esta última molécula posee un grupo SH terminal.

33. Para que la célula pueda realizar las reacciones biosintéticas, es necesario el acoplamiento a aquellas que al ser _____ desprenden energía libre, en muchas de ellas mediante la participación del ATP.

VERTICALES

1. Ribonucleótido 5'-difosfato que al aceptar un grupo fosfato más genera la molécula que la célula emplea para activar energéticamente a muchos de sus metabolitos.

2. Dentro de este grupo quedan incluidos el DNA y el RNA ya que el grupo 5'-fosforilo de un mono-

nucleótido se esterifica al 3'-OH de la pentosa de un segundo nucleótido y así sucesivamente.

3. Se les conoce como bases _____ a aquellas estructuras del tipo de purinas (adenina, guanina) y pirimidinas (citosina, timina, uracilo) que forman parte de los nucleótidos.

4. La pentosa presente en este tipo de estructuras es la 2-desoxi-D-ribosa y son constitutivos de la molécula encargada de la transmisión de la información genética.

5. Algunas bases nitrogenadas como por ejemplo la 6-mercaptopurina, el 5-fluorouracilo, son análogos a las constitutivas de los ácidos nucleicos, tienen una función _____ ya que inhiben la síntesis del polinucleótido y con ello se impide la división celular tanto en los tejidos con información equívoca, como de aquellas que no la tienen.

7. Siglas de la riboflavina-fosfato, en su forma oxidada es coenzima de algunas enzimas que participan en procesos de óxido-reducción.

8. Constituida por una base purínica y ribosa, se encuentra presente en un buen número de cofactores enzimáticos, aunque no participa directamente en la forma reactiva, posiblemente tenga relación con la energía de unión entre la enzima y el sustrato.

9. Mutación ocasionada por la sustitución de una timina por adenina, lo que conduce a la codificación de diferente aminoácido.

11. Es una enfermedad en humanos ocasionada por el depósito de cristales de urato monosódico en el líquido sinovial de las articulaciones lo que ocasiona dolor e inflamación.

12. Participan en tres funciones muy importantes para la célula: son subunidades de los ácidos nucleí-

cos, algunos son transportadores de energía y otros son componentes de cofactores enzimáticos.

15. Los nucleótidos que tienen esta función, son en general, los trifosforilados y la coenzima A.

16. Agentes como la luz ultravioleta y el ácido nitroso entre otros, son capaces de dañar al DNA ocasionando la síntesis anormal de una proteína.

17. En este grupo de sustancias están la nicotinamida, la riboflavina y el ácido pantoténico, todos ellos forman parte de los nucleótidos con función coenzimática.

22. En los polinucleótidos, es el enlace covalente que une a dos nucleótidos por el grupo hidroxilo 5' de uno y el hidroxilo 3' del siguiente.

23. Algunos _____ sintéticos de bases nitrogenadas se usan como fármacos anticancerígenos como ejemplo: 6-tioguanina, 5-fluorouracilo entre otros, ya que se incorporan al DNA antes de la división celular.

25. Mecanismo mitocondrial de fosforilación en donde se concentra la mayor cantidad de energía en forma de ATP.

27. Las fotografías de difracción de rayos X que Rosalind _____ obtuvo fueron un aporte muy importante para la elucidación de la estructura del DNA.

28. La del ATP es un complejo enzimático que actúa en la membrana interna mitocondrial y permite la formación de la molécula con un $\Delta G^0 = -30.5$ kJoules/mol. 



OTRAS COMUNICACIONES

*Escasez del agua, salud
y bienestar*

OTRAS COMUNICACIONES

ESCASEZ DEL AGUA, SALUD Y BIENESTAR

Durante los últimos años, el tema de la escasez del agua en nuestro país ha estado cobrando interés en el ámbito académico y científico, así como en la agenda de trabajo de los gobiernos, y es que la situación, tanto a nivel nacional como internacional, es alarmante.

Datos del último Informe Mundial sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos 2023 indican que el uso de agua ha aumentado el 1% anual en los últimos 40 años y se prevé que seguirá creciendo a un ritmo parecido de aquí a 2050. Lo anterior impulsado esencialmente por una combinación de crecimiento demográfico, desarrollo económico y cambios en los patrones de consumo en los sectores municipal, industrial y agrícola (1). Aunado a ello, los fenómenos meteorológicos extremos, como sequías e inundaciones, debidos al cambio climático, la contaminación del agua, así como la mala utilización e inadecuada distribución del recurso, incrementan la incertidumbre sobre la disponibilidad, acceso, y calidad del agua en la mayoría de las regiones en el mundo (1,2).

De acuerdo con el mismo informe, el sudeste asiático y la región de oriente medio tienen estrés hídrico alto y extremadamente alto, caracterizados por una demanda de agua mayor a la suma de las extracciones totales y las reservas renovables disponibles. En América se observa que algunas regiones de Estados Unidos y Chile, así como la mayoría del territorio mexicano también se encuentran en niveles de estrés hídrico alto y extremadamente alto.

Al respecto, cada vez se ha hecho más evidente que los problemas relacionados con agua afectan la salud física y mental de la población, ya que dificultan su consumo, la higiene personal, y elevan el riesgo de contraer enfermedades infecciosas y parasitarias (3). Así mismo, la escasez de agua es un

detonante de enojo, preocupación, ansiedad y depresión como factores estresantes que compiten con otras necesidades económicas del hogar, principalmente en las personas que se encuentran en condiciones de pobreza (4).

En lo que concierne a México, si bien en 2020 la cobertura nacional de acceso al agua entubada fue de 96.1%, se sabe que este indicador no captura los desafíos importantes en materia de acceso, uso y confiabilidad del agua (5). De acuerdo con la información de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición en 2022, el 16.5% de los hogares reportaron padecer con frecuencia experiencias negativas relacionadas con el acceso al agua. La preocupación principal fue no tener agua suficiente para cubrir las necesidades de consumo e higiene de los miembros del hogar, la disminución del suministro y no tener agua suficiente para lavar la ropa, según fue reportado por una mayor proporción de los miembros de los hogares entrevistados (6). La encuesta también mostró que si bien el 50.5 % de los hogares recibió agua en la vivienda, el abastecimiento no fue continuo; la afectación mayor fue para los hogares que radican en el sur del país y los que tienen menos recursos económicos, en los que las personas tienen que recurrir al almacenamiento de agua, lo cual pone en riesgo la calidad y la confianza en el agua que se consume (7).

La información señalada ha permitido comprender con objetividad la cantidad de personas que carecen de acceso a agua suficiente y de calidad aceptable para cubrir las necesidades de consumo, higiene personal y saneamiento. No obstante, los datos, también deben servir de insumos para la planeación y el fortalecimiento de las políticas públicas o las intervenciones dirigidas a garantizar el acceso y disponibilidad del líquido.

Las proyecciones más pesimistas sobre la degradación del medio ambiente y los recursos hídricos mundiales advierten que en 2025 el 52% de la población mundial y 40% de la producción mundial de cereales estará en riesgo de estrés hídrico, lo que afectará en mayor medida la salud y la nutrición de los grupos de población con menos recursos económicos y marginados (8). En el caso de México, la seguridad hídrica es un asunto de seguridad nacional, razón por la cual se ha propuesto un plan de acción intensivo para resolver el deterioro ambiental, la escasez y reducir o resolver la contaminación del agua (9); pero en este plan es imperativo no dejar a un lado la integración de los tres sectores del con-

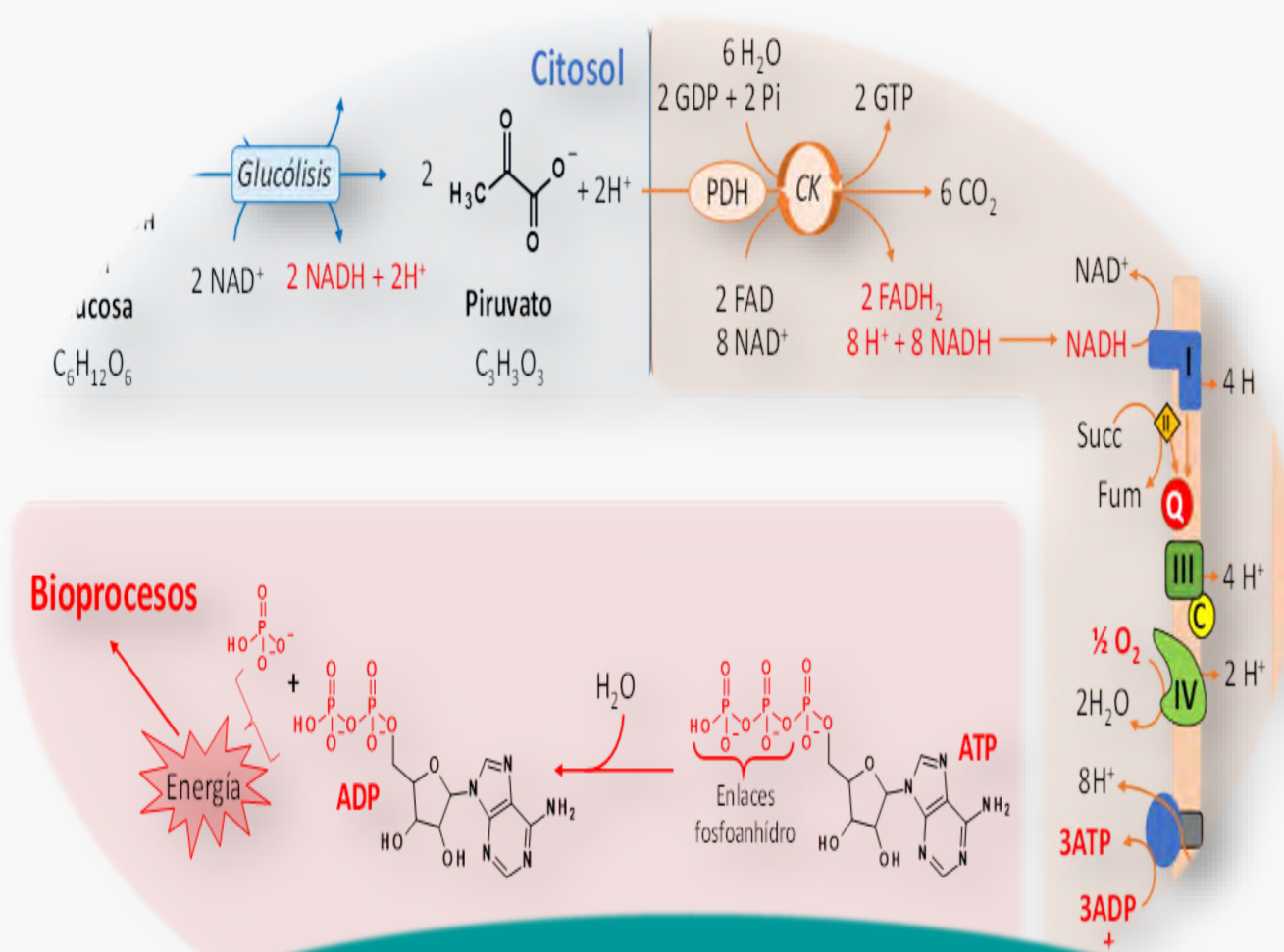
sumo de agua (municipal, industrial y agrícola) y colocar como punto focal el uso eficiente del líquido y la garantía del acceso y disponibilidad equitativo al agua de calidad para todos. 

Corín Hernández Palafox
Centro de Investigación en Evaluación y Encuestas
(CIEE), Instituto Nacional de Salud Pública
corinpalafox@gmail.com,

Verónica Mundo Rosas
Centro de Investigación en Evaluación y Encuestas
(CIEE), Instituto Nacional de Salud Pública
vmundo@insp.mx

REFERENCIAS

1. Naciones Unidas, Informe Mundial de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos 2023: Alianzas y cooperación por el agua. UNESCO, París.
2. CONAGUA. Estadísticas del Agua en México 2021
3. Paudel S, Kumar P, Dasgupta R, Johnson BA, Avtar R, Shaw R, et al. Nexus between water security framework and public health: A comprehensive scientific review. *Water* (Switzerland). Vol. 13, 2021. 10.3390/w13101365.
4. Bisung E, Elliott SJ. Psychosocial impacts of the lack of access to water and sanitation in low- and middle-income countries: A scoping review. *Journal of Water and Health*. Vol. 15, 2017. 10.2166/wh.2016.158.
5. Melgar H, Gaitan-Rossi P, Perez-Escamilla P, Shamah-Levy T, Teruel-Belismelis G, Young SL and the Water Insecurity Experiences-Latin America, the Caribbean (WISE-LAC) Network. A declaration on the value of experiential measures of food and water insecurity to improve science and policies in Latin America and the Caribbean. *International Journal for Equity in Health* (2023) 22:184
6. Muñoz-Espinosa A, Mundo-Rosas V, Vizuet-Vega NI, Hernández-Palafox C, Martínez-Domínguez J, Shamah-Levy T. Inseguridad del agua en hogares mexicanos: comparación de resultados de las Ensanut Continua 2021 y 2022. *Salud Publica Mex* [Internet]. 14 de junio de 2023 [citado 28 de febrero de 2024];65:s189-s196. Disponible en: <https://saludpublica.mx/index.php/spm/article/view/14788>
7. Figueroa-Oropeza JL, Rodríguez-Atristain A, Cole F, Mundo-Rosas V, Muñoz-Espinosa A, Figueroa-Morales JC, Boudart Z, Téllez-Rojo MM, Bautista-Arredondo SA, Sánchez B, Roberts EF. ¿Agua para todos? La intermitencia en el suministro de agua en los hogares en México. *Salud Pública Mex* [Internet]. 13 de junio de 2023 [citado 28 de febrero de 2024];65:s181-s188. Disponible en: <https://saludpublica.mx/index.php/spm/article/view/14783>
8. Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura. Informe Mundial de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos 2019: No dejar a nadie atrás. París: UNESCO, 2019 [citado febrero 19, 2023]. Disponible en: <https://es.unesco.org/water-security/wwap/wwdr/2019>
9. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales. Informe de la Situación del Medio Ambiente en México, edición 2018. México: Semarnat, 2019 [citado febrero 19, 2023]. Disponible en: <https://apps1.semarnat.gob.mx:8443/dgeia/informe18/index.html>



PROBLEMA BIOQUÍMICO
¿Cuánto ATP se produce en una mitocondria?

PROBLEMA BIOQUÍMICO

¿CUÁNTO ATP SE PRODUCE EN UNA MITOCONDRIA?

César Pastrana-Pineda (1), Jerónimo Gonce (1), Noé López (1),
Emma Saavedra (1), Javier A. Belmont-Díaz*(1)

(1) Departamento de Bioquímica, Instituto Nacional de Cardiología Ignacio
Chávez, Ciudad de México, México

*Autor de correspondencia correo E: javier.belmont@cardiologia.org.mx; belmont81@hotmail.com

RESUMEN

La fosforilación oxidativa (FOx) es la culminación del catabolismo en organismos que son dependientes de oxígeno. Este proceso es el responsable de generar la gran mayoría de moléculas de ATP que un organismo necesita para vivir. A pesar de la importancia que juega la FOx en la célula, muy pocas veces somos conscientes de la velocidad que debe tener este proceso para que la célula lleve a cabo sus procesos vitales. En este trabajo analizamos el flujo de la FOx a través de experimentos de respirometría utilizando un oxígrafo de alta resolución (Oroboros Instrument®) para calcular la velocidad de producción de ATP utilizando como modelo a *Trypanosoma cruzi*. El hecho de que este parásito posea una sola mitocondria nos ofrece una oportunidad única para estudiar mitocondrias individuales totalmente íntegras.

PALABRAS CLAVE

Fosforilación oxidativa, respirometría, ATP, *T. cruzi*

ABSTRACT

Oxidative phosphorylation (OxPhos) is the culmination of catabolism in aerobic organisms. This process is responsible for generating the most of ATP molecules that an organism needs to live. Despite the importance that OxPhos plays in the cell, we rarely know the rate that this process must have for the cell to carry out its vital processes. In this work, we analyze the OxPhos flow with a high-resolution oxygraph (Oroboros Instrument®) to calculate the rate of the production of ATP using *Trypanosoma cruzi* as a model. The fact that this parasite has only one mitochondrion offers a unique opportunity to study a fully intact individual mitochondrion.

KEYWORDS

Oxidative phosphorylation, respirometry, ATP, *T. cruzi*

INTRODUCCIÓN

Los organismos necesitan de la producción de trabajo para mantenerse vivos y poder reproducirse, por lo que requieren de un aporte significativo de energía. De esta manera, al considerarse como un sistema abierto, los organismos han desarrollado principalmente dos estrategias para llevar a cabo el intercambio de materia y energía con su entorno: la primera es absorber la luz solar (organismos fotosintéticos), y la segunda es consumir combustibles químicos, extrayendo la energía de su degradación (organismos heterótrofos) (1). Los alimentos que ingieren los organismos heterótrofos están constituidos de moléculas organizadas (ej. glucosa) que requieren de energía para formarse, por lo que, al romper sus uniones constituyentes durante su metabolismo, se libera parte de esta energía que puede ser usada en las actividades celulares.

La forma más común de almacenar la energía presente en los combustibles químicos y hacerla útil para la célula, es a través de los enlaces fosfoanhídrido del adenosín trifosfato (ATP) (2) (Fig. 1). Se ha estimado que el 90% de las necesidades energéticas de las células se satisface por la oxidación de sustratos, cuyos electrones se transfieren a través de un sistema proteico membranar donde el aceptor final es el oxígeno. Esta acción es mejor conocida como fosforilación oxidativa (FOx) y es llevada a cabo dentro de la mitocondria (3) (Fig. 1).

Comprender la FOx y poder analizarla bajo protocolos en tiempo real es de suma importancia puesto que permite expandir la bioenergética tradicional y estudiar el funcionamiento mitocondrial de manera dinámica. Esto podría ser útil para mejorar los diagnósticos y/o tratamientos de diversas enfermedades humanas (4).

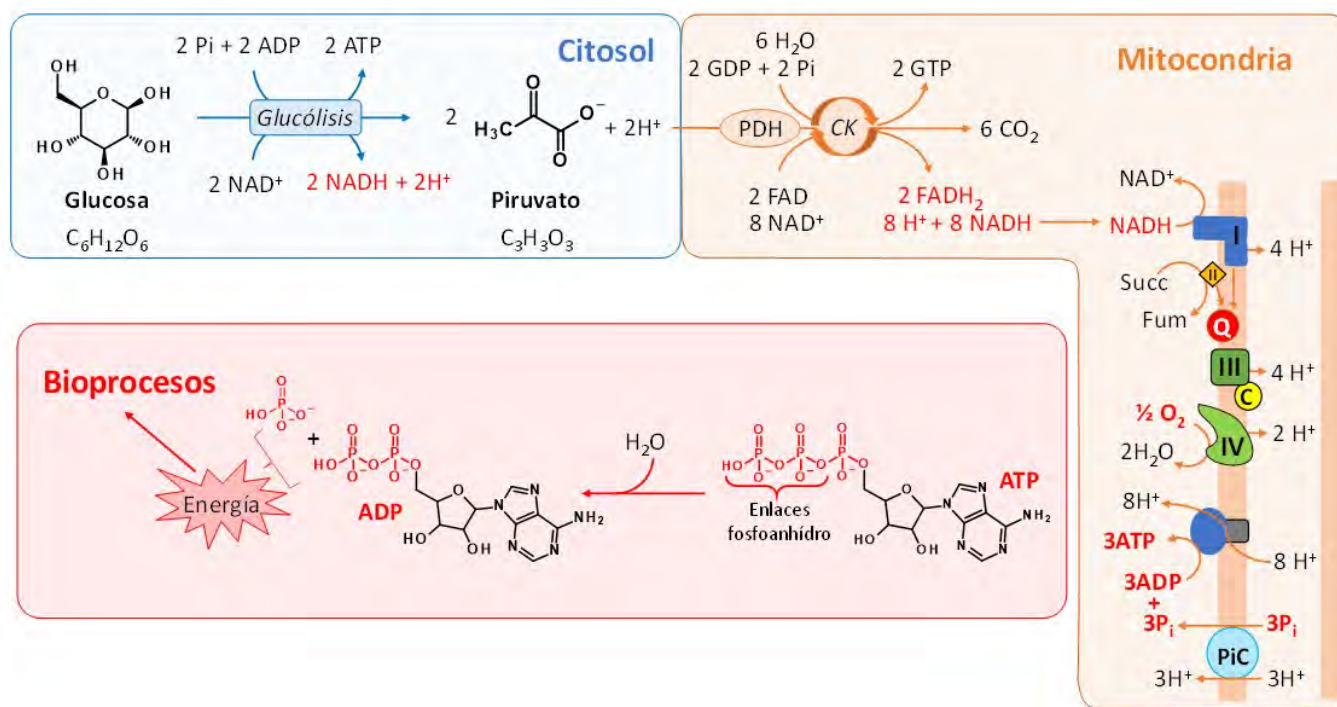


Figura 1. Transducción de la energía contenida en los enlaces químicos de la glucosa a los enlaces fosfoanhídrido del ATP. La oxidación de la glucosa en CO_2 requiere de la glucólisis, de la actividad de piruvato deshidrogenasa (PDH) y del ciclo de Krebs (CK). Los equivalentes reductores producidos por la PDH y el CK son utilizados en la cadena de transporte de electrones (CTE) para producir una diferencia de potencial ($\Delta \Psi_m$); la cual servirá como fuerza motriz para transportar fosfato (Pi) a través del acarreador de fosfato (PiC) y para la condensación entre fosfato (Pi) y adenosin difosfato (ADP) y producir finalmente ATP. Los enlaces fosfoanhídrido contienen parte de la energía producida por la oxidación de la glucosa, la cual es utilizada en los diferentes bioprocesos.

Estudios de respirometría

Oxígrafo. La estimación del flujo de FOx puede llevarse a cabo a través de estudios de respirometría,

en los cuales se mide el consumo de O_2 en suspensiones mitocondriales o celulares mediante electrodos sensibles a O_2 (ej. electrodo de Clark) acoplados a cámaras herméticas (oxígrafo) (Fig. 2). La can-

tividad de O_2 consumido cuando se utilizan células intactas se debe a procesos no mitocondriales (ej. actividad de enzimas como citocromos P450, xantina oxidasa, etc.) y a la reducción de oxígeno por el complejo IV en la matriz mitocondrial (Fig. 3A).

Cadena de transporte de electrones y fosforilación oxidativa. Los electrones necesarios para la reducción del oxígeno por el complejo IV provienen

del NADH y del succinato, cuyos electrones pasan a través de los complejos de la cadena transportadora de electrones (CTE) hasta el O_2 (1) (Fig. 3A).

El paso de electrones a través de los complejos I, III y IV produce la transferencia de iones hidronio (H^+) de la matriz mitocondrial al espacio intermembranal, lo que provoca que este espacio sea más positivo que la matriz y por lo tanto se forme un potencial electroquímico ($\Delta\Psi_m$). En mitocondrias

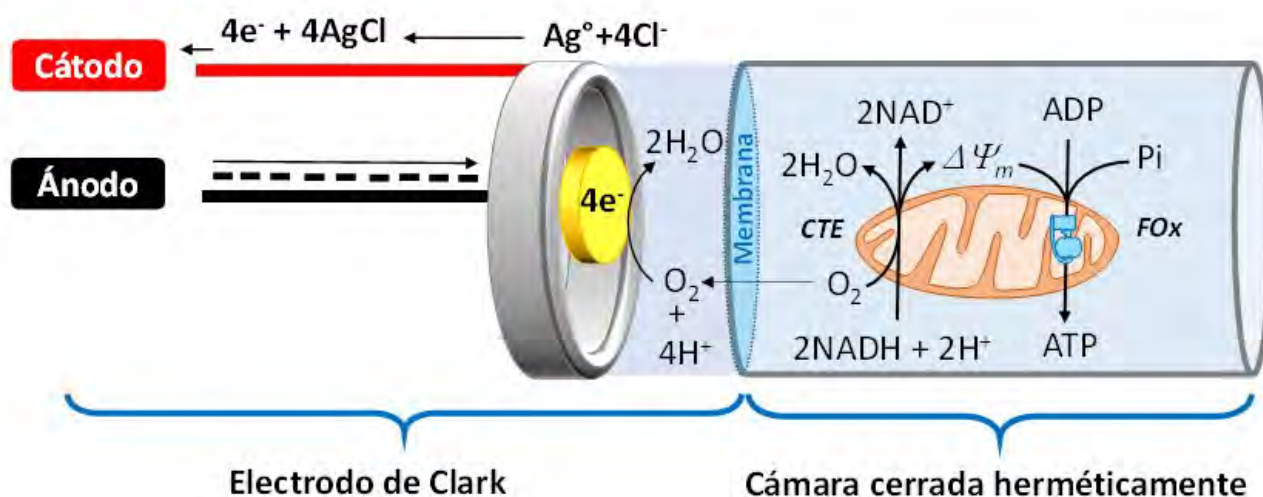


Figura 2. Oxígrafo diseñado para estudios de respirometría celular. En una cámara acoplada a un electrodo de Clark (sensor de oxígeno) se coloca una suspensión celular o mitocondrial y se determina la concentración de oxígeno disuelto a través del tiempo (dO_2/dt). En los experimentos de respirometría, comúnmente se adicionan inhibidores mitocondriales con el propósito de estudiar la actividad de los diferentes constituyentes de la respiración celular.

intactas o células, el consumo de O_2 en el complejo IV está acoplado al $\Delta\Psi_m$ (4), de tal forma que si se incrementa la concentración de H^+ en el espacio intermembranal, aumenta el $\Delta\Psi_m$ y se detiene la actividad del complejo IV. Por otro lado, si la concentración de H^+ disminuye en el espacio intermembranal, el $\Delta\Psi_m$ disminuye y aumenta la velocidad de reducción de O_2 en el complejo IV (Fig. 3A). Los iones H^+ pueden regresar a la matriz mitocondrial por dos caminos: a través de la ATP sintasa, lo que funciona como fuerza protón-motriz para la producción de ATP, y por vías independientes a la síntesis de ATP, lo que se conoce como fuga de H^+ (5) (Fig. 3A).

Experimentos de respirometría. En un estudio básico de respirometría se utiliza oligomicina (oligo)

para inhibir a la ATP sintasa; esto produce un incremento en el $\Delta\Psi_m$ y, por lo tanto, una inhibición en la velocidad del consumo de O_2 por el complejo IV (Fig. 3B). Luego se adiciona un desacoplante mitocondrial como el carbonilcianuro-m-clorfenilhidrazona (CCCP) que puede transportar muy rápidamente a los H^+ del espacio intermembranal a la matriz. Esto produce un $\Delta\Psi_m \approx 0$ y por tanto el consumo de O_2 por el complejo IV incrementa al máximo (Fig. 3B). Finalmente, se adiciona cianuro de potasio (KCN), el cual es un inhibidor del complejo IV, por lo que el consumo de oxígeno restante pertenece al consumo de O_2 no mitocondrial (1) (Fig. 3B).

Razón P/O. El cálculo de moléculas de ATP sintetizadas a partir de los datos de oximetría se realiza

considerando la siguiente ecuación para la síntesis de ATP:



donde el valor de “x” se denomina razón P/O la cual representa la proporción de ATP producida por cada oxígeno atómico ($\text{O} = \frac{1}{2}\text{O}_2$) consumido (6). En general, se considera que 10H^+ son transportados al espacio intermembranal por cada NADH que transfiere sus electrones a la CTE, de los cuales 8 deben fluir a través de la ATP sintasa para producir 3 moléculas de ATP. Adicionalmente, tres moléculas

de fosfato (Pi) deben ser transportadas a la matriz mitocondrial; esto requiere de 3H^+ (7) por lo que en total se necesitan 11H^+ para sintetizar 3 moléculas de ATP. Con esta información se deduce que el P/O es 2.7 para el NADH como donador de electrones; sin embargo, el estimado experimental del P/O en células humanas es de 2.5 (8). En el caso del succinato, 6H^+ son transportados al espacio intermembranal por lo que el P/O es 1.6 y el valor experimental es aproximadamente 1.5 (8). La estequiometría de los H^+ necesarios para la síntesis de ATP depende del número de unidades c en F_0 de la ATP sintasa, lo cual varía entre especies (1).

3A)

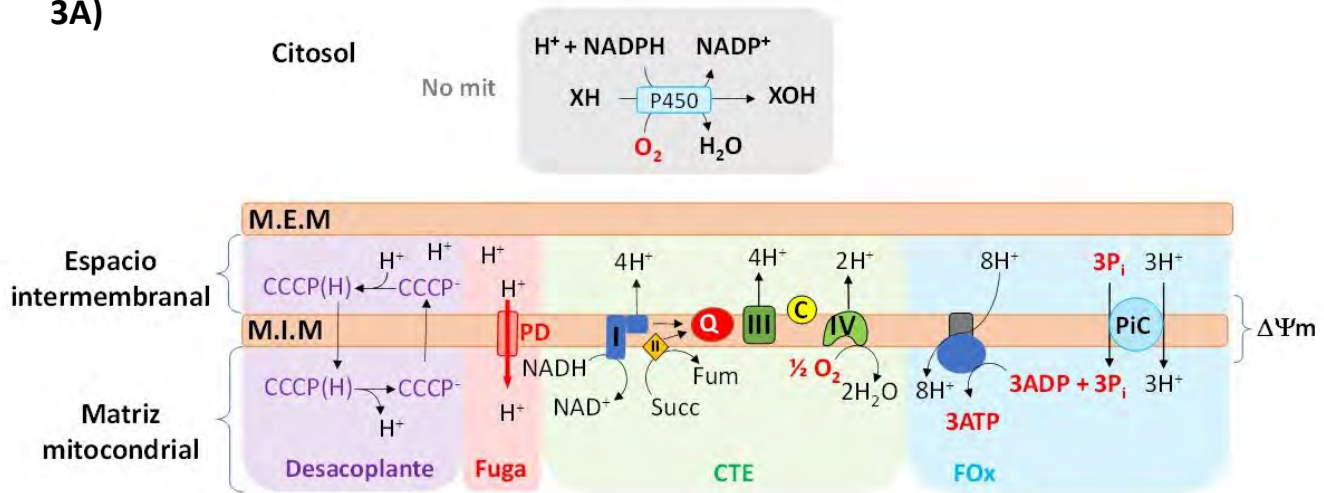
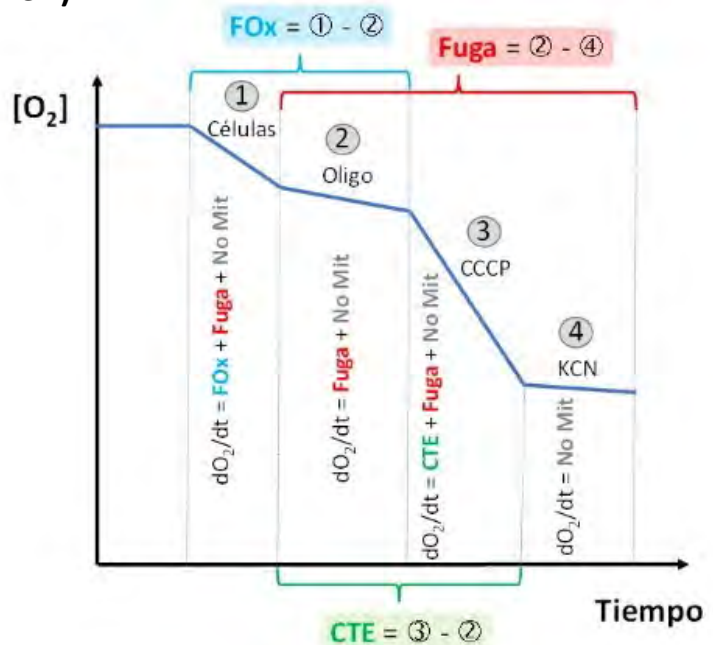


Figura 3. Análisis de los gráficos de respirometría.

A) Esquema de los procesos involucrados en el consumo de oxígeno celular. Se puede observar la presencia de los diferentes complejos mitocondriales (I-IV), junto con la Coenzima Q (Q), el citocromo (C), el acarreador de fosfatos (PiC), y una proteína desacoplante (PD). **B)** Trazo teórico de un experimento de respirometría con células intactas (1). Al inicio del experimento, el consumo de oxígeno celular es $d\text{O}_2/dt = \text{FOx} + \text{Fuga} + \text{No mit}$. Al agregar oligomicina (2) se inhibe la ATP sintasa y el $d\text{O}_2/dt = \text{Fuga} + \text{No mit}$. El CCCP colapsa el $\Delta\Psi_m$ (3) y el $d\text{O}_2/dt = \text{CTE} + \text{Fuga} + \text{No mit}$. Finalmente, la adición de KCN inhibe al complejo IV (4) por lo que el $d\text{O}_2/dt = \text{No mit}$, es decir, los procesos que consumen oxígeno y que no son mitocondriales, como la actividad de citocromos P450 (P450) en retículo endoplásmico. Abreviaturas: CCCP (carbonylcianuro-m-clorfenilhidrazona), CTE (cadena de transporte de electrones), FOx (fosforilación oxidativa), No mit (no mitocondrial), P450 (citocromos P450), PD (proteína desacoplante), XH (xenobiotico), XOH (xenobiotico oxidado).

3B)



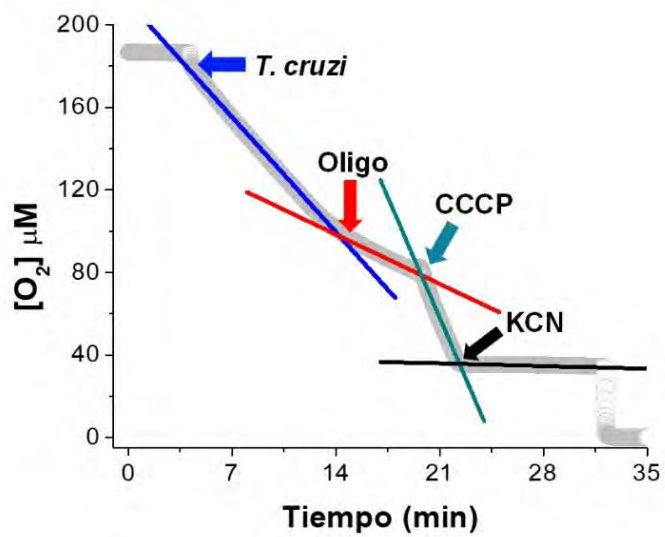
PROBLEMA BIOQUÍMICO

En la figura 4, se presenta el trazo temporal de un experimento de respirometría, así como los datos que corresponden a la velocidad de consumo de oxígeno en las diferentes condiciones de inhibidores mitocondriales. El experimento se realizó utilizando 74×10^6 de células de *T. cruzi*; es importante destacar que los tripanosomátidos, como *T. cruzi*, poseen una mitocondria por parásito, por lo que los estudios de

respirometría en este modelo celular nos ofrecen una oportunidad única para estudiar mitocondrias individuales totalmente íntegras.

Con los datos de la figura 4B, calcula el número de moléculas de ATP sintetizadas por cada parásito en un segundo como producto de la fosforilación oxidativa. Se debe tener en cuenta que el valor P/O en *T. cruzi* es 1.68 (8), además de que la capacidad del oxígrafo es de 2mL.

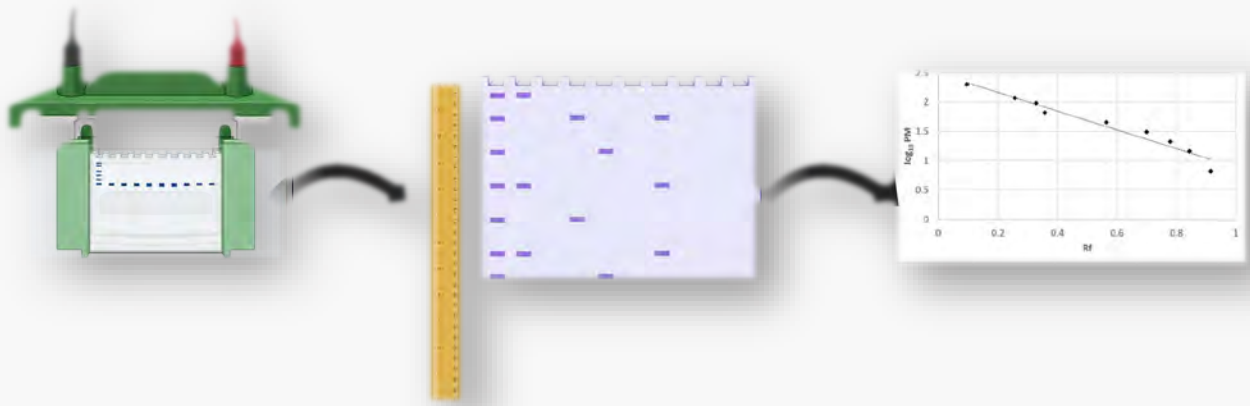
4A)



4B)

Condición	dO_2/dt ($\mu mol\ O_2/mL \times s$)
<i>T. cruzi</i> = FOx + Fuga + No mit	116.82
Oligo = Fuga + No mit	45.56
CCCP = CTE + Fuga + No mit	278.48
KCN = No mit	5.11

Figura 4. Experimento de respirometría en células intactas. A) Trazo realizado con un oxígrafo de alta resolución utilizando parásitos de *T. cruzi* en el cual se registra el efecto de los inhibidores mitocondriales sobre el consumo de oxígeno. B) Tabla con los datos de la velocidad de consumo de oxígeno (dO_2/dt) en las diferentes condiciones de inhibidores mitocondriales.



PROBLEMA BIOQUÍMICO
Estimación del peso molecular de
una proteína por electroforesis en
un gel de poliacrilamida

un gel de poliacrilamida

PROBLEMA BIOQUÍMICO

ESTIMACIÓN DEL PESO MOLECULAR DE UNA PROTEÍNA POR ELECTROFORESIS EN GEL DE POLIACRILAMIDA

Hiram Lozano Ruiz (1), Angélica Rueda y Sánchez de la Vega* (1)

(1) Laboratorio 3. Departamento de Bioquímica

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional
Av. IPN 2508, San Pedro Zacatenco. Gustavo A. Madero. C.P. 07360, CDMX, México.

*Autor de correspondencia correo E: rueda@cinvestav.mx

INTRODUCCIÓN

La electroforesis es un método de separación cuyo principio se basa en el movimiento de moléculas cargadas eléctricamente a través de una matriz, que puede ser un gel o un papel filtro, mediante una corriente eléctrica. La movilidad electroforética de las moléculas en un campo eléctrico depende de factores como la carga eléctrica neta, la relación carga/masa y la forma molecular, además de la porosidad y viscosidad de la matriz en la que migran las moléculas. La electroforesis se utiliza para separar mezclas complejas de proteínas, investigar la composición de subunidades, identificar modificaciones postraduccionales, verificar la abundancia relativa de proteínas en una muestra o para purificar proteínas para su uso en aplicaciones adicionales. La técnica de electroforesis fue implementada por primera vez en 1937, por el científico sueco Arne Tiselius, quien, usando un tanque en forma de “U” en el que colocaba una mezcla de proteínas en contacto directo con una solución amortiguadora, determinaba la movilidad electroforética al aplicar una corriente eléctrica. Dependiendo de la carga neta de las proteínas en la mezcla, éstas se movilizaban; por ejemplo, las proteínas con carga neta negativa se movían hacia el ánodo (+), mientras que las que tenían carga neta positiva se movían hacia el cátodo (-) (1).

Existen muchas variantes de la electroforesis, las más usadas en un laboratorio de bioquímica son las que usan condiciones no desnaturizantes y las desnaturizantes. En el primer tipo de electroforesis se separan las proteínas en su estado nativo e incluso activo. En el caso de enzimas, esta electroforesis permite determinar su actividad catalítica en el gel al poner el sustrato dentro del mismo gel y medir la desaparición de éste o la generación de productos. La separación en este tipo de electroforesis depende de la carga neta, y la forma y la masa molecular de las proteínas nativas. En contraste, la electroforesis desnaturizante separa las proteínas únicamente por su peso molecular, ya que las proteínas pierden su estructura nativa por la acción de detergentes como el dodecilsulfato de sodio y agentes reductores como el 2-mercaptoetanol o el ditioneitol (2). Esta característica hace a este tipo de electroforesis de gran utilidad para el trabajo de laboratorio.

La electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato de sodio (SDS-PAGE por sus siglas en inglés) es un tipo de electroforesis desnaturizante utilizada para estimar la masa molecular relativa de proteínas y su abundancia relativa en una muestra, así como la pureza de las muestras de proteínas. El SDS es un detergente aniónico (cargado negativamente) con una cadena alifática de 12 carbonos que puede disolver moléculas hidrofóbicas y desnatura-

lizar las estructuras secundarias y terciarias de péptidos y proteínas sin enlaces disulfuro. El SDS se une a las proteínas en una proporción constante, en una relación de 1.4 g de SDS/g de proteína, es decir, aproximadamente una molécula de SDS por cada dos residuos de aminoácidos en la cadena polipeptídica. En presencia del SDS, las proteínas conservan solamente su estructura primaria y una gran carga negativa en proporción a la masa de la proteína, lo que determina que migrarán hacia el ánodo del campo eléctrico (3). La poliacrilamida es una mezcla compuesta por polímeros de acrilamida y N, N'-metilenbisacrilamida; esto permite la formación de un gel de porosidad controlada, la cual se reporta en función del porcentaje de acrilamida en el gel (%). Este gel es mecánicamente resistente y químicamente inerte.

En la técnica de SDS-PAGE, se utiliza un gradiente de dos geles. Un gel concentrador, el cual tiene una menor concentración de poliacrilamida (3-5%) y pH de 6.8, y un gel separador que tiene una mayor concentración de poliacrilamida (8-20%) y pH de 8.8. Al aplicar la corriente eléctrica, la mezcla de proteínas pasa primero por el gel concentrador, el cual contiene iones cloruro con una movilidad electroforética mayor que la movilidad de las proteínas, y un amortiguador de electroforesis con glicina, la cual tiene baja movilidad. El resultado es un "sándwich" entre el cloruro y la glicina, lo que asegura que las proteínas se concentren y entren juntas al siguiente gel. En el gel separador, debido a que se prepara con un amortiguador de pH más alcalino, la glicina pasa a su forma aniónica y por su bajo peso molecular migra más rápidamente, facilitando la movilidad de las proteínas; sin embargo, debido al tamaño de poro más cerrado de este gel, por la mayor concentración de poliacrilamida, las proteínas se separan según su peso molecular (1,3).

Esta técnica de SDS-PAGE también permite el análisis de subunidades de una proteína con el uso de agentes reductores en el amortiguador para preparar las muestras (que también contiene SDS y azul de bromofenol), como el 2-mercaptoetanol o el ditioneitol, ya que rompen los enlaces entre polipéptidos individuales unidos por puentes disulfuro, por lo que el análisis de la movilidad relativa de una proteína de interés en un gel SDS-PAGE, en presencia y en ausencia de agentes reductores, permite hacer deducciones sobre las subunidades que la componen (4).

Un aspecto muy relevante de la electroforesis de tipo SDS-PAGE, es que es muy útil para determinar el peso molecular (PM) aproximado de una proteína mediante la interpolación de su movilidad relativa

(Rf) en una gráfica de regresión lineal, la cual se obtiene al graficar el $\log_{10}$ PM de proteínas conocidas (eje Y) que se pueden adquirir comercialmente

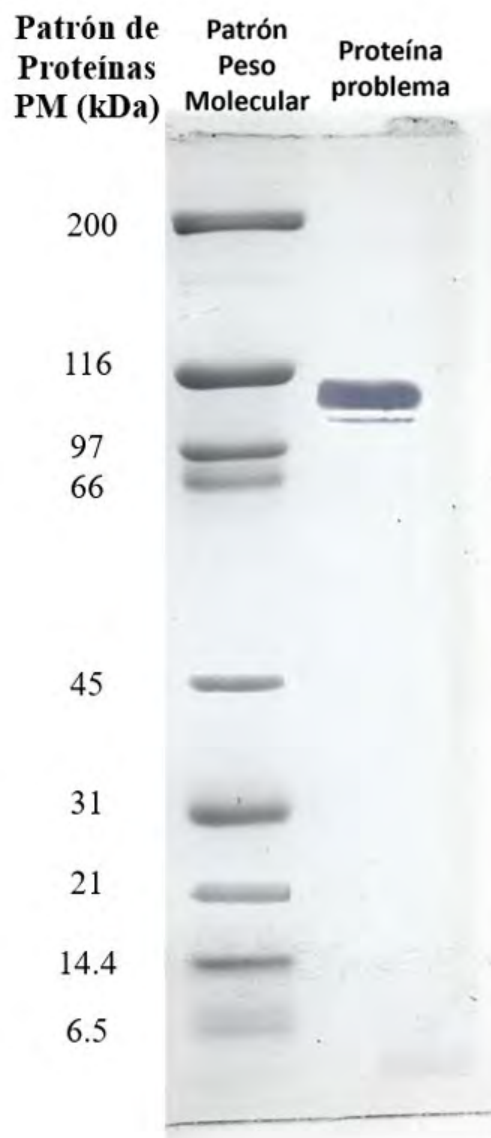


Figura 1. Electroforesis en gel desnaturante de poliacrilamida (SDS-PAGE) al 7.5 %, teñido con azul de Coomassie. Carril 1: Patrón de proteínas de referencia con peso molecular (PM) conocido de arriba hacia abajo: 200, 116, 97, 66, 45, 31, 21, 14.4 y 6.5 kDa. Carril 2: Proteína problema.

vs el Rf de cada una de estas proteínas en el gel (eje X). El Rf se determina al medir la distancia de migración (en cm) de las bandas de las proteínas patrón (con PM conocido) en el gel de poliacrilamida, respecto al frente de migración del gel (en cm), como lo haremos más adelante. Con este método experimental se puede estimar el PM de una

proteína con una exactitud de $\pm 10\%$ (5); por lo que se recomienda usar otros métodos teóricos o experimentales si se quiere determinar el PM con mayor certeza.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Para este problema bioquímico utilizaremos un gel separador de poliacrilamida al 7.5 % para realizar una electroforesis del tipo SDS-PAGE de una muestra de proteína purificada, a la cual se le estimará su peso molecular (PM) aproximado, utilizando un patrón de proteínas con PM conocido, teñidas con una solución de azul de Coomassie.

PREGUNTAS

Utilizando la imagen adjunta (Fig. 1) que corresponde a un gel desnaturalizante de poliacrilamida al 7.5 %, con un patrón de proteínas de PM conocido en el carril 1, y una proteína de PM desconocido en el carril 2, realice las siguientes actividades:

1) Mida la distancia de migración del frente del gel en cm (distancia que abarca todo el recorrido de un compuesto de movilidad máxima, como el azul de bromofenol) y la distancia de migración de cada banda proteica desde la marca de inicio del pozo en el carril del patrón de proteínas de PM conocido y en el carril de la proteína problema.

2) Determine el valor de movilidad relativa (Rf) de cada banda de proteína, usando la siguiente fórmula:

$$Rf = \frac{\text{distancia de migración de la proteína (cm)}}{\text{distancia de migración del frente del gel (cm)}}$$

3) Elabore una tabla con los valores de Rf de las proteínas de referencia y los valores de $\log_{10}$ PM de dichas proteínas (los PM de las proteínas de referencia son: 200, 116, 97, 66, 45, 31, 21, 14.4 y 6.5 kDa).

4) Grafique los valores de $\log_{10}$ PM vs Rf y realice el ajuste de los datos a la ecuación lineal $y = mx + b$.

5) Utilizando la ecuación de dicha gráfica, interpole el valor de Rf de la proteína problema para calcular su PM aproximado.

6) La bomba ATPasa de Ca^{2+} del Retículo Sarco/Endoplásmico (SERCA2, Uniprot Entry P11507·AT2A2_RAT) es la proteína que se reporta en el carril 2 del gel de poliacrilamida; ésta es una proteína de una sola cadena polipeptídica con 1043 residuos de aminoácidos. Calcule su PM según su composición aminoacídica y compárelo con el PM obtenido en el gel. ¿Qué tan cercano fue el PM calculado en el gel, respecto al PM obtenido por la composición aminoacídica?

7) Observando el comportamiento de los datos en la gráfica obtenida en el punto 4 (Fig. 2) explique los factores que pudieron haber afectado su linealidad.

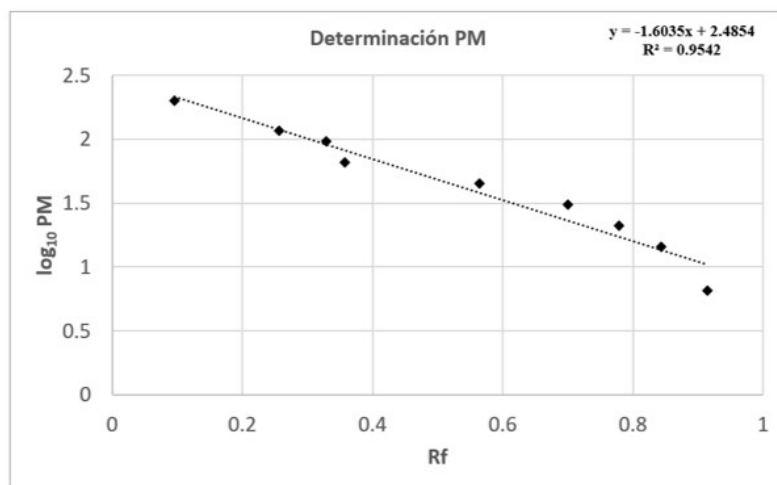


Figura 2. Gráfica para la determinación del PM de una proteína de interés. Gráfica que muestra el ajuste de los puntos de $\log_{10}$ PM de las proteínas de referencia vs su movilidad relativa (Rf) a la función de ecuación de la recta $y = mx + b$ para la estimación del PM de una proteína de interés. Los valores de la pendiente m y de la ordenada al origen b , se reportan en la parte superior derecha de la gráfica.



ALGO MÁS QUE CIENCIA
Una luz en la oscuridad

ALGO MÁS QUE CIENCIA UNA LUZ EN LA OSCURIDAD

“Te deseo un mundo libre de demonios y lleno de luz.”

Carl Sagan a Tonio, su nieto

El material que reseño en esta ocasión fue escrito por el Dr. Carl Sagan (1934-1996), astrónomo y astrofísico norteamericano que dedicó parte de su vida a hacer divulgación científica. En *El Mundo y sus demonios. La ciencia como una luz en la oscuridad* (1), el Dr. Sagan usa un interesante repertorio de situaciones históricas y culturales que han inquietado a la humanidad como escenario para ilustrar la forma en que la ignorancia nos ha llevado a vivir experiencias muy desafortunadas y, en contraste, cómo la ciencia ha podido y puede ayudar a resolver grandes dilemas.

El recorrido del Dr. Sagan va desde el medioevo hasta casi el final del siglo XX y revisa el tratamiento que se dio o se ha dado a asuntos tan diversos como la brujería, los OVNIS y la abducción por seres extra-terrestres, la necromancia, las curas milagrosas o de fe, y los usos malintencionados de la ciencia -la pseudo-ciencia y lo que él llama anticiencia- entre otros temas. El Dr. Sagan ilustra estos hechos con ejemplos conocidos y los examina de manera crítica y muestra cómo la manipulación dolosa de la información, la ignorancia, la desesperación y el miedo favorecen que las personas crean lo dicho por algunos vicales, expertos del engaño. Con este ejercicio, el Dr. Sagan muestra que la educación en general, y la educación científica en particular, son la mejor defensa contra abusos de este tipo.

Ya desde el primer capítulo, el Dr. Sagan plantea que el amor por el conocimiento empieza en la niñez, que los mejores maestros son los padres y las madres porque con sus actitudes estimulan el deseo de saber, de experimentar que casi todo infante manifiesta. Con las anécdotas de su infancia y juventud, el Dr. Sagan ilustra el hecho de que no es menester tener educación universitaria o una posición económica desahogada para despertar, fomentar, y apoyar el deseo de saber en sus hijas e hijos.

En opinión del Dr. Sagan, los libros son el mejor amigo y estímulo de una mente curiosa e inquisitiva.

La biblioteca es un personaje frecuente en su texto. Para el Dr. Sagan, las bibliotecas públicas son un recurso invaluable al alcance de la mano de casi cualquier persona, siempre que se sepa leer y escribir. Y las bibliotecas personales son una especie de carta de presentación de una persona en particular. Llama la atención la forma en que describe el ambiente en que trabajaba Tomás Jefferson cuando no estaba desempeñando algún encargo político: inmerso en una basta biblioteca y rodeado de los aparatos científicos y tecnológicos más avanzados que le era posible adquirir. En opinión del autor, la mente científica de Jefferson contribuyó de forma importante a configurar su postura política frente a los retos del momento histórico que le tocó vivir.

En otro punto, el Dr. Sagan refuta el argumento de que sólo las personas con capacidades intelectuales superiores pueden entender y dedicarse a la ciencia y propone que quizá es el sistema educativo y la actitud de algunos docentes lo que ha creado la barrera entre la ciencia y los estudiantes. Basado en su propia experiencia, el Dr. Sagan dice que es posible explicar la ciencia de forma amigable y que para una persona es muy satisfactorio aprehender conceptos novedosos que pensaba estaban fuera de su capacidad de comprensión; de igual manera, quien logra presentar el conocimiento de manera asequible también experimenta una gran satisfacción. En opinión del Dr. Sagan, “la ciencia es más que un cuerpo de conocimiento, es una manera de pensar”, y añade que el deseo de hacer accesibles sus métodos y descubrimientos a quienes no son científicos debería ser un propósito natural e inmediato de quien ama la ciencia; de ahí que anime a los científicos a participar de manera entusiasta en su enseñanza y comunicación.

El Dr. Sagan reconoce el poder de los medios de comunicación, en particular de la televisión y lamenta que no se use ese poder para educar a la población. Las empresas de televisión privada han demostrado poco interés en crear programas con contenido científico

bien fundamentado y las instituciones educativas y los medios públicos tampoco promuevan la educación científica en la población. Ésta es una de las razones por las cuales el autor no es particularmente optimista respecto al futuro de su país. Entre otras cosas, pronostica que, a menos que se cambie radicalmente de dirección, llegará el momento en que los Estados Unidos será una economía de servicios e información, que la tecnología y el poder que se deriva de su uso y control estarán concentrados en unas cuantas personas, que la población no tendrá forma de conocer y mucho menos incidir en las decisiones sobre asuntos trascendentales.

En opinión del Dr. Sagan, una señal de que esto ha empezado a suceder es la decadencia de los contenidos que ofrecen los medios de comunicación: la calidad y veracidad de los materiales presentados al público general son cada vez más reprobables; abundan los programas en que se ofrecen soluciones a

una gran variedad de problemas mediante la pseudociencia o la superstición; lejos de educar, los materiales disponibles parecen ser “una especie de celebración de la ignorancia”. El autor menciona que es paradójico que en una civilización que depende en gran medida de la ciencia y la tecnología, su conocimiento y comprensión estén vedados a la gran mayoría de las personas. A pesar de todo, el Dr. Sagan mantiene la esperanza de que, en algún momento en el futuro, tanto el gobierno como las instituciones educativas y los medios de comunicación públicos y privados decidirán abrir espacios para que la ciencia, presentada con veracidad, habilidad y atractivo, llegue a la población en general.

El Dr. Sagan admite que la ciencia no es un instrumento de conocimiento perfecto, y que en ocasiones se ha usado de manera cuestionable pero, aunque sólo sea una herramienta, es la mejor herramienta que tenemos para conocer y explicarnos el mundo en que vivimos. En opinión del Dr. Sagan, en el pensamiento científico hay imaginación y disciplina. La ciencia trabaja con los hechos, aunque difieran de ciertas ideas preconcebidas. Para solucionar un problema, el científico elabora varias hipótesis y selecciona la que corresponde mejor a los hechos conocidos, después diseña una serie de experimentos que le permitan corroborar que su hipótesis, su explicación del problema, es correcta. Por último, repite todo el proceso de experimentación y verifica que bajo las mismas condiciones se obtenga el mismo resultado (principio de reproducibilidad, uno de los pilares del método científico). El método científico, añade el autor, se puede aplicar a casi toda actividad humana, individuos de todas las épocas lo han aplicado y lo siguen aplicando, aún y cuando no estén muy conscientes de ello. Además, la ciencia se corrige a sí misma y está en evolución constante. En ciencia no hay temas demasiado sensibles o delicados para ser explorados; no hay verdades inamovibles, no hay preguntas prohibidas o estúpidas. En ciencia, todo es cuestionado y verificado.

Finalmente, en el pensamiento científico también hay humildad. El Dr. Sagan puntualiza que en ciencia se sabe que el conocimiento es acumulativo y que la comprensión de un asunto no se agota con el trabajo presentado, que siempre hay algo más por descubrir, algo más por esclarecer, y que lo que parecía obvio hasta hoy, puede no serlo mañana a la luz de nuevos descubrimientos. Por esta razón, la mente científica está abierta a considerar ideas novedosas para solucionar un problema y acepta el debate y el escrutinio. La ciencia admite que, a pesar del cuidado con el que se trabaje, existe la posibilidad de error. El margen de error es indicativo de la fiabilidad del trabajo realizado. El Dr. Sagan nos invita a imaginar cómo cam-

En la medida de lo posible, busque una confirmación independiente de los “hechos”.

Se debe alentar el debate sobre el asunto en cuestión en el que idealmente deben participar defensores con conocimiento de todos los puntos de vista.

Desconfíe cuando se apele al *principio de autoridad* como sustento de una propuesta. Toda propuesta debe ser examinada cuidadosamente, independientemente de quién la proponga o la institución de donde proceda.

Ante un problema por resolver, considere varias hipótesis, piense en las pruebas que podrían refutar sistemáticamente cada una de ellas. La hipótesis que sobreviva a estas pruebas tiene más probabilidades de ser la respuesta correcta al problema planteado.

Mantenga una mente abierta, no se aferre a una hipótesis, en particular si es la suya. Considere por qué le gusta esa idea, compárela con justicia con las otras alternativas, evalúe si tiene fallos.

Cuantificar ayuda a comparar. Busque las cantidades numéricas relacionadas. Lo vago y cualitativo es susceptible de muchas interpretaciones.

En una cadena de argumentación, deben funcionar *todos* los eslabones (incluyendo la premisa) de la cadena.

Aplique el principio de economía (mejor conocido como la Navaja de Ockham): ante dos explicaciones igualmente sólidas para resolver un problema, generalmente la más sencilla es la que mejor funciona.

Pregúntese siempre si la hipótesis seleccionada puede ser refutada.

Cuadro 1. Breve guía para el pensamiento crítico.

biaría la forma en que tomamos decisiones si pudiéramos conocer el margen de error de las propuestas del gobierno, de las supuestas bondades de un producto anunciado en la televisión o de una profecía. Ciertamente, la ciencia quizá no sea más que una herramienta, pero, de acuerdo con el Dr. Sagan, con esta herramienta podemos conquistar lo que parece imposible.

El Dr. Sagan pone un foco rojo sobre el daño que la pseudociencia, la anticiencia y la ciencia mal empleada pueden ocasionar a la sociedad; además presenta algunas características de estas prácticas para que el lector las pueda identificar. Para diferenciar a la ciencia de la pseudociencia, el Dr. Sagan puntualiza que, aunque la ciencia no está libre de errores, conforme la investigación avanza, los errores se van eliminando uno a uno. Las hipótesis se formulan de modo que puedan ser refutadas (principio de falsabilidad, otro pilar del método científico), se confrontan los hallazgos, se corrige lo que deba corregirse y el trabajo continúa. Luego, el científico pone su trabajo bajo el escrutinio de sus pares quienes, después de analizarlo detalladamente, refutan o validan el trabajo. El científico reconoce que la refutación es el elemento clave del trabajo científico. Por otro lado, en la pseudociencia las hipótesis suelen presentarse de modo que no se pueden refutar y por lo tanto no se pueden invalidar. Quienes las proponen están a la defensiva, se oponen al escrutinio cuidadoso y si hay rechazo por parte de los científicos, lejos de proveer argumentos o resultados bien fundamentados que apoyen su dicho, argumentan que existe una conspiración en su contra y que por eso rechazan su trabajo.

El Dr. Sagan se refiere brevemente al riesgo que implica para la salud de una persona si, frente a una situación de enfermedad, y movida quizá por la necesidad de encontrar una solución positiva a su problema, abandona los tratamientos fundamentados en el conocimiento científico y opta por los caminos propuestos por la charlatanería disfrazada de ciencia (pseudociencia), la medicina alternativa o las curas de fe (pensamiento mágico) para resolverlo. Por cierto, en números anteriores de la REB, expertos en el área de la salud han abordado estos temas con detalle (2, 3).

El Dr. Sagan también se refiere al miedo como factor que debilita la autonomía de la población y explica cómo, cuando este miedo ha sido usado por expertos manipuladores, el resultado ha sido lamentable para la humanidad. Así pasó con la cacería de brujas entre los siglos XV y XVII y la cacería de otro tipo de brujas durante algunos periodos más recientes de la historia (las purgas estalinistas o el macartismo, por ejemplo) y con otros episodios en los cuales algunos desarrollos científicos tuvieron una participación relevante en momentos críticos de la humanidad (la creación de las

bombas nucleares y de hidrógeno, y la llamada Guerra de las Galaxias, por mencionar algunos). En casos como estos, dice el Dr. Sagan, la ciencia tiene la función y quizá también la responsabilidad de alertar a la sociedad de lo que está sucediendo o puede suceder. Así lo hicieron en su momento renombrados científicos y algunos de ellos tuvieron que pagar las consecuencias de su atrevimiento porque en ciertos contextos históricos, la voz de la ciencia ha sido percibida como una amenaza para los gobiernos y los poderes fácticos.

Lamentablemente, dice el Dr. Sagan, los científicos no son inmunes a las debilidades humanas. Así, algunos de ellos han usado su conocimiento para apoyar causas o personas equivocadas o han sucumbido a la tentación de ganar renombre mediante conductas poco éticas. De igual manera, dice el Dr. Sagan, ha habido casos en que los resultados de algunas investigaciones han sido manipulados dolosamente para justificar conductas reprobables.

Invocar el principio de autoridad, es decir, apelar al prestigio de alguien o algo para justificar un argumento; se basa en la idea de que la autoridad no se equivoca.

Ir contra la persona, atacar a quien discute -por su origen, personalidad, etc.- y no a su argumento; se parece a la falacia conocida como *el hombre de paja*, ridiculizar una postura para facilitar el ataque.

Usar el argumento de consecuencias adversas o falso dilema, se pide aceptar lo que se propone porque no hacerlo conlleva resultados no deseados.

Llamar a la ignorancia, argumento que defiende la verdad de una proposición porque no se ha podido demostrar lo contrario, y viceversa.

Seleccionar la observación o suprimir la prueba, esto es enfocarse en ciertas evidencias e ignorar las que no "convienen"; esta falacia es parecida a la conocida como *media verdad*.

Usar eufemismos para justificar una acción (ej. llamar a la guerra de otra forma porque la palabra guerra causa rechazo inmediato).

Cuadro 2. Algunas formas de argumentación engañosas (falacias) o mal elaboradas.

Igualmente inaceptables son los intentos por controlar la dirección o el avance de la ciencia, lo que el autor llama anticiencia. El Dr. Sagan menciona que en algunos contextos políticos los científicos no tienen libertad para realizar su trabajo porque cualquier hallazgo que contradiga la "verdad oficial" es combatido y el científico es perseguido (como sucedió en la

Rusia de Stalin, por ejemplo). Estas prácticas son muy obvias, pero, en opinión del autor, hay otras formas más sutiles pero igual de perversas encaminadas a reducir o dirigir el avance científico; por ejemplo, limitar los recursos necesarios para hacer investigación sobre algunos temas porque no son "prioritarios" para el momento que se vive o para lo que se conoce como ciencia básica porque no tendrá aplicación (retorno de la inversión) a corto plazo. Y qué decir de las campañas publicitarias pagadas por la industria para desvirtuar los hallazgos científicos que les son adversos o, peor aún, patrocinar investigación científica para "verificar" (el propósito real es desmentir) lo hallado en investigaciones independientes, como lo ha hecho la industria del tabaco por varias décadas.

En opinión del Dr. Sagan, la educación científica a todos los niveles es la única forma de combatir al miedo asociado a la ignorancia y de esta forma reducir en la sociedad el margen de susceptibilidad a ser controlada por personas sin escrúpulos. En palabras del Dr. Sagan: "los poderes sin precedentes que la ciencia pone ahora a nuestra disposición deben ir acompañados de una gran atención ética y preocupación por parte de la comunidad científica". El autor hace hincapié en que una sociedad acostumbrada a cuestionarlo todo bajo criterios bien fundamentados (aprendidos del método científico) tomará mejores decisiones en todos los aspectos de su vida; de ahí la importancia de tener una educación pública basada fundamentalmente en la importancia de la ciencia y la aplicación del método científico.

En *El mundo y sus demonios*, el Dr. Sagan ofrece una guía para el pensamiento crítico que vale mucho la pena considerar, especialmente ante la avalancha de publicidad engañosa sobre productos milagro y el uso de la pseudociencia o de ciencia mal empleada para justificarla. Esta guía (Cuadro 1) también se puede utilizar para desenmascarar los engaños en asuntos de mercadotecnia, economía, finanzas; corrientes filosóficas, educativas o políticas. De igual manera, el Dr. Sagan alerta a reconocer formas de discurso engañosas (falacias) o argumentos mal elaborados que son utilizados con frecuencia en el discurso de quienes buscan manipular la opinión del público (Cuadro 2).

El Dr. Sagan concluye que, en una época en la cual los demonios de la ignorancia, la pseudociencia y la anticiencia, la superstición y la insensatez parecen tomar fuerza, la ciencia y el pensamiento científico pueden ser la única fuente de luz confiable que guíe el camino de la humanidad.

El Dr. Sagan murió cuando Internet tenía escasos seis años de haber sido formalmente presentado para su uso civil y comercial (4), así que no conoció la basta posibilidad de acceso a la información que esta herramienta ofrece en la actualidad. Me pregunto qué habría opinado sobre el potencial de esta herramienta para facilitar el acceso al conocimiento o a la manipulación masiva. 

Lic. Rosa María Lozano Ortigosa
Edición de Estilo de la REB
rosamaria_lozano@hotmail.com

Carl Sagan (1934-1996) astrónomo, astrofísico, cosmólogo, astrobiólogo, y pionero de la exobiología estadounidense. Además de sus aportes científicos, Carl Sagan fue escritor y divulgador científico muy reconocido. Promovió y defendió el pensamiento escéptico científico y el método científico como herramientas para acercarse al conocimiento.

REFERENCIAS

1. Sagan C. *El mundo y sus demonios: La ciencia como una luz en la oscuridad*. Editorial Crítica, México. Edición de Kindle 2017. ISBN-10: 6077473987; ISBN-13: 978-6077473985; ISBN: 978-84-16771-59-2 (epub)
2. Calderón-Salinas JV. La charlatanería disfrazada de ciencia. REB 2018, 37(1): 1-3, <https://www.medigraphic.com/pdfs/revedubio/reb-2018/reb181a.pdf>
3. Cruz-Nieto MR, Calderón-Salinas JV. El pensamiento mágico en la pandemia. REB 2021, 40(2):37-40, <https://www.medigraphic.com/pdfs/revedubio/reb-2021/reb212a.pdf> o [http://www.facmed.unam.mx/publicaciones/ampb/numeros/2021/02/REB40\(2\)Junio2021.pdf](http://www.facmed.unam.mx/publicaciones/ampb/numeros/2021/02/REB40(2)Junio2021.pdf)
4. Breve historia de Internet, Internet Society, <https://www.internetsociety.org/es/internet/history-internet/brief-history-internet/>



in memoriam
Dr. Guillermo Álvarez Llera
(1931-2023)

IN MEMORIAM
DR. GUILLERMO ÁLVAREZ LLERA
(1931- 2023)

El escribir acerca de un maestro, compañero y amigo, no solamente de vida académica, es complicado. Hay tanto que decir que cuesta trabajo reseñar las vivencias de varios años junto al Dr. Guillermo Álvarez Llera. El Doctor inició su formación en la Antigua Escuela Nacional de Medicina donde ingresó en 1951 y egresó como Médico Cirujano y Partero pero, al igual que para muchos médicos, su gran pasión fue la docencia a la cuál dedicó gran parte de su vida laboral.

Un primer recuerdo es en la Coordinación de Enseñanza del Departamento de Bioquímica ya en Ciudad Universitaria donde varios alumnos, con la asesoría de grandes maestros, entre los cuales estaba el Dr. Álvarez, logramos cubrir los requisitos de instructores al inicio de los setenta. En ese momento, el Dr. Álvarez y otros docentes trabajaban en la elaboración de los exámenes departamentales y en la organización de los grupos para que pudiéramos cumplir con las actividades de estudiantes y de instructores; éste era el camino para llegar a ser ayudante de profesor.

Al principio de nuestra estancia en el Departamento, a todos nos parecía que el Dr. Álvarez era una persona muy seria. A veces nos daba un poco de temor hacerle preguntas, pero poco a poco nos dimos cuenta de que le gustaba que estuviéramos ahí; de que poseía un sentido del humor particular, en ocasiones difícil de entender; por esa razón, muchas veces sólo nos reíamos cuando él lo hacía y ahora pienso que se percataba de que no habíamos entendido la broma.

En su tiempo como Coordinador de Enseñanza, el Dr. Álvarez se encargaba de promover actividades didácticas. En ese tiempo se hablaba del aprendizaje

conductista; a quienes apenas entendíamos algunas de esas teorías, nos interesaba colaborar, aprender y en nuestra poca experiencia pretendíamos ayudar a que los alumnos aprendieran más y mejor. Surgieron muchas ideas para apoyar el aprendizaje, entre ellas, se trabajó con varias unidades de auto-enseñanza, que fueron muy bien recibidas por el alumnado (en ese momento eran más de tres mil); y para desarrollarlas se asignaron tutores a varios de nosotros; Álvarez Llera siempre estuvo ahí para apoyarnos, aunque él no fuera el tutor responsable. Sé que al Dr. Álvarez le daría mucho gusto saber que aún se utilizan algunos de esos materiales; tuve la oportunidad de constatarlo durante una reciente visita a una Escuela de Medicina del interior del país.

El Doctor Álvarez, siempre inquieto y dispuesto a aprender nuevas formas de enseñanza con el propósito de lograr el mejor aprendizaje de los estudiantes, así como para mejorar su actividad docente, compartió cursos en el Centro Latinoamericano de Tecnología Educativa, tanto como alumno, como en el papel de profesor. Llevado por ese interés, colaboró en muchos proyectos educativos, entre los que destacan Bioquímica Gráfica, La Nutrición: Un Enfoque Bioquímico, el Aprendizaje Basado en Problemas, la elaboración del *syllabus* de bioquímica, así como la revisión del programa académico de la materia, entre otras muchas actividades.

En su función como Coordinador de Enseñanza, actividad que realizó durante varios años, organizaba a los profesores para las actividades docentes, incluyendo la preparación de los exámenes departamentales, finales y extraordinarios, de acuerdo con la formación y aptitud de cada uno de los participantes para cada tema. Esto habla de otro aspecto

que lo distinguía: conocer, observar y buscar lo mejor de la persona para apoyar una tarea. Además, tenía un don para conseguir que el resultado final fuera como a él le gustaba sin que para los que trabajábamos con él lo sintiéramos como algo impuesto. Mostrando una gran habilidad, él elaboraba los dibujos y esquemas, primero hacía el diseño en papel y después los realizaba en máquina de escribir, ya que en esos tiempos no había los *softwares* de ahora. Hasta la fecha, los nuevos docentes todavía se asombran de la claridad de dichos esquemas y del método empleado para realizarlos; de hecho, muchos de estos materiales han sido reeditados para fines didácticos.

Como parte de su labor como Coordinador, siempre se interesaba en los resultados de los exámenes y se encargaba de hacer su análisis. La tarea la realizaba sin el apoyo de los programas sobre el tema que ahora se emplean y, sin embargo, los análisis eran muy completos y claros con aspectos de interés para valorar su comportamiento y evaluar el aprendizaje de los estudiantes.

Su capacidad y conocimiento de los programas académicos del currículo de medicina le permitió ser Secretario de Ciencias Básicas; participar en la Secretaría de Servicios Escolares, y formar parte de las Comisiones Dictaminadoras del Consejo Técnico de la Facultad. Aunque no era fanático de dar conferencias, le gustaba hacerlo, y así participó en varios eventos académicos entre los que destacó el Taller de Actualización Bioquímica.

El Dr. Álvarez instaba a los alumnos a estudiar los temas antes de clase y los cuestionaba al respecto. Tenía un método personalizado para hacerlo. Él construía un acrónimo formado por las letras que componían el nombre y los apellidos del estudiante y lo colocaba en una carta de baraja que así quedaba asignada a un estudiante en particular. Durante la clase sacaba la carta y realizaba una pregunta al estudiante correspondiente, si éste no respondía de manera adecuada, la carta se colocaba en la “cárcel” (una caja con un dibujo simulando barrotes y en una carta, un uniforme de presidiario). El estudiante, es decir, la carta, no podía abandonar la cárcel sin responder de manera adecuada 3 preguntas. De esta forma todos los estudiantes se esforzaban primero, por no caer en la cárcel y para salir de ella el mismo día de la clase y no iniciar la siguiente clase encarcelado. Al final del curso, el Dr. Álvarez entregaba su carta a cada estudiante poniendo en ella una dedicatoria.

Siempre puntal para llegar a sus clases, salía de su oficina con el tiempo suficiente para llegar a su salón de clase, que en ocasiones se encontraba en el quinto piso del edificio B. Muchos recordamos que, cargando el proyector de acetatos, así como los diferentes elementos didácticos que empleaba, subía por las escaleras haciendo caso omiso del elevador y además no permitía que nadie le ayudara. Uno lo acompañaba durante el trayecto sin poder respirar debido a la gran falta de condición física, mientras que él se tomaba su tiempo y llegaba tranquilo a su destino. El Dr. Álvarez hacía ver que la bioquímica era sencilla, sin importar qué tan complejo era el tema por tratar, y eso lo convertía en el profesor más popular durante las asesorías, mismas que impartía en un auditorio Fournier siempre lleno.

Quien tuvo el gusto de estar con él durante la aplicación de los exámenes, conocía de su preocupación para que los estudiantes lo terminaran con tiempo y que llenaran el lector óptico de manera adecuada; por esta razón, les indicaba el tiempo a cumplir con 30 minutos de anticipación.

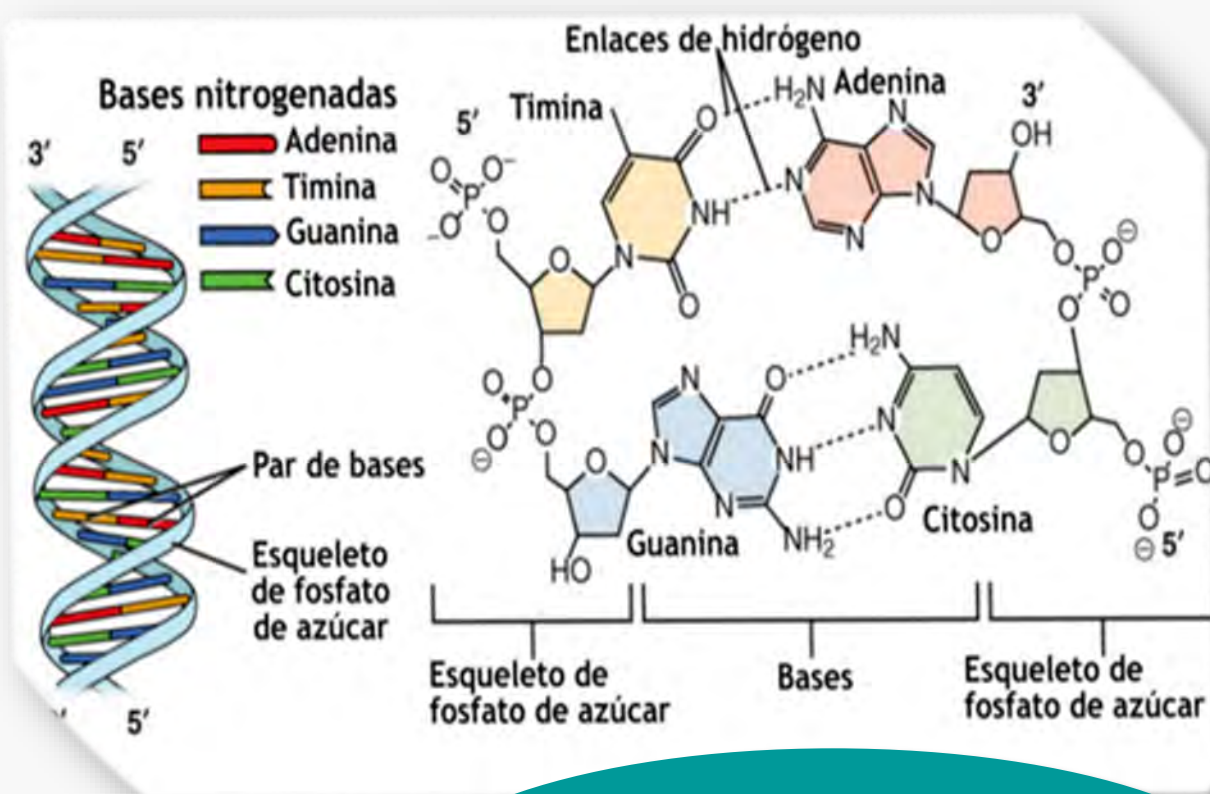
Durante más de cuatro décadas, nos enseñó y proporcionó una variedad de consejos o indicaciones para mejorar nuestra exposición y trabajo docente en general. Acompañó siempre a los profesores más novatos, trabajo por el que también se ganó el respeto y afecto de sus pares y alumnos, quienes lo recuerdan con mucho cariño.

El 25 de octubre del 2007, fue reconocido en el marco del Programa “Homenaje a Nuestros Profesores”. En ese evento, luego de mencionar parte de su biografía y trayectoria, el Dr. José Narro Robles, en ese entonces director de la Facultad de Medicina de la UNAM, expresó: “El testimonio de alumnos y profesores que reconocen en Álvarez Llera a un gran maestro demuestra que es un experto en su materia, constante, y dedicado, con una consistencia moral importante. Muchas gracias, Maestro”.

Por todo lo que nos aportó, nosotras también le decimos GRACIAS MAESTRO. 

*Mtra. Sara Morales López
Profesor de carrera
Facultad de Medicina, UNAM*

*Dra. Rebeca E. Milán Chávez
Coordinadora de Evaluación y Prácticas,
del Departamento de Bioquímica de la
Facultad de Medicina, UNAM.*

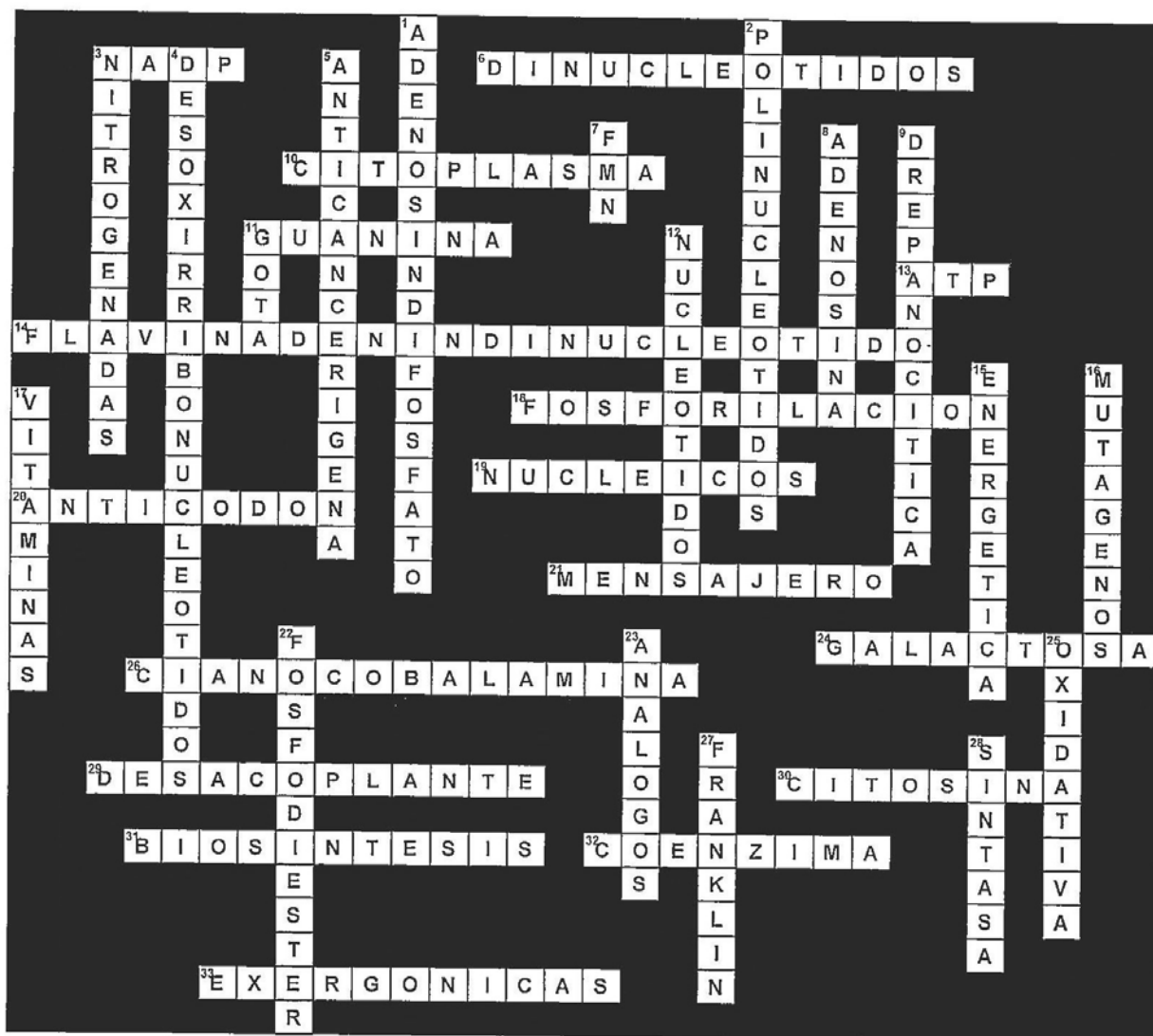


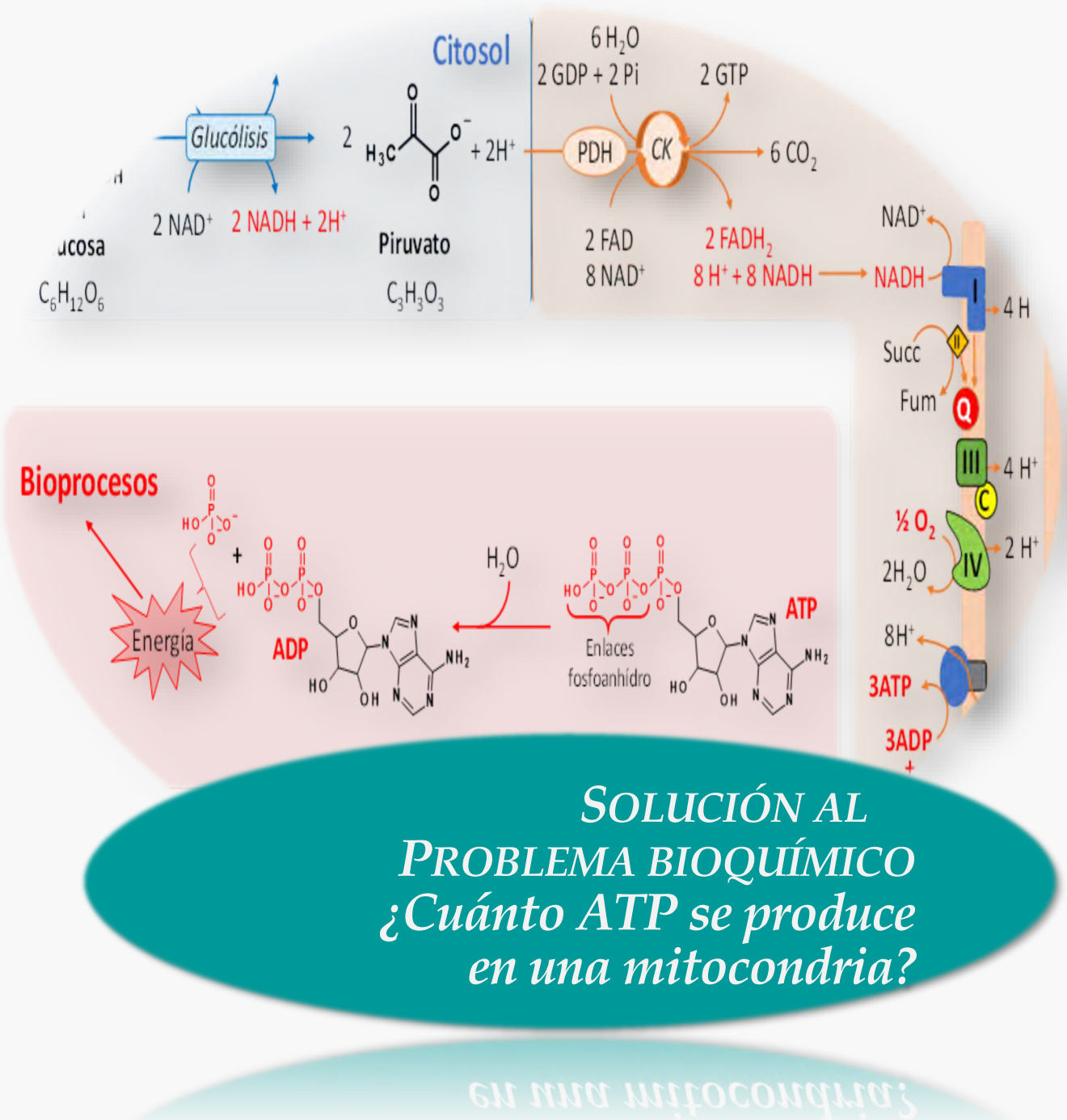
SOLUCIÓN AL CRUCIOBIOQ Nucleótidos

SOLUCIÓN AL CRUCIBIOQ[®]

NUCLEÓTIDOS

Yolanda Saldaña Balmori
Correo E: balmori@bq.unam.mx





SOLUCIÓN AL PROBLEMA BIOQUÍMICO

¿CUÁNTO ATP SE PRODUCE EN UNA MITOCONDRIA?

SOLUCIÓN DEL PROBLEMA

- Cada valor se debe multiplicar por los 2 mL totales de la muestra para tener el consumo total de O₂

$$\frac{\text{pmol O}_2}{\text{mL} \times \text{s}} \times 2\text{mL} = \frac{\text{pmol O}_2}{\text{s}}$$

- Convertir el oxígeno diatómico a oxígeno monoatómico

$$1\text{pmol O}_2 = 2\text{pmol O}$$

- Restar el consumo de oxígeno total celular del consumo de oxígeno después de agregar oligomicina para obtener el consumo de O₂ asociado a la síntesis de ATP (FOx).

$$FOx = \text{Respiración celular} - \text{Oligomicina}$$

- Cuando se obtenga el valor de FOx, se debe multiplicar por la relación P/O (siendo su valor de 1.68 en *T. cruzi*)

$$\frac{\text{pmol O}}{\text{s}} \times 1.68 = \frac{\text{pmol ATP}}{\text{s}}$$

- El resultado anterior tendrá los valores de pmol ATP/s; donde posteriormente se debe dividir entre las células presentes en el oxígrafo, obteniendo así pmol ATP/s^x célula.

$$\frac{\text{pmol ATP}}{\text{s}} \div \text{células} = \frac{\text{pmol ATP}}{\text{s} \times \text{célula}}$$

- Como paso final, pasar los pmol a mol y multiplicar por el número de Avogadro para tener las moléculas de ATP sintetizadas por una célula cada segundo.

$$\frac{\text{Moléculas de ATP}}{\text{s} \times \text{célula}} = \left(\frac{\text{pmol ATP}}{\text{s} \times \text{célula}} \right) \left(\frac{1 \times 10^{-12} \text{mol ATP}}{1 \text{pmol ATP}} \right) \left(\frac{6.02 \times 10^{23} \text{Moléculas de ATP}}{1 \text{mol ATP}} \right)$$

- La siguiente fórmula resume los cálculos explicados anteriormente:

$$\frac{\text{Moléculas de ATP}}{s \times \text{célula}} = \frac{\left(\frac{\text{pmol } O_2}{s \times \text{mL}} T. \text{ cruzi} - \frac{\text{pmol } O_2}{s \times \text{mL}} \text{oligo}\right) 4.047 \times 10^{12}}{\# \text{células en el oxígrafo}}$$

Teniendo en cuenta lo anterior, al poner los valores presentados en la tabla 1 dentro de la fórmula se puede obtener:

$$\frac{\text{moléculas de ATP}}{s \times \text{célula}} = \frac{(116.82 - 45.56) \times 4.047 \times 10^{12}}{74 \times 10^6} = 3.89 \times 10^6$$

Lo que quiere decir que, en promedio, un parásito kinetoplástico (organismos que contienen el DNA mitocondrial compactado dentro de una sola mitocondria) puede sintetizar 3.89×10^6 moléculas de ATP cada segundo.

Es importante tener en cuenta que el valor calculado de la velocidad de producción de ATP es obtenido a partir de un experimento; sin embargo, las réplicas son necesarias para que los valores tengan una mayor robustez. Al repetir el experimento utilizando tres cultivos independientes de *T. cruzi* se obtuvo una velocidad de producción de ATP de $2.9 \times 10^6 \pm 1 \times 10^6$ moléculas de ATP célula⁻¹ s⁻¹.

DISCUSIÓN

Una vez estimada la velocidad de producción de ATP por *T. cruzi* nos preguntamos ¿cómo es esta velocidad en comparación con una mitocondria humana? Esta pregunta es muy compleja porque depende del tipo de célula, del número de mitocondrias por célula, de la razón P/O, del volumen mitocondrial, etc. A pesar de la complejidad de esta pregunta, podemos hacer algunas aproximaciones con los datos reportados en la literatura (Tabla 1).

Parámetro	Valor
Producción de ATP por el cuerpo humano (10)	9×10^{20} moléculas de ATP / s
Células en el cuerpo humano (11)	36×10^{12} células
Eritrocitos en sangre (12)	5×10^6 eritrocitos / μL
Volumen de sangre en el cuerpo (12)	0.069 L / Kg
Número de mitocondrias en la célula (13)	1000-2500 mitocondrias / célula
Volumen mitocondrial en tripanosomátidos (14)	$4.5 \mu\text{m}^3$ (4.5 fL)
Volumen mitocondrial en músculo esquelético humano (15)	$0.2 \mu\text{m}^3$ (0.2 fL)

Se ha estimado que el cuerpo humano en reposo produce alrededor de 9×10^{20} moléculas de ATP cada segundo (10). También se ha estimado que el cuerpo de un hombre adulto de 70kg contiene alrededor de 36×10^{12} células (11) de las cuales hay que restar el número de eritrocitos, ya que no tienen mitocondria. En promedio, la sangre de un hombre adulto contiene 5×10^9 eritrocitos/mL (12) y alrededor de 4.8 L de sangre total (hombre de 70Kg) (12). Con esta información tenemos que:

$$5 \times 10^9 \frac{\text{eritrocitos}}{\text{mL}} \times \left(\frac{1 \times 10^3 \text{ mL}}{1 \text{ L}} \right) \times 4.8 \text{ L} = 24 \times 10^{12} \text{ eritrocitos}$$

Por lo tanto, el cuerpo humano contiene aproximadamente 12×10^{12} células que tienen un rango de 1000 a 2500 mitocondrias (13). Para efecto de realizar los cálculos, consideraremos 1000 mitocondrias, por lo que, en total, el cuerpo humano contiene entre 12×10^{15} mitocondrias. Con esta información y la cantidad de ATP/s tenemos una velocidad de producción de 0.75×10^5 moléculas de ATP s^{-1} mitocondria⁻¹.

Con estos datos pareciera que la única mitocondria de *T. cruzi* es al menos un orden de magnitud más eficiente para producir ATP en comparación con la mitocondria humana. Sin embargo, hay un factor más a tomar en cuenta: el volumen mitocondrial estimado para algunos tripanosomátidos es en promedio de $4.5 \mu m^3$ (4.5 fL) (14), mientras que se ha estimado que el volumen mitocondrial en músculo esquelético es en promedio de $0.2 \mu m^3$ (0.2 fL) (15). Por lo tanto, al considerar el volumen mitocondrial tenemos una velocidad de producción de ATP para *T. cruzi* de 6.4×10^5 ATP s^{-1} fL⁻¹ y en células humanas de 3.8×10^5 ATP s^{-1} fL⁻¹; por lo que podemos concluir que ambas mitocondrias poseen una velocidad de producción de ATP muy similar. Los cálculos descritos en el texto se resumen en la siguiente ecuación que considera la producción de ATP en células humanas:

$$v = \frac{\left(9 \times 10^{20} \frac{ATP}{cuerpo \times s}\right)}{\left[36 \times 10^{12} \frac{célula}{cuerpo} - \left(5 \times 10^9 \frac{eritrocitos}{mL} \times \frac{1 \times 10^3 mL}{L} \times \frac{0.069 L}{Kg} \times \frac{70 Kg}{cuerpo}\right)\right] \times 1000 \frac{mitocondria}{célula} \times 0.2 \frac{fL}{mitocondria}} = 3.8 \times 10^5 \frac{ATP}{fL \times s}$$

CONCLUSIÓN

Este artículo presenta datos sobre la respiración celular con el propósito de mostrar cómo es un estudio de respirometría utilizando un oxígrafo de alta resolución (Oroboros Instrument ®); además de poder hacer que el alumnado sea consciente de la velocidad y eficiencia con la que trabaja una célula, en este caso, sintetizando moléculas de ATP para mantener en correcto funcionamiento a un organismo. El parásito *T. cruzi* posee una mitocondria por célula y lo utilizamos como modelo para estudiar la respiración en mitocondrias intactas; los resultados obtenidos muestran que la velocidad de producción de ATP por el parásito puede compararse con la velocidad de las mitocondrias humanas. 

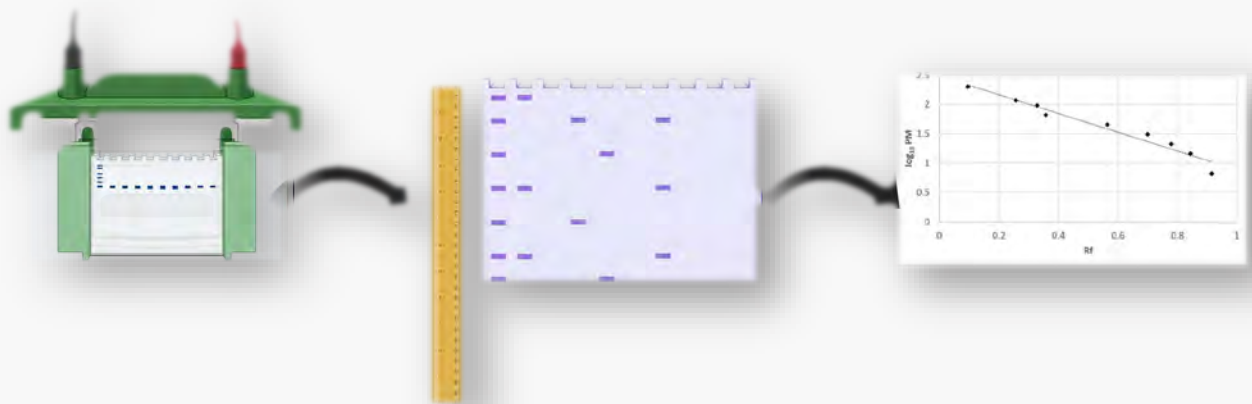
AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fue realizado en el Departamento de Bioquímica del Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez con el apoyo de CONAHCyT del Fondo de Ciencia de Frontera, Paradigmas y Controversias con el proyecto número 320870 y con el Proyecto de Ciencia Básica número 282663

REFERENCIAS

1. Nelson DL, Cox MM, Hoskins AA. Lehninger Principles of Biochemistry. Part II. Bioenergetics and Metabolism. In: 8th ed. New York: Macmillan Learning; 2021.
2. Martínez Montes F, Pardo Vázquez JP, Riveros Rosas H. Bioquímica de Laguna y Piña. 8th ed. María Teresa Hernández Martínez, editor. Ciudad de México: Manual Moderno; 2018.
3. Rodwell VW, Bender DA, Botham KM, Kennelly PJ, Weil PA. Harper Bioquímica ilustrada. 30th ed. México: Mc Graw Hill Education; 2016.
4. Gnaiger E. Mitochondrial Pathways and Respiratory Control. An Introduction to OXPHOS Analysis [Internet]. 2020 [cited 2024 Feb 27]. Available from: https://wiki.orooboros.at/images/e/ec/BEC_2020.2_doi10.26124bec2020-0002.pdf

5. Nicholls DG. Mitochondrial proton leaks and uncoupling proteins. Vol. 1862, *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics*. Elsevier B.V.; 2021.
6. Hinkle PC. P/O ratios of mitochondrial oxidative phosphorylation. Vol. 1706, *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics*. 2005. p. 1–11.
7. Nicholls DG, Ferguson SJ. *Bioenergetics*. 4th ed. Elsevier; 2013.
8. Rodríguez-Enríquez S, Hernández-Esquivel L, Marín-Hernández A, El Hafidi M, Gallardo-Pérez JC, Hernández-Reséndiz I, et al. Mitochondrial free fatty acid β -oxidation supports oxidative phosphorylation and proliferation in cancer cells. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 2015 Jun 22;65:209–21.
9. Affranchino JL, De MNS, Stoppani AOM. Respiratory control in mitochondria from *Trypanosoma cruzi*. Vol. 16, *Molecular and Biochemical Parasitology*. 1985.
10. Zimmerman JJ, Arnim AVSA Von, McLaughlin J. Cellular Respiration. In: Fuhrman BP, Zimmerman JJ, Carcillo JA, Clark RSB, Relvas M, Rotta AT, et al., editors. *Pediatric Critical Care: Expert Consult Premium Edition*. Fourth. Philadelphia, PA: Elsevier; 2011. p. 1058–72.
11. Hatton IA, Galbraith ED, Merleau NSC, Miettinen TP, Smith BM, Shander JA. The human cell count and size distribution. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2023 Sep 26;120(39).
12. Goldman L, Andrew I. Schafer, editors. *Appendix Reference Intervals and Laboratory Values*. In: *Goldman-Cecil Medicine*. 26th ed. 2020. p. e7.
13. Pizzorno J. Mitochondria-Fundamental to Life and Health. *Integrative Medicine* •. 2014;13(2).
14. Jakob M, Hoffmann A, Amodeo S, Peitsch C, Zuber B, Ochsenreiter T. Mitochondrial growth during the cell cycle of *Trypanosoma brucei* bloodstream forms. *Sci Rep*. 2016 Nov 22;6.
15. Vincent AE, White K, Davey T, Phillips J, Ogden RT, Lawess C, et al. Quantitative 3D Mapping of the Human Skeletal Muscle Mitochondrial Network. *Cell Rep*. 2019 Jan 22;26(4):996–1009.e4.



*SOLUCIÓN AL
PROBLEMA BIOQUÍMICO
Estimación del peso molecular de
una proteína por electroforesis en
un gel de poliacrilamida H*

un gel de poliacrilamida H

SOLUCIÓN AL PROBLEMA BIOQUÍMICO
ESTIMACIÓN DEL PESO MOLECULAR DE UNA PROTEÍNA
POR ELECTROFORESIS EN GEL DE POLIACRILAMIDA

SOLUCIÓN DEL PROBLEMA

1) Consultar la imagen analizada (Fig. 3) para las mediciones obtenidas de las distancias de migración de las proteínas.

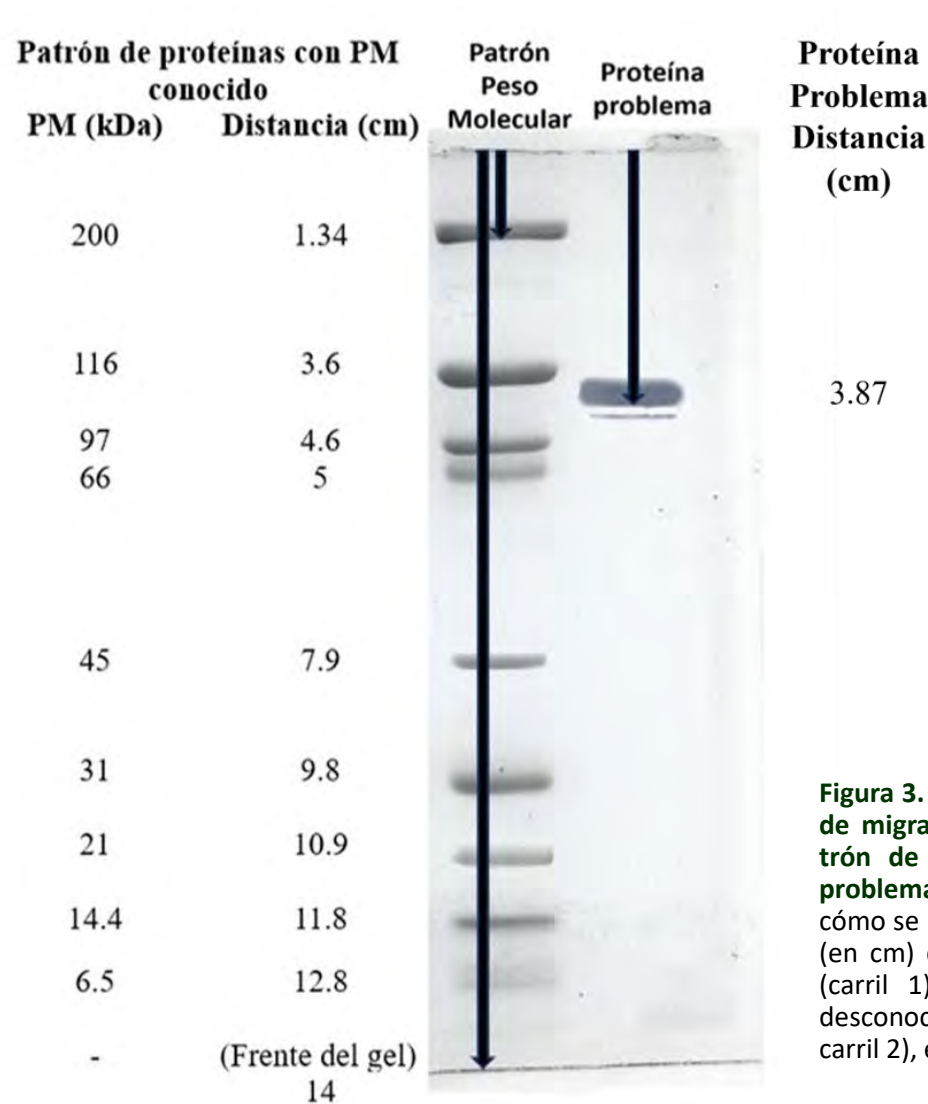


Figura 3. Determinación de la distancia de migración de las proteínas del patrón de referencia y de la proteína problema. En esta figura se muestra cómo se midió la distancia de migración (en cm) de las proteínas de referencia (carril 1) y de la proteína con PM desconocido (proteína problema en carril 2), en el gel de poliacrilamida.

2)

$$Rf_1 = \frac{1.34}{14} = 0.0957 \quad Rf_2 = \frac{3.6}{14} = 0.2571 \quad Rf_3 = 0.3285 \quad Rf_4 = 0.3571$$

$$Rf_5 = 0.5642 \quad Rf_6 = 0.7 \quad Rf_7 = 0.7785 \quad Rf_8 = 0.8428$$

$$Rf_9 = 0.9142 \quad Rf_{Proteína\ problema} = 0.2764$$

3) Consultar la tabla elaborada con los valores de Rf de las proteínas de referencia y los valores de $\log_{10}$ PM de dichas proteínas (Tabla 1).

Patrón de proteínas de peso molecular conocido			
Migración (cm)	Eje X Movilidad relativa (Rf)	Peso molecular (kDa)	Eje Y $\log_{10}$ PM
1.34	0.0957	200	2.30
3.6	0.2571	116	2.06
4.6	0.3285	97	1.98
5	0.3571	66	1.81
7.9	0.5642	45	1.65
9.8	0.7000	31	1.49
10.9	0.7785	21	1.32
11.8	0.8428	14.4	1.15
12.8	0.9142	6.5	0.81

Tabla 1. Valores de migración de las proteínas de referencia (en cm), su movilidad relativa (Rf), su peso molecular (en kDa), y el logaritmo en base 10 de dichos pesos moleculares.

4) Consultar la gráfica de $\log_{10}$ PM vs Rf (Fig. 2) y la ecuación de dicha gráfica.

5) Cálculo del PM aproximado de la proteína problema:

$$\text{Log PM} = -1.6035Rf + 2.4854 \quad \text{Log PM} = -1.6035(0.2764) + 2.4854$$

$$\text{Log PM} = 2.0421 \quad \text{PM} = 110.3 \text{ kDa}$$

6) Se conoce que el peso molecular promedio de un residuo de aminoácido dentro de una cadena polipeptídica es 110 Da, por lo que multiplicando dicho valor por el número de aminoácidos que componen a la proteína SERCA2 se obtiene lo siguiente:

$$1043 \text{ aminoácidos} \left(\frac{110 \text{ Da}}{1 \text{ aminoácido}} \right) = 114.7 \text{ kDa}$$

Comparando este valor de PM calculado matemáticamente (114.7 kDa) con el obtenido de manera experimental por la técnica de SDS-PAGE (110.3 kDa), se puede decir que este último se encuentra en el rango de exactitud ($\pm 10\%$) mencionado en el artículo de Weber y Osborn (5).

7) Debido al tamaño del gel separador que corresponde al de una Miniprotean de BioRad™ se tiene una resolución menor de las bandas respecto a un gel con mayor distancia de migración en donde las bandas del patrón de proteínas se separarían más, lo que mejoraría el comportamiento de los datos en la gráfica de $\log_{10}$ PM vs Rf. Además, factores como la fuerza del campo eléctrico, fuerza iónica, viscosidad y temperatura del medio ambiente, pueden afectar la correcta separación de las proteínas de referencia en el gel. Sin embargo, ésta es una buena aproximación para determinar el PM de una proteína problema ya que el coeficiente de correlación fue de 0.9542. 

REFERENCIAS

1. Sheehan D (2009) Physical Biochemistry: Principles and applications. John Wiley & Sons Ltd, West Sussex, UK, p 147-198.
2. Manns JM (2011). SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) of proteins. Current Protocols in Microbiology, 22:A.3M.1-A.3M.13
3. Gallagher SR (2012). SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE). Current Protocols Essential Laboratory Techniques, 6:7.3.1-7.3.28.
4. Montalvo CA, Lugo MA (2019) Electroforesis: Fundamentos, Avances y Aplicaciones. EPISTEMUS Ciencia, Tecnología y Salud (13): 48-54.
5. Weber K, Osborn M. (1969). The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis Journal of Biological Chemistry 244(16):4406-4412.



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

La Revista de Educación Bioquímica (REB) está 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 está dirigida a investigadores, profesores y estudiantes de posgrado, licenciatura y educación media superior. Los trabajos que se sometan a evaluación para su posible publicación no deben de haberse presentado ni total ni parcialmente en otras publicaciones.

Se aceptan contribuciones originales con estricto contenido científico en forma de artículos de investigación, revisión, crítica y análisis, así como otras comunicaciones relacionadas con diversas formas de estimular el aprendizaje de la bioquímica que pudieran servir de apoyo a investigadores, profesores y alumnos desde nivel medio superior hasta posgrado, en aspectos de investigación, académicos y actualización.

LAS CONTRIBUCIONES DEBEN AJUSTARSE A LOS SIGUIENTES LINEAMIENTOS EDITORIALES:

I. Artículos de investigación, revisión, crítica y análisis

1) Portada. En el primer párrafo, incluir el título, que debe de ser claro, simple y atractivo; evitar las abreviaturas o en su caso, definir las al inicio del texto. En el segundo párrafo, anotar los nombres completos de los autores, iniciando por el nombre propio completo. A cada autor se le asignará un número arábigo, escrito entre paréntesis, para indicar su afiliación. En el tercer párrafo, detallar la afiliación de los autores; indicar departamento, institución, ciudad, estado y país además de la dirección de correo electrónico del autor responsable de la publicación. En el cuarto párrafo, proporcionar un título breve del trabajo, máximo 60 caracteres.

2) Resumen. Incluir dos resúmenes; uno en español y otro en inglés (Abstract) de no más de 350 palabras cada uno.

3) Palabras clave. Proporcionar de tres a seis palabras clave para cada resumen (español e inglés).

4) Texto. Escribir el artículo 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. Presentar las figuras, tablas, leyendas y pies de figura después de las referencias o en un archivo aparte, según se describe en el punto 6.

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

6) Figuras, tablas, y pies de figuras. Presentar figuras, tablas y pies de figura o leyendas separadas del texto del artículo, ya sea que se incluyan después de las Referencias o se envíen por separado en un archivo de *Word* o *Power Point*. Tanto los pies de figura como las leyendas deben estar separadas de las figuras o tablas. Las tablas deben estar en *Word* y sin formatos especiales. Para las figuras, usar formato *jpg*; pueden ser a color, con fondo y sombreado. Numerar figuras y tablas con arábigos.

Mención de figuras y tablas. En las leyendas y pies de figura usar la palabra completa: Ejemplo: Figura 1. En esta figura se describe... Dentro del texto, las tablas o figuras se deben mencionar con minúsculas, la palabra completa y sin paréntesis. Las referencias para las figuras deberán citarse con la abreviatura, la primera letra con mayúscula y entre paréntesis (Fig. 2); para las tablas, usar la palabra completa, la primera letra mayúscula y entre paréntesis (Tabla 2).

Nota: Las figuras y las tablas se reducirán a la mitad o a un cuarto de las dimensiones de una hoja tamaño carta; favor de considerarlo para que las letras y números más pequeños no resulten menores de dos milímetros después de la reducción.

En caso de emplear figuras previamente publicadas, deberá darse el crédito correspondiente y, de ser necesario, obtener el permiso para su publicación en la REB.

7) Referencias. Se indicarán en el texto con números entre paréntesis, de acuerdo con su orden de aparición. Las referencias se enlistarán al final del trabajo por orden numérico de aparición en el texto y deben incluirse en el formato "Vancouver", ejemplos:

- Artículo: Autor/es. Título del artículo. Abreviatura internacional de la revista. Año; volumen (número): página inicial-final del artículo. Ejemplo: Dawes J, Rowley J. Enhancing the customer experience: contributions from information technology. J Business Res. 2005; 36(5):350-7.
- Libro completo: Autor/es. Título del libro. Edición. Lugar de publicación: Editorial; año. Ejemplo: Bell J. Doing your research project 5th. ed. Maidenhead: Open University Press; 2005.
- Capítulo de libro: Autor/es del capítulo. Título del capítulo. En: Director/Coordinador/Editor del libro. Título del libro. Edición. Lugar de publicación: Editorial; año. Página inicial-final del capítulo. Ejemplo: Franklin AW. Management of the problem. En: Smith SM, editor. The maltreatment of children. Lancaster: MTP; 2002. p. 83-85.

Nota: En todos los casos, si fueran varios autores, separar los nombres con coma.

II. Otras comunicaciones incluyen resúmenes y comentarios a artículos científicos, problemas teóricos, ejercicios prácticos, juegos didácticos, avisos de reuniones académicas o cursos, información científica o académica de interés general, cartas al editor, homenajes a científicos destacados, colaboraciones culturales o literarias, entre otras. En estos casos:

8) El contenido deberá ser desarrollado en forma resumida y de manera explícita.

9) Se podrán incluir hasta tres figuras o tablas conforme a lo descrito en el inciso 6. Se aceptará un máximo de 10 referencias, mismas que se citarán como se indica en el inciso 7.

III. Proceso de Envío. Enviar, como archivos adjuntos, los archivos electrónicos del trabajo a publicar a la Revista de Educación Bioquímica (reb@bq.unam.mx), con copia al Editor en Jefe

(jcalder@cinvestav.mx), desde la dirección de correo electrónico del autor responsable de la publicación. Esta dirección será considerada como la dirección oficial para la comunicación con los autores. El autor responsable deberá indicar su adscripción con teléfono, dirección electrónica y postal para comunicaciones posteriores.

En el texto del mensaje se deberá solicitar la evaluación del artículo o la contribución para su posible publicación en la REB, se deberá incluir el título del trabajo, 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 aclarar que el trabajo no ha sido enviado a otra revista para su evaluación (ni en forma total ni parcial) y que el mismo no está en proceso de publicación en otra revista o en otro tipo de publicación. De igual manera se debe manifestar que no existe conflicto de intereses entre los autores que envían el trabajo.

IV. Evaluación. Los manuscritos serán evaluados por al menos tres revisores seleccionados por el Comité Editorial a quienes se les enviará el trabajo con los autores en anónimo; los revisores también permanecerán anónimos para los autores y entre ellos. Los revisores opinarán sobre la relevancia del trabajo en un lapso no mayor a 30 días naturales.

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 la evaluación, el Editor en Jefe la comunicará al autor responsable de la publicación, y en su caso, le enviará las observaciones para que las incorpore al manuscrito o manifieste su opinión sobre aquellas que considere discutibles. El manuscrito corregido por los autores deberá ser devuelto a la REB, en un lapso no mayor a 30 días naturales; si el manuscrito es recibido de forma extemporánea, se le considerará como si estuviera siendo enviado por primera vez. De ser necesario, el Comité Editorial volverá a enviar el manuscrito corregido a los revisores para tener una nueva ronda de evaluación. Una vez aceptado el trabajo, las pruebas de galera se enviarán al autor responsable para su aprobación o corrección.

Los manuscritos que no cumplan con las Instrucciones para Colaboradores de la REB no serán aceptados para su revisión.



REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA (REB), Volumen 43, Número 1, marzo de 2024, publicación trimestral, editada por Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A.C., Avenida Universidad No. 3000, Colonia Universidad Nacional Autónoma de México, Delegación Coyoacán, C.P. 04510. Ciudad de México, México. Correspondencia: Apartado Postal 70-281, Coyoacán, C.P. 04510, Ciudad de México, México. Correo E: reb@bq.unam.mx <http://www.facmed.unam.mx/publicaciones/ampb/index.html>
<https://rebeducation.wordpress.com/>

Editor responsable: Dr. José Víctor Calderón Salinas. ISSN: 1870-3690 y Reserva de derechos al Uso Exclusivo No. 04-2023-042414173600-203; ambos otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. Diseño: Rosa María Lozano Ortigosa. Disponible en marzo de 2024. El contenido de los artículos y las opiniones expresadas en ellos son responsabilidad de los autores y no reflejan necesariamente las del Comité Editorial. Se autoriza la reproducción parcial o total de los textos aquí publicados siempre y cuando se cite la fuente completa y la dirección electrónica de la publicación.

REB 2024 VOL. 43 No. 1 MARZO 2024

ISSN 1870-3690