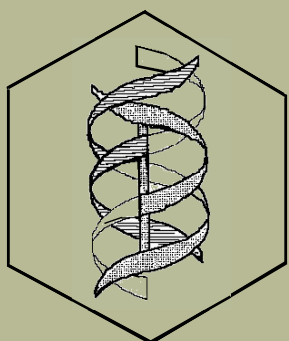


REB 2009

REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA



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

Departamento de Bioquímica
Facultad de Medicina
UNAM



Facultad de Medicina
UNAM



Sociedad Mexicana de
Bioquímica, A.C.

EDITADO DESDE 1982 COMO BOLETÍN DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA

VOL. 28

No. 3

SEPTIEMBRE 2009

COMITÉ EDITORIAL

EDITOR EN JEFE

JOSÉ VÍCTOR CALDERÓN SALINAS

Departamento de Bioquímica
Centro de Investigación y de Estudios Avanzados

EDITORES

MARCO ANTONIO JUÁREZ OROPEZA

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

MINA KÖNIGSBERG FAINSTEIN

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

LEONOR FERNÁNDEZ RIVERA RÍO

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

GRACIELA MEZA RUIZ

Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

ROCÍO SALCEDA SACANELLES

Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

YOLANDA SALDAÑA BALMORI

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

ANA CECILIA ZAZUETA MENDIZÁBAL

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

ALEJANDRO ZENTELLA DEHESA

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

ASISTENTE EDITORIAL

MARIVEL ROJAS GARCÍA

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

EDITORES FUNDADORES

GUILLERMO CARVAJAL SANDOVAL

Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias
e Instituto Politécnico Nacional

JESÚS MANUEL LEÓN CÁZARES

Facultad de Ciencias Naturales
Universidad Autónoma de Querétaro

ENRIQUE PIÑA GARZA

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

YOLANDA SALDAÑA BALMORI

Facultad de Medicina
Universidad Nacional Autónoma de México

SERGIO SÁNCHEZ ESQUIVEL

Instituto de Investigaciones Biomédicas
Universidad Nacional Autónoma de México

CORRESPONSALES

ROCÍO SALCEDA SACANELLES

Coordinadora
Instituto de Fisiología Celular
Universidad Nacional Autónoma de México

JORGE LUIS RICO PÉREZ

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán
Universidad Nacional Autónoma de México

CARLOS CERVANTES VEGA

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

JOSÉ CARLOS GARCÍA PIÑEIRO

Facultad de Ciencias Básicas “Victoria de Giron”
Instituto Superior de Ciencias Médicas. La Habana, Cuba

ALEJANDRO MARTÍNEZ MARTÍNEZ

Instituto de Ciencias Biomédicas
Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Chihuahua

MYRNA SABANERO LÓPEZ

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

SERGIO SÁNCHEZ-ARMÁSS ACUÑA

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

MARTHA ANGÉLICA QUINTANAR ESCORZA

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

MARÍA MALDONADO VEGA

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

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

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

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

CONTENIDO

COMITÉ EDITORIAL

EDITORIAL

Y OTRA VEZ CONACYT José Víctor Calderón Salinas	71
--	----

ARTÍCULOS

REDUCCIÓN BACTERIANA DE CROMO HEXALENTE: MECANISMOS Y APLICACIONES Martha I. Ramírez-Díaz, Héctor Riveros-Rosas, Jesús Campos-García y Carlos Cervantes.....	73
--	----

LA CICATRIZ HIPERTRÓFICA POSQUEMADURA ¿UN PROBLEMA DE SALUD? Luz Alcántara Quintana, Andrés Castell Rodríguez y Marco Cerbón Cervantes.....	80
--	----

LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL. BASES Y APLICACIONES Martha Angélica Quintanar Escorza y José Víctor Calderón Salinas.....	89
--	----

OTRAS COMUNICACIONES

CRUCIBIOQ ENZIMAS: OXIDORREDUCTASAS Yolanda Saldaña Balmori.....	102
--	-----

CONVOCATORIA PARA EL REGISTRO DE CANDIDATOS PARA VICEPRESIDENTE Y SECRETARIO-TESORERO ADJUNTO DURANTE EL AÑO 2010 Mesa Directiva de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A.C.	105
--	-----

SOLUCIÓN AL CRUCIBIOQ ENZIMAS: OXIDORREDUCTASAS Yolanda Saldaña Balmori.....	107
--	-----

XVI CONGRESO DE BIOENERGÉTICA Y BIOMEMBRANAS. Sociedad Mexicana de Bioquímica, A.C.....	108
---	-----

CONVOCATORIA PARA PRESENTAR TRABAJOS EN EL XVII CONGRESO Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A.C.	109
--	-----

INSTRUCCIONES PARA LOS COLABORADORES DE LA REVISTA DE EDUCACIÓN BIOQUÍMICA.....	111
---	-----

EDITORIAL

Y OTRA VEZ CONACYT

Al hablar del Consejo de Ciencia y Tecnología, quisiéramos que fuera sobre las acertadas políticas para el desarrollo de la ciencia, la tecnología y la educación de posgrado; aplaudir los planes para enfrentar las crisis y la forma como se ha logrado tener mas presupuesto y mejor eficiencia y transparencia en su distribución; anunciar que finalmente se logró la reducción de burocracia administrativa y que los recursos fueron asignados y entregados en los tiempos y la forma como se prometió en sus convocatorias, cuestiones que casi siempre se queda en el plano del deseo.

Hoy no hablaremos de la reducción de fondos para la ciencia básica ni del otorgamiento de fondos a la industria para que se evadan impuestos y se mejoren procesos, proyectos cuyo control de calidad debería realizarse de rutina y no con cargo al presupuesto de la federación. Tampoco traeremos a colación la reducción y limitación de becas nacionales ni el enorme número de becas de nacionales al extranjero. Se piensa que internacionalización es igual a importar conocimiento o bien que realizando la exportación del conocimiento con becas a extranjeros en el país sin cuidar que la calidad de tales estudiantes esté garantizada y se supone que traerá beneficios en la ciencia y tecnología nacional, mas allá de la presencia de México en estos países casi siempre con el mismo nivel de desarrollo o menor.

En otro momento comentaremos que después de muchos años lograron, con presiones mas que con estudios y argumentos, que la mayoría de los posgrados marcaran 3 años como su tiempo para realizar el doctorado; ahora Conacyt está forzando, con nuevas convocatorias y convenios, a que los programas deben de tener planes de 4 años de doctorado en todos los lineamientos, reglamentos y programas de posgrado que aspiren a tener becas, aún cuando en la convocatoria se indique que el cuarto año corresponde a una extensión del periodo indicado originalmente.

Aunque lo anterior parecería un reconocimiento de la realidad, tememos que, como en otras ocasiones, una vez que se hagan los cambios oficiales en los programas de estudio es posible que a "alguien" en Conacyt se le ocurra

que hay que regresar a los tiempos de 3 años o tal vez ir a 5 o cualquier sorpresa que parece caprichosa y que nunca tiene una explicación que permita entender el "porqué" y le de estabilidad y permanencia razonable a la medida "X" o "Y" y nos obligue a decirles a los alumnos -Mira, eso hizo Conacyt el año pasado, pero el anterior hizo otra cosa, veamos que hace este año o el próximo.

Bueno y que decir de las fechas y temporalidad de las convocatorias, mas que caprichosas y aparentemente hechas para no dejar a nadie satisfecho y muchas veces con verdaderas complicaciones para poder cumplir en tiempo y forma. Ni hablar de los formatos que continúan siendo enredados, con fallas en la captura y la impresión, con la inevitable necesidad de usar un manual "X" para entender como usar el manual "Y" mismo que explica como llenar y qué significa cada término del formato a presentar.

Después de esta descripción catártica, lo que en realidad quiero ahora comentar es la nueva disposición presentada por Conacyt en forma de un plan para estimular a los posgrados del país, el cual según ha trascendido, fue solicitado y hasta exigido por los mismos posgrados. De acuerdo a la nueva convocatoria, el sistema de posgrado tendrá alumnos de primera, segunda, tercera y hasta de cuarta categoría, por supuesto en un país del tercer mundo.

Categorización que no solo habla de su calidad, sino que tiene un reflejo y consecuencia en los montos de beca recibidos, que tienen diferencias de hasta 100 % entre los diversos posgrados del país. Dicha clasificación de becas no tendrá que ver con las calificaciones del alumno, su aprovechamiento, el trabajo que realiza, el empeño y su aplicación, que su trabajo sea de tiempo completo o los promedios de cursos previos, menos aún de sus necesidades de alimentación y hospedaje digno, ya de por si mermado por la crisis económica.

La diferencia en los montos de las becas tendrá que ver con la incapacidad del alumno para elegir un posgrado clasificado como de competencia internacional en lugar de uno de competencia nacional o uno en desarrollo o todavía peor uno de reciente creación.

Diseñado, creo yo, con una lógica de competencia tal que el 100% de los alumnos tendrían que estar en los posgrados de competencia internacional, aunque los mismos sumen mucho menos del 50% de todos los posgrados del país y sin la posibilidad de atender la demanda nacional y ahora internacional.

En esta lógica el alumno que no ingrese a programas de competencia no solo será calificado como "tonto", sino que tendrá que comer menos y vivir peor. Pero si ingresa a uno de reciente creación, ni se diga, mas le valdría hacer otra maestría ya que recibirá la misma cantidad o más. No importa que el posgrado no coincida con el tema de su interés, el profesor o el grupo de investigación con quien se quiere trabajar o que tenga que viajar por todo el país para encontrar el posgrado que le de el mayor dinero posible.

Parecería que Conacyt está proponiendo que la necesidad económica de los estudiantes logre lo que el plan estratégico de prestigio y su clasificación de los programas no pudieron hacer en cuestión de competencia y que además no fue suficiente para que todos los programas fueran de competencia internacional. Nuevamente el trillado y ya conocido inadecuado sistema del premio y el garrote.

Y es que cualquiera sabe, bueno perdón, no cualquiera, que a un organismo enfermo o en crecimiento limitarle el alimento, el agua y el oxígeno no lo curará, sino que contribuirá a matarlo mas rápidamente en un caso, y a que no pueda crecer y se enferme en el otro; en lugar de buscar la medicina y las condiciones para que sane o la protección y estímulo para que pueda crecer.

Esta idea de generar premios con recursos a los que lo hacen bien y quitárselos a los que no lo hacen tan bien o lo hacen mal o están iniciando, genera al final de cuentas círculos viciosos que la mayoría de las veces empeoran o distorsionan, a la vez que provocan que se tomen medidas no necesariamente asociadas a la calidad, provocan desbandadas de estudiantes y de profesores; no tan solo no promueven la incubación de grupos y la diversidad, sino que tampoco permiten que los grupos realicen acciones de riesgo en temas y tipos de investigaciones diversas. Estas medidas no consideran otras problemáticas que afectan a los programas y por supuesto conseguirán que muchos grupos terminen por desaparecer. Todo ello ignorando deliberadamente la situación nacional de los estudiantes y de otros factores

que afectan el adecuado desarrollo del quehacer de la ciencia y la tecnología.

En este sentido sería mejor que el diagnóstico fuera, que solo los grupos de competencia internacional pueden recibir beca y que hasta que lo logren los demás, no se ve como, se podría acceder a la beca, ya que por lo menos en este caso no se penalizaría al alumno y no se pondrían a competir a los programas por alumnos con base en dinero que ellos reciben.

Claro que lo anterior, al igual que la medida empleada, distorsionará el mercado; un razonamiento simplista sugiere que los profesores se moverían a los programas de competencia internacional, generando un crecimiento difícil de manejar y se supondría que los profesores aceptados serían los pilares de los otros programas menos buenos, malos y en crecimiento. Por lo tanto, los otros programas tenderían a la caída vertical al quedarse con alumnos "tontos" y "más pobres" y con profesores no aceptados en los programas de competencia internacional.

La recepción de tantos alumnos y tantos profesores, comprometería la eficiencia terminal de los propios programas de competencia internacional por lo cual se reduciría su calificación ante Conacyt y lo demás es casi ocioso llevarlo al infinito. Con todo lo anterior se ven aún más lejanas las posibilidades de llenar los números que Conacyt tiene como objetivos a mediano y largo plazo, casi un disparo en el propio pie.

Estamos seguros que los programas de posgrado y las instituciones debemos hacer un esfuerzo mayor para afrontar la realidad de los estudiantes que están llegando a los posgrados y la propia del país. Aunque tal vez no sea el momento de abordarlo, dada la variedad de problemas y de múltiples y particulares condiciones que afrontan nuestras instituciones, nuestros posgrados y nuestros estudiantes también es indispensable reestructurar los planes de estudio y permitir más flexibilidad. Sin embargo, estamos convencidos que no es con una política errática, volátil y que castiga, como se pueden resolver los múltiples problemas que afronta la educación de posgrado de nuestro país.

Requerimos una institución encargada de la ciencia y tecnología que la entienda y apoye. Un Conacyt que nos permita hablar bien de quien tiene en sus manos, buena parte de del desarrollo científico y tecnológico de este país. ¡Y lo necesitamos con urgencia!

José Víctor Calderón Salinas
Editor en Jefe

REDUCCIÓN BACTERIANA DE CROMO HEXAVALENTE: MECANISMOS Y APLICACIONES*

Martha I. Ramírez-Díaz¹, Héctor Riveros-Rosas², Jesús Campos-García¹ y Carlos Cervantes¹

RESUMEN

El amplio uso industrial de los derivados del cromo, un metal pesado, ha ocasionado que estos compuestos sean considerados como serios contaminantes ambientales. En la naturaleza, el cromo se encuentra principalmente en dos estados de oxidación: la forma trivalente Cr (III), que es relativamente inocua, y la forma hexavalente Cr (VI), considerada una especie tóxica. El Cr (III) a nivel extracelular es relativamente inocuo debido a su insolubilidad. En contraste, en el interior de la célula el Cr (III) es altamente tóxico debido a su capacidad para unirse al DNA y a las proteínas. El Cr (VI) usualmente se encuentra como iones cromato (CrO_4^{2-}) o dicromato ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$), los cuales atraviesan fácilmente la membrana plasmática al ser capturados erróneamente por el sistema de transporte de sulfato. En el ambiente, el Cr (VI) puede ser reducido a Cr (III), ya sea de manera abiótica o mediante enzimas llamadas cromato reductasas. El estudio de estas enzimas ha adquirido gran interés por su posible uso en la biorremediación de la contaminación por cromato. Varias cromato reductasas han sido identificadas en diversas especies bacterianas. La cromato reductasa mejor caracterizada es la enzima ChrR de la bacteria gram negativa *Pseudomonas putida*, que pertenece a la familia de flavoproteínas reductasas dependientes de NAD(P)H. Esta familia actualmente posee 243 proteínas homólogas a ChrR que unen al cofactor FMN y que se encuentran ampliamente distribuidas en los tres dominios de la vida. En este trabajo se resumen las propiedades de los sistemas bacterianos de reducción de Cr (VI) como un mecanismo empleado por los microorganismos para contrarrestar los efectos tóxicos del cromo y sus derivados.

PALABRAS CLAVE: reducción de cromato, familia de flavoproteínas reductasas dependientes de NAD(P)H, biorremediación.

ABSTRACT

Bacterial reduction of hexavalent chromium: mechanisms and applications.

The broad industrial use of derivatives of chromium, a heavy metal, has caused that these compounds are regarded as serious environmental contaminants. In nature, chromium is found primarily in two oxidation states: the trivalent form Cr (III), which is relatively innocuous, and the hexavalent form Cr (VI), considered a more toxic species. At the extracellular level, Cr (III) is relatively harmless because of its insolubility. In contrast, inside the cell Cr (III) is highly toxic because of its ability to bind to DNA and proteins. Cr (VI) is usually found as chromate (CrO_4^{2-}) or dichromate ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$) ions, which easily cross the plasmatic membrane to be mistakenly taken up arrested by the sulfate transport systems. In the environment, Cr (VI) can be reduced to Cr (III), either by abiotic ways or by enzymes called chromate reductases. The study of these enzymes has gained great interest for their potential use in bioremediation of pollution by chromate. Several chromate reductases have been identified in different bacterial species. The best characterized chromate reductase is the ChrR enzyme from the gram-negative bacteria *Pseudomonas putida*, which belongs to the family of NAD(P)H dependent flavoprotein reductases. This family currently includes 243 ChrR homologous proteins that bind the FMN cofactor and that are widely distributed in the three domains of life. This paper summarizes the properties of bacterial systems that reduce Cr (VI) as a mechanism used by microorganisms to resist the toxic effects of chromium and its derivatives.

KEY WORDS: Chromate reduction, family of NAD(P)H dependent flavoprotein reductases, bioremediation.

*Recibido: 11 de noviembre de 2008 Aceptado: 16 de junio de 2009

¹Instituto de investigaciones Químico-Biológicas, Universidad Michoacana, Morelia, Michoacán; ²Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México; D.F., México. Enviar correspondencia a: Martha I. Ramírez-Díaz. Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Edificio B-3, Ciudad Universitaria. 58030, Morelia, Mich., México. Telefono/fax: +52 (443) 326-5788. Correo E: marthaisela_ramirez@hotmail.com

1. Generalidades del cromo

1.1 Cromo en el ambiente

El cromo (Cr) es un metal de transición localizado en el grupo VI-B de la tabla periódica, con un número atómico de 24 y un peso atómico de 51.996. El Cr es el séptimo elemento más abundante sobre la tierra y normalmente se localiza en rocas, suelos, plantas, animales y emisiones volcánicas. Se ha estimado que la presencia de Cr en la atmósfera de países de Europa y América es de 0.001 a 1.1 ppb; en fertilizantes fosfatados de 66 a 245 ppm y en polvos residuales de incineraciones municipales de 490 ppm (1). La concentración de Cr en aguas intercontinentales no contaminadas es de 0.1 a 0.5 ppm, mientras que en aguas negras, municipales y residenciales oscila entre 0.1 a 36 mg/cápita/día (1). Así, se ha establecido que la toxicidad del Cr (como cromato de potasio) en humanos es de 0.5 a 1 g por vía oral (1).

Aunque el Cr existe en estados de oxidación que van de -2 a +6, las formas más estables y abundantes son las especies trivalente Cr (III) y hexavalente Cr (VI). El Cr (VI) comúnmente está presente en solución formando los oxianiones hidrocromato (HCrO_4^-), cromato (CrO_4^{2-}) o dicromato ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$), dependiendo del pH. El Cr (VI) existe en forma de anión soluble en agua, el cual puede persistir en este ambiente por largos periodos y es considerado como un contaminante importante por el Departamento de Energía de sitios de desecho de EUA (2). Por otra parte, los derivados del Cr (III) son menos móviles y principalmente existen en el ambiente formando complejos estables con ligandos orgánicos o inorgánicos (3). En el año 2000 se procesaron aproximadamente 15 millones de toneladas de cromita (FeCr_2O_4), de las cuales cerca de un 70% se empleó para producir aleaciones metálicas; por ejemplo, para obtener ferrocromo (una

aleación de cromo, hierro y carbono). Otra parte (aproximadamente 15%) se empleó directamente como material refractario y el resto se utilizó en la industria química para obtener diferentes compuestos de cromo. Así, el amplio uso del Cr en diversos procesos industriales ha convertido a este metal en un serio contaminante del aire, suelo y agua (4).

1.2 Transporte del cromo

En diversas especies bacterianas se ha demostrado que el Cr (VI) en forma de cromato entra activamente a las células a través del sistema de transporte del sulfato (Fig. 1A). La analogía química entre el cromato y el sulfato ha sido enfatizada por el hecho de que el cromato es un inhibidor competitivo del transporte del sulfato en todas las especies bacterianas que han sido estudiadas (4). En contraste, el Cr (III) atraviesa las membranas con muy baja eficiencia debido a que forma compuestos insolubles en soluciones acuosas no ácidas (Fig. 1B).

1.3. Toxicidad del cromo

Los efectos tóxicos del Cr dependen de su estado de oxidación (5). A nivel extracelular, el Cr (VI) es altamente tóxico para la mayoría de las bacterias ya que es transportado activamente al citoplasma, mientras que el Cr (III) es relativamente inofensivo debido a su insolubilidad e incapacidad de atravesar las membranas celulares (5). En el interior de la célula, la toxicidad del Cr se relaciona principalmente con el proceso de reducción del Cr (VI) a estados de oxidación inferiores [como Cr (V) y Cr (III)] (Fig. 1C). Este proceso puede ocasionar la formación de radicales libres, generando estrés oxidativo (Fig. 1D) y en consecuencia diversos efectos tóxicos en el DNA, lípidos y en las proteínas (Fig. 1E y 1F). Se considera que el daño oxidativo al DNA es responsable de los efectos genotóxicos causados por

el cromato (6). La exposición ocupacional al cromato se postula como un serio problema toxicológico, pues se ha demostrado que el Cr (VI) es un agente potencialmente carcinógeno en humanos (7).

2. Reducción del cromato

Se ha descrito que bajo ciertas condiciones ambientales, el Cr puede ser interconvertido a Cr (III) y Cr (VI) a través de reacciones de oxido-reducción de naturaleza biótica o abiótica. La reducción del Cr (VI) puede ocurrir bajo condiciones aeróbicas o anaeróbicas y puede estar asociada a la fracción soluble o a la membrana celular (8). Por consiguiente, la reducción extracelular o periplásmica de Cr (VI) a Cr (III), que genera un compuesto impermeable y no tóxico a nivel extracelular, puede ser considerada como un mecanismo de resistencia a cromato (8). En bacterias, los mecanismos de resistencia a cromato pueden ser codificados por genes plasmídicos o cromosómicos (4). Los sistemas de resistencia codificados en el cromosoma se han relacionado generalmente con la reducción extracelular del Cr (VI) a Cr (III), tanto por enzimas específicas como no específicas (5).

2.1. Reducción enzimática del cromato

La reducción del cromato se ha descrito en diversas especies bacterianas, aunque sólo unas pocas enzimas han sido caracterizadas (5). Ishibashi y col. (9) sugirieron que las Cr (VI) reductasas pueden tener un papel primario diferente a la reducción de Cr (VI) y que esta segunda función adquirida de las Cr (VI) reductasas puede relacionarse con el reciente incremento del Cr (VI) en el ambiente como consecuencia de actividades antropogénicas. Así, varias Cr (VI) reductasas han sido caracterizadas en el contexto de sustratos alternos; es-

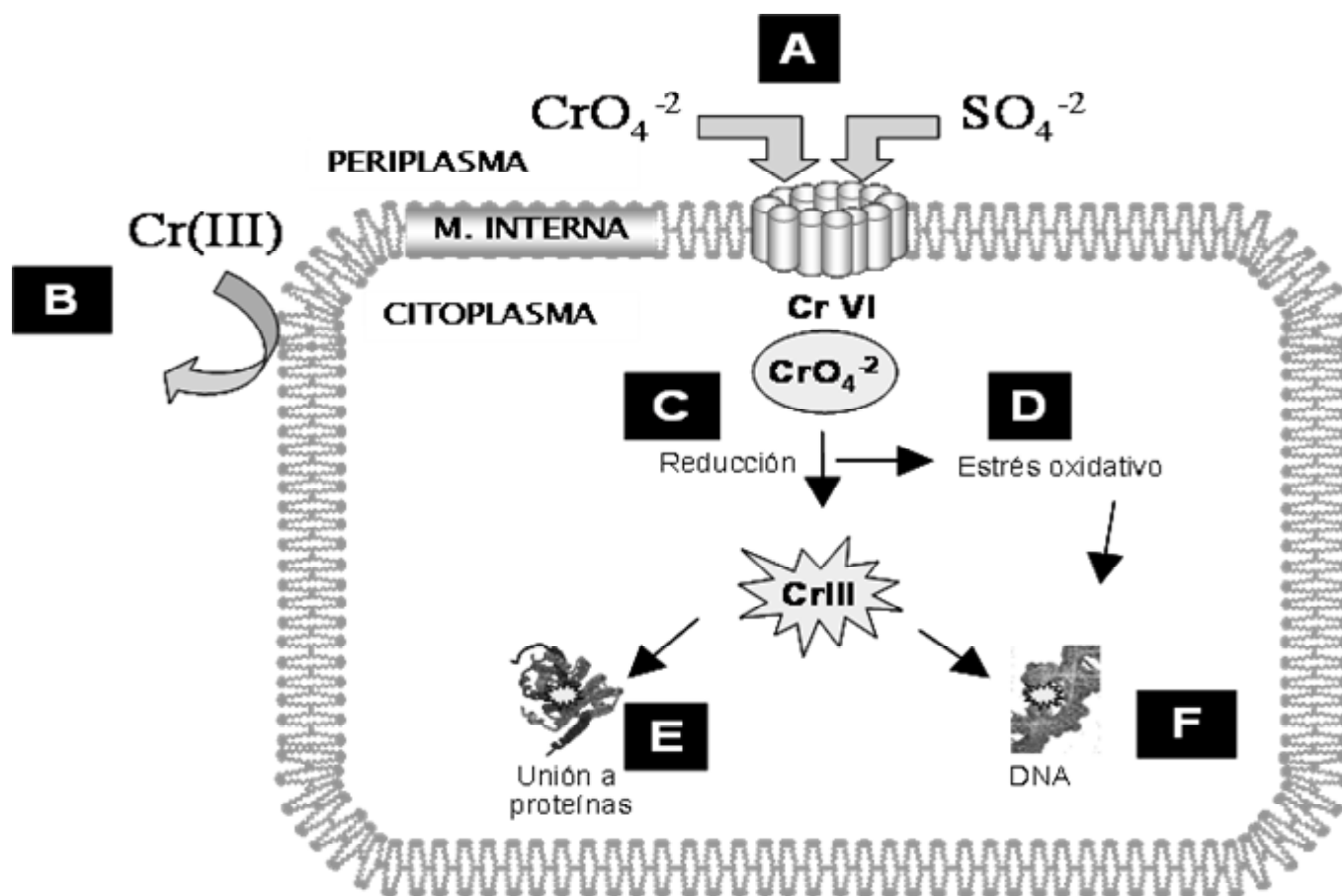


Figura 1. Transporte y toxicidad del cromato en la célula bacteriana. A) Captación del Cr (VI) [CrO_4^{2-}] a través del sistema de transporte del sulfato (SO_4^{2-}). B) Las membranas biológicas son impermeables al Cr (III), por lo que éste resulta inocuo extracelularmente. C) Reducción intracelular de Cr (VI) a Cr (III). D) Estrés oxidativo causado por la generación de especies reactivas de oxígeno como consecuencia de la reducción de Cr (VI). E) Daño ocasionado por la interacción del Cr (III) con las proteínas o F) con el DNA. Modificado de Ramírez-Díaz y col. (2).

tas enzimas frecuentemente muestran actividad de NADH:flavín oxido-reductasas (8). Este es el caso de las nitrorreductasas NfsA/NfsB de la bacteria Gram negativa *Vibrio harveyi*, que presentan propiedades de nitrofurazona nitrorreductasa como función primaria y actividad de cromato reductasa como actividad secundaria, o la reductasa férrica FerB de *Paracoccus denitrificans* (una bacteria Gram negativa y oxidante de nitrógeno), que usa tanto Fe (III)-nitrilotriacetato como cromato como sustratos (5).

Actualmente la Cr (VI) reductasa más estudiada es la proteína ChrR de la bacteria Gram negativa *Pseudomonas putida*, una flavoenzima

soluble que une FMN (flavín mononucleótido) y cataliza la reducción de Cr (VI) a Cr (III) (10). Se ha propuesto que esta enzima se sitúa en el periplasma ya que de manera similar a proteínas con esta localización el residuo del extremo N-terminal no corresponde a metionina; su ubicación celular la hace atractiva para usos en biorremediación. ChrR funciona como un dímero de 50 kDa y muestra actividad de reductasa dependiente de NADH con una K_m de 260 μM para el cromato y una V_{max} de 8.8 nmol de cromato por $\text{min}^{-1}\text{mg}^{-1}$ de proteína (11). Esta enzima multifuncional, además de su actividad de cromato reductasa, reduce al ferricianuro (11).

La enzima ChrR purificada presentó una actividad de quinona reductasa, generando flavín semiquinona durante la reducción de cromato; esta reacción transfiere más de 25% de los electrones del NADH al anión superóxido y probablemente produce especies transitorias de Cr (V), lo que minimiza que esta especie de cromo reaccione con H_2O_2 generando un exceso de especies reactivas de oxígeno (ROS). De esta manera, ChrR parece proveer de un mecanismo de defensa antioxidante a *P. putida* a través de la protección de las células del estrés ocasionado, por ejemplo, por H_2O_2 (12). De hecho, la expresión de ChrR se induce en células expuestas a H_2O_2 (10) o a cromato (11). En resumen,

ChrR en una ruta reduce Cr (VI) a Cr (III) generando el intermediario Cr (V) y el anión superóxido y por un mecanismo adicional reduce quinonas, protegiendo a las células de las especies reactivas de oxígeno (ERO).

ChrR contiene la secuencia LFVTPEYNXXXXXXLKNAIDXXS, la cual puede estar involucrada en la unión con FMN encontrándose conservada en varios miembros de la familia COG0431 (grupo de proteínas ortólogas procarióticas) y KOG4530 (grupo de ortólogos eucarióticos) (8). Estas proteínas han sido agrupadas también en la familia FMN reductasas dependientes de NAD(P)H que a su vez forma parte del clan de las flavoproteínas, que incluye proteínas redox de unión a FMN o FAD (8).

La cromato reductasa YieF de la bacteria Gram negativa *Escherichia coli* presenta homología con la enzima ChrR de *P. putida* (11). YieF tiene un amplio rango de sustratos y puede reducir, además de cromato, al vanadio (V), molibdeno (VI), compuestos como ferrocianuro, varias quinonas, 2,6-dihidrocloroindolifenol y prodro-gas como mitomicina C y 5-aziridinil-2,4-dinitrobenzamida (11). El mecanismo de acción de YieF involucra la reducción del cromato por la transferencia obligada de cuatro electrones por cada dímero de proteína; de esta manera, la enzima transfiere simultáneamente tres electrones al Cr (VI) para producir Cr (III) y un electrón al oxígeno molecular generando ERO (11). Debido a la formación de una cantidad baja de ERO, YieF proporciona un mecanismo efectivo de protección contra cromato en *E. coli*. Otra enzima de *E. coli*, la flavín reductasa Fre, reduce cromato a través de una estrategia diferente que involucra la formación de un complejo de Cr (III) con el cofactor NAD (8). Esta interacción puede estar relacionada con la notoria capacidad del Cr (III) para formar aductos con el DNA.

En conclusión, la reducción de Cr (VI) parece ser una estrategia importante de resistencia a cromato en bacterias, aunque el uso de sustratos alternos, además del Cr (VI), sugiere que la actividad de reducción de este ión en los microorganismos es un mecanismo de adaptación enzimática ocasionada por la creciente exposición a cromato (5).

2.2. Familia de FMN reductasas dependientes de NAD(P)H

La familia de proteínas FMN reductasas dependientes de NAD(P)H (FMN_red) que incluye posibles ortólogos de ChrR, actualmente comprende al menos 243 proteínas homologas que unen al cofactor FMN (Fig. 2). Los miembros de este grupo están ampliamente distribuidos, sugiriendo un origen evolutivo muy antiguo para estas proteínas. El uso de NAD(P)H y la ausencia del radical flavín semiquinona distingue a estas proteínas de las flavodoxinas, que adoptan la misma forma estructural terciaria (8). La familia FMN_red puede dividirse en diez grupos principales, donde cada uno probablemente corresponde a diferentes subfamilias de proteínas (Fig. 2). Sólo tres de estos grupos incluyen proteínas caracterizadas y se les ha definido como subfamilias, de manera similar a como se han nombrado previamente otros grupos de proteínas (14).

La subfamilia I es el grupo más numeroso (73 secuencias homólogas) y está presente principalmente en proteobacterias. La proteína ChrR de *P. putida*, descrita anteriormente está incluida en esta subfamilia (8).

La subfamilia II, formada de 32 proteínas homologas, está presente en arqueas, bacterias (principalmente proteobacterias) y plantas (8). Tres proteínas de este grupo han sido caracterizadas: la proteína dimérica YieF de *E. coli*, descrita como la primera cromato reductasa soluble (11); la pro-

teína dimérica FMN reductasa de *P. aeruginosa* PAO1 (15); y la proteína tetramérica NAD(P)H:quinona reductasa (NQR) de la planta *Arabidopsis thaliana* (13).

La subfamilia III comprende nueve proteínas homologas, presentes en bacterias del grupo firmicutes, hongos y el moho mucilaginoso *Dictyostelium discoideum* (8). A esta subfamilia pertenecen dos proteínas caracterizadas: la azo reductasa de la bacteria Gram positiva *Bacillus sp.* OY1-2 (15) y la proteína dimérica de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* YLR011wp (16). La proteína de *Bacillus* transforma azo colorantes (sustancias orgánicas que poseen nitrógeno unido a un anillo aromático) una reacción mediada por la actividad de reductasa del grupo azo en presencia de NAD(P)H (15). YLR011wp posee además una actividad reductora débil pero específica sobre azo colorantes y nitro compuestos, en adición a una fuerte actividad de ferricianuro reductasa (16).

En resumen, la capacidad multifuncional de los miembros de la familia FMN_red dependiente de NAD(P)H sugiere que la reducción de Cr (VI) no es la actividad principal de estas proteínas. Esto puede estar relacionado con el hecho de que el cromo está presente en la naturaleza principalmente como Cr (III) y de que la introducción de especies de Cr (VI) en el ambiente es un evento relativamente reciente (8).

3. Biorremediación de cromato

A diferencia de los herbicidas, los pesticidas y otros compuestos tóxicos que pueden degradarse biológicamente, los metales pesados como el Cr no pueden ser eliminados y permanecen en los suelos o sedimentos, donde se liberan lentamente al agua (1). La remoción de cromato de agua contaminada se ha realizado tradicionalmente a través de la reducción de Cr (VI) a Cr (III) por métodos químicos o

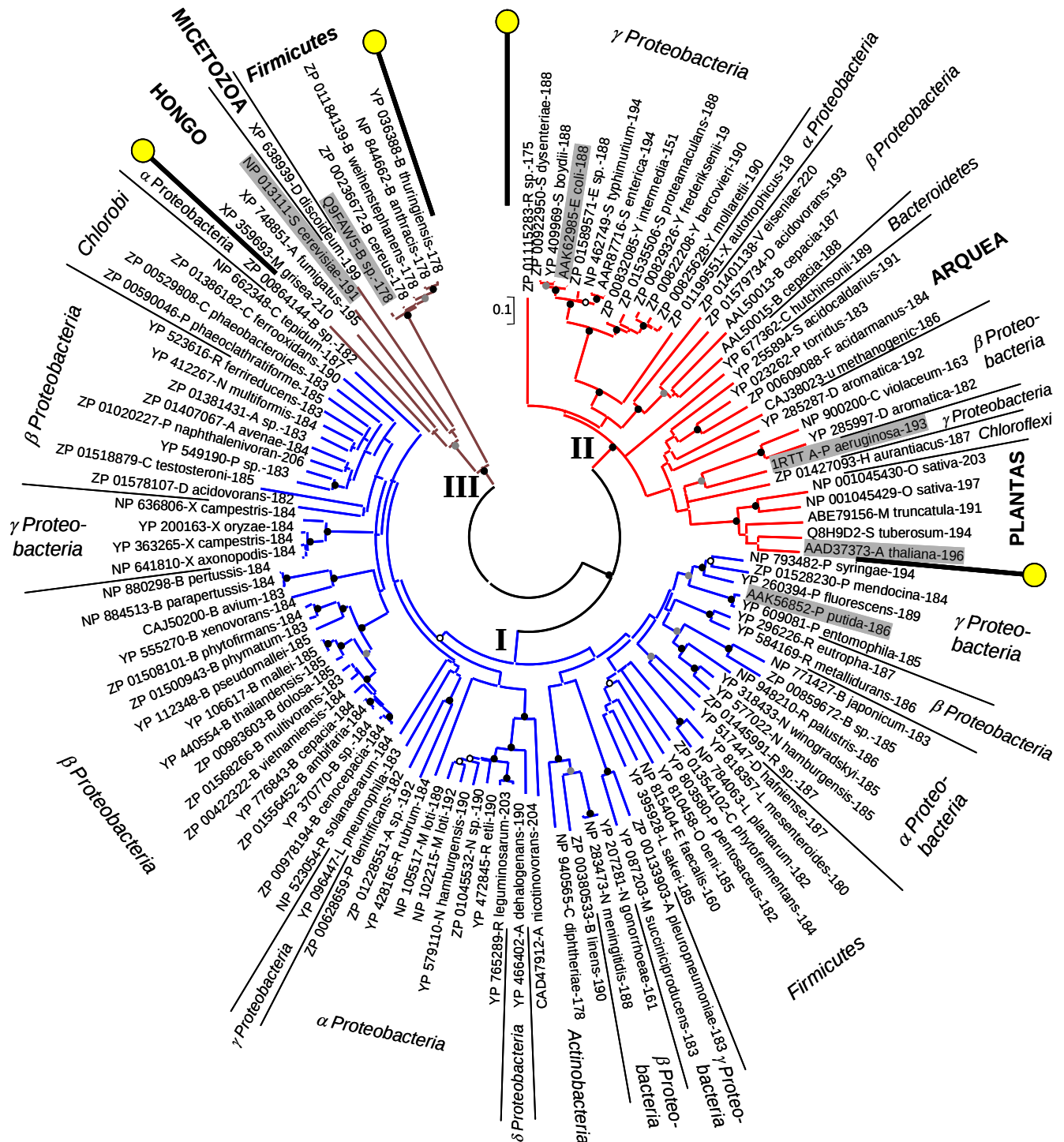


Figura 2. Análisis filogenético de la familia FMN reductasas dependientes de NAD(P)H (FMN_red). Se muestra un árbol consenso construido con el método de mínima evolución (ME). Se usaron secuencias de proteínas que pertenecen a las tres subfamilias que poseen al menos una proteína caracterizada (líneas sombreadas). El árbol fue calculado usando el programa MEGA 3.1. Se obtuvieron topologías similares usando los métodos de vecino más próximo (NJ), máxima parsimonia (MP) y promedio aritmético de los grupos de pares no ponderados (UPGMA). Se incluye el número de acceso de cada secuencia, la abreviatura del nombre de la especie y el tamaño de la proteína (número de residuos). Los límites de las subfamilias (I-III) se indican con líneas gruesas. Los puntos en las barras indican los nodos con >70% (abiertos), >80% (gris), o >90% (cerrado) del valor bootstrap derivado de 1,000 repeticiones de los árboles obtenidos simultáneamente con los métodos UPGMA, NJ, ME y MP.

bioquímicos, seguidos de la filtración/sedimentación. Sin embargo, la eliminación del cromato por estos métodos resulta costosa e ineficiente (1). A partir de que se ha encontrado que una gran cantidad de microorganismos aislados, tanto de sitios contaminados con cromato como de ecosistemas naturales no contaminados, con capacidad para reducir Cr(VI), estos organismos han sido propuestos como alternativas biotecnológicas para la biorremediación de la contaminación por cromato (4).

En este contexto, se han descrito microorganismos con potencial en biorremediación como la bacteria Gram negativa *Serratia marcescens*, aislada de un efluente terciario (aguas con desechos sólidos, líquidos o gaseosos), la cual es capaz de reducir Cr(VI) y remover cerca del 80% del cromato presente en el medio (15). Por otro lado, el desarrollo de cepas bacterianas con capacidad mejorada para la resistencia y reducción de Cr(VI) se ha considerado como una aproximación inicial para la biorremediación de cromato (16). En

este sentido, la proteína ChrR6, una mutante de la enzima ChrR generada por medio de evolución dirigida, mostró un marcado incremento en su capacidad de remediación de cromato. La proteína ChrR6 presentó parámetros cinéticos superiores para la reducción de cromato en todas las condiciones analizadas; reflejo de esto es el aumento de 300 veces en su eficacia catalítica (medida como el cociente k_{cat}/K_m). Así, se ha propuesto que esta enzima puede convertir a *E. coli* en una bacteria eficiente para la remediación de cromato (16).

En síntesis, es previsible en un futuro cercano, el uso de los microorganismos ya sea nativos o modificados genéticamente, para favorecer la remoción del Cr(VI) de ambientes contaminados.

Conclusiones

Los microorganismos han desarrollado diversos mecanismos para combatir la toxicidad del cromato. Entre ellos se encuentra la reducción de cromato. Se ha reportado que muchas especies bacterianas reducen Cr(VI) a Cr(III);

sin embargo, las propiedades bioquímicas de las cromato reductasas han sido dilucidadas sólo para algunas enzimas. La amplia diversidad de estas enzimas, así como la multiplicidad de funciones que desarrollan, apoyan la hipótesis de que la reducción del cromato es una función secundaria adquirida por las diferentes cromato reductasas. No obstante, aunque la función fisiológica de las cromato reductasas ChrR de *P. putida* y YieF de *E. coli* es incierta, éstas son enzimas con propiedades promisorias para estudios de biorremediación principalmente para la generación de cepas reductoras de cromato más eficientes.

Agradecimiento. La investigación de nuestros laboratorios ha contado con apoyos de la Coordinación de la Investigación Científica (UMSNH), del Consejo Estatal de Ciencia y Tecnología del Estado de Michoacán (COECYT) y el Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación (PAPIIT-UNAM IN208308).

REFERENCIAS

1. Cervantes C, Moreno R (1999) Contaminación ambiental por metales pesados. A.G.T. Editor, S. A. México, p. 157.
2. Riley RG, Zachara JM, Wobber FJ (1992) Chemical contaminants on DOE lands and selection of contaminant mixtures for subsurface science research. Report DOE/ER-0547T. US Department of Energy, Washington, DC
3. Zayed A, Terry N (2003) Chromium in the environment: factors affecting biological remediation. *Plant Soil* 249: 139-156.
4. Cervantes C, Campos-García J, Devars S, Gutiérrez-Corona F, Loza-Tavera H, Torres-Guzmán JC, Moreno-Sánchez R (2001) Interactions of chromium with microorganisms and plants. *FEMS Microbiol. Rev.* 25: 335-347.
5. Cervantes C, Campos-García J (2007) Reduction and efflux of chromate by bacteria. In: *Molecular Microbiology of Heavy Metals*, Springer-Verlag, Berlin. p. 407-420.
6. Luo H, Lu Y, Shi X, Mao Y, Dalal, NS (1996) Chromium (IV)-mediated Fenton-like reaction causes DNA damage: Implication to genotoxicity of chromate. *Ann. Clin. Lab. Sci.* 26: 185-191.
7. De Flora S. 2000 Threshold mechanisms and site specificity in chromium (VI) carcinogenesis. *Carcinogenesis* 21: 533-541.
8. Ramírez-Díaz MI, Díaz-Pérez C, Vargas E, Riveros-Rosas E Campos-García J, Cervantes C (2008) Mechanisms of bacterial resistance to chromium compounds. *Biomaterials* 21: 321-32.

9. Ishibashi Y, Cervantes C, Silver S (1990) Chromium reduction in *Pseudomonas putida*. Appl. Environ. Microbiol. 56: 2268-2270.
10. Park CH, Keyhan M, Wielinga B, Fendorf S, Matin A (2000) Purification to homogeneity and characterization of a novel *Pseudomonas putida* chromate reductase. Appl. Environ. Microbiol. 66: 1788-1795.
11. Ackerley DF, Gonzalez CF, Park CH, Blake R, Keyhan M, Matin A (2004) Chromate-reducing properties of soluble flavoproteins from *Pseudomonas putida* and *Escherichia coli*. Appl. Environ. Microbiol. 70: 873-882.
12. González CF, Ackerley DF, Lynch SV, Matin A (2005) ChrR, a soluble quinone reductase of *Pseudomonas putida* that defends against H₂O₂. J. Biol. Chem. 280: 22590-22595.
13. Sparla F, Tedeschi G, Pupillo P, Trost P (1999) Cloning and heterologous expression of NAD(P)H:quinone reductase of *Arabidopsis thaliana*, a functional homologue of animal DT₂-diaphorase. FEBS Lett. 463: 382-386.
14. Riveros-Rosas H, Julián-Sánchez A, Villalobos-Molina R, Pardo JP, Piña E (2003) Diversity, taxonomy and evolution of medium-chain dehydrogenase/reductase superfamily. Eur. J. Biochem. 270: 3309-3334.
15. Suzuki Y, Yoda T, Ruhul A, Sugiura W (2001) Molecular cloning and characterization of the gene coding for azoreductase from *Bacillus* sp. OY1-2 isolated from soil. J. Biol. Chem. 276: 9059-9065.
16. Liger D, Graille M, Zhou CZ, Leulliot N, Quevillon-Cheruel S, Blondeau K, Janin J, Van Tilbeurgh H (2004) Crystal structure and functional characterization of yeast YLR011wp, an enzyme with NAD(P)H-FMN and ferric iron reductase activities. J. Biol. Chem. 279: 34890-34897.

LA CICATRIZ HIPERTRÓFICA POSQUEMADURA ¿UN PROBLEMA DE SALUD?*

Luz Alcántara Quintana¹, Andrés Castell Rodríguez² y Marco Cerbón Cervantes³

RESUMEN

Las heridas producidas por quemaduras constituyen un problema médico importante y son causa de un incremento de la morbilidad y mortalidad con un gran costo al sistema de salud. La cicatriz hipertrófica posquemadura, se ha definido como una patología de origen postraumático, que se caracteriza por presentar un daño en la dermis profunda combinado con una alteración en los factores que conllevan a la cicatrización debido a la presencia del proceso inflamatorio crónico. Se caracteriza por una gran síntesis de componentes de matriz extracelular predominantemente colágena, además de presentar un incremento en la retracción cicatrizal. Por lo que gran parte de la investigación en salud se ha enfocado en el mejoramiento de los procesos de reparación, evitar la formación de secuelas fibrosas y la resolución de patologías fibrosantes dérmicas. Desafortunadamente no se ha logrado un éxito total, lo que deja un amplio campo para la investigación de nuevas estrategias terapéuticas que nos permitan resolver las patologías fibrosantes. El objetivo de este artículo es revisar la información actual de la fisiopatogenia de la cicatriz hipertrófica posquemadura y la terapéutica actual de la misma.

PALABRAS CLAVE: Cicatriz hipertrófica, fibroblastos, citocinas proinflamatorias.

INTRODUCCION

Desde años inmemorables se ha estudiado el proceso de cicatrización, los primeros escritos médicos conocidos se ocupan ampliamente del cuidado de las heridas, siete de los 48 informes de casos incluidos en el Papiro Smith (1770 A.C.) describen heridas y su atención. En forma empírica, los anti-

guos médicos de Egipto, Grecia, India y Europa crearon métodos adecuados para tratarlas y advirtieron la necesidad de extraer cuerpos extraños, suturar, cubrir las lesiones con material limpio y protegerlas de la acción de agentes corrosivos. Durante el siglo XIV, con el empleo extenso de la pólvora y la frecuencia de heridas de

bala, surgió una nueva época en su tratamiento. En vez de adoptar una actitud pasiva en su atención y depender de los procesos naturales de reparación, los cirujanos asumieron una postura más dinámica y emprendieron actos impresionantes para facilitar la "curación de todo tipo de lesiones". A mediados del siglo XVI Ambroise

ABSTRACT

Wounds caused by burns are a major medical problem and cause an increase in morbidity and mortality at great cost to the health system. The hypertrophic scar has been defined as pathology of postraumatic origin, which is characterized by an injury in the deep dermis along with a change in the factors that lead to healing, due to the presence of chronic inflammatory process. It is characterized by a great synthesis of extracellular matrix components, predominantly collagen, besides presenting an increase in scar retraction. Therefore, most of health research has focused on improving repair processes, preventing the formation of fibrous sequelae, and resolution of fibrosing skin pathologies. Unfortunately it has not achieved a complete success, leaving a vast field for research into new therapeutic strategies that will enable us to resolve the fibrosing pathologies. The objective of this article is to review current information on the physiopathology of hypertrophic scar and its new therapies.

KEY WORDS: Hypertrophic scar, fibroblasts, proinflammatory cytokines.

*Recibido: 16 de noviembre de 2008 Aceptado: 11 de agosto de 2009

¹Posgrado en Ciencias Biológicas, Facultad de Medicina, UNAM, Correo E: luzalcantara@gmail.com; ²Biología Celular y Tisular, Facultad de Medicina, UNAM, Correo E: castell@servidor.unam.mx; ³Biología, Facultad de Química, UNAM, México, D.F. Correo E: mcerbon85@yahoo.com.mx

Paré, el gran cirujano militar francés, redescubrió los métodos atraumáticos. John Hunter, William Stewart Halsred, Alexis Carrel y otros grandes clínicos biólogos demostraron que minimizar la lesión tisular permitía la cicatrización rápida y eficaz. Sin embargo, por desgracia la reacción normal de los tejidos a la lesión no siempre culmina en un resultado perfectamente funcional. Los mismos procesos que generan potencia e integridad producen estenosis fibrosas, cicatrices hipertróficas, cicatrices queloides, adherencias y otras anormalidades. Si existieran métodos eficaces para controlar forma, tamaño y propiedades físicas de las cicatrices, surgiría una nueva época en su tratamiento. El objetivo de este artículo es revisar la información actual de la fisiopatogenia de la cicatriz hipertrófica posquemadura y la terapéutica actual de la misma.

La cicatrización es un proceso de reparo de un tejido alterado, dando cómo resultado final la formación de un tejido cicatrizal. El término (cicatriz) proviene de la palabra griega (eschara), que significa hogar. En el hogar tenía lugar toda la vida doméstica, y a causa de la reunión de niños alrededor del fuego, las quemaduras que producían cicatrices eran tan frecuentes que el nombre de la causa vino a ser sinónimo del efecto. Gracias al tráfico comercial, la palabra emigró a Roma, y se transformó en "cicatriz", de allí pasó a Francia en forma de la palabra "eschare", que significa el encostramiento que recubre una ulceración. En las islas británicas, la palabra "eschare", se encontró con la palabra sajona "scaur", muy semejante a ella tanto en sonido como en significado. En la Edad Media la palabra "cicatriz" tuvo una significación muy amplia, llegando a abarcar cualquier tipo de mancha blanca en la piel. Actualmente se utiliza el término de cicatriz para referirnos a una secuela después de un daño a la piel. El pro-

TABLA 1
Fisiología de la Cicatrización Normal

FASES DEL PROCESO DE CICATRIZACIÓN NORMAL	
Inflamación aguda	
Proliferación celular	A Fibroblástica B. Angiogénica
Epitelización	
Formación de la matriz extracelular	A. Colágena B. Fibronectina C. Sustancia Fundamental
Remodelación de la colágena	
Contracción de la herida	
Fuerza de la herida	

TABLA 2
Factores que alteran el proceso normal de cicatrización

LOCALES	SISTÉMICOS
Inadecuado aporte nutricional	Inadecuado volumen sanguíneo
Hipoxia tisular	Pérdida de proteínas corporales
Desecación tisular (necrosis)	Inadecuado aporte nutricional
Exudados	Infección sistémica (aumenta catabolismo)
Infección	Respuesta al estrés no controlada
Trauma	

ceso de cicatrización normal ha sido ampliamente estudiado y se ha dividido en fases (Tabla 1), lo que nos ha permitido conocer los factores que alteran el proceso normal de reparación, los cuáles se enlistan en la Tabla 2.

Proceso de cicatrización patológico.

La causa exacta de las cicatrices patológicas aún no se conoce pero ya se han identificado varios factores que predisponen a las mismas (Tabla 3). Uno de estos factores es el tono de la piel, las pieles más oscuras son más propensas a la cicatrización queloidea. La pigmentación de la piel parece ser uno de los factores decisivos, puesto que las zonas con menor índice de melanocitos -la plantar, la palmar y las mucosas- tienen una menor propensión

a la formación de cicatrices patológicas. También existe un mayor riesgo en las regiones ricas de glándulas sebáceas. Otros de los factores que intervienen en la cicatrización patológica, son el trauma (etiología) y la tensión o retracción de la piel, de esta forma el conocer los factores que predisponen a la formación de la cicatriz patológica ha cobrado mucho interés en la última década (1). Se ha tratado de comprender las relaciones celulares y bioquímicas que se llevan a cabo en un proceso de reparación normal y patológica, con la finalidad de tener un buen diagnóstico y una terapia exitosa.

¿Qué es una Cicatriz Hipertrófica?

Las heridas o daños producidos por

TABLA 3
Factores que predisponen a la cicatriz patológica

CICATRIZACIÓN ANORMAL		
	Cicatriz Queloide	Cicatriz Hipertrófica
Genética	Predilección familiar	Menor asociación familiar
Raza	Negros y Orientales	Menor asociación con raza
Sexo	Mujeres más que hombres	Igual en ambos sexos
Edad	Entre 10 y 30 años	A cualquier edad
Bordes	Sobrepasa los bordes originales de la lesión	Se mantiene dentro de los límites de la lesión
Inicio	Tardía post-cirugía	Temprano post-cirugía
Curación Espontánea	No se resuelve con el tiempo	Puede resolverse espontáneamente en períodos menores a un año
Localización	Cara, orejas, tórax	Sin predilección
Etiología	Causa de un proceso inflamatorio crónico con trasfondo genético	Causa de un proceso inflamatorio crónico
Cirugía	Empeora	Mejora

quemaduras en la piel constituyen en la actualidad un problema médico importante y son causa de un incremento de la morbilidad con un gran costo al sistema de salud (2, 3). En el caso de la cicatriz hipertrófica de origen posquemadura, existen dos problemas predominantes como problema de salud en nuestro país, uno es la lesión, es decir las quemaduras y otro problema igualmente importante es la secuela, "la cicatriz hipertrófica".

A la cicatriz hipertrófica (Hsc, hypertrophic scars), se le ha definido como una patología de origen postraumático, que se caracteriza por presentar un daño en la dermis profunda combinado con una alteración en los factores que conllevan a la cicatrización debido a la presencia del proceso inflamatorio crónico. Se sintetizan un exceso de componentes de matriz extracelular (MEC) predominantemente colágena, además de presentar un incremento en la contractilidad, participando diferentes tipos celulares, citocinas, proteasas y otros mediadores tisulares.

En nuestro país hay en un año más de 100,000 pacientes quemados que

requieren atención especializada en hospitalización (Fig. 1). Las quemaduras son una de las lesiones catastróficas más costosas a tratar. Por ejemplo, una quemadura del 30% del área total del cuerpo puede costar hasta 200,000 dólares en costos iniciales de hospitalización y honorarios médicos. Para quemaduras extensas, existen costos adicionales significativos que incluyen costos por readmisión para reconstrucción y rehabilitación del paciente (4).

Por tal razón es necesario entender la fisiopatología de la cicatrización, la cuál se ha tornado más compleja, ya que para su estudio tienen que considerarse estadios de maduración, variaciones histomorfológicas, bioquímicas y moleculares. Por lo que este artículo revisa la información de la fisiopatología de la cicatriz hipertrófica posquemadura y la terapéutica actual de la misma. Se divide en secciones para explicar el papel de cada una de las estirpes celulares que participan en el proceso de cicatrización normal y patológico, así como el de la MEC y finalmente las terapias que se han uti-

lizado para el tratamiento de la cicatriz hipertrófica.

El papel de los fibroblastos

Los fibroblastos son las células más estudiadas en las patologías fibrosantes, son los responsables de la síntesis de colágena y del depósito de matriz extracelular. Aproximadamente 72 horas después de producida la herida, los fibroblastos y capilares se infiltran en el sitio de la herida en respuesta al Factor de Crecimiento derivado de Plaquetas (PDGF) y a el Factor de Crecimiento Transformante β (TGF- β). Una vez en el sitio de la lesión y por estimulación del TGF- β comienzan a sintetizar colágena, este fenómeno se ha evaluado cuantificando los transcritos de la cadena pro- α 1 de la colágena I y de la colágena III observándose un incremento en los mensajeros y en la proteína (5). El papel preponderante del TGF- β en la cicatriz hipertrófica, se ha propuesto por Kopp(6) y colaboradores. Ellos inhibieron la vía de señalización canónica del TGF- β este factor con SMAD 7 (un antagonista) y observaron que al suprimir esta vía se inhibía

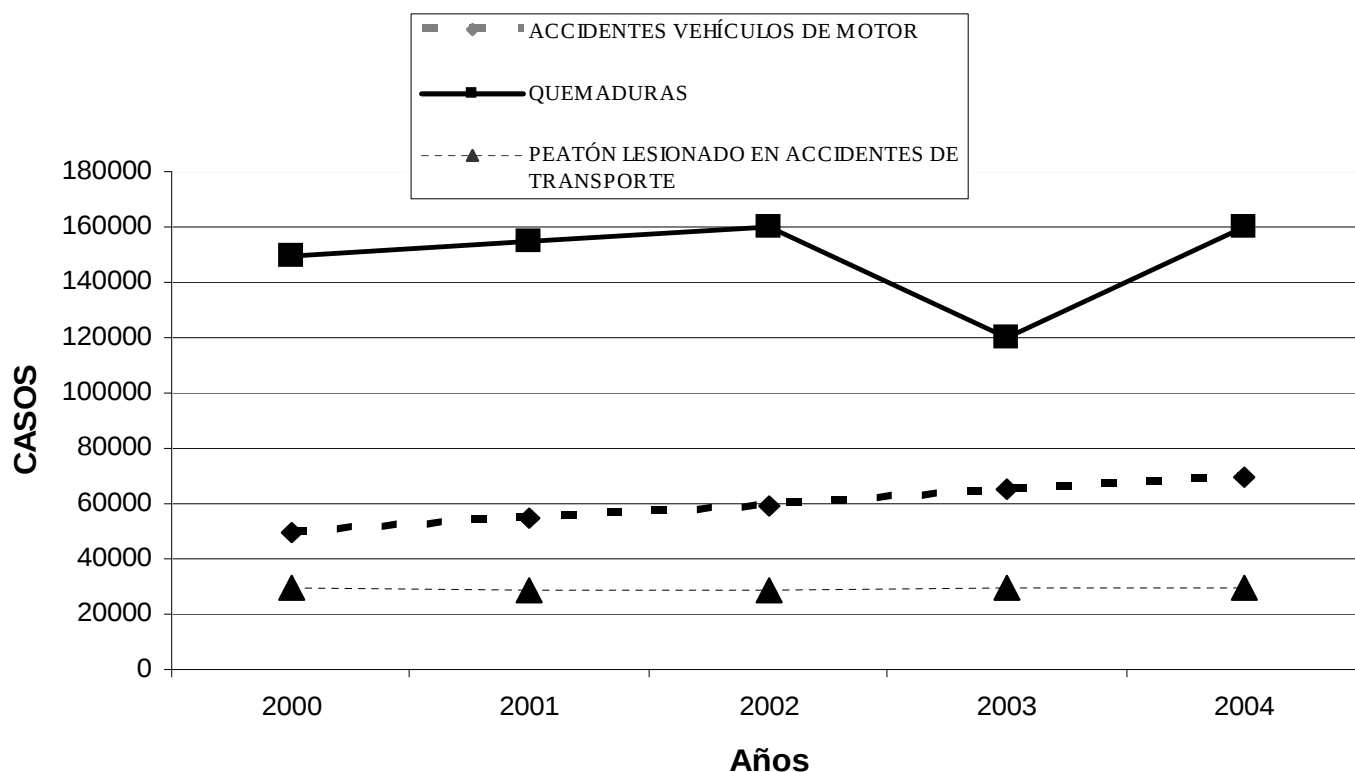


Figura 1. Tendencia de accidentes en México, 2003.

la expresión del mensajero de la cadena $\alpha 1$ de la colágena I y el de la proteína de citoesqueleto actina de músculo liso α (α -SMA, Smooth Muscle Actin) confirmando así su importancia, al desaparecer la fibrosis. Actualmente se conoce que la producción de colágena por los fibroblastos no solo está regulada por TGF- β , sino que otras citocinas como PDGF, Interleucina-1 β (IL-1 β) y el Factor de Crecimiento Fibroblástico 2 (FGF₂) también son fundamentales en el espacio-tiempo que deben expresarse para que se logre una reparación exitosa.

El papel de los miofibroblastos y fibrocitos

Estos tipos celulares intervienen en el proceso de contracción de la cicatriz y la diferenciación de los miofibroblastos es un proceso complejo regulado por citocinas, componentes de matriz extracelular y por la presencia de tensión mecánica. Así se les

ha considerado clave para la remodelación del tejido conjuntivo durante la cicatrización (7). Se ha sugerido que un defecto en la apoptosis de los miofibroblastos puede ser el mecanismo responsable de la formación de Hsc, confirmándose con la cuantificación de niveles bajos de expresión a nivel del mensajero de proteínas antiapoptóticas como Bcl-2 y Bcl-x (8).

Por otro lado, los fibrocitos circulantes, única subpoblación de leucocitos implicados en la cicatrización y derivados de células mononucleares de sangre periférica, descritos en 1994 como la única población celular CD34⁺ que produce colágena, identificados en exudados inflamatorios, sintetizan moléculas de matriz extracelular, como vimentina, colágena I y III, además son células presentadoras de antígenos las cuáles pueden potencialmente regular la respuesta inflamatoria, contribuyendo a la formación de Hsc (9). La regula-

ción de la respuesta inflamatoria puede llevarse a cabo porque los fibrocitos presentan algunos receptores membranales de bajo peso molecular para quimiocinas como CCR3, CCR5, CXCR4, CCR7 y CCR2. O bien al diferenciarse a miofibroblastos e infiltrar áreas de inflamación y tejido dañado, constituyen parte de la respuesta estromal. Los fibrocitos sintetizan numerosas citocinas y contribuyen a la remodelación del tejido porque secretan factores de crecimiento fibrogénicos y angiogénicos como el Factor de Crecimiento Endotelial Vascular, (VEGF), Factor de Crecimiento derivado de Plaquetas A (PDGF-A), Factor Estimulante de Macrófagos (M-CSF), Factor de Crecimiento de Hepatocitos (HGF), Factor Estimulante de Macrófagos-Granulocitos (GM-CSF), Factor de Crecimiento Fibroblástico (b-FGF), Factor de Crecimiento del Tejido Conectivo (CTGF) y metaloproteinasas de matriz (MMPs). También sintetizan

factores proinflamatorios como IL-1- β , TGF- β , quimiocinas y suero amiloide P los cuáles modulan la apariencia y función de los fibrocitos (10). Sin embargo las señales que modulan la circulación de los fibrocitos, así como su proliferación y diferenciación se están comenzando a entender. En las cicatrices, especialmente en los bordes la expresión de CD34⁺ disminuye mientras aumenta la producción de prolina 4 hidroxilasa (enzima necesaria para la producción de colágena madura). Y se piensa que la adquisición de la expresión de la α -SMA es su transición del fenotipo de fibrocito al de miofibroblasto (11), fenotipo que contribuye a la progresión de las patologías fibrosantes (Fig. 2).

El papel de los queratinocitos

La cicatriz hipertrófica se describió convencionalmente como una patología dermal en la cuál la epidermis tenía sólo un papel pasivo. Sin embargo, se han cuantificado las queratinas K6, K16 y la filagrina encontrándose una hiperexpresión tanto de la proteína como del mensajero, así que se ha sugerido que los queratinocitos pre-

sentan una ruta alternativa de diferenciación y que expresan un fenotipo "activado". Aunque la activación de este tipo celular, es un término ambiguo, generalmente utilizado como una característica cuando los queratinocitos son capaces de secretar citocinas y presentar antígenos, tal es el caso de las heridas en estadios tempranos, los queratinocitos "activados" producen factores de crecimiento que influyen a los fibroblastos, células endoteliales y a la respuesta inflamatoria; así mismo esto implicaría interacciones anormales epidermales-mesenquimales. Estudios *in vitro* sugieren que los queratinocitos participan en el desarrollo de la fibrosis, debido a que ejercen una influencia hacia las células dermales por la secreción de citocinas (12) y de metaloproteinasas de matriz (MMPs), tal es el caso de la secreción de la epsilon o MMP-28.

El papel de las células dendríticas epidermales y dermales

Las células dendríticas (CD) son claves para la inmunovigilancia cutánea e iniciar la respuesta inmune innata y

adaptativa. En la piel normal se localizan a dos poblaciones de células dendríticas: las células de Langerhans epidermales caracterizadas por la expresión de Langerina/CD207 y las células dendríticas dermales también llamadas dendrocitos tipo-I, son localizadas en la parte alta de la dermis reticular caracterizadas en humanos por los marcadores DC-SIGN/CD208. En condiciones patológicas, en la epidermis se localiza una población de células epiteliales dendríticas inflamatorias (IDEC) caracterizadas por los marcadores Gránulo de Birbeck-negativo/Langerina. En la dermis en las mismas condiciones patológicas se localizan a las células plasmacitoides que son de origen linfocítico y también se conocen como células productoras de Interferón- α y de Interferón β . La formación de Hsc se ha atribuido a un incremento en el número de células de Langerhans, sin embargo el mecanismo por el cuál hay más células y su papel en Hsc no se ha estudiado. Sin embargo probablemente se deba a la secreción del Factor de Necrosis Tumoral- α (TNF- α) y de IL-1 β por los queratinocitos, estas

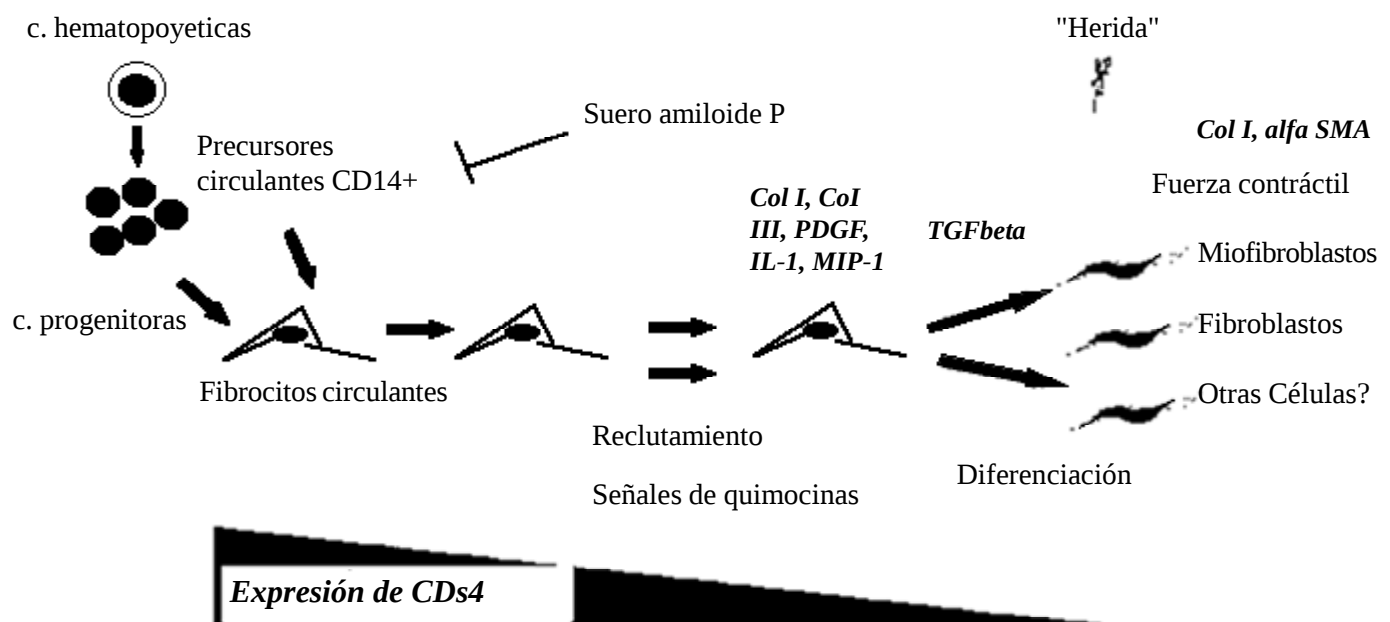


Figura 2. Modelo de la función de los fibrocitos y su diferenciación.

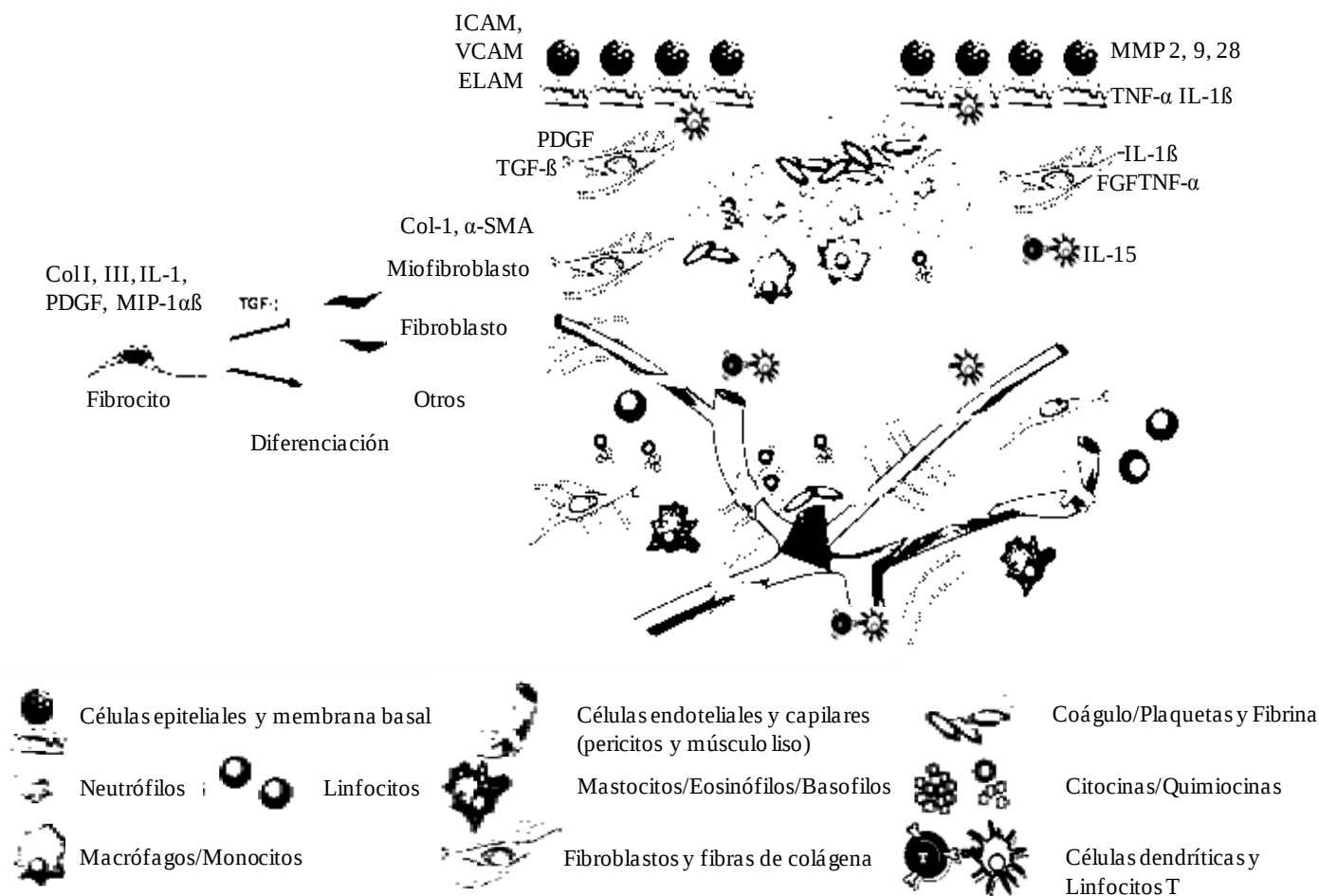


Figura 3. Elementos celulares y citocinas que participan en la cicatriz hipertrófica posquemadura.

citocinas inducen la migración de células de Langerhans afuera de la epidermis (13) migrando hacia dermis en donde probablemente modifiquen señales inflamatorias, como la expresión de las quimiocinas. Por otro lado el papel de las células dendríticas dermales no se conoce en la cicatriz hipertrófica.

El papel de la Matriz Extracelular (MEC)

En las patologías fibrosantes dérmicas se ha estudiado a la MEC, encontrándose que diferentes proteínas como la fibrilina 1 y la elastina (constituyentes de las fibras elásticas presentes en piel) presentan un arreglo diferente cuando se comparan con las fibras elásticas de la piel normal. La colágena también ha sido estudiada

encontrándose que gracias a los enlaces cruzados de piridinolina que presenta esta molécula, se incrementa la expresión del telopéptido LH2b (lisil hidroxilasa) lo que lleva a la formación de más enlaces de piridinolina, proceso que favorece la cicatriz hipertrófica (14). Se sabe que la MEC es un reservorio de factores multifuncionales, que conlleva a una regulación bastante compleja, ya que cuando existe un daño en el tejido conjuntivo, se liberan además de citocinas, péptidos biológicamente activos y su participación es altamente regulada en la MEC. Se ha cuantificado una alta expresión de los mensajeros de fibronectina, tenascina C y una expresión baja de integrina $\alpha 5 \beta 1$ en fibroblastos de Hsc. Así mismo se ha localizado a la angiotensina II (hor-

mona vasopresora) en fibroblastos de Hsc y a sus receptores AT1 y AT2, y la principal función de esta vía es el incremento de la síntesis de ADN en fibroblastos, vía fosforilación de la cinasa de serina treonina llamada AKT y de la fosfoinositol 3 cinasa (PI-3K). A pesar de que los componentes de matriz han sido los más estudiados en la cicatriz hipertrófica aún no se ha podido elucidar del todo un mecanismo por el cual la matriz extracelular sea el mejor blanco terapéutico para tratar a la Hsc, debido a la complejidad de moléculas y de interacciones que se dan en la misma (Fig. 3).

Biología molecular de la Hsc

En los últimos ocho años se ha abordado el estudio de la cicatriz hipertrófica desde el punto de vista

molecular, se ha estudiado por microarreglos y entre los hallazgos mas sobresalientes se han encontrado que genes como α -SMA, tropomiosina (TM30), vimentina, profilina y osteonectina (BM40) estan sobreexpresados, así como genes de citoesqueleto (15). También la MMP-16, la cadena $\alpha 1$ de la colágena I, pleiotropina y trombospondina 4 se encuentran sobreexpresados.

En las publicaciones recientes se han cuantificando los mensajeros de otros genes encontrando que TNF- α , TGF β 1, TGF β 2 y TGF β RI (16) MMP-16, cadena $\alpha 1$ de la colágena I, pleiotrofina, trombospondina, MEK1/2, ERK 1/2 aumentan su expresión conforme la Hsc madura. Por el contrario MKK7 y SAPK son subexpresados (17). Al catalogar todos los genes que participan en la patología de la Hsc se pretende además de estudiar la organización y estructura de cada uno de ellos descubrir su función, los mecanismos implicados en la regulación de la expresión y el modo en que unos genes interaccionan con otros. Las aproximaciones de la genómica permiten el estudio del conjunto de genes, proteínas y metabolitos que participan en Hsc, así como las complicadas redes de interacciones que entre ellos se establecen en el interior de las células, por lo que aún falta ahondar en este campo.

Características de la Hsc

Como ya se mencionó en los párrafos anteriores se considera que los pacientes con Hsc presentan una patología dermal, así que algunas de sus características mas sobresalientes son, que la dermis papilar presenta un mayor número de vasos sanguíneos que la piel normal y están además más dilatados, sin embargo en la dermis reticular no varía el patrón de vascularización. Los microvasos son significativamente mayor en número para Hsc que para la piel normal, esto

puede atribuirse al efecto de la Interleucina 8 (IL-8), al de la proteína monocítica quimiotáctica 1, (MCP1) y a la proteína inflamatoria de macrófagos (MIP-1 α) las cuáles promueven la neovascularización en Hsc. Respecto a la regeneración de las fibras de nervios sensoriales en Hsc se ha observado que son reguladas por la secreción de factores tróficos, particularmente de la epidermis basal y moléculas de matriz, las uniones dermo-epidermales presentan neuritas más largas que las de piel normal. De igual forma los neuropéptidos (proteínas que funcionan como neurotransmisores, neuromoduladores, y neurohormonas) que se secretan al producirse un daño en la piel, inducen la liberación de histamina de los mastocitos, regulan el flujo sanguíneo cutáneo, y participan en la regulación de las glándulas sudoríparas. El antígeno S-100 y el neurofilamento F son buenos marcadores para definir la regeneración nerviosa en cicatriz hipertrófica, ya que esta va cambiando con el tiempo, siendo más conspicua en Hsc. Cuando se incrementa la concentración de sustancia P (neuropéptido) se incrementa el número de nervios y disminuye la actividad de la endopeptidasa y esto da como resultado una exuberante respuesta neuroinflamatoria.

En Hsc no existen glándulas sudoríparas ni folículos pilosos por que generalmente existió un daño dérmico profundo, y por lo tanto la regulación de la temperatura es inadecuada, en este contexto se ha intentado analizar si la regeneración de las glándulas sudoríparas podrían estar involucradas en el proceso de reparación de las cicatrices patológicas. Por lo que se ha utilizado a la queratina 19 (K19) para marcar células madre epidermales y para marcar a la porción secretora de las glándulas, por otro lado la queratina 14 (K14) es utilizada para marcar la porción del

túbulo de la glándula. En la Hsc, los esbozos residuales de la porción de los túbulos de las glándulas sudoríparas están más engrosadas y se ha observado un proceso de regeneración de la porción secretora de estas glándulas a través de las células madre epidermales por lo que es posible considerar que la arquitectura tridimensional de la piel pueda deberse a la posición y regeneración de las glándulas sudoríparas y por lo tanto también estarían interviniendo en el proceso de reparación de las cicatrices. Otro aspecto importante que se ha evaluado en Hsc es el incremento en la pigmentación, ya que se conoce que la hiperpigmentación disminuye la síntesis de vitamina D-3 (anti-inflamatorio) en la piel, por lo que se ha sugerido que la propensión a la inflamación es consecuencia del color de la piel, ya que la elevada expresión de melanina reduce los niveles de la producción de la vitamina D-3. Sin embargo aún falta por evaluar más esta aseveración, finalmente se ha llevado a la Hsc al terreno de la inmunología tratando de explicar que esta patología es asociada a una respuesta sistémica polarizada Th2 que lleva a un incremento de las células T y sus citocinas fibrogénicas Th2 (18). Esto último nos indica que es fundamental entender el proceso inflamatorio crónico para poder tratar la cicatriz hipertrófica y que probablemente por ahí se encuentre la respuesta a las terapias futuras que puedan aplicarse a las patologías cicatrizantes.

Terapias actuales y futuras

Para el tratamiento de la Hsc se han probado terapias tan variadas como la información que existe acerca de esta patología. Las aplicaciones de corticoides intra-lesión se utilizan desde los años 70s y aún en la actualidad no existe una terapia con éxito total, ya que en la mayoría de los casos, los tratamientos resultan caros, incómo-

dos o con efectos colaterales adversos; en el caso de las cicatrices hipertróficas se considera que el tratamiento es politerapéutico. Las terapias más utilizadas son las aplicaciones tópicas de ácido retinoico, de prednisona (forma metabólicamente no activa de la prednisolona), de vitamina A y de sulfadiazina nitrato de plata, la crioterapia, la radioterapia, la cirugía láser, la silicona, las inyecciones intradermales de diferentes compuestos como la colágena-pvp, factor de crecimiento fibroblástico-b, anticuerpos monoclonales anti-TGF, inmunoglobulina intravenosa,

topiramato, hialuronidasa, bleomicina, interferón (19).

La compresión también se ha usado como terapia y en la última década la ingeniería de tejidos ha tomado auge y para la cicatriz hipertrófica se realizan procedimientos quirúrgicos reconstructivos que incluyen transferencia de tejidos autógenos, alógenos y xenógenos así como implantación de materiales aloplásticos de epidermis, dermis y piel completa utilizando substitutos tales como, Mepiform, Integra, Contractubex, entre muchos otros. Uno de los últimos tratamientos de mayor impacto ha sido el 5-Fluorouracil (5-

FU), un análogo de la pirimidina ampliamente usado como quimioterapia para cáncer, 5-FU es capaz de bloquear al TGF- β activo y a su vez la sobreexpresión del gen de la colágena.

Conclusiones

A pesar de tan variada terapéutica no se ha logrado un éxito total en la reparación de las secuelas hipertróficas, lo que deja un amplio campo para la investigación de nuevas estrategias terapéuticas que se puedan extrapolar a otros tipos de patologías fibrosantes, donde el componente predominante sea la inflamación crónica.

REFERENCIAS

- Andrades P, Benítez S, Prado A (2006) Recomendaciones para el manejo de cicatrices hipertróficas y queloides. *Rev. Chilena de Cirugía*. 58(2): 78-88.
- Instituto Nacional de Geografía, Estadística e Informática (2003) Manual de Información Estadística de Salud.
- Asociación Mexicana de Quemaduras (1999) Las quemaduras un problema de salud en México. *Cirugía Plástica*. 9 (1): 4.
- Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Epidemiología. Secretaría de salud. Anuarios de Morbilidad. Dirección General de Epidemiología. 2003.
- Ali-Bahar M, Bauer B, Tredget EE, Ghahary A (2004). Dermal fibroblasts from different layers of human skin are heterogeneous in expression of collagenase and types I and III procollagen mRNA. *Wound Repair Regen*. 12(2): 175-182.
- Kopp J, Preis E, Said H, Hafemann B, Wickert L, Gressner AM, Pallua N, Dooley S (2005) Abrogation of transforming growth factor-beta signaling by SMAD7 inhibits collagen gel contraction of human dermal fibroblasts. *J Biol Chem*. 280(22): 21570-6.
- Desmouliere A, Chaponnier C, Gabbiani G (2005) Tissue repair, contraction, and the myofibroblast. *Wound Repair Regen*. 13(1): 7-12.
- Moulin V, Larochelle S, Langlois C, Thibault I, Lopez-Valle CA, Roy M (2004) Normal skin wound and hypertrophic scar myofibroblasts have differential responses to apoptotic inductors. *J Cell Physiol*. 198(3): 350-358.
- Yang L, Scott PG, Dodd C, Medina A, Jiao H, Shankowsky HA, Ghahary A, Tredget EE (2005) Identification of fibrocytes in postburn hypertrophic scar. *Wound Repair Regen*. 13(4): 398-404.
- Quan TE, Cowper SE, Bucala R (2006) The role of circulating fibrocytes in fibrosis. *Curr Rheumatol Rep*. 8(2): 145-150.
- Buccala R (2006) Fibrocytes: Discovery of a Circulating Connective Tissue Cell Progenitor. Yale University, The School of Medicine, The Anlyan Center.
- Bellemare J, Roberge CJ, Bergeron D, Lopez-Valle CA, Roy M, Moulin VJ (2005) Epidermis promotes dermal fibrosis: role in the pathogenesis of hypertrophic scars. *J Pathol*. 206(1): 1-8.
- Niessen FB, Schalkwijk J, Vos H, Timens W (2004) Hypertrophic scar formation is associated with an increased number of epidermal Langerhans cells. *J Pathol*. 202(1): 121-129.
- Van der Slot AJ, Zuurmond AM, van den Bogaardt AJ, Ulrich MM, Middelkoop E, Boers W, Karel Rondoy H, DeGroot J, Huizinga TW, Bank RA (2004) Increased formation of pyridinoline cross-links due to higher telopeptide lysyl hydroxylase levels is a general fibrotic phenomenon. *Matrix Biol*. 2004 23(4): 251-257.

15. Wu J, Ma B, Yi S, Wang Z, He W, Luo G, Chen X, Wang X, Chen A, Barisoni D (2004) Gene expression of early hypertrophic scar tissue screened by means of cDNA microarrays. *J Trauma*. 57(6): 1276-86.
16. Zhang JL, Lin ZH, Jiang H, Yuan XB, Zhao YZ, Wu JM, Zhu XH, Wu H (2004) The dynamic expression of TNF-alpha mRNA of hypertrophic scars and its roles. *Zhonghua Zheng Xing Wai Ke Za Zhi*. 20(1): 57-9.
17. Chen W, Fu XB, Sun TZ (2004) Gene expression of stress activated protein kinase and its MAPKs in hypertrophic scar. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*. 18(1): 1-3.
18. Tredget EE, Yang L, Delehanty M, Shankowsky H, Scott PG (2006) Polarized Th2 cytokine production in patients with hypertrophic scar following thermal injury. *J Interferon Cytokine Res*. 26(3): 179-89.
19. Aarabi S., Longaker M, Gurtner G (2007) Hypertrophic scar formation following burns and trauma: New approaches to treatment. *Plos Medicine*. 9 (4): e234-1464.

LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL. BASES Y APLICACIONES*

Martha Angélica Quintanar Escorza¹ y José Víctor Calderón Salinas²

RESUMEN

Los organismos han desarrollado sistemas de defensa antioxidante para hacer frente a la atmósfera oxidativa del planeta y al metabolismo oxidativo que permitió la evolución de la vida. Lo que permitió alcanzar eficientes sistemas amortiguadores antioxidantes que mantienen la capacidad de reducir a los radicales libres, las especies reactivas y los oxidantes endógenos y exógenos. Estos sistemas amortiguadores antioxidantes desembocan, se regeneran y se cargan de hidrógenos y electrones a través del sistema de glutatión-NADPH y de la reducción de NADP^+ a partir del metabolismo. De tal forma las enzimas antioxidantes, los cosustratos antioxidantes y los antioxidantes endógenos y exógenos generan barreras para conducir la reducción de los oxidantes y disminuir así su potencia oxidativa, con lo que se hace frente a la variedad de diversas especies y formas oxidativas capaces de agredir al organismo. Los sistemas antioxidantes se pueden medir de diferentes formas específicas y el sistema amortiguador antioxidante global se puede evaluar con las pruebas de capacidad antioxidante total. La mejora tecnológica e interpretativa de estos métodos ha permitido profundizar en el conocimiento básico de las formas de defensa de la célula, ha multiplicado los estudios de capacidad antioxidante desde sustancias puras hasta organismos complejos, sirviendo incluso para métodos diagnósticos y de evaluación de la efectividad de los tratamientos.

PALABRAS CLAVE: Radical libre, daño oxidativo, antioxidantes, oxidación, redox, estrés oxidativo.

ABSTRACT

Organisms have developed systems antioxidant defense systems to deal with the planet oxidative atmosphere and with the oxidative metabolism. These systems allowed evolution of life in this antioxidant defense to confront to the atmosphere oxidative of the planet and to the oxidative metabolism that allowed evolution of life in that atmosphere, reaching efficient buffer antioxidant systems that conserve capacity to reduce free radicals, reactive species and endogenous and exogenous oxidants. These buffer antioxidant systems lead into the system of glutatión-NADPH and with NADP^+ reduction from the metabolism, where regenerate and load hydrogens and electrons. Of such a form antioxidant enzymes, antioxidant cosubstrates and antioxidant endogenous and exogenous generate barriers to take the reduction of the oxidants and to diminish this way their oxidative power, with what there are confront the varieties of diverse species and oxidative forms capable of attacking to the organism. The antioxidant systems can measure up of different specific forms and the global buffer antioxidant system can measure up to the tests of total antioxidant capacity; the technical and interpretive improvement of these technologies allowed to profounder into the basic knowledge of the forms of defense of the cell, it has multiplied the studies of antioxidant capacity from pure substances up to complex organisms, serving even for diagnostic methods and evaluation of the efficiency of treatments.

KEY WORDS: Free radical, oxidative damage, antioxidants, oxidation, redox, oxidative stress.

La oxidación y los agentes oxidantes de hidrógenos o la ganancia de oxígeno en una molécula. La reducción de un compuesto es exactamente lo contrario; es decir, la ganancia de electrones, de hidrógenos o la pérdida de oxígeno. En tal sentido, un agente

Químicamente la oxidación de un compuesto es la pérdida de electrones,

*Recibido: 22 de enero de 2009 Aceptado: 11 de agosto de 2009

¹Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad Juárez del Estado de Durango, Av. Universidad y Fanny Anitua S/N, Durango, Dgo. Mex. C.P. 34000. ²Departamento de Bioquímica, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados. Av. IPN 2508, Zacatenco, Delegación Gustavo A. Madero, AP 14-740 México 07000 D.F. Tel (01-55) 5747-3955. Correo E: aquintanar69@hotmail.com, jcalder@cinvestav.mx

oxidante es una molécula que se reduce al reaccionar con la molécula a la cual oxida. Este par oxido-reductor es necesario químicamente y esencial para entender la biología de las óxido-reducciones en el organismo.

Las macromoléculas de importancia biológica (proteínas, ácidos nucleicos, carbohidratos y lípidos) son moléculas nucleofílicas que tienen electrones susceptibles de compartir, es decir, tienen electrones en orbitales superficiales que pueden ser capturados (oxidación) o compartidos en una reacción nucleofílica para formar compuestos o aductos.

Los oxidantes son compuestos electrofílicos especies que tienen avidez por los electrones y que tienen afinidad para reaccionar con macromoléculas nucleofílicas, muchas de ellas de la mayor importancia biológica (1).

Las especies reactivas de oxígeno (ERO) y nitrógeno (ERN), son un subgrupo de moléculas oxidantes, que como su nombre lo indica son altamente reactivas. Otro subgrupo son los radicales libres que no solo tienen alta reactividad y capacidad oxidativa, sino que adicionalmente pueden generar reacciones oxidativas en cadena. Los radicales libres en particular y las especies reactivas en general, participan en algunas funciones biológicas (proliferación celular, diferenciación celular, fagocitosis, metabolismo, reacciones inflamatorias) y se encuentran involucradas en diversas patologías (2).

El ambiente oxidativo

La mayoría de las células y organismos de nuestro planeta se enfrentan a ambientes con agresores oxidativos. Todo inicia con el empleo del oxígeno como la molécula oxidante final del metabolismo aeróbico y oxidativo, el cual realizan la mayoría de los organismos del planeta. Ello hace que las células mantengan una alta concentra-

ción de productos oxidantes del metabolismo, especies reactivas de oxígeno y en muchas ocasiones radicales libres. Numerosas reacciones en las células implican oxidaciones, en principio todas las degradaciones para obtener energía y muchas reacciones del metabolismo intermedio (3).

De igual forma, múltiples xenobióticos ejercen sus efectos, generalmente tóxicos, sobre la célula por procesos oxidativos inducidos por la propia molécula xenobiótica o por el metabolismo para su biotransformación.

Este tipo de ambiente hace necesario que las células mantengan sistemas de amortiguamiento reductor, para poder aprovechar los beneficios del metabolismo oxidativo y a su vez limitar al máximo los daños severos (4).

Los radicales libres

La mayor parte de los compuestos químicos de importancia biológica están formados por átomos unidos por enlaces covalentes, en estos enlaces dos átomos comparten un par de electrones en un orbital molecular y cada electrón muestra una rotación o giro opuesto a su par. En las células se llevan a cabo reacciones químicas que rompen estos enlaces de manera heterolítica, haciendo que una de las partes conserve dos electrones y la otra tenga deficiencia de dos electrones, lo cual genera compuestos estables nucleofílicos o electrofílicos, respectivamente, que son los conocidos aniones y cationes.

Sin embargo, algunas reacciones químicas, las radiaciones electromagnéticas y otros factores, pueden romper estos enlaces de la forma llamada homolítica, proceso después del cual cada parte conserva un solo electrón que estará desapareado, generándose así las especies químicas llamadas radicales libres.

En forma general, un radical libre es un átomo o molécula que tiene uno o más electrones desapareados en sus

orbitales externos y es capaz de tener una existencia independiente; sin embargo, es muy reactivo ya que tiende a reducirse, es decir, sustrae un electrón de átomos o moléculas estables, a las cuales oxida, con el fin de alcanzar su propia estabilidad. Una vez que el radical libre ha conseguido el electrón que necesita para aparear a su electrón libre, la molécula estable que pierde el electrón se oxida y deja a otro electrón desapareado, lo que la convierte a su vez en un radical libre, iniciándose y después propagándose de la misma manera, generando así una reacción en cadena (5).

Tipos de radicales libres

Los radicales libres de importancia biológica pueden clasificarse como:

1.- Especies reactivas de oxígeno (ERO). Las principales son el oxígeno molecular (O_2), el ozono (O_3) y el oxígeno en singulete (O_2^1), así como las especies de oxígeno que están parcialmente reducidas; esto es, el anión superóxido (O_2^-) el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), hidroperóxido (HO_2^*) y el radical hidroxilo ($\cdot OH$). Estas especies son producto de la ruptura o de la excitación del O_2 y son más reactivos que el O_2 en su estado basal. El peróxido de hidrógeno, no es un radical libre pero está estrechamente relacionado con la producción de radicales porque es el principal precursor del radical hidroxilo. Estas ERO son moléculas altamente reactivas que atacan constantemente al organismo mediante reacciones bioquímicas de oxido-reducción, que ocurren como parte normal del metabolismo celular o por factores patológicos.

2.- Metales de transición. Los elementos del primer periodo de la serie "d" de la tabla periódica (Fe, Mn, Co, Ni y Cu) pertenecen a los llamados metales de transición, tienen la característica de llegar a ser estables por sí mismos sin necesidad de reaccionar

con otro elemento, esto es, cuando a su último nivel de energía le faltan electrones para estar completo los utiliza de los niveles o subniveles internos, con lo cual logra su estabilidad, la falta de electrones en el nivel de donde los transfirió se compensa con otros electrones de otro nivel o subnivel, y así sucesivamente: a este fenómeno se le llama transición electrónica. La mayoría de los metales de transición tienen electrones desapareados y precisamente gracias a esta transición pueden existir en forma de radical libre.

3.- Otros radicales libres. Entre los que se encuentran los radicales libres de nitrógeno; tales como, el óxido nítrico ($\text{NO}^\bullet$) y el dióxido nítrico ($\text{NO}_2^\bullet$). El $\text{NO}^\bullet$ es un radical muy reactivo y de importancia fisiológica puede oxidar y dañar, pero es esencial en funciones biológicas complejas como son la neurotransmisión y neuroregulación del sistema nervioso, así como en procesos de agregación plaquetaria y coagulación sanguínea, con el O_2 genera $\text{NO}_2^\bullet$ y con el $\text{O}_2^\bullet$ forma peroxinitrito ($\text{ONOO}^\bullet$). Este tipo de ERN son capaces de generar daño oxidativo y muerte celular. Existen otros radicales libres que tienen diferente naturaleza como el ión hipoclorito ($\text{ClO}^\bullet$) y el radical triclorometilo ($\text{CCl}_3^\bullet$) este último producido durante el metabolismo del CCl_4 por el citocromo P450.

La reactividad química de los diferentes tipos de radicales libres es variable pero siempre elevada y de baja especificidad. La vida media biológica del radical libre es de no más de microsegundos, ya que puede reaccionar rápidamente con todo lo que esté a su alrededor, pudiendo provocar un gran daño a macromoléculas y a estructuras supramoleculares como las membranas (6). Diferentes radicales y especies reactivas tienen diferentes vidas medias, siempre muy bajas, pero algunas de ellas suficientes para per-

mitir que algunas moléculas puedan difundir y actuar en orgánulos o células vecinas, tal es el caso del H_2O_2 y del $\text{NO}^\bullet$.

Daño inducido por radicales libres

Los radicales libres producidos en cantidades moderadas en los organismos pueden ser neutralizados por el propio sistema. Ante un determinado insulto oxidativo, los organismos suelen adaptarse rápidamente. En general, una agresión oxidante de baja intensidad hace que una célula pueda resistir posteriormente condiciones más oxidantes.

Sin embargo, las ERO que se producen y escapan a los sistemas de defensa, producen continuamente irremediables daños a los carbohidratos, al ADN, a las proteínas y a los lípidos que alcanzan. Las consecuencias de las reacciones de los radicales libres con los diferentes compuestos celulares pueden ser muy variadas, pero siempre de importancia biológica y con consecuencias irremediables a corto, mediano o largo plazo.

a) Daño al ADN. Los radicales libres pueden causar entrecruzamiento de proteínas-ADN, intercambio de cromátidas hermanas, daño a la estructura de la desoxirribosa-fosfato, oxidación de las bases nitrogenadas, conversión de bases (la desaminación de la citosina en uracilo y de la 5-metilcitosina en timidina), aperturas de anillos, liberación de bases, rompimiento de cadenas (una o dos hebras). El $\text{OH}^\bullet$ puede atacar tanto las purinas como las pirimidinas; el $\text{O}_2^\bullet$ es más selectivo y generalmente produce sólo aductos de guanina, sobre todo 8-hidroxiguanina (7). Debido al mayor ambiente oxidativo de la mitocondria, el ADN mitocondrial generalmente presenta un mayor número de modificaciones que el ADN nuclear. Los radicales libres y en general las agresiones oxidativas modi-

fican las bases nitrogenadas, lo que induce mutaciones y carcinogénesis, ya sea por la pérdida de expresión o por la síntesis de una proteína alterada.

b) Daño a las proteínas. Las ERO pueden inducir en el extremo la fragmentación de proteínas, pero además existen una serie de alteraciones que pueden modificar notablemente su función, modificando con ello el metabolismo, la estructura, el transporte, los receptores, las proteínas reguladoras y los inmunorreguladores, entre otros. Los radicales libres de oxígeno, pueden reaccionar directamente con el ligando metálico de muchas metaloproteínas. Debido a la reactividad de las ERO con las moléculas insaturadas o residuos de proteínas que contienen azufre, además de aminoácidos tales como, triptofano, tirosina, fenilalanina, histidina, metionina sufren oxidaciones que provocan entrecruzamientos y fenómenos de agregación; en el caso de los residuos de cisteína estos fenómenos se ven favorecidos por la formación de puentes disulfuro intra e intermoleculares. Mientras que en los aminoácidos prolina, arginina y lisina, las especies reactivas de oxígeno pueden generar derivados de tipo carbonilo. El $\text{OH}^\bullet$ convierte a la fenilalanina en o-tirosina y el $\text{NO}^\bullet$ transforma la tirosina en nitrotirosina. El H_2O_2 modifica los grupos sulfhidrilos de algunas cisteínas, de manera que se pueden formar ácidos sulfénicos, sulfínicos y sulfónicos.

c) Daño a los lípidos. La oxidación de los lípidos membranales provoca pérdida de la permeabilidad, la fluidez y la integridad de las membranas (la plasmática y de los orgánulos celulares). Los ácidos grasos polinsaturados de las membranas celulares y las lipoproteínas son particularmente susceptibles al ataque del radical hidroxilo $\text{OH}^\bullet$, del oxígeno singulete ($\text{O}_2^\bullet$) y del hidroperoxilo ($\text{HO}_2^\bullet$). Con

esta reacción se forma un radical lipídico que después de un rearrreglo molecular (dieno conjugado), puede reaccionar con el oxígeno para originar el radical peroxilo ($R-OO\cdot$). Este a su vez puede reaccionar con otros ácidos grasos de la membrana, formando otros radicales lipídicos, transformándose el mismo en hidroperóxido ($R-OOH$). El hidroperóxido, en presencia de varios complejos metálicos, se puede descomponer en más radicales, incluyendo entre ellos al $\cdot OH$, lo que provoca un fenómeno de expansión del daño y propagación de la peroxidación.

En ausencia de iones metálicos los hidroperóxidos se pueden acumular en la membrana y con esto alterar su función. También se pueden transformar en hidrocarburos volátiles, alcoholes o aldehídos (malondialdehído, entre otros), los cuales pueden difundir lejos del lugar donde se originaron, ocasionando daños a otras macromoléculas. A este fenómeno se le llama lipoperoxidación y, en ausencia de algún proceso que la inhiba, puede provocar la rápida destrucción de la estructura lipídica de las membranas. Dentro del proceso de la lipoperoxidación, los radicales que se forman pueden causar también daños a las proteínas membranales, inactivando receptores o enzimas unidas a las membranas.

d) Daño a los carbohidratos. Los carbohidratos son dañados por los radicales libres en menor proporción que otras moléculas. Azúcares tales como glucosa, manitol o ciertos desoxiazúcares pueden reaccionar con el radical hidroxilo para producir sustancias reactivas. Así mismo, los polisacáridos pueden sufrir el ataque de los radicales libres, en este caso, fragmentándose en unidades más sencillas como en el caso de la despolimerización del ácido hialurónico (1, 5).

Mecanismos de defensa antioxidante

Para evitar que se desborde el insulto oxidativo, las células y los organismos aeróbicos requieren generar y mantener defensas antioxidantes de manera óptima e incrementarlas acorde al tamaño de la agresión.

Los mecanismos homeostáticos antioxidantes con los que el organismo enfrenta el daño oxidativo son específicos, afines, numerosos y diversos; reflejando la necesidad de hacer frente a la multiplicidad de formas de radicales libres y especies reactivas; también son numerosos los compartimientos donde actúan en el organismo y en las células.

Los mecanismos antioxidantes se pueden clasificar de diversas formas, la siguiente se basa en las líneas de defensa en el organismo:

a) Macromoléculas que acomplejan especies reactivas y evitan su acción. Por ejemplo, proteínas que acumulan o transportan metales de transición, como la transferrina y la ceruloplasmina o como el oxígeno, la hemoglobina y la mioglobina.

b) Enzimas antioxidantes con gran afinidad para catalizar con altas velocidades la reacción de reducción parcial de una especie reactiva. Por ejemplo: la superóxido dismutasa (SOD) cataliza la dismutación del $O_2^{\cdot -}$ a H_2O_2 ; la glutatión peroxidasa (GPx) que es una enzima dependiente de selenio y cataliza la reducción del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) o lipoperóxidos ($L-OOH$); la glutatión sulfhidril transferasa (GST) que cataliza el ataque nucleofílico del cosustrato GSH sobre el centro electrófilo de un gran número de oxidantes y la catalasa (CAT) que reduce el H_2O_2 a H_2O (8).

c) Cosustratos antioxidantes, son empleados por las enzimas para poder reducir parcialmente a los radicales libres y las especies reactivas. Por

ejemplo; el glutatión y el NADPH. El glutatión es un tripéptido (γ -glutamil-cisteinil-glicina) con gran facilidad para ceder electrones (muy nucleofílico) debido a su grupo sulfhidrilo ($-SH$) y su potencial redox; una vez que queda oxidado se puede regenerar gracias a la enzima glutatión reductasa (GR) que lo reduce con la oxidación de NADPH. El NADPH tiene un potencial redox muy negativo y por ende es un importante donador de electrones e hidrógenos, con lo que puede pasar a $NADP^+$ que en su forma oxidada diversas enzimas lo emplean como cosustrato (9).

d) Enzimas que regeneran sustratos o cosustratos antioxidantes. Por ejemplo, las enzimas que regeneran al glutatión reducido, la vitamina E y el NADPH. El glutatión se mantiene casi todo en forma reducida principalmente a través de glutatión reductasa (GR), una flavoenzima que gracias a la oxidación del NADPH cataliza la reducción del glutatión oxidado (GSSG) a glutatión reducido (GSH). La vitamina E al actuar como antioxidante se oxida a tocoferilquinona, para continuar su trabajo antioxidante se requiere que se reduzca nuevamente a vitamina E, tal reducción la pueden llevar a cabo el ascorbato (vitamina C) o el glutatión con la catálisis de las enzimas tocoferilquinona reductasa o una GPx, respectivamente. El ascorbato se oxida a deshidroascorbato y se puede reducir a ascorbato con NADPH o con GSH por enzimas tales como las deshidroascorbato reductasa (DAR) o por la glutatión peroxidasa (GPx). El NADPH se regenera principalmente a través de la vía de las pentosas a partir del $NADP^+$ por acción de la deshidrogenasa de la glucosa-6-P y la deshidrogenasa de gluconato-6-P; sin embargo, en algunas células la enzima málica/NADP⁺ (MDP) que oxida malato a piruvato puede contribuir a la formación de

NADPH o bien obtenerse a partir de la isocitrato deshidrogenasa citosólica (IDPC) dependiente de NADP^+ que cataliza la reacción de isocitrato a α -cetoglutarato.

e) Antioxidantes endógenos. Los antioxidantes son moléculas nucleofílicas con gran afinidad y que se comportan como compuestos muy susceptibles para que los oxiden las especies reactivas (electrofílicas); es decir, ofrecen electrones a las especies reactivas para evitar que estas ataquen a las macromoléculas nucleofílicas necesarias para la función y estructura celular (proteínas, lípidos, carbohidratos y ácidos nucleicos). Una vez que los radicales libres reaccionan con los antioxidantes se reducen parcialmente o se unen en forma de aductos, reduciendo su reactividad y oxidando al antioxidante. Ejemplos de estos antioxidantes en los organismos son: el glutatión, el NADPH, la albúmina, el ácido úrico, la coenzima Q, la bilirrubina y la melatonina (9).

f) Antioxidantes exógenos. Son antioxidantes que provienen de la dieta, tales como la vitamina E (α -tocoferol), la vitamina C (ácido ascórbico), el β -caroteno (provitamina A), el cobre, el selenio, el zinc, el manganeso, los polifenoles, los licopenos, los ácidos egálicos, los flavonoides, la quercitina, la hespiridina, las catequinas y los taninos (10, 11).

g) Sistemas de reparación. Son sistemas que tratan de recuperar la función de las macromoléculas dañadas, reparar el daño establecido o destruir la macromolécula que pudiera causar daño a la economía celular. Hay mecanismos de reparación específicos que sustituyen las bases mal apareadas, oxidadas, desaminadas o que añaden la base faltante y otros que

degradan un tramo de nucleótidos en una hebra alrededor de la región alterada, posteriormente una polimerasa de ADN y una ligasa de ADN reparan el tramo.

Los enlaces tiol (sulfhidrilo) de las proteínas pueden ser nuevamente reducidos por la enzima tioredutasa (TR) empleando glutatión como donador de electrones y regulando sistemas efectores y de balances oxidorreductores como señales intracelulares y como moléculas efectoras. La enzima metionina sulfóxido reductasa, reduce los sulfóxidos de metionina de las proteínas dañadas, en una reacción dependiente del NADPH.

Los daños producidos por radicales libres en términos generales marcan las proteínas para su degradación. El reconocimiento de los sitios oxidados o halogenados o bien la exposición de regiones hidrofóbicas determinan la ubiquitinación de las proteínas y su degradación en el proteosoma. En el caso de los lipoperóxidos se pueden reducir mediante GPx de fosfolípidos o son eliminados a través de las fosfolipasas como la fosfolipasa A2, que aumenta su actividad durante la agresión oxidativa.

El uso extensivo de sistemas de reparación o el intenso daño al ADN puede inducir el proceso de apoptosis, que visto de esta manera sería la muerte por suicidio cuando la reparación es imposible o el daño fue extensivo, protegiendo al órgano y al organismo de daños locales y sistémicos, incluyendo el desarrollo de células cancerosas (12).

Sistema conjunto de protección antioxidante

En la figura 1 se presenta, con fines didácticos, una propuesta de acción conjunta de la función de los sistemas antioxidantes antes enumerados. En general, el diseño celular antioxidante coloca a las moléculas que secuestran

a moléculas oxidantes para evitar su acción en los sitios incorrectos o con altas concentraciones y que solo ejerzan su acción oxidante en el sitio y reacción necesaria. El sistema de enzimas antioxidantes, se encuentra en los sitios donde se producen los oxidantes (orgánulos o estructuras supramoleculares), con la finalidad de reducirlos parcialmente y con ello disminuir o anular la capacidad electrofílica de los oxidantes. Para poder realizar la reducción de los oxidantes se requiere tener un par reductor que se oxide, estos son los cosustratos antioxidantes, tales como el glutatión y el NADPH. Otro juego de enzimas se encarga de la regeneración los cosustratos de las enzimas antioxidantes y de algunos antioxidantes, lo que permite mantener la capacidad de acción de las enzimas y el poder reductor antioxidante de la célula. La otra línea de defensa son los antioxidantes endógenos y los exógenos, los cuales ofrecen electrones con gran afinidad para los oxidantes y que estos reaccionen con el antioxidante en lugar de que reaccionen y oxiden a las macromoléculas. Finalmente, cuando los anteriores sistemas no fueron suficientes y hay daño a macromoléculas se inicia un complejo sistema de reparación, que puede limitar y eventualmente reparar parcialmente el daño o enviar la macromolécula a destrucción y de ser muy abundante el daño, someter la célula a apoptosis; tratando de evitar la carcinogénesis y un mayor daño al órgano o al organismo (12, 13). Todos estos mecanismos y respuestas condicionan el estrés oxidativo inducido por el insulto oxidativo y la calidad y cantidad de ambos determina el daño oxidativo resultante (Fig. 1).

Sistema amortiguador antioxidante

Todos los sistemas antioxidantes se encuentran enlazados en un sistema amortiguador celular, donde se suman

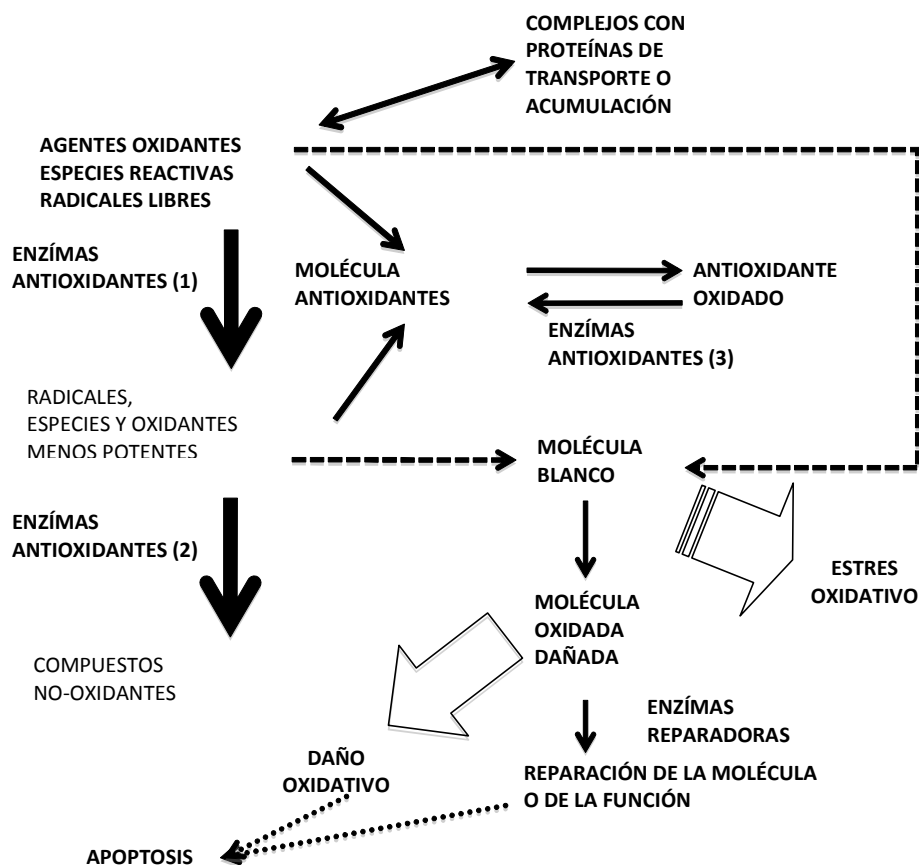


Figura 1. Sistemas antioxidantes en el estrés oxidativo. El esquema muestra los complejos de transporte o acumulación de oxidantes, la interacción con moléculas antioxidantes y los 3 tipos de enzimas antioxidantes. Las tipo 1 reducen parcialmente a los agentes oxidantes, generando oxidantes menos potentes (por ejemplo: superóxido dismutasa). Las tipo 2 reducen a los oxidantes a compuestos no oxidantes (por ejemplo: catalasa). Las tipo 3 son las enzimas encargadas de reducir nuevamente (regenerar) a los antioxidantes que fueron oxidados para reducir a los oxidantes (por ejemplo: glutatión reductasa). A pesar de las defensas las macromoléculas pueden verse afectadas por la oxidación, esto produce daño oxidativo y requiere de ser reparado por las enzimas correspondientes (por ejemplo: polimerasas). Si la reparación falla o el daño es muy extenso se puede generar apoptosis.

y colaboran entre sí, para hacer frente a cualquier agresión oxidativa en la célula y el organismo. Un esquema de la interacción de estos sistemas se presenta en la figura 2. Los sistemas antioxidantes integrados en un sistema amortiguador garantizan hacer frente a cualquier agresor oxidativo y no agotar un solo sistema antioxidante, sino compartir y combinar los efectos; así, los cambios de un antioxidante se compensa con los de otros. Dado que los antioxidantes actúan básicamente reduciendo las especies reactivas y a los oxidantes en general, todos los sistemas antioxidantes desembocan en la

oxidación de GSH y NADPH, este último esencial para reducir nuevamente al glutatión oxidado, por lo que los sistemas que reducen al NADP⁺ (regeneran al NADPH) resultan de vital importancia para mantener el flujo de electrones e hidrógenos en todo el sistema amortiguador y de esta forma estar preparado para mantener el proceso antioxidante preparado para el siguiente insulto oxidativo.

En esta figura se puede observar que en el centro del sistema amortiguador antioxidante se encuentra la reducción del NADP⁺ a partir de las enzimas glucosa-6-P deshidrogenasa,

la gluconato-6-P deshidrogenasa y las enzimas malato e isocitrato deshidrogenasas citosólicas dependientes de NADP⁺.

La vitamina E se integra al sistema amortiguador al regenerarse con electrones del ascorbato y de GSH y NADPH por medio de las enzimas GST o de la DAR.

Otros agresores oxidativos pueden desembocar en radicales O₂[•] o [•]OH, los primeros serán convertidos en H₂O₂ por la SOD y los segundos en agua por la GPx empleando GSH que se oxida a GSSG y que será nuevamente reducido con la glutatión reductasa gracias a los electrones del NADPH. Por su parte el H₂O₂ se transformará en H₂O gracias a la acción de la CAT o de una peroxidasa.

El estado redox de las proteínas, es decir su estado de oxido reducción, es un indicador del estado redox de la célula y se emplea como un sistema de transducción, señalización y efector de respuestas intracelulares; este estado redox de las proteínas es modulado directamente con glutatión reducido e indirectamente con NADPH (13).

El estrés oxidativo

En las células y en los organismos en condiciones normales se mantiene un balance entre la producción de radicales libres y especies reactivas con los sistemas antioxidantes; de manera tal que la toxicidad por oxidación es limitada, aún este limitado daño es parcialmente responsable del envejecimiento natural de las células y los organismos.

Sin embargo, se considera que la agresión oxidativa alcanza niveles patológicos cuando se rompe el balance entre ella y la eficiencia de los sistemas amortiguadores antioxidantes; lo cual se puede producir por un déficit de antioxidantes o por un incremento en la producción de las especies reactivas. De igual manera cuando se reduce la agresión oxidativa, se redu-

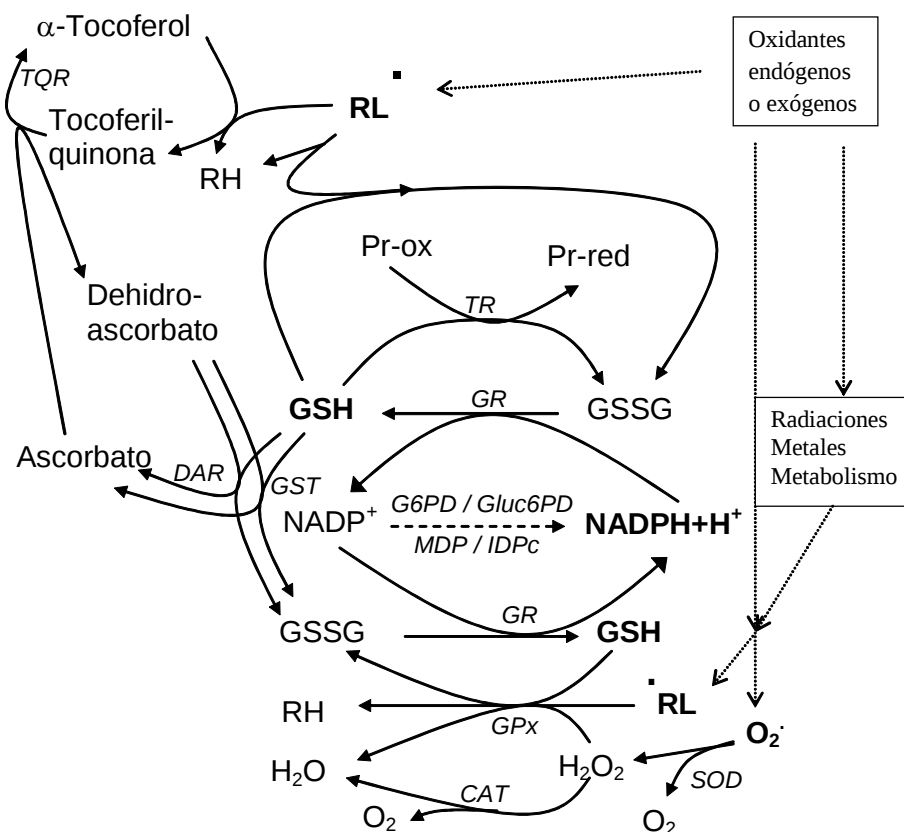


Figura 2. Sistema amortiguador global de antioxidantes. Radicales libres (RL[•]), radical reducido (RH), glutatión reducido (GSH), glutatión oxidado (GSSG), proteínas oxidadas (Pr-Ox), proteínas reducidas (Pr-red), radical superóxido O₂^{•-}, protón (H⁺), fosfato de nicotinamida-adenina dinucleotido reducido (NADPH), fosfato de nicotinamida-adenina dinucleotido oxidado (NADP⁺). Las enzimas: glutatión peroxidasa (GPx), tocoferilquinona reductasa (TQR), deshidroascorbato reductasa (DAR), tiolreductasa (TR), glutatión transferasa (GST), catalasa (CAT), glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD); gluconato 6 fosfato deshidrogenasa (Gluc6PD), glutatión reductasa (GR), superóxido dismutasa (SOD), isocitrato deshidrogenasa citosólica dependiente de NADP⁺ (IDPc) y malato deshidrogenasa dependiente de NADP⁺ (MDP).

ce la eficiencia total del sistema amortiguador antioxidante, evitando así gastos energéticos excesivos y una condición reductora muy elevada en la célula que comprometa las acciones oxidantes de importancia para el funcionamiento celular.

La respuesta de la célula o el organismo a la agresión oxidativa implica no sólo cambios cinéticos y moleculares de enzimas, cosustratos, cofactores y moléculas antioxidantes, sino también el encendido de genes y los cambios de la expresión de proteínas, todo este fenómeno se conoce como estrés oxidativo.

El estrés oxidativo al que se somete una célula o el organismo puede ser eficiente y limitar el daño o ser ineficiente y no poder evitar el incremento del daño, lo cual puede depender de la intensidad del insulto o de la falta de elementos de respuesta en los sistemas antioxidantes (1).

La capacidad antioxidante total

El sistema amortiguador antioxidante puede ser evaluado indirectamente como una capacidad antioxidante total. Este parámetro puede ofrecer una idea de cómo se encuentra el conjunto de la respuesta antioxidante ante

cada agresor oxidativo en cada sistema.

La evaluación depende del fluido, tejido o célula que se pretenda estudiar, ya que cada uno de los ambientes tiene diferentes sistemas antioxidantes y una conjunción o integración diferente. Así mismo, el tipo de sistema antioxidante predominante es heterogéneo y se debe de considerar para saber efectivamente que se está evaluando.

Las técnicas desarrolladas para medir la capacidad antioxidante total de las muestras biológicas valoran la habilidad de los compuestos antioxidantes (donantes de un hidrógeno o un electrón) presentes en el fluido o célula, para reducir las especies oxidantes introducidas (iniciador) en el sistema de ensayo, por lo que son, en general, clasificados como métodos de inhibición directos o indirectos del poder oxidante de una molécula estándar determinada que es el iniciador.

En el plasma, la capacidad plasmática antioxidante total depende preferentemente de la capacidad y cantidad de albúmina y de ácido úrico. Cuando se realiza en sangre total, la capacidad sanguínea antioxidante total, evalúa adicionalmente enzimas antioxidantes, glutatión y NADPH. La capacidad antioxidante total del eritrocito evalúa los sistemas eritrocitarios y no los plasmáticos.

En las células se evalúa predominantemente los mecanismos antioxidantes enzimáticos, glutatión, NADPH y moléculas antioxidantes endógenas y exógenas; pero dependiendo de la célula y los orgánulos predominantes se podrá tener una participación mayoritaria de cierta actividad enzimática o de antioxidantes intracelulares.

En orina, la capacidad urinaria antioxidante total se evalúa midiendo la distribución y excreción de antioxidantes hidrosolubles endógenos y

exógenos y pueden dar un reflejo del consumo o exceso de tales antioxidantes.

Es posible medir la capacidad antioxidante total en cualquier célula o fluido (líquido cefalorraquídeo, articular, saliva, etc.) y cada vez hay más datos comparativos para entender sus significados y los elementos que reflejan estos resultados.

Con las consideraciones descritas se puede indicar que la evaluación de la capacidad antioxidante total es un parámetro que puede ser útil desde el punto de vista diagnóstico. Sin embargo, otras consideraciones deben de realizarse para poder aclarar su posible valor en este sentido.

Evaluación de los procesos de oxidación y de los sistemas antioxidantes

El daño oxidativo. La oxidación de ácidos nucleicos se puede evaluar con ensayos cometa (electroforesis unicelular alcalina) para ver el daño a ADN, el daño a las cadenas y la ruptura con técnicas de dicroísmo circular y electroforesis. El daño oxidativo a las proteínas se puede medir con la presencia de aductos de agentes oxidantes por métodos de HPLC e inmunohistoquímica; la carbonilación oxidativa de residuos de proteínas y la generación de enlaces sulfhidrilo anómalos, además de la ruptura del enlace peptídico por electroforesis, calorimetría, dicroísmo circular y espectrofotometría. La oxidación de lípidos puede determinarse midiendo las especies reactivas al ácido tiobarbitúrico y dienos conjugados por métodos espectrofotométricos y HPLC. El daño a carbohidratos se puede estudiar con la determinación con inmunohistoquímica o con reacciones específicas de oxidación de grupos particulares.

La evaluación de la oxidación se basa en el daño a macromoléculas en condiciones estacionarias, estables y

estáticas, por lo que indica un estado en una ventana de tiempo particular y no da una imagen de la respuesta celular, el estrés oxidativo o una condición dinámica del proceso de daño o defensa de la célula o el organismo.

Los antioxidantes. Los sistemas antioxidantes se pueden valorar independientemente a través de medir la actividad, la expresión y la concentración de las enzimas antioxidantes, también se pueden medir las concentraciones de antioxidantes endógenos y por supuesto de cosustratos antioxidantes. Es posible evaluar la capacidad de los sistemas de reparación y eventualmente se pueden medir las concentraciones de antioxidantes exógenos. Las evaluaciones pueden ser directas por diferentes métodos por ejemplo, la concentración de una proteína de transporte, la enzima antioxidante o de reparación, la actividad de una enzima antioxidante, la concentración neta de un antioxidante o de un cosustrato antioxidante, necesario para la actividad de enzimas antioxidantes.

Las evaluaciones antioxidantes frecuentemente son indirectas y por inhibición, donde un agente oxidante llamado inductor generalmente un radical libre, oxida a una molécula monitor (sonda) que sufre un cambio de color, emite luz (quimioluminiscencia), fluorescencia o electricidad o se puede detectar por sus productos (inmunoquímica o espectro de masas); la capacidad antioxidante se mide cuando al colocar la muestra a evaluar, la oxidación de la molécula sonda se oxida y con ello el parámetro modificado. Una vez comparada la intensidad de la inhibición de la modificación en las mismas condiciones con un antioxidante de potencia conocida por ejemplo, trolox, se pueden obtener los equivalentes de la capacidad antioxidante. Con discretas variantes todas las mediciones antioxidantes se basan en un princi-

pio similar al descrito y mostrado en la figura 3.

La actividad de la SOD se puede estudiar generando el radical $O_2^{\bullet}$ por el sistema xantina-xantina oxidasa en presencia de oxígeno, el radical induce la oxidación del azul de nitrotetrazolio y da origen a un compuesto colorido que se detecta a una longitud de onda de 560 nm. La actividad de SOD presente en la muestra reduce al radical $O_2^{\bullet}$ obteniéndose con ello una reacción colorida, por lo que la actividad de SOD es proporcional a la menor cantidad de color en unidad de tiempo.

Para evaluar la actividad de la CAT se sigue la reacción de descomposición del H_2O_2 , por la pérdida de la absorción a 240 nm o se mide la liberación de O_2 utilizando un electrodo específico.

La acción de la GPx puede ser valorada indirectamente por la reacción acoplada con la GR. El GSSG producido por la reacción con los hidroperóxidos catalizada por la GPx es reciclado a su estado reducido por la GR usando como coenzima el NADPH. La oxidación de NADPH a $NADP^+$ se acompaña de la disminución de su absorbancia a 340 nm, la tasa de disminución de la absorbancia a 340 nm es directamente proporcional a la actividad GPx de la muestra. La actividad de la enzima GST puede ser determinada utilizando como sustratos al 1-cloro-2,4-dinitrobenzono (CDNB) y glutatión reducido (GSH), en donde la GST cataliza la conjugación del grupo tiol del glutatión al CDBN. La absorbancia del producto GS-DNB a 340 nm, es directamente proporcional a la actividad de la GST.

La GR se puede evaluar espectrofotométricamente por la pérdida de absorbancia a 340 nm generada por la oxidación de NADPH o por el incremento en la absorbancia a 412 nm generado por la reducción del ácido

5,5'-ditiobis 2-nitrobenzoico (DTNB).

La actividad de la enzima TQR (tocoferilquinonareductasa) y la DAR se pueden evaluar determinando la transformación de tocoferilquinona a tocoferol o de deshidroascorbato a ascorbato, respectivamente, con respecto al tiempo y cuantificando por HPLC la concentración de tocoferol o de ascorbato, empleando un detector de absorción ultravioleta-visible, a 295 nm o 254 nm, respectivamente.

La actividad de la glucosa 6-fosfato deshidrogenasa se puede evaluar iniciando la reacción con glucosa-6-fosfato y detectando la reducción del NADP⁺ a 340 nm.

La actividad de la TR, puede determinarse por la formación de proteínas reducidas con respecto al tiempo determinando los grupos tiol detectando su absorbancia a 415 nm al hacerlos reaccionar con el reactivo DTNB que interacciona con el grupo tiol para dar ácido tionitrobenzoico en una reacción equimolar para cada residuo de cisteína.

Las vitaminas C y E pueden cuantificarse por HPLC empleando un detector de absorción ultravioleta-visible, permitiendo un análisis rápido y específico de los picos a una longitud de onda de 254 y 295 nm, respectivamente.

En el caso del glutatión en sus dos formas oxidado y reducido se pueden medir por HPLC; también se puede estudiar con el cambio de color desarrollado por la reducción del DTNB a 412 nm reducido por GSH; el empleo de la enzima GR, transforma el GSSG en GSH por lo que se obtiene el glutatión total, la diferencia permite obtener el GSSG y con un sencillo calculo la relación GSH/GSSG.

El NADPH se puede medir aprovechando la reducción del colorante azul de tetrazolio (MTT) inducido por el NADPH y en presencia de metasulfato de fenazina (PMS), la disminución en la intensidad del co-

lor se mide a 565 nm y es proporcional a la concentración de NADPH de la muestra; mientras que el NADP⁺ de la muestra se transforma a NADPH empleando a la glucosa-6-P deshidrogenasa.

El ensayo del cometa y el ensayo de inhibición de la poliADP-ribosa polimerasa (PARP) son las técnicas empleadas para la evaluación de la reparación del ADN, los metabolitos 8-oxoguanosina (8-oxodG) y glicol timina (GT) pueden ser utilizados como marcadores de ataque al ADN y las pruebas de inhibición, indican los mecanismos de defensa y su eficiencia.

La reparación de las bases escindidas es ejecutada por un sistema denominado (BER, por sus siglas en inglés) y las vías de reparación de la escisión de nucleótidos (NER, por sus siglas en inglés). Para el análisis de los sistemas de reparación BER y NER se puede emplear un ADN circular con 8-oxoG como sustrato en células de mamíferos, donde al exponer al sistema a estudiar se determina la cantidad de bases reparadas.

También se pueden estudiar la cantidad de aductos o la inhibición de producción de aductos en pruebas *in vivo* o *in vitro*. Para determinar la reparación de proteínas se pueden determinar entrecruzamiento y biotinilización en pruebas de inhibición. Otras pruebas que pueden emplearse son espectrometría de masas, calorimetría, dicroísmo circular, resonancia magnética nuclear, entre otras pruebas acopladas con ensayos de inhibición, para determinar indirectamente los sistemas de reparación.

Todas estas determinaciones específicas son utilizadas como biomarcadores aislados y de manera estática, interpretando el estado oxidativo como el incremento de las biomoléculas oxidadas o la disminución de los componentes antioxidantes intracelulares o extracelulares, sin to-

mar en cuenta que el estado oxidativo integra el efecto de la exposición a oxidantes acoplado con los mecanismos protectores antioxidantes de una manera dinámica y no como una constante estática independiente.

Evaluaciones globales

Dentro del dinamismo del balance oxidativo, se pueden observar sistemas que al analizarlos presenten niveles elevados de oxidación, lipoperoxidación y ADN, asociados con una respuesta antioxidante aparentemente eficiente, indicando que el insulto es superior a la respuesta; Por otro lado, se pueden tener sistemas que al analizarlos se presenten con alto nivel de daño y deficiente respuesta antioxidante, indicando que aun con un insulto menor se puede tener mucho daño al no tener una respuesta eficiente; por lo que la evaluación única e independiente del insulto prooxidante o del fenómeno antioxidante, puede propiciar errores de interpretación y limitaciones para su aplicación clínica.

Con respecto a los antioxidantes extracelulares y endógenos, los principales antioxidantes del plasma humano son la albúmina y el ácido úrico, los cuales conforman más del 50% de la actividad antioxidante total.

En términos generales se puede señalar que la mayoría de los estudios sobre el estado oxidativo miden parcialmente los marcadores biológicos involucrados en el proceso y establecen aseveraciones generalizadas respecto la etiología, la fisiopatología y el pronóstico de muchos de los padecimientos crónico-degenerativos, lo cual genera confusión, resultados inconsistentes y contradictorios con respecto a la evaluación de la agresión oxidativa y la respuesta antioxidante del sistema. Por tal motivo, es indispensable establecer propuestas que incluyan todos los parámetros existentes para medir un mecanismo

bioquímico tan complejo como es el estado oxidativo y así evitar contradicciones y confusión.

Técnicas para determinar la capacidad antioxidante total

Los métodos de determinación de la actividad antioxidante total se basan en comprobar cómo un agente oxidante induce daño oxidativo a un sustrato oxidable, daño que es inhibido o reducido en presencia de un antioxidante. Esta inhibición es proporcional a la actividad antioxidante del compuesto o de la muestra. Por otra parte, hay ensayos que se basan en la cuantificación de los productos formados tras el proceso oxidativo. Los distintos métodos difieren en el agente oxidante, en el sustrato empleado, en el tiempo de evaluación, en la técnica instrumental utilizada, la sensibilidad y en las interacciones de la muestra con el medio de reacción (Tabla I y Fig. 3). La mayoría de los métodos de medida de la actividad antioxidante no emplean especies radicales de significado biológico, sino radicales que son oxidantes iniciadores ajenos al organismo; por ejemplo, el 2',2'-azobis-2-methylpropionamida (AAPH.) o el 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH·).

Algunos ensayos usan sistemas complejos para poder generar radicales libres y medir la capacidad antioxidante (Fig. 3), tal es el caso del ensayo llamado habilidad del plasma para reducir las sales férricas (FRAP, por sus siglas en inglés) donde el Fe^{2+} y el H_2O_2 en la reacción redox produce el radical $\cdot\text{OH}$. El empleo de los radicales peróxido o hidroxilo en los ensayos les añade un mayor significado biológico, ya que estas especies reactivas son las más importantes a nivel fisiológico tales pruebas son por ejemplo las llamadas capacidad total de retiro de oxirradicales, capacidad de absorción de radicales de oxígeno y potencial total antioxidante de

atrapamiento de radicales (TOSC, ORAC y TRAP, por sus siglas en inglés, respectivamente) (Tabla I). Sin embargo, estas pruebas suelen ser más complicadas y de difícil estandarización.

La selección de la técnica a usar debe de tener en cuenta que los iniciadores pueden ser oxidantes que capturan electrones o hidrógenos, lo cual esta valorando al antioxidante que existe en la muestra y con ello puede afectar y ser más o menos eficiente; por ejemplo, si es un prooxidante que genera al radical superóxido y el

antioxidante es efectivo para el radical hidroxilo, la prueba mostrará como si no existiera o fuera muy pobre la actividad antioxidante, lo cual es muy frecuente que ocurra cuando se prueba capacidad antioxidante de sustancias puras o de muestras poco complejas y con pocos grupos antioxidantes. Este problema es menor cuando se quiere conocer la capacidad antioxidante de muestras complejas, células o tejidos, ya que en este caso el sistema amortiguador de la muestra compensa e integra cualquier oxidante iniciador de la prueba y se

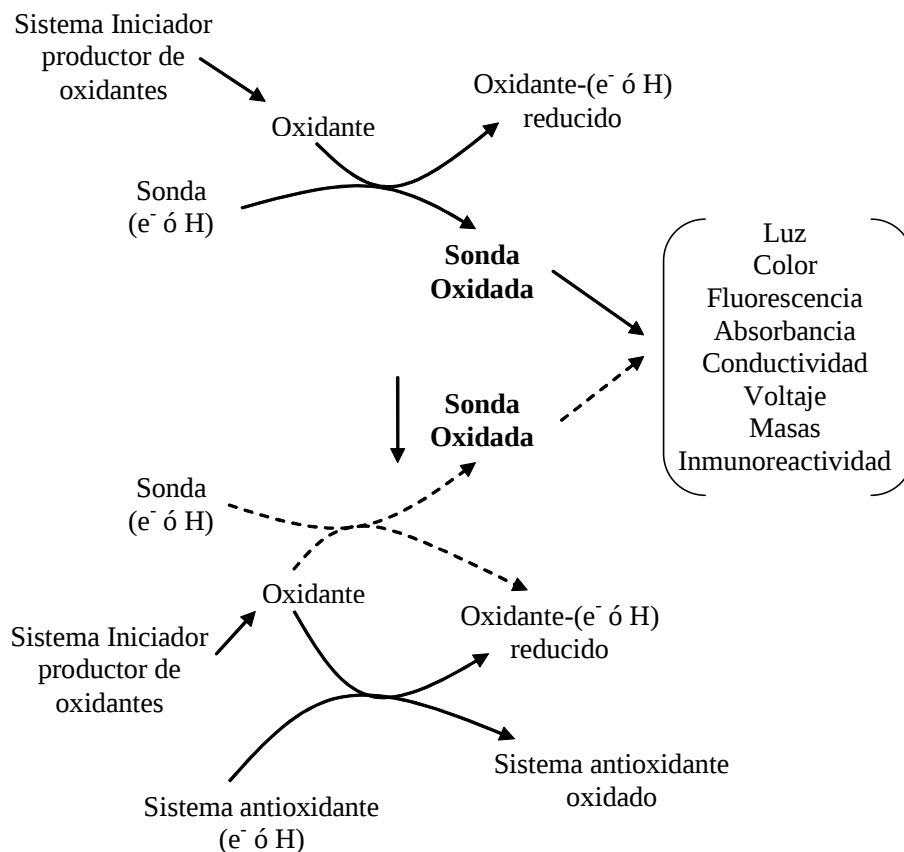


Figura 3. Esquema que muestra el mecanismo general para la evaluación de los sistemas antioxidantes. Un agente iniciador productor de oxidantes inicia el proceso, el oxidante producido oxida a la sonda. La sonda oxidada (negritas) tiene cambios susceptibles de cuantificarse por alguna propiedad que confiere la oxidación (paréntesis rectangular). En la parte inferior del esquema se muestra la competencia que se establece entre el antioxidante al que se enfrenta el oxidante en el proceso de evaluación y que compite con la sonda por el oxidante que generó el iniciador, lo que lleva a que la oxidación de la sonda sea menor (negritas y flecha) y con ello un menor cambio cuantificable (paréntesis rectangular). La menor oxidación de la sonda dependerá de la concentración y de la capacidad antioxidante del sistema correspondiente (como se indica con las flechas punteadas).

TABLA 1
Características generales de algunas pruebas para la evaluación de la capacidad antioxidante total

Prueba	DCFH-DA	Crocina	DPPH	ABTS	FRAP	ORAC	Luminol	TRAP	VC	TOSC
Técnica	Espectro-fotometría	Espectro-fotometría	Espectro-fotometría	Espectro-fotometría	Espectro-fotometría	Fluorometría	Quimio luminiscencia	Consumo de oxígeno	Voltametría cíclica	Cromatografía de gas
Iniciador (oxidante)	APPH	ABAP	DPPH	Hidroxilo	Hidroxilo	APPH	APPH	APPH	Corriente electrones	ABAP
Monitor (sonda)	DCFH-DA	Crocina	DPPH	ABTS	TPTZ-Fe	Ficoeritrina	Luminol	Oxígeno	Voltaje	a-ceto-m butírico
Condición de cuantificación	504 nm	433 nm	515 nm	414 nm	595 nm	Exc 504 nm Em 565 nm	490 nm	Unidades arbitrarias	mV	Integración
Forma de expresión de resultados	Equivalentes de trolox	Equivalentes de trolox	I-50	Equivalente s de trolox	uM Fe/I	Equivalentes de trolox	Equivalentes de trolox	Equivalentes de trolox	Potencial redox	Equivalentes trolox

2',2',7'-diclorofluoresceína diacetato (DCFH-DA), 2,2-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH·), 2,2'-azinobis-(ácido -3 etilbenzotiazolino-6-sulfónico) (ABTS), 2',2'-azobis-2-metilpropionamida (APPH.), 2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina (TPTZ), 2,2'-azobis(2-amidinopropano) (ABAP), potencia antioxidante reductora férrica (FRAP), capacidad de absorción de radicales libres de oxígeno (ORAC), potencial total de atrapamiento de radicales peróxido (TRAP), capacidad total de atrapamiento de oxi-radicales (TOSC), voltametría cíclica (VC).

integran los diferentes antioxidantes para compensan las especies iniciadoras y las que se forman por efectos de las oxido reducciones de los antioxidantes involucrados.

Los monitores de la oxidación (sondas) son las moléculas oxidadas que reportan la intensidad del daño que produce el iniciador (oxidante); al inicio se empleó el daño oxidativo avanzado a una molécula (ácidos grasos, carotenos, proteínas, ADN), las pruebas eran poco sensibles, muy inespecíficas y sin poder tener evaluaciones dinámicas. Posteriormente, se han desarrollado diversos métodos que usan sondas desarrolladas específicamente para estas pruebas (Tabla I), las cuales permiten evaluar pasos iniciales de oxidación en tiempos muy cortos, en ventanas de tiempo inicial, con mayor sensibilidad y especificidad; el 2,2'-azinobis-(ácido -3 etilbenzotiazolino-6-sulfononico) diamonio (ABTS+) y el 2',2',7'-diclorofluoresceína diacetato (DCFH-DA) son moléculas sonda mas frecuentemente empleadas (Tabla I).

Para evitar las interferencias se emplea una alta relación molar entre la sonda y el iniciador a favor de la son-

da y de ambos con respecto a la concentración esperada de antioxidante en la muestra, lo que permite manejar las concentraciones de la muestra para diseñar curvas de inhibición con un mínimo de interferencia, en tiempos muy cortos y con alta intensidad de respuesta.

En caso de muestras pequeñas o con bajas concentraciones de antioxidantes, las técnicas pueden adaptarse para hacer evaluaciones en función de tiempo e integrar las áreas bajo la curva lo que permite aumentar la sensibilidad, aún cuando se debe de tener en cuenta el aumento de interferencia y la posibilidad de oxidación espontánea de las propias sondas, afectando la evaluación global y generando falsos negativos.

La mayoría de los métodos para medir la capacidad antioxidante están diseñados para evaluar muestras hidrosolubles; sin embargo, es posible emplearlos con detergentes, solventes e incluso con fracciones particuladas, una vez que se hacen las matrices, los controles y los blancos correspondientes y asegurarse que no hay precipitación de la muestra en los tiempos de evaluación (13, 14, 15).

El valor diagnóstico

Los procesos celulares y las enfermedades asociadas directa o indirectamente con daño oxidativo y con estrés oxidativo se han incrementado vertiginosamente con cascadas de información. Sin embargo, para que se califique la participación de procesos oxidativos en una enfermedad es necesario que se cumplan algunos criterios tales como: Daños compatibles con oxidación; identificación del agente oxidante en el sitio de lesión; reproducción del daño con otro agente oxidante; que el daño se retire al retirar el agente oxidante y que la enfermedad responda al tratamiento antioxidante.

La mayor parte de las veces se asocia la enfermedad con la oxidación solo por un criterio, sin importar si se cumplen o no con los otros criterios. Lo anterior genera solo una pequeña proporción de enfermedades que se puede tener la certeza de estar asociadas con oxidación, aunque la investigación clínica cada vez con más herramientas diagnosticas incrementa cada vez más las posibilidades de estudiar esta asociación y con ello la cantidad de enfermedades que tienen a la oxidación

como etiología, patogénia o complicación de las mismas.

Muchos esfuerzos se han realizado para que las enfermedades asociadas con las oxidaciones puedan ser diagnosticadas y tratadas con antioxidantes, nuevamente se ha rebasado el diagnóstico y la evaluación correcta de resultados con una serie de pruebas parciales que muestran resultados favorables con el tratamiento antioxidante, pero que no permiten establecer bases sólidas para la adecuada evaluación de la participación oxidante y antioxidante en el curso de las enfermedades.

Enfermedades como la diabetes, la artritis, los infartos, las infecciones, las intoxicaciones, el empleo de algunos fármacos, entre muchas otras, cursan con fases oxidativas que son susceptibles de ser tratadas con antioxidantes y mejorar la evolución y evitar algunas complicaciones (16).

Para poder realizar el diagnóstico y la intervención correcta es necesario aplicar pruebas más rápidas y específicas e interpretarlas correctamente. En tal sentido, la evaluación de la oxidación de los antioxidantes y la capacidad antioxidante adquieren un papel sobresaliente, adicional al empleado en el estudio básico y el estudio clínico de las enfermedades nuevas (2, 4, 12).

Dada la facilidad y rapidez de las pruebas de capacidad antioxidante, au-

nado a que integran de manera global la evaluación de los sistemas amortiguadores antioxidantes y su *estatus* temporal, las hace muy adecuadas como guía diagnóstica.

Ante una evidencia clínica o de laboratorio de daño, un incremento de la capacidad antioxidante total puede indicar un estrés oxidativo y una respuesta antioxidante del organismo, lo que implica un sobregasto de antioxidantes y la necesidad de una intervención terapéutica. Una reducción de la capacidad antioxidante total ante evidencia de daño puede indicar una falta de respuesta, disminución de antioxidantes o un insulto oxidativo que supera la capacidad antioxidante y con ello la indicación de una intervención terapéutica antioxidante.

La capacidad antioxidante total también puede ser empleada para valorar, individualizar y dar seguimiento a la efectividad de un tratamiento antioxidante y no sobremedicar o dar tratamientos insuficientes al paciente.

El gran reto de estas pruebas es estandarizar los valores normales para poblaciones específicas ya que al momento los resultados solo pueden ser comparativos y relativos y aunque muy útiles, aún no pueden ofrecer valores normales poblacionales. Sin embargo, la evaluación masiva, su introducción cada vez más frecuente en pruebas diagnósticas, los métodos comerciales que facilitan la aplicación a

nivel de campo y de consultorio resultarán en muy corto plazo en valores límite más confiables y en interpretaciones más concretas y adecuadas.

Conclusiones

El conocimiento cada vez más profundo de los procesos oxidativos y las defensas antioxidantes, permite poco a poco y de mejor manera su integración a la etiología o fisiopatología y con ello a elementos diagnósticos en la clínica de múltiples enfermedades asociadas a la oxidación. El desarrollo del conocimiento de los sistemas amortiguadores antioxidantes, su forma de funcionar y la posibilidad técnica de medirlos eficientemente, abre una carretera de conocimientos que permiten entender la respuesta antioxidante en la génesis, protección y forma de evolución de las enfermedades. En tal contexto, la capacidad antioxidante total se ofrece como una gran alternativa para estudiar sustancias puras, fluidos células, tejidos, no sólo para entender la biología de los fenómenos, sino incluso para tener un lugar en las pruebas diagnósticas; su desarrollo técnico y su interpretación dará una plataforma para entender mejor la respuesta oxidativa de los organismos que han aprendido a defenderse de la oxidación en una atmósfera oxidante y con un metabolismo oxidativo.

REFERENCIAS

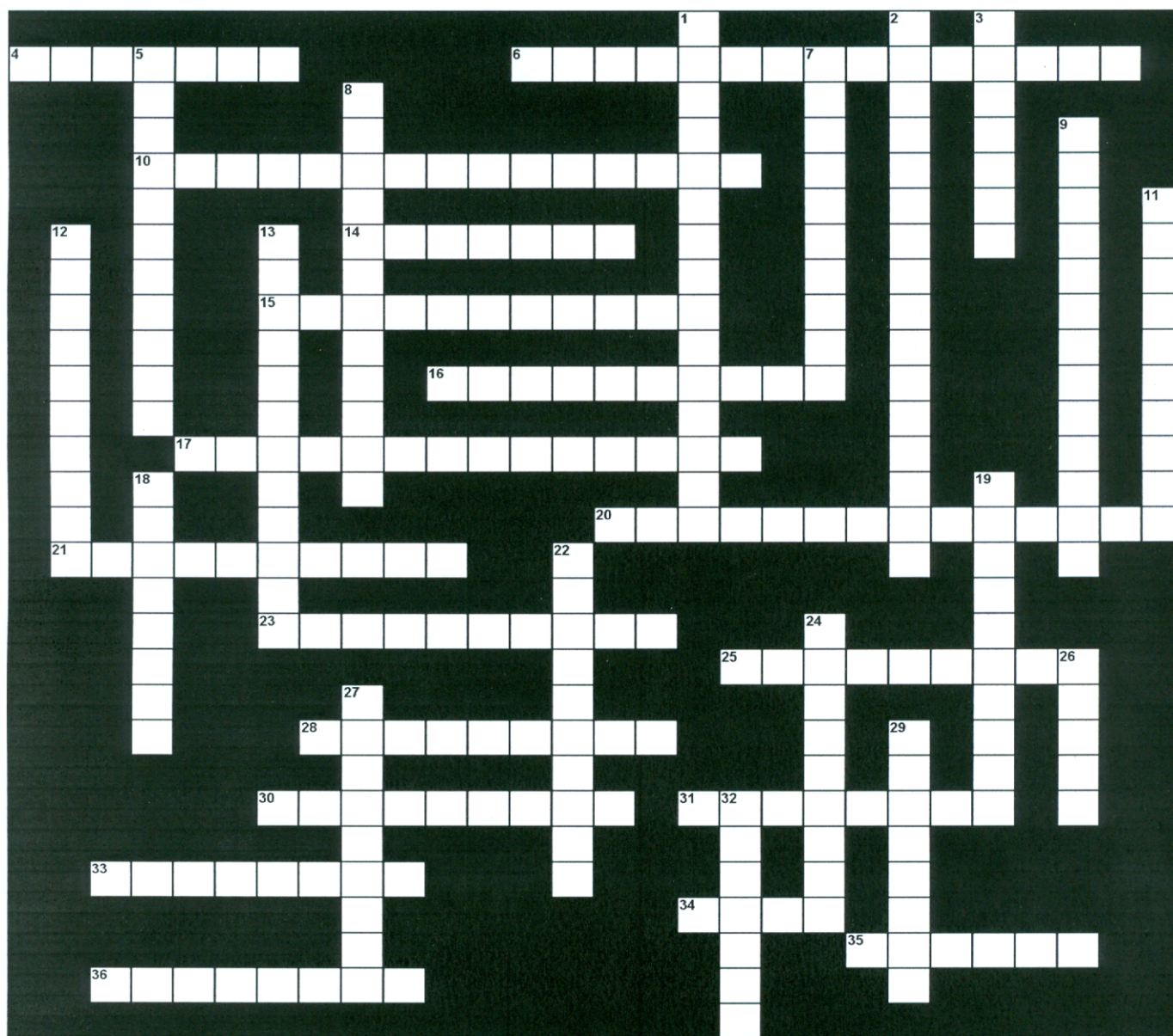
- Halliwell B, Gutteridge JMC (2007) Free Radicals in Biology and Medicine. Clarendon Press, Oxford, UK, p 704.
- Konigsberg M (2008) Radicales libres y estrés oxidativo, Aplicaciones Médicas. Ed. Manual Moderno, p 368.
- Winterbourn CC (2008) Reconciling the chemistry and biology of reactive oxygen species. Nat Chem Biol 4: 278-86.
- Calderón JV, Maldonado M (2008) Contaminación e intoxicación por plomo. Ed. Trillas, p 194.
- Hansberg W (2002) Biología de las especies de oxígeno reactivas. Mensaje bioquímico 26: 19-54.
- Rendón A (2005) El daño oxidativo y la respuesta antioxidante durante la intoxicación con plomo en una población expuesta y los efectos del tratamiento con antioxidantes. Tesis de doctorado. Departamento de Bioquímica CINVESTAV.

7. Cervantes MP, Calderón JV, Albores A, Muñoz JL (2005) Copper increases the damage to DNA and proteins caused by reactive oxygen species. *Biol Trace Elem Res.* 103: 229-248.
8. Blokhina O, Virolainen E, Fagerstedt KV (2003) Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Ann Bot (Lond)* 91: 179-194.
9. Forman HJ, Zhang H, Rinna A (2009) Glutathione: Overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis glutation. *Mol Aspects Med* 30(1-2): 1-12.
10. Rendón A, Cerbón J, Maldonado M, Quintanar MA, Calderón Salinas JV (2007) Vitamin-E reduces the oxidative damage on delta-aminolevulinic dehydratase induced by lead intoxication in rat erythrocytes. *Toxicol In Vitro* 21: 1121-1126.
11. Dragsted LO (2008) Biomarkers of exposure to vitamins A, C, and E and their relation to lipid and protein oxidation markers. *Eur J Nutr* 47: 3-18.
12. Monaghan P, Metcalfe NB, Torres R (2009) Oxidative stress as a mediator of life history trade-offs: mechanisms, measurements and interpretation. *Ecol Lett* 12: 75-92.
13. Limón-Pacheco J, Gensebatt ME. Limón J, Gensebatt ME (2009) The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. *Mutat Res* 674(1-2): 137-147.
14. Lim KS, Jenner A and Halliwell B (2006) Quantitative gas chromatography mass spectrometric analysis of 2'-deoxyinosine in tissue DNA. *Nature Protocols* 1: 1995-2002.
15. Magalhães LM, Segundo MA, Reis S, Lima JL (2008) Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. *Anal Chim Acta* 613: 1-19.
16. Srivatsan R, Das S, Gadde R, Manoj-Kumar K, Taduri S, Rao N, Ramesh B, Baharani A, Shah K, Kamireddy SC, Priyatham G, Balakumaran TA, Balakumaran SS, Kamath A, Rao A (2009) Antioxidants and Lipid Peroxidation Status in Diabetic Patients with and without Complications. *Arch Iran Med.* 12: 121-7.

CRUCIBIOQ

ENZIMAS: OXIDORREDUCTASAS

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



HORIZONTALES

4 En la vía cíclica que recibe el nombre de este ácido, se llevan a cabo cuatro deshidrogenaciones, tres de ellas acopladas al NAD^+ y una al FAD.

6 Las _____ son enzimas que requieren NAD^+ , NADP^+ , FMN o FAD como aceptores de hidrógenos o electrones.

10 Es el proceso en el que, a medida que un metabolito se oxida, el otro se reduce y las coenzimas adecuadas pueden aceptar o ceder electrones.

- 14 Catalizadores proteicos que disminuyen la energía de activación, por su acción se pueden transformar de hasta 10^6 moléculas de sustrato en producto por minuto.
- 15 Es la parte del metabolismo mediante la cual las moléculas complejas como carbohidratos, lípidos y proteínas se degradan, generalmente con la participación de coenzimas oxidadas que se reducen y éstas van a contribuir para que se den las condiciones propicias para que se sintetice el ATP.
- 16 El par de hidrógenos que se desprenden de esta vía cuando es aeróbica, reducen al NAD^+ y posteriormente a través de la cadena transportadora de electrones generan el ambiente propicio para que se sintetice ATP.
- 17 Este tipo de enzimas emplean a la proteína citocromo P-450; catalizan la incorporación de sólo un átomo de oxígeno al sustrato; entre otras, están las que ayudan a la detoxificación los barbitúricos y otros xenobióticos ya que al hidroxilarse, facilitan su excreción.
- 20 Derivadas de la flavina, actúan como grupo prostético de algunas deshidrogenasas ya que están fuertemente unidas a la enzima.
- 21 Deshidrogenasa que en presencia de NAD^+ tiene como función degradar al producto tóxico obtenido por la participación de la deshidrogenasa alcohólica.
- 23 Esta deshidrogenasa es la primera enzima que participa en la degradación del etanol.
- 25 La _____ peroxidasa es la enzima que detoxifica a la mitocondria del agua oxigenada que se forma en la cadena de transporte de electrones, la reacción se realiza cuando el glutatión reducido se oxida y el peróxido de hidrógeno forma agua.
- 28 La β _____ es el proceso en el que los ácidos grasos se degradan generando residuos de dos átomos de carbono y equivalentes reductores que van a ser responsables de la formación de moléculas de ATP.
- 30 Es la ganancia de hidrógenos o electrones que recibe un compuesto; en muchas de las reacciones donde ocurre este proceso intervienen las coenzimas de oxido-reducción.
- 31 Función que desempeña el NAD^+ cuando en presencia de una deshidrogenasa recibe del sustrato un hidruro (un protón y dos electrones) y se transforma en NADH.
- 33 El complejo _____ deshidrogenasa es una estructura multienzimática que contiene tres actividades enzimáticas y cinco coenzimas, a saber pirofosfato de tiamina, ácido lipoico, coenzima A, FAD y NAD^+ y su producto final es el acetato.
- 34 Molécula ionizable de muy pobre disociación; hace unos tres millones de años las bacterias fotosintéticas primitivas, precursoras de las cianobacterias actuales, tomaron los electrones de esta molécula.
- 35 El producto que se obtiene después de la participación de esta deshidrogenasa, es uno de los sustratos que intervienen en la reacción de condensación que ocasiona la formación de citrato en el ciclo de Krebs.
- 36 La vía llamada con este nombre produce principalmente NADPH, un agente reductor necesario para varios procesos anabólicos y ribosa-5-fosfato, que participa en la síntesis de nucleótidos y ácidos nucleicos.

VERTICALES

- 1 Enzima que se encuentra en los fagocitos; cuando una bacteria ataca a una célula fagocítica la NADPH oxidasa convierte al oxígeno en radical superóxido y a partir de él se forma peróxido de hidrógeno, que al reaccionar con los co-sustratos adecuados y en presencia de esta enzima dan lugar a diversas moléculas bactericidas.
- 2 El acetaldehído que se obtiene por la _____ del piruvato durante la fermentación, gracias a la participación de la deshidrogenasa específica y en presencia de NADH, permite la síntesis de etanol.
- 3 Esta deshidrogenasa forma un producto reducido en anaerobiosis el que se exporta desde la célula muscular hacia el hígado para la síntesis de glucosa.
- 5 Vitamina participante en los grupos prostéticos que transportan electrones FMN y FAD.
- 7 Son las enzimas que catalizan la incorporación de átomos de oxígeno al sustrato para dar lugar a un nuevo grupo hidroxilo o carboxilo.
- 8 Proceso que se lleva a cabo en las levaduras y en algunas especies bacterianas: la descarboxilación de piruvato da lugar al acetaldehído, el que en presencia de NADH + H^+ y la enzima específica da lugar al etanol.
- 9 De estructura isoprenoide, transporta electrones en los cloroplastos.
- 11 Proteínas con grupo hemo, son transportadores electrónicos que participan en la respiración, en la fotosíntesis y en otras reacciones de oxido-reducción.
- 12 La reacción en la que participa esta deshidrogenasa y que se lleva a cabo en la vía de los ácidos tricarbóxicos, es una descarboxilación oxidativa en donde la coenzima es NAD^+ , el cofactor es Mn^{2+} y el producto final es α -cetoglutarato.

- 13** Vitamina que forma parte del NAD^+ y del NADP^+ , su presencia previene o alivia la pelagra, enfermedad caracterizada por diarrea, dermatitis y demencia.
- 18** Es el agente que cede electrones en una reacción de oxido-reducción.
- 19** Enzima que participa cuando el escarabajo bombardero es atacado; el animal expulsa a través de un tubo una mezcla de una solución concentrada de dihidroxifenol en H_2O_2 al 25% y esta enzima, la temperatura de esta mezcla tiene 100°C .
- 22** También es llamada coenzima Q, es un isoprenoide que funciona como transportador lipofílico de electrones en las reacciones que inducen a la síntesis de ATP en las mitocondrias.
- 24** Esta deshidrogenasa participa en el ciclo de los ácidos tricarboxílicos, en eucariotes está fuertemente unida a la membrana interna mitocondrial y en procariotes se une a la membrana plasmática; está acoplada con el FAD que al oxidarse el sustrato da lugar a FADH_2 .
- 26** Coenzima reducida que forma parte de la proteína multifuncional en los eucariotes para la síntesis de ácidos grasos.
- 27** Tipo de desaminación en la que el glutamato mitocondrial se transforma en α -cetoglutarato; la deshidrogenasa puede acoplarse tanto a NAD^+ como a NADP^+ .
- 29** Enzimas que catalizan las reacciones en las que el oxígeno molecular es el aceptor de electrones, un ejemplo es la última enzima de la cadena de transporte de electrones mitocondrial.
- 32** Es el aceptor final de electrones y protones en los organismos aerobios.

CONVOCATORIA

REGISTRO DE CANDIDATOS PARA LOS CARGOS DE VICEPRESIDENTE Y SECRETARIO-TESORERO ADJUNTO DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA, A. C., DURANTE EL AÑO 2010.

La Mesa Directiva de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A. C. convoca a sus Asociados a postular candidatos para ocupar los cargos de Vicepresidente y Secretario-Tesorero Adjunto de la Asociación durante el año 2010.

La elección de los miembros que desempeñarán estos cargos se llevará a cabo siguiendo los lineamientos con base en el Artículo décimo sexto de los Estatutos de la Asociación Mexicana de Profesores de Bioquímica, A. C. y tomando en cuenta los apartados II, III y IV del Transitorio C.

ARTÍCULO DÉCIMO SEXTO. Seis meses antes de la Reunión de Negocios que se realizará durante el Congreso de la Asociación en años pares, la Mesa Directiva enviará a la membresía un comunicado a través de un mensaje enviado por correo electrónico, con un anuncio en el portal cibernético de la Asociación (página de Internet o equivalente) y con un anuncio publicado en la Revista de Educación Bioquímica o en la publicación oficial que exista en su momento, a presentar propuestas de candidatos de Asociados Numerarios para ocupar los puestos de Vicepresidente y Secretario-Tesorero Adjunto. Las propuestas enviadas por los votantes se harán llegar por escrito a la Mesa Directiva acompañadas de un escrito donde los candidatos expresen su consentimiento para ser postulados y anexar a su curriculum vitae. La Mesa Directiva analizará la documentación referida, con el fin de certificar que se cubran los requisitos estipulados en la convocatoria antes de dar a conocer la lista final de candidatos elegidos. La elección se realizará durante la Reunión de Negocios en el Congreso de los años pares; en caso de haber Asociados que no puedan asistir a dicha Reunión podrán enviar su voto por mensajería, correo postal, correo electrónico o fax, en cualquiera de los casos el Asociado deberá incluir su nombre y firma.

TRANSITORIOS C. II. Dada la propuesta de modificación de los presentes Estatutos en relación con los miembros de la Mesa Directiva; lo mencionado en el artículo décimo sexto, por esta ocasión se modificará y se enviará la convocatoria a principios de 2009 para recibir propuestas para candidatos a los cargos de Vicepresidente y Secretario-Tesorero Adjunto; la votación para esos cargos se realizará en la Reunión de Negocios que se lleve a cabo ese año, durante el XVII Congreso de la Asociación y por esta ocasión la duración de estas personas en el cargo será sólo para el año de 2009-2010.

TRANSITORIOS C. III. El Vicepresidente y el Secretario-Tesorero Adjunto que haya resultado electos en dicha votación participarán en colaboración con la Mesa Directiva actual (Presidente, Vicepresidente y Secretario-Tesorero) y a principios de 2010 se iniciará el proceso propuesto en el artículo décimo sexto con la elección de nuevos Vicepresidente y Secretario-Tesorero Adjunto para el bienio 2010-2012.

TRANSITORIOS C. IV. En la Reunión de Negocios que se realice en 2010, la Mesa Directiva actual concluirá sus funciones, el Vicepresidente y el Secretario-Tesorero Adjunto elegidos durante 2009 ocuparán los cargos de Presidente y Secretario-Tesorero respectivamente.

Los Asociados numerarios deberán postular por escrito a sus candidatos y cada candidato postulado deberá entregar la siguiente documentación:

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

Las cartas de postulación de los Asociados y la documentación de cada candidato deberán ser entregadas en la oficina de la Asociación dentro de Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina, UNAM, a más tardar el 3 DE NOVIEMBRE DEL 2009. Los documentos requeridos podrán ser entregados personalmente o enviados por correo postal. El envío de la documentación por medio electrónicos (fax o correo E) sólo tendrá validez hasta recibir los documentos originales.

Con base en el Artículo Decimo sexto y los Transitorios arriba mencionados de nuestros Estatutos, los próximos Vicepresidente y Secretario-Tesorero Adjunto serán elegidos de la lista de candidatos generada por la Mesa Directiva, la reunión está programada para Noviembre del 2009. Ningún candidato podrá ser registrado después del 3 de Noviembre del 2009.

Entrega de documentos: Sra. Marivel Rojas García, Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM. Apdo. postal 70-281. 04510, México, D. F. Teléfono 5623-2170, Fax 5616-2419. Correo E. reb@bq.unam.mx

M. en C. Leonor Fernández Rivera Río
Presidenta

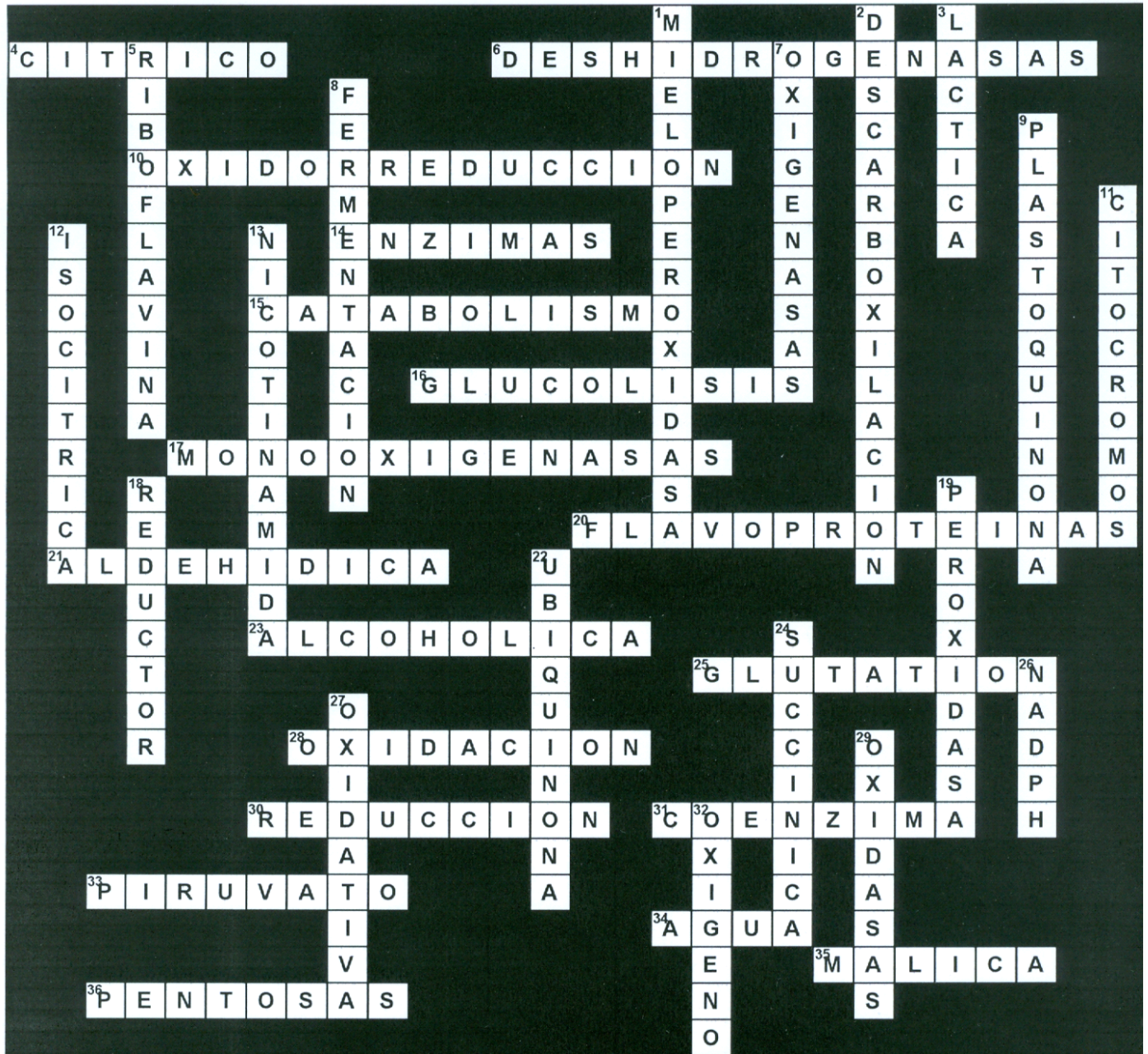
Dra. Ana María López Colomé
Vice Presidenta

Dr. Edmundo Chávez Cosío
Secretario - Tesorero.

SOLUCIÓN AL CRUCIBIOQ

ENZIMAS: OXIDORREDUCTASAS

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





XVI CONGRESO DE BIOENERGÉTICA Y BIOMEMBRANAS

SOCIEDAD MEXICANA DE BIOQUÍMICA, A. C.



Invitados

Keith D. Carlid
Portland State University
Johannes Herrmann
Technische Universität Kaiserslautern
Ma. Del Carmen Jorge y Jorge
Universidad Nacional Autónoma de México
Antonio Lazcano-Araujo
Universidad Nacional Autónoma de México
Manuel Miranda Arango
University of Texas at El Paso
Michael Feldbrügge
Max-Planck-Institut
Jodi M. Nunnari
University of California, Davis
Meritxell Riquelme
Centro de Investigación Científica y de
Educación Superior de Ensenada
Juan Pablo Pardo Vázquez
Universidad Nacional Autónoma de México

DEL 8 AL 13 DE NOVIEMBRE, 2009
BOCA DEL RÍO, VERACRUZ
HOTEL CROWNE PLAZA

Comité organizador

Dra. Guadalupe Guerra Sánchez, ENCB-IPN, lupegs@hotmail.com
Dra. Bertha González Pedrajo, IFC-UNAM, bpedrajo@ifc.unam.mx
Dr. Oscar Flores Herrera, FM-UNAM, oflores@bq.unam.mx

INFORMACIÓN

<http://smb.org.mx>



CONVOCATORIA PARA PRESENTAR TRABAJOS

EL XVII CONGRESO DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE
PROFESORES DE BIOQUÍMICA A. C.
SE LLEVARÁ A CABO LOS DÍAS 5 Y 6 DE NOVIEMBRE DEL 2009 EN EL
AUDITORIO
"DR. FERNANDO OCARANZA"

DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNAM, EN CIUDAD UNIVERSITARIA, CIUDAD DE MÉXICO.

Se convoca a los profesores de Bioquímica y de disciplinas afines a participar con sus trabajos.

CARACTERÍSTICAS DE LOS TRABAJOS:

Los trabajos estarán clasificados en dos categorías diferentes:

- Investigación educativa.
- Innovación en métodos de enseñanza.

En ambos casos, será obligatorio presentar los trabajos con el siguiente formato:

1. Nombre del trabajo escrito con mayúsculas.
2. Nombre de los autores con el nombre del autor que presentará el trabajo subrayado.
3. Nombre de la institución que patrocina el trabajo.
4. Dirección, teléfono y e-mail.
5. El trabajo deberá cubrir los siguientes incisos:
 - a. Resumen. (200 palabras o menos).
 - b. Introducción
 - c. Objetivos del trabajo
 - d. Material y métodos
 - e. Resultados
 - f. Discusión

La extensión de los trabajos deberá de ser de 5 páginas o menos.

La presentación de los trabajos en el Congreso, será por medio de un poster de 1.00 x 1.00 m.

En el caso de programas de enseñanza asistida por computadora o de presentaciones en Power Point o de cualquier otro tipo de material, el poster se deberá acompañar del material producido que deberá mostrarse en computadora o el medio que se requiera.

Los trabajos serán publicados in extenso en el volumen correspondiente de las Memorias del Congreso en la Internet.

En el caso de programas de enseñanza asistida por computadora o de presentaciones Power Point, estas serán incluidas en las Memorias del Congreso previo consentimiento de los autores.

CUOTA DE INSCRIPCIÓN AL CONGRESO

	Cuota antes del 1 de Octubre del 2009	Cuota después del 1 de Octubre del 2009
Profesores asociados a la AMPB	\$300.00	\$400.00
Profesores de Bioquímica y de disciplinas afines.	\$400.00	\$500.00

Para inscribir un trabajo hay que hacer lo siguiente:

1. Pedir una ficha de inscripción a ampb_ac@laguna.fmedic.unam.mx
2. Hacer un pago a la ASOCIACIÓN MEXICANA DE PROFESORES DE BIOQUÍMICA A. C. cuenta N° 0133718123 del Banco BBV Bancomer (o transferencia bancaria CLABE 012 180 00133 718 1237) por la cantidad la cantidad correspondiente a la inscripción.
3. Enviar el trabajo con las características señaladas anteriormente, acompañado de su ficha de inscripción con los datos de el autor o autores del trabajo y la ficha de pago o la transferencia bancaria a ampb_ac@laguna.fmedic.unam.mx dirigido a la Srita Marivel Rojas García.
4. La fecha límite para inscribir un trabajo es el 1 de Octubre del 2009.

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

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

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

I. ARTÍCULOS DE REVISIÓN

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

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

Los artículos en libros deberán citarse de la siguiente forma:

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

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

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

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

arábigos. Las leyendas y los pies de figuras se deberán presentar en una hoja aparte. Se deberá considerar que las figuras y las tablas se reducirán a la mitad o a un cuarto de las dimensiones de una hoja tamaño carta; las letras y números más pequeños no deben ser menores de dos milímetros. En caso de emplear figuras previamente publicadas, deberá darse el crédito correspondiente u obtener el permiso para su publicación. Las figuras dentro del texto deberán mencionarse con minúsculas, la palabra entera y sin paréntesis; cuando se haga referencia a ellas deberá citarse con la abreviatura, la primera letra mayúscula (Fig 2). Las tablas siempre llevarán la primera letra a mayúscula (Tabla 2). Para la versión electrónica de la revista se pueden admitir figuras a color, en tal caso se deberán de enviar ambos formatos en blanco y negro y en color.

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

II) OTRAS COMUNICACIONES

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

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

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