



Revista Médica de la Universidad Veracruzana

ISSN: 1870 3267

Investigación, Docencia y Servicio

- Instituto de Ciencias de la Salud
- Facultad de Medicina Xalapa
- Hospital Escuela

Volumen 7, Número 2
Julio - Diciembre 2007



Revista Médica de la Universidad Veracruzana

Volumen 7, Número 2

Julio - Diciembre 2007

Contenido

> EDITORIAL

Inauguración del doctorado en ciencias biomédicas

Dr. Mario Caba

5

> ARTICULOS ORIGINALES

Desarrollo del reflejo de retirada de la cola dada por un estímulo nociceptivo térmico en ratas macho Wistar

Vianey del Rocío Torres Pelayo, Baldemar Santiago Villalba, Andrés Alfonso Domínguez Guadarrama,
Abel Martínez Reyes, ¹Miguel Ángel Camacho Pernas

8

La oxitocina influye sobre la distribución en el marcaje retrógrado de dendritas de motoneuronas en ratas con lesión espinal

César Antonio Pérez Estudillo, María del Carmen Aguirre Torres, María Elena Hernández Aguilar
Luis Isauro García Hernández, Jorge Manzo Denes, Porfirio Carrillo Castilla

12

> ARTICULOS DE REVISION

Genoma humano: reflexiones

Susana Ponce Ixba, María del Carmen Torres Chávez,
Ricardo Galán Zamora, Gonzalo E. Aranda-Abreu

22

Prolactina y cáncer de próstata

Sara Rodríguez, Deissy Herrera, Pablo Becerra, Milagros Silva,
José Locía, Mireya Martínez, Zaira González, María Elena Hernández Aguilar

26

Enfermedades Neurodegenerativas: el Caso de la Proteína MeCP2 y el Síndrome de Rett

Rebeca Toledo Cárdenas, Luis Isauro García Hernández, Marta Miquel Salgado-Araujo,
Ma. Elena Hernández Aguilar, ¹Jorge Manzo Denes

32

Genética y Biología Molecular

Víctor Antonio Tejeda Moreno

38

> COMUNICACION CIENTIFICA

54



Revista Médica de la Universidad Veracruzana

Director

Marco Antonio González Rivera -
Inst. de Ciencias de la Salud / Fac. de Medicina-Xalapa

Editor

Patricia Pavón León - Instituto de Ciencias de la Salud

Editores Asociados

Rafael Velasco Fernández
Carlos M. Contreras Pérez
Lilia Irene Durán González

Consejo Editorial

Patricia Pavón León - Instituto de Ciencias de la Salud
Irma del Carmen Osorno Estrada - Fac. de Medicina-Xalapa
Carlos Blázquez Domínguez - Hospital Escuela

Director Fundador

José Arenas Benhumea

Indizada:

Imbiomed
Latindex

Comité Editorial

Instituto de Ciencias de la Salud

Leodegario Oliva Zárate
María Gabriela Nachón García
María del Carmen Gogeochea Trejo
María Sobeida Leticia Blázquez Morales
Pedro Guillermo Coronel Brizio
Victor Landa Ortiz

Facultad de Medicina-Xalapa

Ángel Alberto Casillas Cruz
Armando Méndez Pérez
Berta E. Cocotle Ronzón
Pedro Chavarria Xicotencatl
Rafael Cano Ortega
Saturnino Navarro Ramírez

Hospital Escuela

Carlos Alejandro Galván Peña
J. J. Daniel López Muñoz
Juan José Martínez Meza
Jorge Galvan Ortiz
Matilde Arellano Gajón

Corrección de estilo

Carlomagno Sol Tlachi - Instituto de Investigación Lingüístico-Literarias
Faustino Gerardo Cerdán Vargas - Becario Inst. de Inv. Lingüístico-Literarias

Diseño interior y formación

Víctor Olivares García - Instituto de Ciencias de la Salud

Diseño Portada

Xavier Cozar Angulo

Universidad Veracruzana

Rector

Raúl Arias Lovillo

Secretario Académico

Ricardo Corzo Ramírez

Secretario de Administración y Finanzas

Victor Aguilar Pizarro

Director General de Investigaciones

Adalberto Tejeda Martínez

Revista Médica de la Universidad Veracruzana® es una publicación semestral del Instituto de Ciencias de la Salud, de la Facultad de Medicina -Xalapa y del Hospital Escuela de la Universidad Veracruzana. Todo material enviado para su publicación será propiedad de la revista. Reserva de Derecho al Uso Exclusivo del Título: 04-2004-063012254500-102. La originalidad de los artículos así como las opiniones expresadas serán responsabilidad de los autores. Toda la correspondencia debe dirigirse al editor de la revista a la siguiente dirección: Instituto de Ciencias de la Salud, Av. Dr. Luis Castelazo Ayala s/n Col. Industrial Ánimas, 91190, Xalapa, Veracruz, México, Tel. (228)8418925, fax 8418926, correos electrónicos: revista_medica@uv.mx, rev_meduv@hotmail.com. Página web: www.uv.mx/rm. Impresa en **DIGITEX**, Leona Vicario # 8, Centro, Tel. 8185472, Xalapa, Veracruz.



EDITORIAL

Inauguración del doctorado en ciencias biomédicas

Dr. Mario Caba

Estimado Sr. Rector, distinguidos miembros del presidium e invitados de honor, compañeros académicos y estudiantes de la Universidad Veracruzana, maestros, amigos, señoras y señores, muchas gracias por su asistencia a esta ceremonia de inauguración del Doctorado en Ciencias Biomédicas de la Universidad Veracruzana. Es para mi un gran honor iniciar esta ceremonia en la que me voy a permitir describir el contexto general de este programa de doctorado.

La biomedicina es la medicina clínica basada en los principios de la investigación básica. Esta investigación se realiza en diferentes modelos experimentales, principalmente los considerados animales de laboratorio, pero también se realiza en humanos.

El espectro de disciplinas en las que se apoya dicha investigación es muy amplio y va desde las llamadas ciencias de la vida hasta las ciencias exactas. Ejemplos del resultado final de este enfoque son los avances en el estudio de los ácidos nucleicos que han permitido la clonación, el desarrollo de la investigación en las células troncales y la terapia genómica. Con base en esto se considera que la medicina genómica del siglo XXI va a revolucionar el concepto tradicional de medicina. Sin embargo su avance depende de la investigación básica.

Esto es sólo un aspecto de la Biomedicina ya que su alcance es enorme y abarca campos tan diversos que van, por ejemplo, de la biología de parásitos, diagnóstico molecular de enfermedades y toxicología hasta neurofisiología de desórdenes conductuales, neurobiología del sueño y psicofisiología del lenguaje.

En nuestro país diversas instituciones tanto del sector salud como de universidades tienen dependencias en las que se realiza investigación en biomedicina. La mayoría de ellos se concentran en la ciudad de México, por ejemplo los que dependen de los Institutos Nacionales de Salud, la UNAM, el Instituto Politécnico Nacional y la Universidad Autónoma Metropolitana. En los estados existen doctorados en esta área en San Luis Potosí, Colima y Puebla. En nuestra universidad hay diversas dependencias en las que se imparten posgrados, principalmente maestrías, relacionados con algún aspecto de la biomedicina, mas específicamente en lo que se denomina ciencias de la salud, y también existen varios investigadores en diferentes dependencias que dedican sus esfuerzos a esta disciplina pero no existe una dependencia de investigaciones biomédicas como tal ni existía un postgrado en dicha área. El Doctorado en Ciencias Biomédicas que hoy me honro en ser su primer coordinador viene a llenar este vacío.

Este postgrado se comenzó a gestar hace aproximadamente 3 años cuando convoqué a un grupo de investigadores de diferentes dependencias con la idea de organizar dicha propuesta. Lo que en un principio parecía muy “sencillo y factible” pronto se convirtió en una empresa titánica. Afortunadamente tuvimos el respaldo del Dr. Víctor Alcaraz en ese momento Director de Investigaciones de la Universidad Veracruzana quien con su apoyo nos estimuló para recorrer el camino. El proyecto creció, salió de los límites de los institutos de investigación y llegó hasta las facultades pero salió también

de Xalapa y ha comenzado a expandirse por las regiones. La propuesta fue aprobada el 31 de enero del 2007 por la H. Junta Académica del Instituto de Ciencias de la Salud y aprovecho para darle las gracias a su directora la Dra. Patricia Pavón León. Finalmente el Consejo del Área de Ciencias de la Salud dio su aprobación a la propuesta y también le doy las gracias al Dr. Ramón Flores Lozano, en ese entonces director del Área de Ciencias de la Salud. Y aquí es pertinente agradecer al principal impulsor para que esta propuesta se hiciera realidad; al Dr. Adalberto Tejeda, Director de investigaciones por su gran visión, apoyo y consejos gracias a los cuales este proyecto tomó su forma final y logró su aprobación. También le damos las gracias a la Dirección de postgrado, al Dr. José Velasco Toro con quien iniciamos la propuesta y al Dr. Porfirio Carrillo, actual director de postgrado con quien ha culminado y con el que estamos trabajando para posicionar el doctorado en los mejores niveles de calidad.

El Doctorado en Ciencias Biomédicas es un doctorado directo desde la licenciatura y su objetivo primordial es formar investigadores con un nivel de excelencia, capaces de generar conocimiento, identificar y resolver problemas relacionados con el campo de la biomedicina desde una perspectiva multi e interdisciplinaria. Es importante aclarar que ninguno de nosotros tiene formación en medicina, sin embargo sí sabemos hacer investigación y deseamos trascender la investigación meramente básica, importante por sí misma, y enfocar nuestros esfuerzos para contribuir a la solución de problemas específicos de salud en nuestro estado. Para ello hacemos una invitación al Sr. Secretario de salud del estado a través de su representante aquí presente para trabajar juntos en un plan factible de colaboración.

Aparte queremos que los futuros investigadores que estamos formando desarrollen una amplia labor de docencia, no sólo a nivel de licenciatura y postgrado pero también a nivel de enseñanza media. Como parte de sus asignaturas tendrán que impartir un taller en escuelas secundarias y de bachilleres tratando de despertar en los jóvenes el interés por la ciencia, sembrando una semilla que esperamos rinda frutos en el futuro. Para ello le hacemos también una invitación al Sr. Secretario de Educación del estado a través de su representante, aquí presente,

también para trabajar de manera conjunta en una propuesta.

El doctorado nace académicamente fuerte, con una plantilla académica exclusiva de primer nivel con 15 doctores en ciencias, 13 de ellos miembros del Sistema Nacional de Investigadores. Las líneas con las que iniciamos son epidemiología molecular, neuroendocrinología celular, toxicología, fisiología del sueño, farmacología cardiovascular, terapia celular, diagnóstico molecular de enfermedades, ritmos circadianos, neurofisiología del desarrollo, psicofisiología del lenguaje, y biología del parasitismo (por lo pronto enfermedad de Chagas, amibiasis). Estamos dando pasos también hacia una verdadera integración académica, por lo pronto 7 de los profesores pertenecemos a un cuerpo académico en consolidación y pretendemos que dicha actividad colegiada se convierta en el eje principal del doctorado. Es importante puntualizar que el doctorado está abierto a cualquier académico que cumpla los requisitos, básicamente que tenga un doctorado en ciencias y de preferencia pertenezca al Sistema Nacional de Investigadores.

Agradezco a la planta académica su confianza en un servidor y tengan la certeza de que continuaré trabajando para desarrollar este postgrado, tanto sus líneas de investigación como redoblando esfuerzos para conseguir la infraestructura que tanto necesitamos. Sé muy bien que tenemos muchas carencias, pero también les recuerdo que en la medida que nos esforcemos en mantener nuestro perfil académico de excelencia lograremos obtener más recursos y posicionar este doctorado en los índices requeridos a nivel nacional e internacional.

No hay doctorado sin alumnos que reciban el grado. Agradezco a los 15 heroicos primeros alumnos el haber respondido a nuestro llamado y les quiero decir que tengan la certeza de que trataré de proveerlos de lo necesario para su formación académica en la medida de nuestras posibilidades; pero también seré un celoso guardián que estará pendiente de que cumplan cabalmente su papel de alumnos y logren cumplir los requisitos de titulación con publicaciones en revistas internacionales indexadas que será nuestra mejor fortaleza académica.

Es necesario agradecer también a un grupo muy grande de colaboradores que han ayudado a que este

proyecto se haga realidad, particularmente a mis alumnos, a la Bióloga Mercedes Acosta, a la Lic. Consuelo Pérez y a Laura Flores por escucharme todos los días y ayudarme a resolver el problema del momento.

Esta etapa del camino a la que hoy asistimos se inició hace muchos años, concretamente 27, cuando la Universidad contrató a 3 muy jóvenes investigadores, Ernesto Rodríguez, Francisco García y Mario Caba que fueron la base del Centro de Investigaciones Biológicas, el cuál consiguió el parque de la flora y fauna silvestre tropical y sentó las bases de la investigación en ciencias

biológicas en nuestra universidad, cuyo grupo inicial se ha multiplicado y ha dado a esta universidad, funcionarios, dependencias y postgrados de excelencia.

Sr. Rector, solo quiero resumir que nuestra universidad ha crecido y han crecido sus fortalezas, este postgrado es prueba de ello. A nombre de un servidor y de mis compañeros agradecemos a nuestra universidad por darnos la oportunidad de devolver un poco de lo mucho que nos ha dado.

Muchas gracias.

Xalapa, Ver., a 14 de Septiembre de 2007.



ARTÍCULO ORIGINAL

Desarrollo del reflejo de retirada de la cola dada por un estímulo nociceptivo térmico en ratas macho Wistar

Thermal nociceptive tail-flick reflex development in Wistar male rats

¹Vianey del Rocío Torres Pelayo, ¹Baldemar Santiago Villalba, ¹Andrés Alfonso Domínguez Guadarrama, ²Abel Martínez Reyes, ¹Miguel Ángel Camacho Pernas

¹Laboratorio de Neuroanatomía, Instituto de Neuroetología, ²Facultad de Medicina
Universidad Veracruzana

Torres-Pelayo V, Santiago-Villalba B, Domínguez-Guadarrama AA,
Martínez-Reyes A, Camacho-Pernas MA. Desarrollo del reflejo de retirada
de la cola dada por un estímulo nociceptivo térmico en ratas macho Wistar.
Rev Med UV 2007; 7(2): 8-11

RESUMEN

Introducción. El reflejo de retirada de la cola ante un estímulo nociceptivo es muy utilizado en estudios de nocicepción en animales. Tomando en cuenta que uno de los factores que modifican este reflejo es la edad, no existen trabajos que abarquen períodos largos de vida de los animales, tan sólo etapas como son la postnatal y/o adulta. **Objetivo.** Analizar si la edad modifica la latencia de retirada de la cola ante un estímulo nociceptivo térmico. **Método.** Se utilizaron 12 ratas macho de la cepa Wistar a las cuales se les hicieron seis pruebas a diferentes edades (7, 11, 17, 29, 90 y 120 días de edad). Las pruebas consistían en la aplicación de un solo estímulo nociceptivo térmico de 45°C en la región ventral de la cola y se analizó la latencia de retiro de la cola. **Resultados.** La edad modifica la latencia de retiro de la cola sólo en los primeros 11 días postnatales y a partir de ahí, los animales presentan la misma respuesta que un animal adulto.

Palabras clave: reflejo de retirada, nocicepción, edad, ratas

ABSTRACT

Introduction. The thermal nociceptive tail-flick reflex is used in studies of nociception in animals. Considering that one of the factors that modify this reflex is the age, studies that include long periods of animal's life are inexistent. They only explore the childhood and/or adulthood. **Objective.** To analyze whether the age modifies the latency of thermal nociceptive tail-flick reflex. **Method.** 12 Wistar male rats were used which were subjected to six trials at different ages (days 7, 11, 17, 29, 90 and 120 of age). The tests consisted in application of only one thermal nociceptive stimulus of 45° C on the ventral region of the tail and the latency of tail-flick reflex was analyzed. **Results.** The age modifies the latency of tail-flick reflex in the first 11 postnatal days and since then the animals present the same response that an adult animal.

Key words: withdrawal reflex, nociception, age, rats.

Recibido 25/07/2007 - Aceptado 03/10/2007

INTRODUCCIÓN

Evolutivamente, los organismos han desarrollado mecanismos para reaccionar ante su ambiente e iniciar la respuesta para enfrentarlos o eludirlos. En los organismos unicelulares, esta respuesta es tan simple como alejarse, o como en los vertebrados, cuya respuesta ante el estímulo nocivo es más compleja y se da por medio de reflejos de retirada o flexión, que es el resultado de la contracción de un músculo flexor (agonista) y la relajación del músculo extensor (antagonista). Este reflejo de retirada o de flexión es uno de los parámetros más utilizados en el estudio sobre la respuesta ante un estímulo nocivo, denominada también respuesta nociceptiva, que puede ser provocada por un estímulo químico¹ o térmico.²

En roedores, esta respuesta ha sido utilizada para estudios farmacológicos³ y de la fisiología de la nocicepción.⁴ De estos trabajos en donde se analizan los cambios del reflejo de retirada en relación con la edad, son pocos los que abarcan períodos largos de vida, y de los que hay, existen controversias en sus resultados. Así, tenemos que para algunos autores^{5,6} existe una diferencia en la edad dada por un decremento de la latencia del reflejo de retirada que abarca del día postnatal 10 o P-10 hasta P-25 y se mantiene igual hasta P-45. Otros autores⁷ también encuentran diferencias en relación a la edad, pero debido a un incremento de la latencia desde P-5 hasta P-25, manteniéndose hasta P-90. Los demás trabajos que han estudiado esta respuesta sólo abarcan ciertas etapas de la vida, ya sea en el primer mes de vida⁸ o como adultos.⁹ Así, trabajos en etapas postnatales⁸ describen que existe un incremento de la latencia de retirada desde el día postnatal 7 o P-7 hasta el día P-16 y posteriormente un decremento hasta P-21 y que se mantiene hasta P-28.

En trabajos con animales adultos⁹ se describe que hay diferencias cuando se comparan animales de entre tres y nueve meses de edad contra animales entre 15 y 25 meses de edad, siendo los primeros quienes presentan las latencias de retiro más largas.

Existe un vacío en relación con estudios a largo plazo donde se analicen los cambios en el reflejo de retirada producida por un estímulo, además de que hay una gran controversia en relación con los datos obtenidos. Por tal motivo el objetivo de nuestro trabajo es analizar los

cambios que se presentan en el reflejo de retirada de la cola ante un estímulo nociceptivo térmico con relación a la edad en ratas macho de la cepa Wistar.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar (n=12) obtenidas del Bioterio de Neuroetología de la Universidad Veracruzana y mantenidas en condiciones estándar con agua y alimento para roedores (Harlan, México) ad libitum y con ciclo de luz-oscuridad invertido (la luz se prendió a las 8:00 hrs.). Todos los animales usados para este experimento fueron tratados y mantenidos en concordancia con las normas en el Uso de Animales para la Investigación en Neurociencias, dadas por la Sociedad para las Neurociencias en Estados Unidos y la Guía para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorios del Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM.

Todas las pruebas se realizaron a las 10 hrs. y se utilizó el analgasiómetro (Ugo Basile) denominado Tail-Flick,¹⁰ el cual consiste en un aparato que da un haz calórico a 45°C y cuenta con cronómetro que se inicia cuando se prende el haz calórico y se apaga cuando se interrumpe el mismo, provocado por el movimiento de la cola, dando el tiempo de duración total del estímulo. La región estimulada fue la parte ventral (zona media) de la cola y se dio un solo estímulo por prueba a cada animal y se evaluó la latencia de retiro de la cola, la cual se considera como el tiempo que tarda el animal en retirar la cola del estímulo térmico. Se realizaron seis pruebas a todos los animales en cinco edades diferentes (prueba A en el día postnatal 7 o P-7; prueba B en P-11; prueba C en P-17; prueba D en P-29; prueba E en P-90 y prueba F en P-120). En las primeras tres pruebas los animales se mantuvieron con sus madres en sus respectivas camadas hasta el día P-21 cuando fueron destetadas y alojadas en cajas separadas hasta el final de las mismas. Todos los animales se inmovilizaron ya sea mediante una sujeción con un paño suave (grupos A, B, C y D) y que se realizaba de manera de que no causara daño a los animales, o mediante un contenedor cilíndrico de acrílico (grupo E y F), con el fin de inmovilizarlas y sólo dejando libre la cola y sin restricción para su movimiento.

Los datos obtenidos fueron analizados mediante un análisis de varianza para muestras repetidas (ANOVA) de

un factor seguido por una comparación múltiple por medio de la prueba *post hoc* de Tukey/Kramer.

RESULTADOS

Los resultados de las pruebas muestran que la latencia de retiro de la cola de ratas macho *Wistar* en respuesta al estímulo térmico nociceptivo de 45° C, presenta variaciones dadas por la edad ($F_{5,11} = 22.44$, $p < 0.01$). Se encontró que la latencia se incrementa desde el día P-7 hasta el día P-17 y a partir de esta edad se mantiene sin mucha variación hasta P-120. No se observan diferencias estadísticas en la latencia de retiro de la cola entre los días P-7 y P-11 en donde se presentan las latencias significativamente más cortas. A partir de P-17 hasta P-120 no hay diferencias significativas y se dan las respuestas más largas. Nuestros resultados se muestra que es en la primera semana y media de vida (del día P-7 al día P-11) en donde se observan las latencias significativamente más cortas ($p < 0.01$) en relación con el resto de las otras edades, como se muestra en la figura 1.

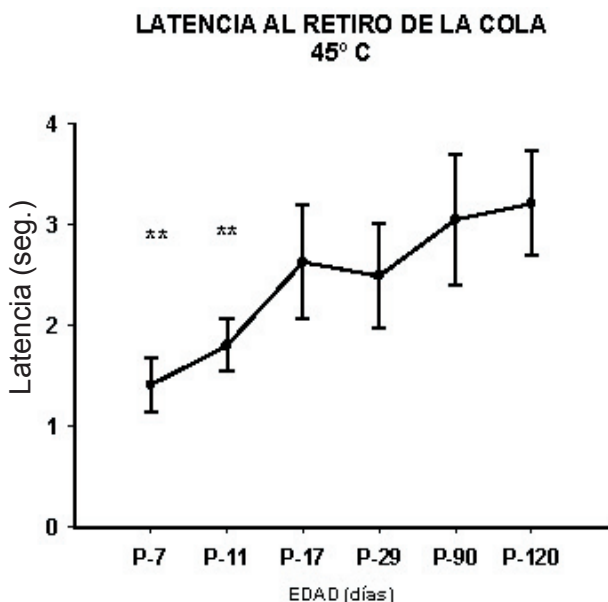


Figura 1. Desarrollo de la latencia al retiro de la cola (eje vertical) en ratas macho en respuesta a un estímulo nociceptivo térmico de 45°C estudiado desde el día postnatal siete (P-7) al día P-120 (eje horizontal). La grafica muestra una latencia más corta en los días P-7 y P-11 y a partir del día P-17 hasta el día P-120 las latencias más largas. Hay diferencias significativas en relación a la edad solo en los días P-7 y P-11 (** $p < 0.01$) cuando se comparan con el resto de edades. En las demás edades, no se observan diferencias significativas cuando se comparan entre ellas.

DISCUSIÓN

En este experimento se utilizó la latencia al retiro de la cola ante un estímulo nociceptivo de 45°C para observar los cambios que se producen por la edad de los animales. Los resultados obtenidos muestran que la latencia del reflejo de retirada en la cola de las ratas macho *Wistar* sólo se modifica en la primera semana y media de vida postnatal, manteniéndose sin cambios a partir de P-17 a P-120. Así, en los días P-7 y P-11 se observan las latencias más cortas, debido a que en estas edades los animales son hiperresponsivos como se ha descrito.²

Considerando que el reflejo de retirada de la cola está mediado mayormente a nivel de médula espinal,¹¹ estas respuestas más cortas a estas edades se deberían a que aún no ha madurado el sistema inhibitorio descendente difuso de estímulos nociceptivos,¹² más que a la maduración de las fibras aferentes "C" como se ha descrito.¹³

Así, el incremento de la latencia después de P-11 hasta P-17 se debería a que este sistema descendente está madurando y se considera funcional como en el adulto hasta el día P-21, a partir de esta edad es que los animales presentan respuestas sin cambios significativos hasta el día P-120.¹²

Pero además de los sistemas descendentes inhibitorios, en estos períodos de maduración, existen otros factores, como por ejemplo, los neurotróficos que regulan el crecimiento de las fibras que responden a estos estímulos, como es el caso del Factor de Crecimiento Neuronal, el cual se ha sugerido que está jugando un papel importante en la regulación funcional de estas fibras durante la segunda semana de vida postnatal.¹⁴

Además, estos resultados muestran un incremento en la latencia del reflejo de retirada y no un decremento como los trabajos de Ba y Seri, 1993 y Ba y col. 1996 y estas diferencias se deben a que, probablemente, estos autores estén sensibilizando a los animales, como se ha descrito,⁸ ya que utilizan una medición basal de la latencia de retiro de la cola, la cual consiste en hacer tres pruebas consecutivas y tomar el promedio de las tres como base y probablemente eso provoca que los animales respondan más rápido al ir pasando el tiempo, debido a que se sensibilizan al estímulo nociceptivo térmico.

CONCLUSIÓN

La latencia al retiro de la cola sólo se incrementa en la primera semana y media de edad y es en este período donde se pueden estudiar los cambios tanto fisiológicos como morfológicos de los mecanismos involucrados en las respuestas nociceptivas. A partir de esta edad, las respuestas que se presenta son las que muestran los animales adultos hasta la edad de cuatro meses de edad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Jiang MC, Gebhart GF. Development of mustard oil-induced hyperalgesia in rats. *Pain* 1998; 77: 305-13.
2. Falcon M, Guendellman D, Stolberg A, Frenk H, Urca G. Development of thermal nociception in rats. *Pain* 1996; 67 (1): 203-8.
3. Gagliese L, Melzack R. Age differences in the response to the formalin test in rats. *Neurobiol Aging* 1999; 20: 696-707.
4. Le Bars D, Gozariu M, Cadden SW. Animal models of nociception. *Pharmacol Rev* 2001; 53: 597-652.
5. Ba A, Seri VB. Functional development of central nervous system in the rat: ontogeny of nociceptive thresholds. *Physiol Behav* 1993; 54: 403-5.
6. Ba A, Seri VB, Han SH. Thiamine administration during chronic alcohol intake in pregnant and lactating rats: effects on the offspring neurobehavioural development. *Alcohol* 1996; 31(1): 27-40.
7. Conway CM, Martinez J, Lytle LD. Maturation changes in the thermal nociceptive responses of developing rats. *Dev Psychobiol* 1998; 33: 47-60.
8. Hassmannová J, Rokyta R. The postnatal development of tail-flick latencies to acute and repeated stimulation in the rat. *Experimental Physiol* 2002; 87: 63-7.
9. Gagliese L, Melzack R. Age differences in nociception and pain behaviors in the rat. *Neurosci Biobehav Rev* 2000; 24: 843-54.
10. D'Amour FE, Smith DL. A method for determining loss of pain sensation. *J Pharmacol Exp Ther* 1941; 72: 74-9.
11. Millan MJ. The induction of pain: the integrative review. *Prog Neurobiol* 1999; 37: 1-164.
12. Boucher T, Jennings E, Fitzgerald M. The onset of diffuse noxious inhibitory controls in postnatal rat pups: a c-fos study. *Neurosci Letters* 1998; 257: 9-12.
13. Fitzgerald M. The prenatal growth of fine diameter afferents into the rat spinal cord: a transganglionic study. *J Comp Neurol* 1987; 261:98-104.
14. Fitzgerald M. The development of nociceptive circuits. *Nat Rev Neurosci* 2005; 6: 507-20.

Responsable:

Miguel A. Camacho Pernas.

Instituto de Neuroetología, Universidad Veracruzana.

Av. Dr. Luis Castelazo s/n

Fracc. Industrial Las Ánimas.

C.P. 91190

Apartado postal 566

Xalapa, Veracruz, México.

Correo electrónico: acamacho@uv.mx



ARTÍCULO ORIGINAL

La oxitocina influye sobre la distribución en el marcaje retrógrado de dendritas de motoneuronas en ratas con lesión espinal

The oxytocin influences on the distribution in the dendrites retrograde labelling of motoneurons in spinal cord injury rats

**César Antonio Pérez Estudillo, María del Carmen Aguirre Torres, María Elena Hernández Aguilar
Luis Isauro García Hernández, Jorge Manzo Denes, Porfirio Carrillo Castilla**

Instituto de Neuroetología, Universidad Veracruzana

*Pérez-Estudillo CA, Aguirre-Torres MC, Hernández-Aguilar ME,
García-Hernández LI, Manzo-Denes J, Carrillo-Castilla P.*

*La oxitocina influye sobre la distribución en el marcaje retrógrado
de dendritas de motoneuronas en ratas con lesión espinal.*

Rev Med UV 2007; 7(2): 12-21.

RESUMEN

Introducción: Previamente hemos utilizado a la peroxidasa de rábano (WGA-HRP) para identificar aspectos funcionales relacionados al transporte intracelular de sustancias en las motoneuronas espinales que inervan al músculo Pubococcígeo (Pc), el cual participa en la emisión seminal y la micción en la rata macho. Hemos demostrado el efecto de la manipulación de hormonas esteroides y de oxitocina (OT) sobre la tinción de motoneuronas, específicamente, la reducción de tales hormonas produce una disminución sobre la morfología de motoneuronas del Pc mientras que las hormonas aumentan la morfología. Aunque hemos observado que el área de arborización dendrítica de estas motoneuronas es dependiente de hormonas, aún no hemos analizado si existe una “morfología diferencial sensible” de sus dendritas dentro de la médula espinal dependiente de OT. **Objetivos:** Analizar las dendritas de las motoneuronas en las regiones del epéndimo, dorsolateral y ventral de la sustancia gris

de la médula espinal lumbosacra de ratas. **Material y métodos:** Ratas macho Wistar fueron agrupadas en: intactas; con lesión espinal tratadas con solución salina; y con lesión espinal tratadas con OT. Las motoneuronas fueron teñidas con WGA-HRP y se analizaron sus dendritas. **Resultados:** La lesión espinal redujo la longitud de las dendritas de las motoneuronas dirigidas hacia las tres regiones espinales. La OT restauró el daño producido por la lesión espinal. Las dendritas dirigidas hacia la región dorsolateral fueron significativamente más largas. **Conclusiones:** La OT promueve principalmente el transporte intracelular de sustancias en las dendritas de motoneuronas del Pc dirigidas hacia la región autonómica en la rata macho.

Palabras claves: Motoneuronas, Lesión de Médula Espinal, Oxitocina, Transporte Intracelular, Núcleo Paraventricular del Hipotálamo.

Recibido 25/07/2007 - Aceptado 14/12/2007

ABSTRACT

Introduction: We have previously used horseradish peroxidase (WGA-HRP) for determining functional aspects related to the intracellular transport of substances in motoneurons of the Pubococcygeus (Pc) muscle, which participates in seminal emission and micturition processes in male rats. We have described the effect of steroids and oxytocin (OT) manipulation on motoneurons staining, specifically, reduction of such hormones produce a decrease in the pattern of Pc motoneurons morphology whereas of hormones increase staining. Despite the fact that we have observed the area of dendritic arborization of these motoneurons is dependent on hormones, we however have not analyzed yet whether there is a “differential morphological sensitive” in their dendritic projections within the grey matter of spinal cord dependent on OT. **Objectives:** To test this hypothesis, we analyzed the dendrites of motoneurons in three regions: ventral, dorsolateral, and central canal of the sixth lumbar and the first sacral segments of the spinal cord of rats. **Materials and methods:** Wistar Male Rats were grouped in: intact; spinal injury treated with saline solution; and spinal injury treated with OT. The motoneurons were stained with WGA-HRP and their dendrites were analyzed. **Results:** Spinal cord injury diminished the length of primary dendrites in motoneurons projected to the three spinal regions. The OT restores the damage produced by spinal cord injury. Dendrites projecting to the dorsolateral area were significantly larger. **Conclusions:** The OT mainly promotes the activity in the intracellular transport of substances inside dendrites of Pc motoneurons projecting to autonomic region in the spinal cord of male rat.

Key words: Motoneurons, Spinal Cord Injury, Oxytocin, Intracellular Transport, Paraventricular Nucleus Hypothalamic.

INTRODUCCIÓN

En el Laboratorio de Neurociencias del Instituto de Neuroetología de la Universidad Veracruzana, hemos demostrado que el músculo Pubococcígeo (Pc) es el de mayor tamaño de los que conforman a los músculos del piso pélvico, y que participa en los procesos de micción y de emisión seminal en la rata macho ⁽¹⁻⁴⁾. Sin embargo, a pesar de estos estudios, el músculo Pc ha recibido poca atención respecto a su participación en la fisiología del área pélvica, y también no han sido suficientemente estudiadas

las motoneuronas espinales que lo inervan. De este modo, para entender el papel que ejerce el músculo Pc en la fisiología de la reproducción del macho, hemos realizado estudios utilizando la técnica de marcaje retrógrado con una enzima conocida como peroxidasa de rábano conjugada con la aglutinina de germen de trigo (WGA-HRP, por sus siglas en inglés), analizando la morfología de las motoneuronas que inervan al Pc, para detectar la dependencia de estas neuronas a la fluctuación de las hormonas esteroides y péptidos. La WGA-HRP es capturada por endocitosis en las terminaciones nerviosas de la unión neuromuscular y transportada retrógradamente (*transporte axónico rápido*, aproximadamente 400 mm/día) hasta el cuerpo celular de la neurona, donde puede llevarse a cabo la reacción con una sustancia conocida como tetrametilbenzidina, con la consecuente coloración de la célula ⁽⁵⁾. Esta técnica histológica es importante porque, además de mostrarnos un dato morfológico por la misma tinción de la célula, sugerimos que podría representarnos el estado funcional de la célula. Es decir, proponemos que la tinción intracelular sirve para indicar la actividad de la neurona y que esta actividad refleja el transporte de la enzima en el citoplasma de la motoneurona.

Así, hemos observado que las motoneuronas del músculo Pc están localizadas en el núcleo ventral de la lámina IX de la médula espinal, en el segmento lumbar 6 y principalmente en el segmento sacro 1 ⁽⁶⁾. La castración disminuye parámetros morfológicos como el área del soma y el área de arborización de dendritas en las motoneuronas y el tratamiento con testosterona y estradiol (esta hormona de forma más rápida) revierten estos efectos. Los efectos producidos por la castración en las motoneuronas del Pc se asemejan a aquellos producidos en otras motoneuronas involucradas en la erección peniana, como las del Núcleo Espinal del Bulboespongioso (SNB, por sus siglas en inglés). Las motoneuronas del SNB están localizadas en los segmentos espinales lumbar 5 y 6, e inervan a músculos estriados en la base del pene de la rata macho ^(7,8).

Se han propuesto principalmente dos hipótesis para explicar los efectos en la morfología: en la primera hipótesis, se señala que los cambios en los niveles de andrógenos se asocian con alteraciones significativas en la estructura y función de estas neuronas en la etapa adulta ⁽⁸⁾;

y en la segunda hipótesis, se propone que el andrógeno parece afectar la velocidad o cantidad de transporte de materiales desde los músculos inyectados al soma de las motoneuronas del SNB, o bien, del soma de las motoneuronas a las dendritas ⁽⁹⁾.

La segunda hipótesis está apoyada en un estudio realizado por iontoforésis intracelular con peroxidasa de rábano en el que se mostró que no hay diferencias significativas en cuanto al número y la longitud de las dendritas del SNB de ratas intactas y castradas. El efecto podría ser principalmente en el transporte de la HRP, pero no existe una fuerte evidencia de que los andrógenos causan alteraciones crónicas en la estructura de las dendritas del SNB en ratas macho adultas. Esto nos hace suponer, que los efectos que observamos en nuestros estudios previos por la manipulación de la testosterona representan la distribución de la peroxidasa de rábano dentro del citoplasma de la neurona pero no el tamaño completo de la neurona teñida.

Así, proponemos que el efecto del estradiol manifiesta que la aromatización de la testosterona (es decir, la conversión de testosterona a estradiol) parece ser un proceso fisiológico importante para la adecuada función de las motoneuronas del músculo Pc en el sistema nervioso central de ratas macho. Sin embargo, en la actualidad desconocemos si las motoneuronas de este músculo tienen aromatasas en su citoplasma, pero se debe considerar que ya se ha reportado que la médula espinal no muestra actividad de aromatasas y carece de receptores a estradiol ⁽¹⁰⁾. Si esto es cierto, entonces el estrógeno influiría indirectamente en el sistema de transporte intracelular de sustancias a través de la actividad indirecta de neuronas supraespinales, como las neuronas del Núcleo Paraventricular del Hipotálamo (PVN, por sus siglas en inglés), y que esta influencia sería a través de la oxitocina (OT) liberada como mensajero sobre las motoneuronas.

Esta propuesta está basada en estudios en donde reportan que neuronas del núcleo paraventricular del hipotálamo proyectan al SNB ⁽¹¹⁻¹³⁾, y que estas neuronas hipotalámicas contienen receptores a estradiol y aromatasas ⁽¹⁴⁾. Nosotros proponemos que además de la proyección de neuronas hipotalámicas a la región en donde se encuentran las motoneuronas del SNB, también se proyectarían a la región donde se encuentran las motoneuronas del Pc.

Cabe señalar que el PVN del hipotálamo parece ser el principal portador de sustancias peptídicas como la OT hacia la médula espinal ya que se ha observado que una lesión electrolítica del PVN disminuye dramáticamente los niveles de OT y las fibras inmunorreactivas oxitocinérgicas en la médula espinal ^(15;16).

Así, hemos mostrado la influencia del PVN sobre el transporte intracelular de sustancias en motoneuronas espinales dependientes de andrógenos en la rata, en el que utilizamos machos intactos a los que introducimos una cánula en el PVN y fueron tratados con bloqueadores de receptores a andrógenos (AR), a estrógenos (ER), y del complejo enzimático de aromatasas (Aro). Este estudio mostró que la morfología de las motoneuronas del Pc se encuentra significativamente disminuida de forma similar a los machos castrados. Además en esta investigación se mostró que en ratas castradas, la administración intratecal de OT sobre la médula espinal lumbosacra produce un aumento significativo en la morfología de las motoneuronas sobre los valores obtenidos a un animal castrado y sin tratamiento, aunque estos valores no alcanzan al de los intactos ⁽¹⁷⁾.

Así, en nuestro laboratorio proponemos la existencia de una *conexión paraventricular-espinal* en el macho, en el que la OT influiría en el sistema de transporte de sustancias de las motoneuronas lumbosacras, a través del siguiente mecanismo: neuronas del PVN, envían sus axones a las motoneuronas del músculo Pc. Así, estas neuronas supraespinales capturan a la testosterona que se encuentra a nivel sistémico convirtiéndola a estradiol por medio de las aromatasas, y liberando en esta conversión a mensajeros de tipo peptídico como son la OT para promover el transporte intracelular de sustancias durante la función de las motoneuronas del Pc en los procesos de micción y de emisión seminal.

En estas mismas investigaciones, analizamos el efecto producido por la espinalización (interrupción de la comunicación paraventricular-espinal) sobre la morfología de motoneuronas del Pc en grupos de ratas macho con 2, 4 y 6 semanas de evolución después de la sección completa transversal de la médula espinal a nivel medio torácico (T8). Los datos mostraron que la lesión espinal por dos o más semanas produce una disminución significativa en

los parámetros morfológicos de las motoneuronas teñidas con WGA-HRP. Suponemos que los efectos observados por la lesión espinal fueron representados por alteraciones en la distribución intracelular de peroxidasa de rábano, como hemos propuesto anteriormente en el estudio de las ratas castradas ⁽¹⁷⁾. De esta forma, la lesión de la médula espinal (ablación de estos axones descendentes del PVN por la sección transversal completa) ejerció un efecto en el circuito paraventricular-espinal.

Así mismo, mostramos la influencia de la oxitocina intratecal en la morfología de las motoneuronas del Pc de animales con lesión espinal, en donde se observó que el péptido induce un aumento en el área del soma y área de arborización de dendritas de las motoneuronas, de tal forma que éstas se comportaron similares a las neuronas de los animales intactos de la médula espinal ⁽¹⁷⁾. Estos estudios nos sugieren la posible conexión entre axones descendentes del PVN y las motoneuronas lumbosacras, a través de mensajeros de tipo peptídico como la OT. Sin embargo, se ha reportado que no hay receptores a OT en la región ventral donde están localizadas las motoneuronas del Pc ⁽¹⁸⁾. Entonces, con los resultados obtenidos de nuestros estudios proponemos que las motoneuronas podrían tener dendritas más largas que lleguen hasta las regiones donde están localizados los receptores a OT en la médula espinal en la rata. De esta forma, las dendritas de las motoneuronas del Pc podrían tener receptores a OT y este péptido supraespinal ejercería el efecto directo sobre éstas células espinales. Lo que no sabemos es si esta influencia peptídica es de forma homogénea para todas las dendritas de las motoneuronas en las regiones dentro de la sustancia gris de la médula donde están proyectadas.

Por lo tanto, aunque hemos analizado la influencia de la OT sobre el área de la arborización dendrítica de modo grueso de estas motoneuronas, no hemos realizado un análisis sistemático sobre la posible existencia de una “morfología diferencial sensible” en el transporte intracelular de sustancias de sus proyecciones dendríticas dentro de la sustancia gris en los segmentos lumbosacros donde están localizadas. De esta manera, en la presente investigación nos surgió el interés por analizar las dendritas de las motoneuronas que proyectan a las regiones del epéndimo, dorsolateral y ventral de la sustancia gris de la

médula espinal lumbosacra de ratas macho.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron tres grupos de ratas macho de la cepa Wistar (n=8 en cada grupo) con un peso de 250-350 gr. Se mantuvieron en jaulas de acrílico colectivas (50x30x20 cm; 4 animales por jaula), previamente acondicionadas con una cama de aserrín. Las jaulas estuvieron en un bioterio mantenido a temperatura constante 23±2 °C, con un ciclo invertido luz-oscuridad de 12:12 hr (encendido de la luz, 20:00 hrs). El agua y el alimento (Nutricubos para roedores, Purina, México) se les proporcionó *ad libitum*.

Las ratas estuvieron agrupadas de la siguiente manera:

- Intactas de la médula espinal y durante 4 semanas con implante intratecal (grupo control # 1; Ctr 1).
- Con 2 semanas de lesión espinal (o también conocidos como espinalizados), implante intratecal-minibomba Alzet la cual contuvo solución salina (grupo control # 2; Ctr 2) durante otras 2 semanas.
- Con 2 semanas de lesión espinal y tratadas durante 2 semanas con oxitocina (TxO).

Se utilizó oxitocina (SIGMA, T-2899; TYR-PRO-LEU-GLY AMIDE; [Tyr⁶] – Oxytocin fragment 6–9) para la administración intratecal (236 µl aproximadamente de volumen total por animal a una concentración de 10 µM).

La peroxidasa de rábano utilizada fue la siguiente: SIGMA (L-3892), *Lectin from Triticum vulgaris (wheat germ)*, peroxidase labeled.

Cada cirugía y manipulación de las ratas fue guiada de acuerdo al Manual sobre Uso de Animales para Investigación en Neurociencias creado por la Sociedad de Neurociencias (U.S.A.). Así, a los tres grupos se les implantó un tubo de polietileno intratecalmente (región de la nuca del cuello), después de 3 días de recuperación motora normal, a las ratas se les realizó una sección completa transversal de la médula espinal torácica en T8, excepto al grupo de los intactos, quienes solo estuvieron implantados intratecalmente. Las ratas recibieron por vía intramuscular metamizol sódico (130 mg/kg) como analgésico para después de la cirugía, y benzilpenicilina (40 000 UI/rata) para prevenir infecciones. Tres veces al

día durante los primeros 10 días después de la lesión, a los espinalizados se les vaciaron manualmente la vejiga ya que presentaron arreflexia por el choque espinal debido al daño producido y también se le limpiaron la región anogenital con benzal al 50% para evitar infecciones de la piel. Al siguiente día después de la lesión, a los machos espinalizados les fue conectada subcutáneamente en la parte externa final del tubo una minibomba osmótica Alzet (Model 2002, ALZA corporation). Este modelo de minibomba está fabricado para liberar constantemente por dos semanas 0.5 $\mu\text{l/hr}$ del fármaco, en este caso de solución salina o de oxitocina (10 μM). Al grupo de intactos no recibió ningún tratamiento del fármaco. Después de dos semanas de tratamiento, las motoneuronas del músculo Pc fueron marcadas retrógradamente con WGA-HRP en ambos lados de la médula espinal del sujeto, 40 horas después se sacrificaron a los machos, se les realizó una perfusión transcardiaca, luego se les extrajo la médula espinal lumbosacra. Al tercer día, al tejido se le hicieron cortes de 40 μm de grosor y se mantuvieron en flotación con un amortiguador de fosfatos 0.1 M pH 7.4, después de 24 horas, estos cortes fueron colocados en portaobjetos y fueron teñidos por el método de la tetrametilbenzidina con una contratinción de rojo neutro, para finalizar en el montaje de cubreobjetos. Posteriormente, el análisis de los parámetros morfológicos fue realizado únicamente en aquellas motoneuronas marcadas en donde se encontraron bien definidas su soma y dendritas y se excluyeron aquellas células cuyo soma y dendritas se solapaban, como en el caso de agrupaciones (clusters) de células, por lo común son agrupaciones de más de 4 neuronas en un mismo corte, en el que es difícil distinguir el origen y terminación de las dendritas. Este análisis fue *unilateral*, por lo que se consideró el lado con el mejor marcaje de neuronas. Además, como hemos observado en estudios previos, las motoneuronas del músculo pubococcígeo presentan una distribución de sus dendritas principalmente hacia tres regiones dorsomedial, dorsolateral y ventral de la médula espinal. Estas observaciones dieron origen al planteamiento de un efecto por cada grupo de tratamiento sobre el transporte intracelular y que resultaría en un “tinción diferencial” de la longitud de dendritas primarias de las regiones antes mencionadas. Para su análisis, las

motoneuronas del músculo Pc marcadas o teñidas fueron divididas en tres cuadrantes: las que proyectaron con dirección hacia la región dorsolateral, hacia la región del epéndimo y hacia la región ventral. Los números obtenidos del análisis morfológico fueron colocados en el paquete estadístico GB-STAT para Windows. A estos valores se les realizó el análisis de varianza de una vía, para la comparación intergrupar. Se consideró la diferencia significativa cuando el valor F resultó en $p < 0.01$, las diferencias particulares fueron detectadas con la prueba post hoc de Dunnet.

RESULTADOS

Las dendritas de las motoneuronas del músculo Pubococcígeo teñidas individualmente o en clusters estuvieron proyectadas hacia las regiones dorsolateral (RDL), epéndimo (RE) y ventral (RV) de la sustancia gris de la médula espinal en todos los grupos utilizados en las ratas (Fig. 1). La tinción con el trazador de HRP demostró que la RDL y la RE mostraron las dendritas más largas en comparación a la RV.

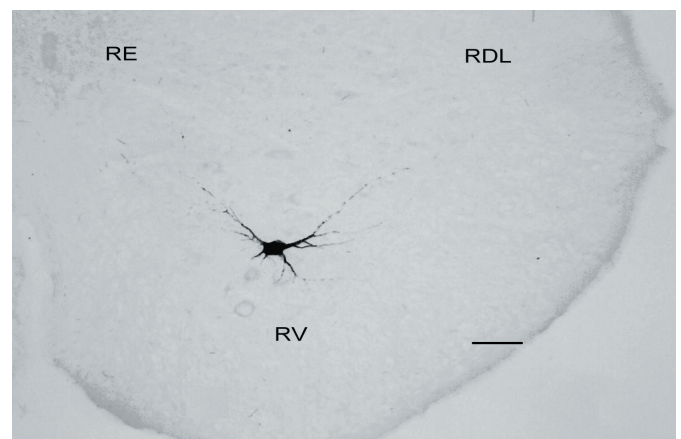


Fig 1. Corte transversal unilateral de una motoneurona que inerva al músculo Pubococcígeo de la médula espinal en una rata macho intacta. Las dendritas de las motoneuronas fueron marcadas con WGA-HRP dirigidas hacia la región dorsolateral (RDL), región del epéndimo (RE) y región ventral (RV). La línea negra indica 50 μm de longitud.

La lesión de médula espinal disminuyó la longitud de las dendritas primarias hacia las 3 regiones donde están proyectadas. Por otro lado, la oxitocina restauró la longitud de las dendritas de los animales espinalizados en las tres regiones pero de forma significativa en la dorsolateral, incluso éstos valores superaron los valores de los intactos. El análisis estadístico mostró los siguientes valores:

región dorsolateral [$F(2,734) = 27.33$; $p < 0.01$], región del epéndimo [$F(2,627) = 13.39$; $p < 0.01$] y región ventral [$F(2,1005) = 12.01$; $p < 0.01$].

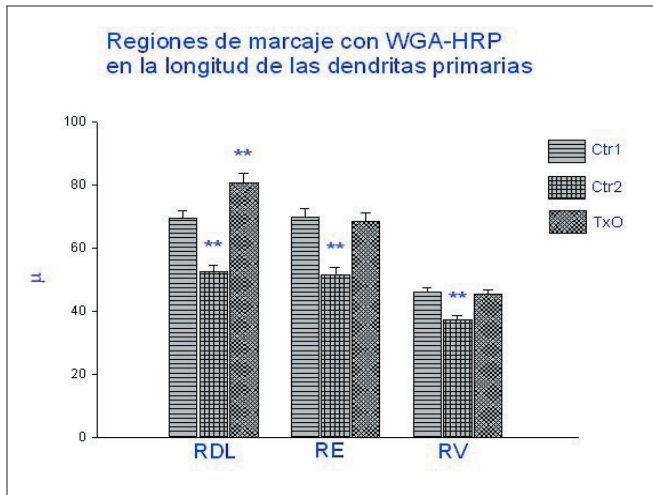


Fig 2. Representación gráfica de los valores obtenidos en la "tinción morfológica diferencial" de dendritas primarias de la región dorsolateral (RDL), región del epéndimo (RE) y región ventral (RV) de las motoneuronas que inervan al músculo Pc. Las barras representan la media + el error estándar en los grupos de machos con implante intratecal (Ctr 1); machos con médula espinal lesionada con implante intratecal-minibomba Alzet y con tratamiento de solución salina (Ctr 2), y de machos espinalizados con tratamiento de oxitocina (TxO). ANOVA de una Vía, ** $p < 0.01$

En la figura 3 se muestra el análisis del número de dendritas marcadas o teñidas con WGA-HRP de las motoneuronas del músculo Pc hacia la RDL, RE, y RV en cada grupo de tratamiento. En este parámetro la RV siempre fue mayor en las tres condiciones. Además, se pudo observar que el tratamiento con OT genera un mayor número de dendritas marcadas de la RV en comparación a la RDL.

En la figura 4 se muestra el análisis del porcentaje de dendritas marcadas con WGA-HRP de las motoneuronas del músculo Pc hacia la RDL, RE, y RV en cada grupo de tratamiento. Los valores demostraron que el grupo de animales espinalizados y tratados con solución salina (Ctr 2) presentaron un menor número de dendritas dirigidas hacia las tres regiones en comparación con el número de dendritas de los otros dos grupos. Se debe considerar que se observó independientemente del grupo de tratamiento, en la región ventral siempre fue superior (aproximadamente el 40%) en comparación con las otras dos regiones (cada una con aproximadamente el 30%).

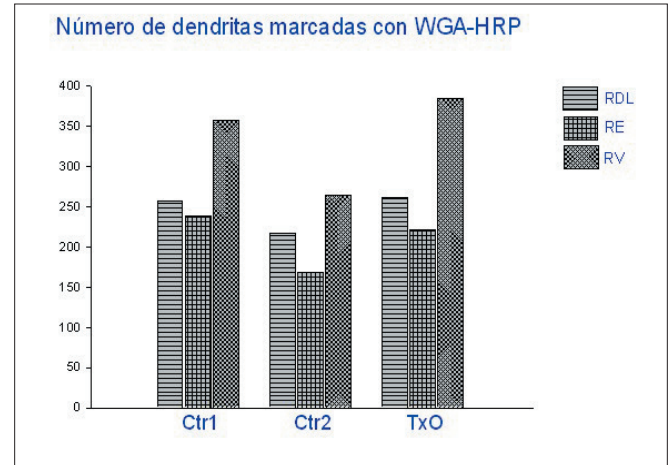


Fig 3. Representación gráfica de los valores obtenidos en el número de dendritas marcadas con WGA-HRP de la región dorsolateral (RDL), región del epéndimo (RE) y región ventral (RV) de las motoneuronas que inervan al músculo Pc. Las barras representan los grupos de machos con implante intratecal (Ctr 1); machos con médula espinal lesionada con implante intratecal-minibomba Alzet y con tratamiento de solución salina (Ctr 2), y de machos espinalizados con tratamiento de oxitocina (TxO).

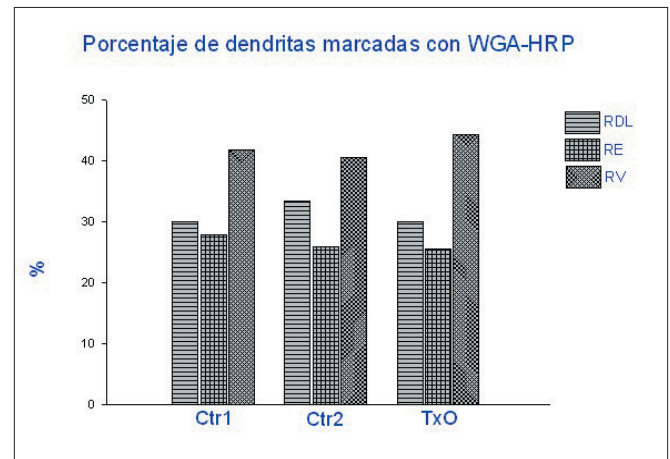


Fig 4. Representación gráfica de los valores obtenidos en el porcentaje de dendritas marcadas con WGA-HRP de la región dorsolateral (RDL), región del epéndimo (RE) y región ventral (RV) de las motoneuronas que inervan al músculo Pc. Las barras representan el porcentaje de los grupos de machos con implante intratecal (Ctr 1); machos con médula espinal lesionada con implante intratecal-minibomba Alzet y con tratamiento de solución salina (Ctr 2), y de machos espinalizados con tratamiento de oxitocina (TxO).

DISCUSIÓN

Efectos de la Oxitocina (OT) sobre las dendritas de las motoneuronas del Pubococcígeo.

La sección completa transversal (o espinalización como también se le conoce) produjo una reducción en el sistema de transporte intracelular de sustancias de las dendritas de motoneuronas del Pc, el cual es un reflejo en la tinción de

neuronas con dendritas pequeñas, sugerimos al igual que otros autores, que esto se debe porque la velocidad de transporte está reducida, o bien, está reducida la cantidad de material transportado ⁽⁹⁾.

Por otro lado, nuestros resultados demostraron que la OT indujo una restauración en el marcaje retrógrado intracelular con WGA-HRP en las dendritas analizadas de ratas macho espinalizadas. Esto es, el péptido influye en las estructuras principales de comunicación de las motoneuronas. Así, los datos obtenidos demostraron un patrón de distribución de las dendritas de las motoneuronas dentro de la sustancia gris de la médula espinal, que consistió en una “sensibilidad morfológica diferencial” de las dendritas primarias. La OT restaura los valores similares a los intactos en la longitud de las dendritas en las regiones del epéndimo y la región ventral en ratas espinalizadas. Sin embargo, el péptido incluso aumentó de tal forma que los datos fueron estadísticamente significativos en la longitud de dendritas dirigidas hacia la región dorsolateral hasta llegar a valores similares a los intactos, esta región gris de la médula espinal es donde se encuentran localizadas neuronas autonómicas, como las que conforman el núcleo parasimpático sacro. De esta forma, estas dendritas con dirección dorsolateral son más sensibles a la OT.

Como hipotetizábamos que estas dendritas dirigidas principalmente hacia la región dorsolateral podría deberse a que serían en mayor número, decidimos analizar el número de dendritas teñidas que proyectaban hacia las tres regiones espinales. Los datos mostraron que el número de dendritas fue siempre mayor hacia la región ventral independientemente del grupo de tratamiento, mientras que en las otras dos regiones los valores fueron similares. Así mismo, los valores demostraron que el grupo de animales espinalizados y tratados con solución salina (Ctr 2) presentaron un menor número de dendritas dirigidas hacia las tres regiones en comparación con el número de dendritas de los otros dos grupos. De tal forma que, en animales espinalizados con tratamiento de OT (TxO), el número de dendritas dirigidas hacia las tres regiones fueron similares al número de dendritas del grupo de animales intactos de la médula espinal (Ctr1). Por otro lado, en relación al porcentaje de dendritas marcadas con WGA-HRP, se observó que el porcentaje de dendritas marcadas independientemente

del grupo de tratamiento, en la región ventral siempre fue superior (aproximadamente el 40%) en comparación con las otras dos regiones (cada una con aproximadamente el 30%). Estos últimos datos demostraron que las dendritas encontradas en dirección a la región ventral siempre fueron el mayor número que las dendritas dirigidas hacia las otras dos regiones. Se debe considerar que la significancia funcional de estas proyecciones ventrales podría estar asociada con el fascículo propioespinal, que se encuentra en el borde de la sustancia gris de la médula espinal y el cual lleva comunicación intersegmentaria espinal a otras motoneuronas localizadas tanto a un nivel rostral como caudal de la médula espinal.

Estos resultados obtenidos permiten proponer que la OT promueve una distribución de la enzima transportada en las dendritas con dirección dorsolateral, sin embargo, no sabemos si éstas tienen receptores de OT. Por ello, proponemos que el efecto en las motoneuronas del Pc se explicaría por dos hipótesis: 1) podría ser un efecto indirecto a través de un sistema de interneuronas, ya que no se ha demostrado la presencia de receptores de OT en las motoneuronas del Pc. Existen estudios donde se han observado contactos de sinapsis entre fibras inmunorreactivas a OT y neuronas espinales en diversas áreas del asta dorsal de la médula espinal de la rata ^(18;19); 2) podría ser un efecto directo sobre las dendritas de las motoneuronas si es que en ellas son más largas y tienen receptores a OT, ya que éstas dendritas se dirigen particularmente hacia las regiones del epéndimo y región autonómica, donde se halla el núcleo parasimpático sacro. En estas dos áreas espinales se ha observado que existe inmunorreactividad a OT.

Además, existen estudios donde han mostrado la existencia de otros núcleos cerebrales con proyecciones hacia las motoneuronas lumbosacras y con una variedad de neurotransmisores que podrían también ejercer esta influencia en el transporte intracelular de sustancias en las dendritas de motoneuronas lumbares. Estos estudios han demostrado que la región lumbosacra contiene neuronas inmunorreactivas a una variedad de sustancias como péptido vasointestinal (VIP, por sus siglas en inglés), sustancia P, somatostatina, encefalina, noradrenalina, hormona liberadora de tirotrópina, serotonina y OT ⁽²⁰⁾. Así mismo, existen estudios más específicos que muestran

la existencia de innervación serotoninérgica en médula espinal de la rata, estas fibras se localizaron en la columna intermediolateral, en donde se encuentran las neuronas del núcleo parasimpático sacro, y que la hormona liberadora de tiotropina fue colocalizada en algunas de estas fibras ⁽²¹⁾. Del mismo modo, se han determinado los circuitos neuronales entre el cerebro y las motoneuronas espinales del músculo bulboespongioso, y que involucran al núcleo de Barrington, núcleo reticularis magnocelularis, y núcleo paragigantocelularis. El marcaje también se extendió a otras poblaciones de neuronas asociadas con el control de la actividad sexual y de micción (área gris periacueductal, núcleo paraventricular, área preóptica media, y corteza prefrontal) así como vías motoras descendentes somáticas (como las neuronas del fascículo vestibuloespinal, reticuloespinal, regiones de corteza sensorimotoras y del núcleo rojo). Por ello, algunos autores han propuesto que el flujo de información autonómico y somático hacia los órganos pélvicos estaría controlado por distintas poblaciones de interneuronas ⁽²²⁾. Por lo tanto, se debe considerar que una variedad de neurotransmisores liberados por las vías descendentes de distintos núcleos cerebrales podrían estar involucrados en la regulación del sistema de transportación intracelular de sustancias de motoneuronas espinales lumbosacras, como las del Pubococcígeo.

Significancia funcional de los resultados obtenidos.

Los resultados mostraron la fuerte influencia de la OT en las dendritas de motoneuronas distales (área lumbar-sacra) respecto al sitio de lesión espinal (área torácica). Se ha reportado que neuronas distales al sitio de lesión reducen la capacidad de producir una respuesta apropiadamente ante cualquier tipo de estimulación. Esto es un asunto de interés relevante para la investigación con respecto a la regeneración espinal en sujetos lesionados. Varios estudios han tratado de inducir la regeneración espinal y han obtenido una parte de la restauración motora, pero no una recuperación funcional completa ^(23,24). Cualquiera que sea el papel de la oxitocina (excitación o inhibición), en la presente investigación se observó que aumenta el transporte intracelular de sustancias (como el HRP) en el soma y dendritas de las motoneuronas, por lo que este péptido podría ser un componente adicional significativo para emplear

paradigmas enfocados a obtener un ambiente permisivo en la médula espinal lesionada. Además, la OT podría actuar junto con la administración de factores neurotróficos de crecimiento (NGF), trasplantes de distintos tipos de células (glía envolvente del bulbo olfatorio, células madre, además de neuroprotectores como la progesterona) que hoy en día se están utilizando para regenerar la médula espinal dañada. Sin embargo, aún faltan más estudios por realizarse para entender los mecanismos fisiológicos de restauración estructural y funcional en neuronas de sujetos con lesión espinal, y de esta forma, poder encontrar las estrategias adecuadas para restaurar la función dañada en esta estructura importante dentro del sistema nervioso central.

CONCLUSIONES

La lesión de la médula espinal reduce la longitud de las dendritas hacia las regiones del canal central (o del epéndimo), dorsolateral y ventral de la sustancia gris de la médula espinal lumbosacra. La OT restaura el daño producido por la lesión espinal. La región de mayor marcaje con WGA-HRP reflejada en la longitud de las dendritas primarias es la región dorsolateral, lo que podría sugerir que las dendritas de las motoneuronas que innervan al músculo Pc dirigidas hacia la región autonómica son más sensibles a oxitocina que las dendritas dirigidas hacia la región del epéndimo y la región ventral.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecemos al CONACYT el apoyo financiero otorgado [Beca Reg. No. 153785 (CAP); Proyecto 33124-N (JM)], para la realización de este reporte de investigación.

BIBLIOGRAFIA

- 1 Manzo J, y col. (1997). The role of pubococcygeus muscle in urinary continence in the male rat. *J Urol.* 157:2402-6.
- 2 Manzo J, y col. (1999). Regulation of noncontact erection in rats by gonadal steroids. *Horm Behav.* 35:264-70.
- 3 Manzo J, y col. (2000). Fertility ratio in male rats: effects after denervation of two pelvic floor muscles. *Physiol Behav.* 68:611-18.

- 4 Manzo J, y col. (2002). Neuroendocrine control of urine-marking behavior in male rats. *Physiol Behav.* 2002;75:25-32.
- 5 Mesulam MM. (1978). Tetramethyl benzidine for horseradish peroxidase neurohistochemistry: a non-carcinogenic blue reaction product with superior sensitivity for visualizing neural afferents and efferents. *J Histochem Cytochem.* 26:106-17.
- 6 Manzo J, y col. (1999). Spinal organization and steroid sensitivity of motoneurons innervating the pubococcygeus muscle in the male rat. *J Comp Neurol.* 409:358-68.
- 7 Arnold AP, Gorski RA. (1984). Gonadal steroid induction of structural sex differences in the central nervous system. *Annu Rev Neurosci.* 7:413-42.
- 8 Kurz EM, Sengelaub DR, Arnold AP. (1986). Androgens regulate the dendritic length of mammalian motoneurons in adulthood. *Science.* 232:395-98.
- 9 Sasaki M, Arnold AP. (1991). Androgenic regulation of dendritic trees of motoneurons in the spinal nucleus of the bulbocavernosus: reconstruction after intracellular iontophoresis of horseradish peroxidase. *J Comp Neurol.* 308:11-27.
- 10 MacLusky NJ, col. (1987). Metabolism and binding of androgens in the spinal cord of the rat. *Brain Res.* 422:83-91.
- 11 Sawchenko PE, Swanson LW. (1982). Immunohistochemical identification of neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus that project to the medulla or to the spinal cord in the rat. *J Comp Neurol.* 205:260-272.
- 12 Shen P, Arnold AP, Micevych PE. (1990). Supraspinal projections to the ventromedial lumbar spinal cord in adult male rats. *J Comp Neurol.* 300:263-72.
- 13 Wagner CK, (1991). Clemens LG. Projections of the paraventricular nucleus of the hypothalamus to the sexually dimorphic lumbosacral region of the spinal cord. *Brain Res.* 539:254-62.
- 14 Wagner CK, Sisk CL, Clemens LG. (1993). Neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus that project to the sexually dimorphic lower lumbar spinal cord concentrate 3H-estradiol in the male rat. *J Neuroendocrinol.* 5:545-51.
- 15 Ackerman AE, Lange GM, Clemens LG. (1997). Effects of paraventricular lesions on sex behavior and seminal emission in male rats. *Physiol Behav.* 63:49-53.
- 16 Hawthorn J, Ang VT, Jenkins JS. (1985). Effects of lesions in the hypothalamic paraventricular, supraoptic and suprachiasmatic nuclei on vasopressin and oxytocin in rat brain and spinal cord. *Brain Res.* 346:51-57.
- 17 Perez CA, y col. (1998). Influence of the paraventricular nucleus and oxytocin on the retrograde stain of pubococcygeus muscle motoneurons in male rats. *Brain Res.* 2005;1041:11-18.
- 18 Tang Y, Rampin O, Calas A, Facchinetti P, Giuliano F. Oxytocinergic and serotonergic innervation of identified lumbosacral nuclei controlling penile erection in the male rat. *Neuroscience.* 82:241-54.
- 19 Swanson LW, McKellar S. (1979). The distribution of oxytocin- and neurophysin-stained fibers in the spinal cord of the rat and monkey. *J Comp Neurol.* 188:87-106.
- 20 Honda CN, Lee CL. (1985). Immunohistochemistry of synaptic input and functional characterizations of neurons near the spinal central canal. *Brain Res.* 343:120-128.
- 21 Helke CJ, y col. (1986). Thyrotropin-releasing hormone-immunoreactive neurons project from the ventral medulla to the intermediolateral cell column: partial coexistence with serotonin. *Brain Res.* 381:1-7.
- 22 Tang Y, y col. (1999). Spinal and brain circuits to motoneurons of the bulbospongiosus muscle: retrograde transneuronal tracing with rabies virus. *J Comp Neurol.* 414:167-92.
- 23 Aguayo AJ, y col. (1991). Degenerative and regenerative responses of injured neurons in the central nervous system of adult mammals. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 331:337-43.
- 24 Ramon-Cueto A, y col. (2000). Functional recovery of paraplegic rats and motor axon regeneration in

their spinal cords by olfactory ensheathing glia.
Neuron. 25:425-35.

Responsable:

Dr. Cesar A. Pérez

Instituto de Neurootología, Universidad Veracruzana.

Apartado Postal 566. Xalapa, Ver. CP. 91190. México

Tel/Fax: (228) 841-8900 Ext. 13609

E-mail: cesperez@uv.mx



ARTÍCULO DE REVISIÓN

Genoma humano: reflexiones

Human genome: reflections

*Susana Ponce Ixba, María del Carmen Torres Chávez,
Ricardo Galán Zamora, Gonzalo E. Aranda-Abreu*

Instituto de Neuroetología, Universidad Veracruzana

*Ponce-Ixba S, Torres-Chávez MC, Galán-Zamora R,
Aranda-Abreu GE. Genoma humano: reflexiones.
Rev Med UV 2007; 7(2): 22-25.*

RESUMEN

El genoma humano se terminó de secuenciar a finales del año 2000, la finalidad era conocer de qué estamos hechos. El conocer el genoma nos sirve para comprender cómo se manifiestan ciertas enfermedades y también nos puede ayudar a saber qué nos depara el futuro como especie.

Palabras clave: genoma humano, especie.

ABSTRACT

The human genome was finished at the end of the year 2000; the purpose was to know that we are done. Knowing the genome can help us to understand the diseases and also it can help us to know about our future as specie.

Key words: human genome, specie.

Recibido 28/05/2007 - Aceptado 12/06/2007

“Polvo somos y en polvo nos convertiremos; sólo espero que antes que eso suceda, parte de mi genoma haya pasado a otra generación y quede huella de mi existencia.”

La primera parte de esta frase ya alguien la dijo hace más de 2000 años y la podríamos interpretar en este tiempo como: somos materia cósmica y al cosmos regresaremos; sin embargo, siempre se tiene la esperanza que uno deje huella de su existencia en este planeta, y quizás la única forma sea a través de nuestro genoma, por medio de nuestros hijos.

El genoma humano es el conjunto de instrucciones celosamente guardado en el núcleo de una célula eucarionte, las cuales van a determinar nuestro destino aquí en la tierra. Son 3000 millones de pares de bases que contienen la información heredada de nuestros padres y de nuestros ancestros; nosotros somos la huella de la existencia de ellos.

El genoma humano se terminó de secuenciar a finales del año 2000, sólo con el propósito de conocer de qué estamos hechos nosotros mismos.¹

Las cifras obtenidas de esta secuenciación se traducen de la siguiente forma: se determinó que existen alrededor de unos 30,000 genes, los cuales codificarán a unas 90,000 proteínas debido a procesos alternativos del ARN mensajero. Si en promedio se estima que un gen contiene unos 1000 pares de bases, entonces 30 millones de pares de bases poseen información; es decir, sólo 1% de todo nuestro genoma tiene información; 99% restante no se conoce para qué funciona. Hay estudios que muestran que probablemente estas largas regiones de pares de bases estén involucradas en procesos de regulación de la expresión génica. La pregunta que surge en este momento es: ¿por qué hay tantos pares de bases sin aparente información? Haciendo una analogía, si en una noche estrellada miramos nuestro cielo nocturno, podremos ver que entre las estrellas hay espacios, a los cuales se les conoce como materia oscura; sólo 1% del universo está en forma de luz estelar y 99% simplemente es oscuridad que no se sabe para qué está ahí. Eso sucede con nuestro genoma: hay millones de bases que no sabemos a ciencia cierta para qué sirven; sin embargo, hoy en día se está investigando cuál es la posible función de esas regiones que aparentemente no generan información alguna.

¿De dónde viene tanta información? La primera respuesta que tengo en mente es de nuestros ancestros y de nadie más; sin embargo, todavía existe una pregunta más existencialista: ¿quién le dio a las bases un orden, el cual puede ser traducido en vida y en conciencia? Dar respuesta a esa interrogante realmente resulta difícil, no sabemos nada acerca de quién lo hizo y como lo hizo, ¿acaso no dejó huella de su existencia?; quizás las huellas se encuentran en ese 99% que aún no logramos entender.

Con la tecnología actual se tiene la secuencia y también se sabe para que codifica, lo que no sabemos es cómo se escribió ese lenguaje de cuatros letras, las cuales son Adenina (A), Guanina (G), citosina (C) y Timina (T). Vamos a poner un ejemplo sencillo: con 4 letras de nuestro alfabeto tenemos la M, la A, la O y la R; si las acomodamos así: OMAR, significa un nombre propio; si las colocamos en esta forma: ROMA, significa una ciudad italiana; si las escribimos así MORA, representa una fruta; ahora así: AMOR es un sentimiento; sin embargo, si las acomodamos así MARO, ORAM, ROAM, AORM, MRAO, RMOA, RMAO, AMRO, MAOR, en nuestra lengua no significa nada, y existen varias posibilidades de acomodarlas, existen más probabilidades de que estas 4 letras no signifiquen nada, de que no tengan un significado racional; sin embargo, en nuestro genoma no sucede así. Si por un momento nos podemos imaginar 3000 millones de letras, una secuencia tendría el siguiente aspecto:

TGCGTGACGTGCTGACGTGCGTGCACTGCTGAT
CGATGCGTAGCTGAGTGCACTGCGTAGCTGAGG
TCGACGATGCATGCAGTCGATCGATCGATCGTAG
CTAGTCGATGCTAGCGTAGCTTGCTAGC, ¿Cómo interpretar esto? La verdad, nos resulta difícil descifrarlo, pero la célula sabe como interpretar 3000 millones de bases; ése es el fruto de 3500 millones de evolución molecular y celular y nosotros estamos aprendiendo a leer ese lenguaje. Hoy hablamos de un código genético y de varios códigos que se encuentran en el genoma para que las bases nitrogenadas mantengan su orden. Cuando reflexionamos acerca de este hecho, nos damos cuenta que la vida se aleja de ser un mero evento aleatorio. Quizás los evolucionistas no estén de acuerdo con esto, ya que ellos proponen que la evolución natural es un proceso aleatorio sin un fin determinado.

Veamos un sencillo ejemplo: supongamos que tenemos las piezas de un rompecabezas y todas las metemos en una bolsa; si nosotros la agitamos, el rompecabezas armado no aparecerá por sí solo; para resolverlo se requiere de que alguien haya puesto orden; eso mismo sucede con nuestro genoma.

¿A quién le pertenece el genoma? Obviamente le pertenece a la humanidad entera, y no está ni para ocultarse, ni para hacer mal uso de la información; al contrario, esa información puede ser utilizada en el beneficio de la raza humana, y lo primero que surge es la cura de las enfermedades. Sabiendo de qué estamos hechos, podemos reparar los genes. Quizás todavía estamos lejos de ese sueño, pero el camino está puesto.

El genoma humano indudablemente es un producto de la naturaleza; es decir, nadie de nosotros lo hizo. Ahora surge una pregunta: ¿se puede patentar el genoma humano? Según se tiene entendido, existen los *copyright*, los registros de propiedad intelectual. Uno puede reclamar estos derechos cuando uno es el creador; pero en el caso del genoma, ¿quién es su creador? Una sola cosa es segura: ninguno de nosotros es el autor intelectual, es como querer reclamar derechos sobre la Luna, Marte o el Sol mismo. El genoma pertenece a la humanidad entera sin ningún tipo de distinción.

Hay una frase que Carl Sagan menciona en su libro **Cosmos**:² “El cosmos es todo lo que es, todo lo fue y todo lo que será”. Aquí hicimos una pequeña modificación y la transformamos de la siguiente forma: “En nuestros genes está todo lo que somos, todo lo que fuimos y todo lo que seremos”, en los genes se encuentra nuestro pasado evolutivo, también está todo lo que somos hoy y lo que nos depara en un futuro, como seres vivientes.

Nuestro destino aquí en la Tierra quedó determinado en el momento de la concepción; en ese momento cuando los genes de nuestro padre y los genes de nuestra madre se mezclaron para formar lo que hoy somos, quedó nuestro futuro sellado; no sabemos cómo se van a recombinar, ni sabemos qué sucederá.

¿Será factible dar a conocer al mundo nuestros genes? Y sobre todo nuestros malos genes. La idea general es que en un futuro cada ser humano tenga en su poder toda la secuencia de su genoma, es decir, su historia genética.³

Hoy las compañías de seguro nos cuestionan antes de otorgarnos un seguro de vida, quizás mal dicho porque lo que nos aseguran es la muerte, pero, bueno, sólo es un juego de palabras. Nos preguntan si fumamos, si bebemos alcohol, si alguien de nuestra familia murió de alguna enfermedad coronaria, si practicamos deportes extremos, si nuestro trabajo representa algún riesgo, nos preguntan cuanto pesamos, etcétera, sólo para conocer si todavía viviremos muchos años más y la cuota que paguemos sea por varios años y no representemos a la compañía de seguro un gasto inmediato. ¿Que sucederá cuando las compañías de seguro tengan acceso a nuestro genoma? Se dirá que probablemente a tal edad tendremos alguna afección cardíaca, o que padeceremos algún cáncer, o que somos personas de alto riesgo de adquirir diabetes, o que tendremos alguna enfermedad neurodegenerativa; lo más seguro es que no se quieran arriesgar a darnos el seguro o quizás la cuota que paguemos sea elevada. Hay que tener en cuenta que los seguros negocian con la vida y con nuestras vidas, y pasamos a ser simplemente un trámite legal que cuando lo necesitamos se torna engorroso y casi siempre hay que dar muchas vueltas con los requerimientos para que se nos reembolse lo gastado.

Cada ser humano es único en esta tierra, no hay otro igual a nosotros; nuestros genes, al interactuar con el ambiente, responden de manera diferente a los estímulos; somos genuinos, con ciertos defectos y virtudes que nos hacen ser seres humanos diferentes pero con una misma esencia. Todo está codificado en nuestro genoma y la expresión de cada gen está exquisitamente regulada.

La secuencia de nuestro genoma nos distingue entre las especies que habitan en este planeta, y nos hace vulnerables o fuertes ante la adversidad. Nosotros somos el producto de nuestro genoma y de nuestros pensamientos; nuestro genoma nos permite sentir, tocar, oler, degustar, ver, oír, reír, llorar, y eso sencillamente se debe a que nuestros sentidos fueron codificados.

Antes que todo somos humanos, habitantes de esta Tierra, con el mismo número de bases formando el mismo número de cromosomas.

¿Qué haremos con el genoma? La información ya está lista, hay millones y millones de secuencias en algún orden determinado, pero ¿cuál es su significado?; equipos

multidisciplinarios están trabajando para dar un significado biológico a las secuencias. El avance que se ha tenido en la biología molecular ha sido relativamente rápido: hace 54 años se hablaba de la estructura del ADN, hoy se habla del genoma y de la medicina genómica.

Los médicos de este siglo hablarán y estudiarán una medicina basada en el genoma humano; será una medicina personalizada ya que cada individuo es genuino. Médicos, biólogos, químicos, matemáticos, físicos deberán trabajar conjuntamente para combatir todas las enfermedades; claro que cada quién en su ramo, pero sólo así se podrán vencer cada una de las afecciones que todavía azotan nuestros planeta y las que están por venir.

Es cierto, en nuestros genes se encuentra nuestro futuro, pero nosotros podemos transformarlo para beneficio propio. Somos una especie joven y curiosa, tan solo tenemos 1,000 000 de años en este planeta y ya conocemos de qué estamos hechos.

Tenemos un millón de años de continua adquisición del conocimiento que nos ha llevado a conocer nuestro entorno y a conocernos a nosotros mismos. Prácticamente, el futuro está en nuestras manos, y podemos dejar huella de nuestra existencia.

Agradecimiento al Instituto de Neuroetología

Apoyos Recibidos: Apoyo PROMEP /103.5/05/1955

BIBLIOGRAFÍA

1. Initial sequencing and analysis of the human genome. International Human Genome Sequencing Consortium. *NATURE*. 2001;409: 860-921,
2. Carl Sagan. *Cosmos*. Random House, 2002; 384
3. Gonzalo Emiliano Aranda Abreu. Reflexiones sobre el Genoma Humano. *Revisiones bibliográficas para el médico general*. 2004; 9(9):10-12

Responsable.

Gonzalo Emiliano Aranda Abreu.

Universidad Veracruzana/Instituto de Neuroetología.

Av. Luis Castelazo Ayala s/n, carr. Xalapa-Veracruz.

C.P. 91190, Xalapa, Ver.

Tel. 8418900, ext. 13616

e-mail: garanda@uv.mx



ARTÍCULO DE REVISIÓN

Prolactina y cáncer de próstata

Prolactin and prostate cancer

**Sara Rodríguez, Deissy Herrera, Pablo Becerra, Milagros Silva,
José Locía, Mireya Martínez, Zaira González, María Elena Hernández Aguilar**

*Laboratorio de Neuroendocrinología, Instituto de Neuroetología
Universidad Veracruzana.*

*Rodríguez S, Herrera D, Becerra P, Silva M, Locía J, Martínez M,
González Z, Hernández-Aguilar ME. Prolactina y cáncer de próstata.
Rev Med UV 2007; 7(2): 26-31.*

RESUMEN

La prolactina es una hormona proteica que es sintetizada y secretada principalmente por los lactotrofos en la adenohipófisis. Se ha mostrado que presenta diversas funciones, dentro de las que se encuentran aquéllas relacionadas con la reproducción. En este sentido, se ha visto que la prolactina tiene receptores en diversas glándulas sexuales accesorias, incluyendo a la próstata. En esta glándula se ha mostrado que la prolactina participa en la síntesis del semen prostático, así como en regular el mecanismo de proliferación-apoptosis. Este último mecanismo es de suma importancia, ya que si la balanza favorece la proliferación celular, es muy probable que se promueva la generación de una patología como puede ser el cáncer prostático. Existe suficiente información que muestra cuáles son los efectos crónicos de la prolactina sobre la próstata, pero a la fecha no se puede realizar ninguna conclusión al respecto. De manera general, se puede observar que entre la prolactina y la testosterona existe una estrecha relación que en conjunto favorece el funcionamiento adecuado de la glándula. Por el contrario, en condiciones patológicas, la interacción parece ser diferente, ya que dichos mecanismos mediante los cuales la prolactina favorece a la aparición de la

patología prostática apuntan, al menos, a un efecto sobre la regulación sobre los receptores a andrógenos por esta hormona. Es por ello, que el punto central o el objetivo de esta revisión considera la relación entre la prolactina y los esteroides y su relación sobre la proliferación celular, así como en relación a las alteraciones relacionadas con la síntesis del semen protático.

Palabras clave: prolactina, receptor a andrógenos, próstata, hiperprolactinemia.

ABSTRACT

Prolactin is a protein hormone produced and synthesized by lactotrophs in the adenohypophysis. This hormone has several functions including those related to the reproduction. In this sense, it has been shown that prolactin had receptors in different sexual glands, being the prostate one of them. In this gland, prolactin induces synthesis and release of the prostatic semen, but also this hormone regulates the proliferation-apoptosis mechanism. The latter function is so important because following proliferation increase there is a high probability to develop prostatic pathologies like cancer.

Recibido 08/10/2007 - Aceptado 05/12/2007

Up to date, there is a lot of information trying to explain the mechanisms triggered by prolactin to promote this pathology. However, the information still is not so clear. The knowledge today points up to a relationship between prolactin and testosterone in regulating the normal physiological conditions of the prostate; but in pathological conditions, the evidence favors a regulation of androgen receptors induced by prolactin. This could explain in general the effect of prolactin on the development of pathology in the prostate. This relationship between prolactin and steroid hormones in relation with the prostate function is central in this review.

Key words: prolactin, androgen receptor, prostate, hyperprolactinemia.

INTRODUCCIÓN

La prolactina (PRL) es una hormona de tipo proteico que es sintetizada y secretada principalmente por los lactotropos de la adenohipófisis. Dentro de la escala evolutiva de los vertebrados, esta hormona presenta diversas funciones (alrededor de 300), siendo una de ellas su participación en eventos reproductivos (Fig. 1).

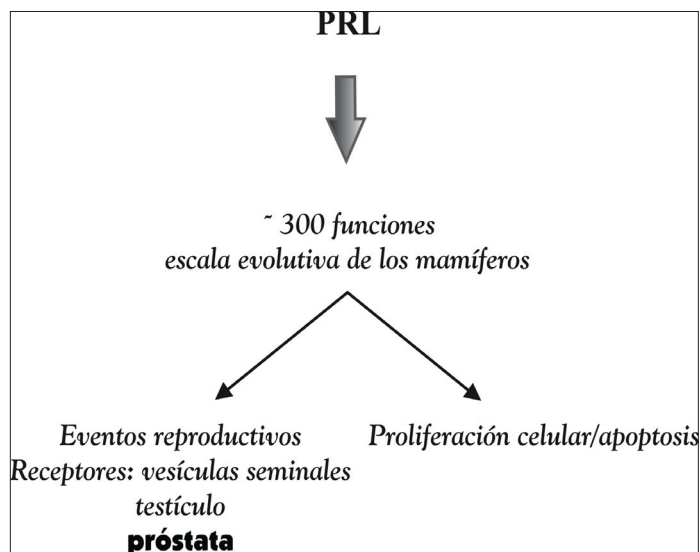


Figura 1. Ejemplo de las diversas funciones que presenta la prolactina en los mamíferos.

Se ha mostrado que la prolactina presenta receptores en diversos tejidos, incluyendo aquellos relacionados con la reproducción, como son glándula mamaria, vesículas seminales y **próstata**.^{1, 2, 3, 4}

A la fecha, no se sabe con exactitud la función de esta hormona en la próstata, pero se cree que una de sus funciones es regular: la síntesis del contenido y la cantidad del semen prostático.⁵ También se ha mostrado que otra función importante que la prolactina realiza a nivel de la próstata es regular el balance entre la proliferación y apoptosis o muerte celular programada.^{6, 7, 8} Así, es bien sabido que la próstata es una glándula sexual accesoria que está en constante crecimiento durante la vida del individuo. En cierta medida, estos balances son mantenidos por los andrógenos, pero también existe evidencia que indica que la prolactina participa en este mecanismo (Fig. 2). Mantener el balance entre proliferación y apoptosis es sumamente importante ya que el desequilibrio hacia uno de estos puntos crea anomalías que pueden favorecer cualquiera de estos eventos. Independientemente de ello, ningún evento es favorable para el funcionamiento de la próstata; pero si la balanza se inclina hacia la proliferación o la sobrevivencia celular, es cuando se generan los procesos patológicos, como es la hiperplasia benigna e incluso el cáncer.⁹

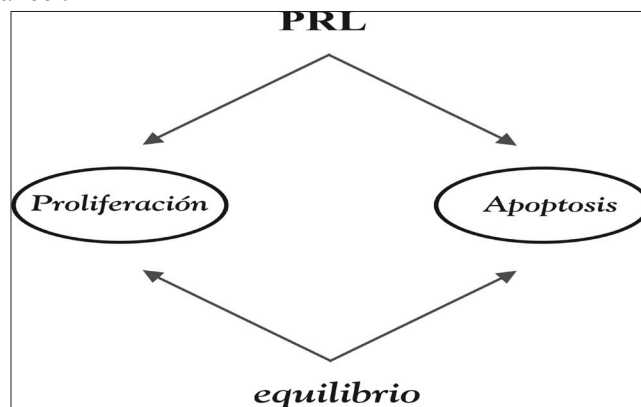


Figura 2. Esquema que muestra el efecto que la prolactina tiene sobre la regulación de la proliferación y apoptosis celular.

Debido a lo anterior, se ha puesto atención en el papel que la prolactina puede tener sobre este tipo de regulación. La información existente indica que hay una estrecha asociación entre los niveles circulantes de PRL y la presencia de patologías en la próstata en el humano, así como en ratas y ratones.^{10, 11} En este sentido, se ha observado una relación bastante cercana entre la hiperprolactinemia y la presencia de patologías en la próstata, a tal grado que esto ha dado lugar a considerarla como un factor de riesgo

en la generación del cáncer de próstata en el humano.^{12, 13, 14} Así, la prolactina es capaz de romper ese equilibrio que existe entre la proliferación celular y la apoptosis, favoreciendo que la balanza se incline más hacia la proliferación celular.⁸ Dado que la relación entre la incidencia de la patología prostática y la prolactina son evidencias recientes, la mayoría de los tratamientos que se les ofrece a los pacientes con problemas prostáticos es la castración farmacológica, es decir, la disminución de los niveles circulantes de testosterona. Independientemente de la estrategia que se utilice para reducir los niveles de testosterona en sangre, hay momentos donde la estrategia no funciona, y que es cuando el sistema se vuelve refractario a la presencia de los andrógenos; en otras palabras, la patología inicia un nuevo periodo de crecimiento independiente a la ausencia de los andrógenos.¹⁵ Varias teorías han surgido con la finalidad de explicar qué es lo que está sucediendo y por qué algo que en un principio funcionó exitosamente, ahora se vuelve insensible; las respuestas al respecto son variadas. La testosterona es una hormona de tipo esteroide que es producida principalmente por los testículos. Es liberada a la circulación, y cuando alcanza a la próstata, ésta la transforma en dos metabolitos más potentes que son el estradiol (E_2) y la dihidrotestosterona (DHT). Esta última es más potente que la testosterona para promover el crecimiento celular, pero la testosterona es mejor en regular la diferenciación celular.¹⁶ El cáncer prostático es una enfermedad compleja y ocupa el segundo lugar de muerte en nuestra sociedad, por lo que el desarrollo de terapias para tratar de contrarrestar dicho padecimiento es sumamente necesario. Sin embargo, el cáncer es un proceso altamente dinámico en el que no se puede asumir que un solo evento celular y genético pudiera estar participando. De manera muy general se ha tratado de explicar que dicha insensibilidad puede ser consecuencia de a) la amplificación del receptor a andrógenos; b) la presencia de mutaciones en aquella región del receptor que reconoce o une a la hormona; c) la presencia de coactivadores del receptor a andrógenos; y d) las vías de señalización que incluyen el factor de sobrevivencia como es el Bcl2. A pesar de que estas hipótesis tienen fundamento, a la fecha ninguna de ellas muestra qué es lo que realmente está sucediendo y el porqué de que la próstata se vuelva insensible a los andrógenos.¹⁶

La próstata presenta receptores a la prolactina que, como se ha mostrado, juegan un papel importante en la regulación de la sobrevivencia y proliferación celular; y en la actualidad, la prolactina puede ser considerada como un factor de riesgo en la etiología del cáncer prostático. Estudios realizados con la adición de altas dosis de prolactina en ratas han demostrado que promueve cambios considerablemente significativos en las características morfológicas de la próstata, y genera diversas patologías de la misma, incluyendo un efecto severo sobre la conducta sexual y la libido.^{17, 18, 19} Por el contrario, se ha visto que la elevación de prolactina a concentraciones que no van más allá de los 50 ng/ml y que no afectan la conducta sexual (es decir, una hiperprolactinemia leve) puede promover cambios morfológicos significativos en las características de las células epiteliales. Así, un tratamiento de 15 días con prolactina promueve tanto un aumento en el área del alveolo como en la altura epitelial de animales sexualmente activos; este último factor se traduce como una actividad epitelial constante donde el gasto energético es mayor, por lo que el efecto de compensación es que la altura epitelial aumenta considerablemente (Fig. 3).

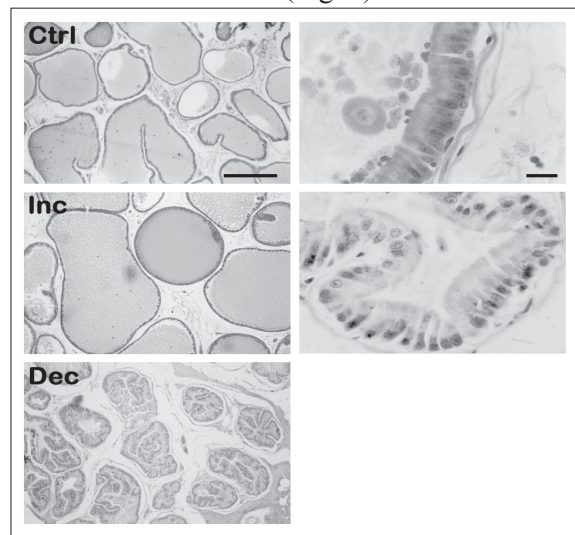


Figura 3. Respuesta de la próstata a pequeñas dosis de PRL en animales sexualmente expertos. El tratamiento con PRL (▼) promovió un decremento en el área del alveolo del lóbulo ventral y un aumento en el lóbulo dorsolateral. La altura del epitelio aumentó a partir de los 9 días de tratamiento en ambos lóbulos. No se observaron diferencias en aquellos animales tratados con vehículo (●) y el intacto (○). * = $p < 0.05$; ** = $p < 0.01$. A la derecha se muestra la histología de ambos lóbulos. La columna de la izquierda representa el efecto sobre el alveolo, y el de la derecha el efecto sobre la altura epitelial. La barra de la izquierda = 250 μ m, y la barra de la derecha = 10 μ m.

Con estos resultados, se ha llegado a proponer que pequeñas elevaciones de prolactina, que no afectan la conducta sexual, podrían ser el inicio del desarrollo de una patología en la próstata.²⁰ Como se puede observar los efectos no son tan drásticos como se ha propuesto en otros trabajos, pero muestran claramente que la prolactina afecta significativamente algunos aspectos morfológicos de la próstata. El problema que subyace con ello, es que el paciente ignora el surgimiento de una patología en la próstata pues es bastante silente y no genera problemas a corto plazo; además, bajo estas condiciones, su actividad sexual no se ve afectada por dicha elevación.

Por otro lado, diversa información muestra que la hiperprolactinemia no sólo puede inducir cambios a nivel de la próstata y que puede llevar a un aspecto patológico, sino que además se ha visto una alta correlación entre este padecimiento y la presencia de una patología que puede ser de tipo sensible o insensible a la acción hormonal. Se ha comprobado que 53% de los casos con hiperprolactinemia y patología prostática son insensibles a hormonas, mientras que 10% de ellos son sensibles a la presencia hormonal (Fig. 4).

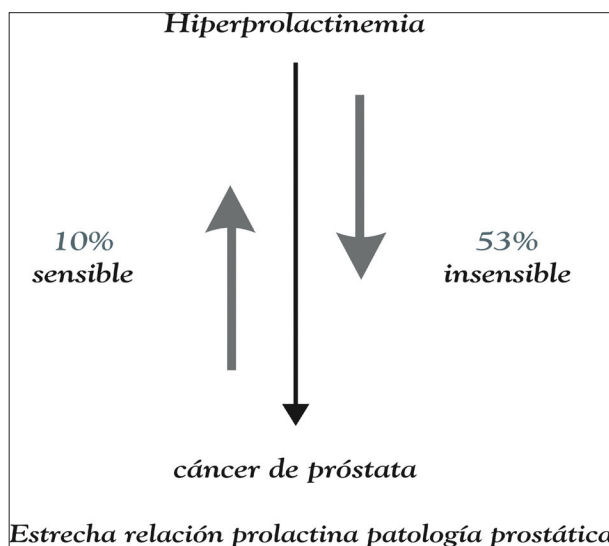


Figura 4. Esquema que representa el efecto de la hiperprolactinemia sobre la patología prostática y el grado de incidencia de cada una de ellas.

Independientemente de que la prolactina juegue un papel importante en generar la insensibilidad a la respuesta hormonal, lo que es cierto es que la alteración en los niveles sistémicos de esta hormona afecta no sólo la fisiología y

morfología de la próstata, sino que parece favorecer la inducción de patologías en la glándula. En la actualidad, no se sabe a ciencia cierta qué es lo que la prolactina está haciendo para inducir las patologías, e incluso generar la insensibilidad hormonal, pero una explicación, pudiera ser, que la prolactina las favorece mediante la alteración de los niveles del receptor a andrógenos ya que durante la conducta sexual dichos receptores aumentan significativamente²¹.

Inicialmente se pudiera decir que la prolactina parece estar participando como un regulador de la síntesis de andrógenos. Bajo estas condiciones, podría estar alterando el equilibrio que existe entre la proliferación y la apoptosis y, por lo tanto, favoreciendo la sobrevivencia o proliferación celular. Aunque la información obtenida al momento muestra un papel importante de la prolactina en la generación de una patología prostática, todavía es necesario mostrar si otros genes pudieran estarse reprimiendo o activando y las vías mediante las cuales están actuando para inducir dichos cambios, es decir, qué segundos mensajeros están implicados en la generación de la patología por prolactina y posiblemente de la generación de la insensibilidad hormonal, que al final conlleva la modificación en los niveles del receptor a andrógenos.

Otro aspecto que además parece estar favoreciendo la hiperprolactinemia es el hecho de que la calidad del líquido seminal también está alterada, por lo que pudiera estar promoviendo la infertilidad en el individuo. Un tratamiento de 30 días con prolactina produce un descenso sobre el pH, el volumen total del semen, el número de espermias y su viabilidad (Tabla 1).

	pH	Vol (µl)	No. espermias (millones/ml)	Viabilidad
I	8.6	1020	195	93
C	8.4	1100	177	92
PRL 5	8.5	950	180	79
PRL 15	6.3*	316.6	157	50

Tabla 1. Se muestra el efecto de la adición de PRL por 5 y 15 días sobre las características del semen de animales sexualmente expertos.

Dependiendo del grado de hiperprolactinemia, es posible encontrar diversos síntomas no sólo en la ejecución de la conducta sexual, sino también en la posibilidad de poder procrear. Se ha mencionado que la hiperprolactinemia

severa causa infertilidad de los individuos aunada a un grado de incapacidad para la excitabilidad sexual.^{21,22,23} Detectar dichos problemas en un paciente no es tarea fácil ya que, al no presentar ningún síntoma, no es posible suponer cuál es el origen de la infertilidad, a menos que se haga un análisis sanguíneo, que tampoco indica el inicio de la enfermedad. Nuestro estudio muestra cómo una hiperprolactinemia de tan sólo 30 días altera considerablemente las características del semen. Así, la sobrevivencia de los espermatozoides durante su trayecto por el tracto reproductor femenino se ve alterada debido a que las características fisiológicas del semen son anormales, por lo que la fertilización del óvulo no se cumple bajo estas circunstancias. Así, el éxito reproductivo de los individuos va disminuyendo conforme al grado y tiempo en que se presenta la hiperprolactinemia. Todos estos aspectos son parte de lo que se está analizando. Dado que los andrógenos son uno de los principales reguladores de la fisiología prostática, es posible suponer que todas estas alteraciones están relacionadas con el efecto que la prolactina tiene sobre el receptor a andrógenos; otro de los aspectos que se están a analizando actualmente.

De manera concluyente, se puede observar que PRL juega un papel importante en la regulación fisiopatológica de la próstata, ya que la alteración en los niveles sistémicos de esta hormona conlleva a cambios morfológicos y fisiológicos de la misma. El mecanismo mediante el cual está generando dichos cambios, aún no es del todo claro. Existen diversas hipótesis, pero una de ellas, apunta a la regulación de la densidad del receptor a andrógenos. Esta puede ser una de las razones por las que, en ciertas ocasiones, el tratamiento que involucra a la castración farmacológica no genera una recuperación en el paciente. Por otro lado, también es necesario tomar en cuenta el efecto que la hormona tiene sobre los mecanismos de fertilidad. Dichos efectos se empiezan a observar en tratamientos cortos, por lo que podrían ser aún más severos en tiempos prolongados.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ouhtit A, Morel G, Kelly PA. Visualization of gene expression of short and long forms of prolactin receptor in rat reproductive tissues. *Biol. Reprod.* 1993; 49: 528-536.
2. Costello LC, Franklin RB. Effect of prolactin on the prostate. *Prostate.* 1994; 24:162-166.
3. Nevalainen MT, Valve EM, Ingleton PM, Harkonen PL. Expression and hormone regulation of prolactin receptors in rat dorsal and lateral prostate. *Endocrinol.* 1996; 137: 3078-3088.
4. Hair WM, Gubbay O, Jabbour HN, Lincoln GA. Prolactin receptor expression in human testis and accessory tissues: localization and function. *Mol Hum Reprod.* 2002; 8: 606-611.
5. Thomson CH, Thompson DL Jr, Kincaid LA, Nadal MR. Prolactin involvement with the increase in seminal volume after sexual stimulation in stallions. *J Anim Sci.* 1996; 74: 2468-2472.
6. Janssen T et al. In vitro characterization of prolactin-induced effects on proliferation in the neoplastic LNCaP, DU145, and PC3 models of the human prostate. *Cancer.* 1996; 77:144-149.
7. Van Coppenolle F, et al. Prolactin stimulates cell proliferation through a long form of prolactin receptor and K⁺ channel activation. *Biochem J.* 2004; 377:569-578.
8. Crepin A, et al. Prolactin stimulates prostate cell proliferation by increasing endoplasmic reticulum content due to SERCA 2b over-expression. *Biochem J.* 2007; 401:49-55.
9. deLaunoit Y, et al. Influences of dihydrotestosterone, testosterone, estradiol, progesterone, or prolactin on the cell kinetics of human hyperplastic prostatic tissue in organ culture. *Prostate.* 1988. 13:143-153.
10. Leav I, et al. Prolactin receptor expression in the developing human prostate and in hyperplastic, dysplastic, and neoplastic lesions. *Am J Pathol.* 1999; 154:863-870.
11. Reiter E, et al. Effects of pituitary hormones on the prostate. *Prostate.* 1999; 38:159-165.
12. Harvey PW, Everet DJ, Springall CJ. Hyperprolactinemia as an effect in regulatory and clinical toxicology: role in breast and prostate cancer. *Human Experimental Toxicol.* 2006; 25: 395-404.
13. Lissoni P. et al. A phase II study of tamoxifen in

- hormone-resistance metastatic prostate cancer: possible relation with prolactin secretion. *Anticancer Res.* 2005a; 25: 3597-3599.
14. Lissoni P. et al. Possible involvement of prolactin in endocrine-resistant metastatic prostate cancer. *Int. J. Biol. Markers.* 2005b; 20: 123-125.
 15. Horti J. et al. A phase II study of bromocriptine in patients with androgen-independent prostate cancer. *Oncol Rep.* 1998; 5:893-896
 16. So AI, Hurtado-Coll A, Gleave ME. Androgens and prostate cancer. *World Urol.* 2003; 21: 325-337.
 17. Doherty PC, Baum MJ, Todd RB. Effects of chronic hyperprolactinemia on sexual arousal and erectile function in male rats. *Neuroendocrinology.* 1986; 42:368-375.
 18. Doherty PC, et al. Extra-hypothalamic dopamine is not involved in the effects of hyperprolactinemia on male copulatory behaviour. *Physiol Behav.* 1989; 45: 1101-1105.
 19. Kruger TH, et al. Effects of acute prolactin manipulation on sexual drive and function in males. *J Endocrinol.* 2003; 179: 357-365.
 20. Hernandez ME, et al. Prostate response to prolactin in sexually active male rats. *Reprod Biol Endocrinol.* 2006; 4: 28.
 21. Hernandez ME, et al. A study of the prostate, androgens and sexual activity of male rats. *Reprod Biol Endocrinol.* 2007; 5:11
 22. Panidis D, et al. Evaluation of semen parameters in man with hyperprolactinemia induced by metoclopramide. *Arch Androl.* 1997; 39: 237-242.
 23. De Rosa M, et al. The treatment with cabergoline for 24 month normalizes the quality of seminal fluid in hyperprolactinaemic males. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2006; 64:307-313.

Responsable:

María Elena Hernández Aguilar
 Instituto de Neuroetología, Universidad Veracruzana.
 Av. Dr. Luis Castelazo s/n
 Fracc. Industrial Las Ánimas.
 C.P. 91190 Apartado postal 566
 Xalapa, Veracruz, México.
 Correo electrónico: elenahernandez@uv.mx



ARTÍCULO DE REVISIÓN

Enfermedades Neurodegenerativas: el Caso de la Proteína MeCP2 y el Síndrome de Rett

Neurodegenerative diseases: The case of the MeCP2 protein and the Rett syndrome

¹Rebeca Toledo Cárdenas, ¹Luis Isauro García Hernández, ²Marta Miquel Salgado-Araujo, ¹Ma. Elena Hernández Aguilar, ¹Jorge Manzo Denes

¹Proyecto Mirrus, Instituto de Neuroetología, Universidad Veracruzana

²Área de Psicobiología, Universidad Jaume I, Castellón, España.

Toledo-Cárdenas R, García-Hernández LI, Miquel Salgado-Araujo M, Hernández-Aguilar ME, Manzo-Denes J. Enfermedades neurodegenerativas: el caso de la proteína MeCP2 y el síndrome de Rett. *Rev Med UV* 2007; 7(2): 32-37.

RESUMEN

Las enfermedades neurodegenerativas son aquellas que se distinguen por ser el resultado de una muerte progresiva de neuronas en el sistema nervioso, fundamentalmente en el cerebro. En esta revisión, se presenta el caso del gen MECP2, que codifica para la proteína del mismo nombre: MeCP2. Las mutaciones de este gen y, por tanto, las malformaciones de la proteína llevan a un tipo principal de enfermedad neurodegenerativa: el Síndrome de Rett. Este síndrome es un padecimiento, al parecer, exclusivo del humano, que se desarrolla aparentemente sólo en niñas, cuando éstas tienen alrededor de dos años de vida. La enfermedad se caracteriza por una regresión en el desarrollo de la niña, seguida por una pérdida de funciones motoras y cognitivas. Esto es acompañado por alteraciones gastrointestinales severas y por la aparición de crisis epilépticas. Este padecimiento es prolongado, por lo que las niñas fallecen generalmente después de la pubertad, lo que indica que el paso por su etapa de infancia es en un estado devastador. Este padecimiento tiene muchas características similares al autismo, por lo que varios investigadores lo consideran un caso especial del mismo. La causa del Síndrome

de Rett es una mutación en el gen MECP2, que evita la síntesis adecuada de la proteína MeCP2. Esta proteína es represora de otros genes, y su ausencia hace que esos genes se expresen sin control, lo que lleva a la aparición de la patología. Aún se desconocen cuáles genes son los regulados por la proteína MeCP2, por lo que un acercamiento terapéutico para aliviar los malestares en estas niñas aún está lejos de encontrarse. Esta revisión tiene el propósito de analizar someramente este caso, que ha sido el punto de partida del proyecto iniciado recientemente en nuestra dependencia de la Universidad Veracruzana: el Proyecto Mirrus para el Estudio de Trastornos del Desarrollo y Enfermedades Neurodegenerativas.

Palabras clave: cromosoma X, mutación, gen MECP2, Metilación, Islotes CpG, Autismo

ABSTRACT

Neurodegenerative diseases are the result of a progressive death of neurons in the nervous system, mainly of those located in the brain. This review deals with the specific case of the MECP2 gene

Recibido 08/10/2007 - Aceptado 05/12/2007

that encodes the protein with the same name: MeCP2. Mutations at this gene and, therefore, disfunction of the protein lead to a specific kind of neurodegenerative disease: the Rett Syndrome. This syndrome seems to be specific of humans and develop mainly in girls around two years of age. The disease is characterized by a regression in the development of the girl, followed by the lost of motor and cognitive functions. Furthermore, there are other accompanying misfunctions as severe gastrointestinal modifications and epileptic seizures. A major concern is the long lasting effects of this neurodegeneration, since girls die once they arrive to puberty; thus, their infant period is lived in a devastating situation. Rett syndrome has a number of responses similar to those observed in autism, hence some authors has classified it as a special kind of itself. The cause of the syndrome is the mutation at the *MECP2* gene, which decreases the appropriate synthesis of the MeCP2 protein. This protein is a gene repressor, i.e., when absent several genes became activated without control, triggering the appearance of the syndrome. Still we do not know which genes are regulated by the MeCP2 protein, hence a therapeutic approach to alleviate the sickness of the girls is far from being discovered. This review has the purpose to analyze this case that served as the starting point of the project at the Universidad Veracruzana: the Mirrus Project for the Study of Development Disorder of Neurodegenerative Diseases.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades neurodegenerativas son aquellas que se distinguen por ser el resultado de una muerte progresiva de neuronas en el sistema nervioso, fundamentalmente en el cerebro. La muerte de estas células, aunada a que están inhabilitadas para duplicarse, colocan al individuo en un estado constante de pérdida de funciones, que va desde incapacidad de movimiento corporal hasta la alteración de facultades mentales. Esta degeneración del sistema nervioso es el resultado de diferentes tipos de etiologías; puede ser inducida por agentes externos como virus y otros poco convencionales como los priones, o puede ser intrínseca del sujeto como resultado de mutaciones genéticas. Las mutaciones son las más comunes y, dependiendo de los genes involucrados, producen muerte neuronal en distintas regiones del sistema nervioso, lo que lleva a tener diferentes tipos de enfermedades neurodegenerativas. En esta revisión, nos enfocaremos al caso del gen *MECP2*, que codifica para la

proteína del mismo nombre: MeCP2 (la letra E se modifica para diferenciar el gen de la proteína; más abajo se explica el significado de estas siglas). Las mutaciones de este gen y, por tanto, malformaciones de la proteína llevan a un tipo principal de enfermedad neurodegenerativa: el Síndrome de Rett.

El gen

Las células del cuerpo tienen una organización característica que de manera gruesa permite distinguir un citoplasma y un núcleo. Dentro del núcleo, se distinguen los cromosomas que, en el caso del humano, son 46. Estos cromosomas se organizan en pares, uno proveniente del óvulo y otro del espermatozoide, que se unen durante la fecundación, por lo que tenemos 23 pares de cromosomas. Todos los pares son idénticos excepto uno, el par de cromosomas sexuales que no son iguales. Uno de los cromosomas es denominado X y el otro Y. La organización de los gametos en este sentido es que los óvulos siempre tienen el cromosoma X. Los espermatozoides, por su lado, existen en dos grupos, espermatozoides con el cromosoma X y espermatozoides con el cromosoma Y. La unión de un óvulo con un espermatozoide X origina un individuo XX que se desarrolla en sexo femenino. La unión del óvulo con un espermatozoide Y da origen a un individuo XY que se desarrolla en sexo masculino. Así, un común denominador entre sujetos femeninos y masculinos es que ambos comparten al cromosoma X.

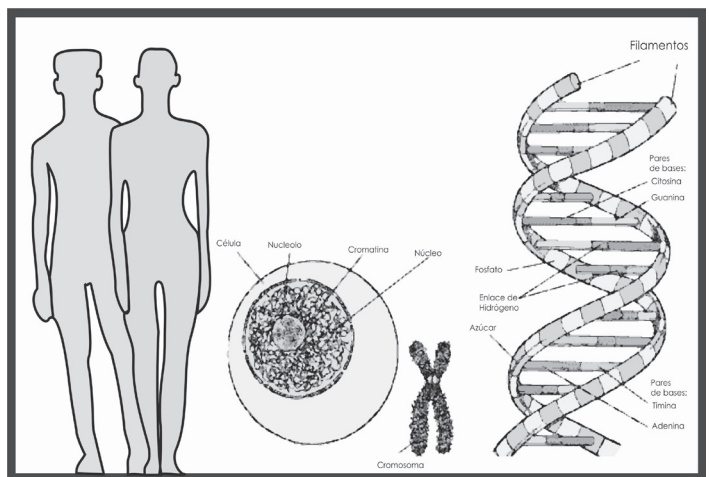


Figura 1. La información genética de un individuo está determinada por la combinación de los genes de cada uno de los padres, y esta información esta almacenada en el DNA que se empaqueta en los cromosomas, y éstos a su vez, se encuentran en el núcleo de las células.

Los cromosomas son estructuras derivadas del empaquetamiento del Ácido Desoxirribonucleico (DNA). El DNA es como una escalera enroscada sobre su eje, en donde cada peldaño representa la unión de dos bases, adenina con timina (A-T) o guanina con citosina (G-C). La secuencia de peldaños con estos pares de bases, es la que da origen a la información genética. Así, por ejemplo, un peldaño A-T, seguido de un G-C y luego de otro A-T, codifica cierta información, pero una secuencia de peldaños A-T, A-T y G-C, codifica para otra distinta. El cromosoma X tiene alrededor de 155 millones de pares de base o peldaños que, empaquetados y organizados por el centromero, forman dos prolongaciones o brazos, uno corto y uno largo. Cierta número de estos pares de base conforman lo que se conoce como un gen, que es una secuencia dentro del cromosoma con el potencial para codificar un producto funcionalmente requerido por el organismo, usualmente una proteína. Los 155 millones de pares de base del cromosoma X, agrupados en secciones funcionales o genes, han llevado a la identificación de aproximadamente 1,500 genes dentro del cromosoma X. Uno de ellos es el gen *MECP2* que se encuentra entre los peldaños 152 y 153 millones, con una longitud de alrededor de 75,000 pares de base, localizados en el extremo del brazo largo del cromosoma X.¹

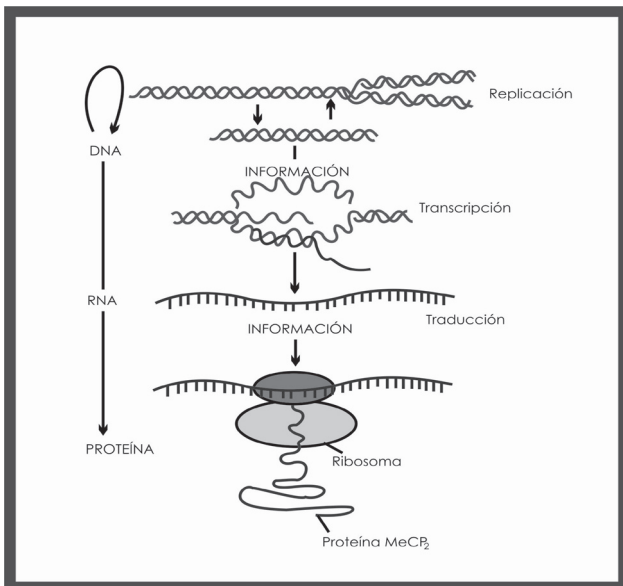


Figura 2. Flujo de información de DNA a RNA y proteínas. La información pasa de una molécula a otra mediante el proceso de replicación. El DNA se copia en RNA en el núcleo, en un proceso llamado transcripción. Posteriormente la información contenida en el ARNm es empleada para construir proteínas en el proceso de traducción.

El gen *MECP2* está compuesto por cuatro exones (secuencias particulares dentro del gen), de los cuales el 2, 3 y 4 contienen la región codificante para la proteína, con una secuencia de aproximadamente 1,500 pares de bases². El exon 1 forma parte de la región promotora del gen. La expresión del gen *MECP2* es ubicua, se expresa en todos los tejidos, pero se ha mostrado que da lugar a un único producto proteico, la proteína MeCP2.

La proteína

La proteína MeCP2 constituye una cadena sencilla de 486 aminoácidos. Forma parte de una familia de proteínas (MBD1, MBD2, MBD3, MBD4 y MeCP1),³ que poseen un dominio funcional característico formado por 80 aminoácidos, conocido como *methyl CpG binding domain* o dominio para la unión con CpG metilados. Muchos tipos de genes dentro de diferentes cromosomas tienen regiones particulares denominadas Islotes CpG, que son secuencias con un alto porcentaje de peldaños o pares de base C-G (la "p" indica la unión fosfodiéster entre C y G). Los islotes pueden sufrir un proceso conocido como metilación, producido por una proteína metiltransferasa del DNA.⁴ La proteína MeCP2 se une a los islotes CpG metilados y, como consecuencia, inhibe la expresión de esos genes, por lo que su nombre es proteína que se une a regiones metiladas CpG (*methyl CpG binding protein*, denominada con sus siglas MeCP2, y el 2 para diferenciarla de la MeCP1 que constituye otro complejo multiproteico).⁵ Así, la función de la proteína MeCP2 es la represión o silenciamiento de otros genes. Sin embargo, aún se desconocen los genes cuya expresión es regulada por la represión inducida por MeCP2. Además de este silenciamiento de diversos genes, la MeCP2 parece tener también un papel regulatorio a nivel post-transcripcional. Después de que algunos genes han formado su mRNA, la MeCP2 induce el proceso de reordenamiento o empalme de este mRNA para formar distintas variantes del mismo y, por tanto, producir variantes de la proteína que se va a sintetizar a partir de ellos.

El papel de la MeCP2 en estos procesos es fundamental para el adecuado desarrollo del cerebro en etapas tempranas, con lo que juega un papel clave en la organización de los diferentes circuitos cerebrales. Esta función central de la proteína MeCP2 se hace notable en el

momento que por diversas alteraciones, la expresión del gen *MECP2* es modificada. La falta de proteína MeCP2 durante el desarrollo hace que los otros genes se expresen sin control, y esto da como resultado la aparición de una patología grave conocida como el Síndrome de Rett.⁶ Esta patología es, por consiguiente, resultado de la expresión descontrolada de un gran número de genes que no están siendo silenciados por la falta de la MeCP2. Considerando que aún se desconocen estos genes regulados por la proteína MeCP2, el estatus para el control terapéutico de esta enfermedad o su cura aún está lejos de poder realizarse.

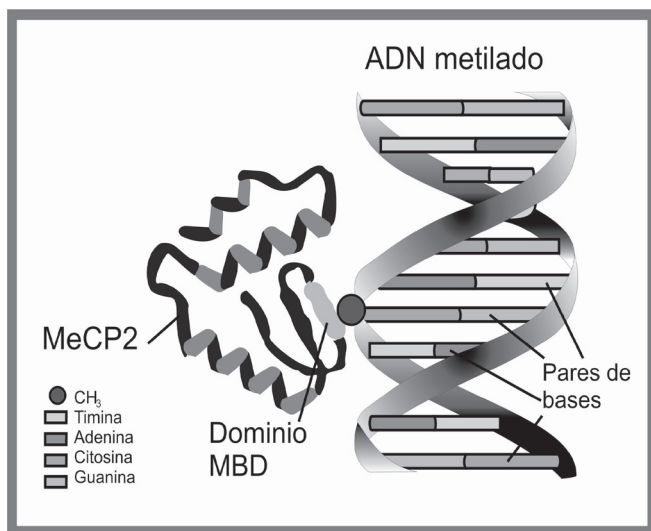


Figura 3. Unión de la proteína MeCP2 mediante el dominio MBD en el sitio CpG del ADN metilado.

El Síndrome de Rett

Este padecimiento fue descrito por primera vez en 1966 por el pediatra austríaco Andreas Rett, quien observó un marcado proceso de retroceso, de tipo motor y cognitivo, en niñas que parecían haber tenido un desarrollo aparentemente normal hasta aproximadamente los 18 meses de edad.⁷ El Síndrome de Rett es un desorden neurodegenerativo que parece afectar principalmente a niñas con una incidencia aproximada de 1 caso en 10 a 15 mil nacimientos.⁸ Se caracteriza debido a que aparece un período de regresión en el que se presentan varias anormalidades, como la pérdida del movimiento voluntario de las manos, desaceleración en el crecimiento de la cabeza (microcefalia),⁹ epilepsia, ataxia y autismo, entre otros.² Sin embargo, se tiene evidencia de que las niñas presentan anormalidades desde el nacimiento y que éstas se hacen evidentes con la edad.

En este sentido, se ha observado que signos de hipotonía, problemas motores, incoordinación y otras dificultades existen previos al período de regresión reportado para la enfermedad.¹⁰ Una vez expresada la enfermedad en las niñas, éstas adoptan una postura con las manos en la que parece que están aplaudiendo y tienen otros movimientos estereotipados como si estuvieran escribiendo o saludando. La permanencia de esta postura es aún inexplicable, pero se presenta en casi todos los casos de niñas enfermas. El desarrollo de la enfermedad las va deteriorando lentamente, hasta que ocurre la muerte después de la pubertad¹¹.

En la mayoría de los casos, la aparición del Síndrome de Rett es por la mutación esporádica del gen *MECP2*, aunque existen algunos casos en que el gen ya estaba mutado en alguno de los padres y así es transferido a la descendencia. Sin embargo, las alteraciones exactas que una niña puede tener aún son difíciles de determinar. Esto porque las mutaciones al gen *MECP2* pueden ser de diversos tipos, desde mutaciones en un exon diferente, del 1 al 4, que pueden ser supresiones del número de pares de bases o adiciones de pares de bases. Cualquiera de estos mecanismos lleva a un producto parecido pero distinto a la proteína MeCP2 normal, pero que modifica la alteración de genes que a la fecha son difíciles de seguir.

Una pregunta que desde el principio surgió es por qué sólo las niñas. Las primeras hipótesis sugirieron que la organización xx del par de cromosomas sexuales les confería cierta protección a las niñas (al tener dos genes *MECP2*, uno en cada cromosoma), con respecto a los niños que, al ser xy, y por tanto tener sólo un gen, son más vulnerables. Esta hipótesis no pudo ser probada hasta la aparición de modelos animales, como algunos ratones. Actualmente existen tres modelos predominantes de ratones modificados genéticamente que presentan una mutación en el gen *MECP2* y desarrollan patrones similares al Síndrome de Rett en humanos. Se ha observado en estos animales,¹² que la alteración del gen en machos es letal a nivel embrionario, por lo que se sugiere que la presencia de niños Rett es extremadamente rara dada su baja sobrevivencia en etapa embrionaria; esto es, no llegan a nacer. Sin embargo, se han encontrado ya algunos niños Rett, en los que se desconoce la causa de su relativa sobrevivencia, pero que presentan síntomas de deterioro mental mucho más severos

que las niñas. Esto ha llevado a proponer que el grado de mutación del gen *MECP2* parece estar correlacionado con la severidad del síndrome, aspecto que aún se encuentra bajo investigación.¹³

La mutación del gen *MECP2*, con la consecuente alteración en la síntesis de la proteína MeCP2, tiene como resultado inicial una regresión en el crecimiento del cuerpo de las neuronas, una reducción en el tamaño de las dendritas y una reducción de la capacidad de estas neuronas de establecer contactos sinápticos, que eventualmente llevan a la muerte de las neuronas. Como consecuencia, el tamaño de las regiones cerebrales en donde se observan estos cambios se ve reducido. Así, se observan reducciones significativas en el hipocampo, la corteza cerebral y el cerebelo. Estas tres estructuras ocupan lugares centrales en el establecimiento de funciones cognitivas y motoras, por lo que sus alteraciones son las que llevan a todas las características observadas en sujetos Rett¹⁴.

El Síndrome de Rett expresa muchas características similares al autismo, por lo que ha sido agrupado dentro del patrón de enfermedades autistas. A la fecha, se ha observado que en un alto porcentaje de personas autistas, la alteración en la expresión de la proteína MeCP2 también se encuentra presente. Considerando todas las alteraciones funcionales y conductuales que se presentan tanto en el autismo como en el Síndrome de Rett, una de las hipótesis que se tiene actualmente es que la proteína MeCP2 tiene la función de silenciar genes directamente relacionados con la conducta social de los individuos. Sin embargo, esto está aún lejos de ser investigado.

DISCUSIÓN

El gen *MECP2* y su producto, la proteína MeCP2, juegan un papel fundamental durante el desarrollo y el funcionamiento en etapa adulta de diversas neuronas en el sistema nervioso central. Las neuronas, por su parte, se encuentran en sitios clave para el desarrollo de funciones motoras y cognitivas. Las mutaciones en el gen, que producen una síntesis errónea de la proteína, causan como principal efecto el Síndrome de Rett. Sin embargo, los avances en la investigación de este gen y de la proteína parecen llevar a la hipótesis de que no sólo se produce el Síndrome de Rett, sino que al parecer estas mutaciones también subyacen

al desarrollo de otras enfermedades neurodegenerativas como el autismo o el Síndrome de Asperger. Todas estas propuestas, que muestran el avance incipiente en este tipo de estudios, indican que la proteína MeCP2 es un producto funcional de extrema importancia para el funcionamiento del cerebro, cuyo estudio se está convirtiendo en una piedra angular para el entendimiento de algunas enfermedades neurodegenerativas que actualmente siguen apareciendo en un número cada vez más alto de nacimientos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Wan M, et al. Rett syndrome and beyond: Recurrent spontaneous and familial *MECP2* mutations at CpG hotspots. *Am. J. Hum. Genet* 1999; 65: 1520-9.
2. Nagai K, Miyake K, Kubota T. A transcriptional repressor MeCP2 causing Rett syndrome is expressed in embryonic non-neuronal cells and controls their growth. *Develop Brain Res* 2005; 157: 103-6.
3. Nakao M, et al. Regulation of transcription and chromatin by methyl-CpG binding protein MBD1. *Brain Dev.* 2001; 23: 174-6.
4. Nan X, Bird A. The biological functions of the methyl-CpG-binding protein MeCP2 and its implications in Rett Syndrome. *Brain Dev* 2001; 23: 32-7.
5. Boyes J, Bird A. DNA methylation inhibits transcription indirectly via a methyl-CpG binding protein. *Cell* 1991; 64: 1123-34.
6. Christodoulou J, Weaving LS. MeCP2 and Beyond: phenotype-genotype correlations in Rett Syndrome. *J Child Neurol.* (2003). 18: 669-74.
7. Bienvenu T, et al. The Incidence of Rett Syndrome. *Pediatric Neurology* 2006; 372-4.
8. Caballero IM, Hendrich B. MeCP2 in neurons: closing in on the causes of Rett syndrome. *Hum Mol Genet.* 15;14 Spec No 1:R19-26. Review Erratum in: *Hum Mol Genet.* 2005; 15; 14 (14): 2089.
9. Takagi N. The role of X-chromosome inactivation in the manifestation of Rett syndrome. *Brain Dev* 2001; 23: 182-5.
10. Leonard H, et al. Genotype and early development

- in Rett syndrome: The value of international data. *Brain Dev* 2005; 27: 59-68.
11. Moretti P, Zoghbi H. MeCP2 dysfunction in Rett syndrome and related disorders. *Curr Opin Genet Dev* 2006; (16) 3: 276-81.
12. Sung Jae lee S, Wan M, Francke U. Spectrum of MECP2 mutations in Rett syndrome. *Brain Dev.* 2001; 23: 138-43.
13. Moog U, et al. MECP2 mutations are an infrequent cause of mental retardation associated with neurological problems in male patients. *Brain Dev.* 2006; 28: 305-10.
14. Shahbazian M, Zoghbi H. Rett syndrome and MeCP2: linking epigenetics and neuronal function. *Am J Hum Genet* 2002; 71:1259-72.

Responsable:

Dr. Jorge Manzo Denes

Instituto de Neuroetología

Universidad Veracruzana

Tel. (228) 8418900 Ext. 13607; Fax Ext. 13611

Correo Electrónico: jmanzo@uv.mx

Sitio Web: www.uv.mx/mirrus



ARTÍCULO DE REVISIÓN

Genética y Biología Molecular

Genetics and Molecular Biology

Víctor Antonio Tejeda Moreno

Instituto de Ciencias de la Salud, Universidad Veracruzana

*Tejeda-Moreno VA. Genética y Biología Molecular.
Rev Med UV 2007; 7(2): 38-53.*

RESUMEN

En este Artículo reviso las relaciones existentes entre la Genética y la Biología Molecular; así mismo, sus interacciones y sus diferencias, sin ocurrir en el reduccionismo, en beneficio de ambas disciplinas. Los aspectos moleculares se definen y ponen en interacción, para su mejor comprensión. Los conceptos de intrones, exones, DNA (s), RNA (s) y otros, se manejan de manera rigurosa y sencilla. Mi Artículo carece de figuras: todo se maneja de una forma genética-biológica, sin descuidar los aspectos bioquímicos.

Palabras clave: Genética, Biología Molecular, Reduccionismo, Aspectos Bioquímicos, Intrones, Exones, DNA (s), RNA(s).

ABSTRACT

In this text, I look at the relations between Genetics and Molecular Biology; at the same time, I see their relations and differences, without paying attention to reductionism for the sake of both disciplines. I define molecular aspects and correlate their actions for better understanding. The concepts of introns, exons, DNA (s), RNA(s) and so are used precisely and easily. I offer no illustrations. I manage every thing genetic-biologically, paying also attention to biochemical aspects.

Key words: Genetics, Molecular Biology, Reductionism, Biochemical Aspects, Introns, Exons, DNA (s), RNA(s).

Recibido 25/07/2007 - Aceptado 05/12/2007

INTRODUCCIÓN

Las relaciones entre la Genética y la Biología Molecular son muy estrechas y, por consiguiente, fáciles de analizar y discutir. Se inicia mi trabajo con el análisis de la Genética, lo continúo con el de la Biología Molecular, para, finalmente, hacer una discusión de las dos disciplinas. Debe tenerse en cuenta que la Genética es no sólo la ciencia de “moda”, porque así lo han exigido otras disciplinas relacionadas con la Medicina, sino que, también, es el paradigma de la Biomedicina.

Resulta difícil leer o estudiar un libro de medicina interna contemporáneo, cuyos capítulos no traigan como su inicio el enunciado: “El impacto de la Biología Molecular en la medicina”; lo que viene a conformar lo hasta aquí escrito. Genética y Biología Molecular son ciencias hermanas que sólo se distancian en la aplicabilidad de las mismas, así como en su uso corriente. La expresión anterior quiere decir que la aplicabilidad de las dos ciencias es la que las hace tomar senderos diferentes. La Genética es una ciencia que data del año 1865, pero que es redescubierta casi 35 años después, gracias a los trabajos de los citólogos¹; la Biología Molecular nace el siglo pasado, gracias a los trabajos de Beadle y Tatum, y sus trabajos con *neurospora crassa*; más adelante volveré sobre esto.

JUSTIFICACIÓN

El presente trabajo encuentra su justificación en que, realizando relaciones binarias se han explorado las relaciones existentes entre la Genética y la Biología Molecular, ciencias éstas que parecen predominar en el panorama de la Teoría de las Ciencias contemporánea.

Sin limitar la estructura del trabajo a un estudio métrico, se han interrelacionado la dos ciencias citadas, destacando lo más importante de cada una. No se ha olvidado la Historia de las Ciencias, pues ocurre que por ignorarla, muchos descubrimientos han pasado por originales, siendo que son de tiempo atrás.

La Genética y la Biología Molecular se relacionan íntimamente, hecho que he demostrado de manera clasificatoria, comparativa y métrica.

El cuerpo del trabajo es biológico, porque la Genética es una rama de la Biología, en la misma media en que la Biología Molecular es rama de la Biología.

Los ejemplos médicos sirven para ilustrar lo que antes se ha llamado el impacto de la Biología Molecular en la Medicina y en la Genética misma.

Gracias a su estructura simétrica y reflexiva, no sólo comparativa, el trabajo conserva la forma de *corpus*, que toda publicación requiere.

GENÉTICA

La voz “genética”, proviene del griego, y significa **llegar a ser**.

La Genética Humana estudia todas aquellas características que el hombre hereda de sus progenitores, y que pueden ser físicas o mentales, normales o anormales. El mejor método para estudiar una alteración genética es el estudio integral de la familia, comenzando por el *propositus*, es decir, por el caso índice. Los grandes avances de la Genética no Humana se debieron al material estudiado; Mendel estudió chícharos, otros investigadores (Morgan) estudiaron moscas, para el caso de Morgan, *Drosophila Melanogaster*, o mosca de la fruta; después, la investigación pasó a las bacterias, mismas que se reproducen exponencialmente y, por lo tanto, sus resultados pueden apreciarse en horas o a más tardar en tres o cuatro días. Es por esto que el estudio de la Genética Humana parecía imposible (piénsese que un embarazo dura 40 semanas), pero la perseverancia le ganó al tiempo².

Fue hasta el siglo XVII cuando Malpighi propuso la hipótesis del homúnculo o de la “preformación” que dice que el organismo por entero se encuentra completamente preformado en el óvulo y que, posteriormente, sólo crece. Aún después del descubrimiento del espermatozoide en 1677 se mantuvo la hipótesis de la preformación, pero con la variante de que algunos creían que el individuo se encontraba preformado en el semen y que solamente se desarrollaba gracias a la madre.

Curiosamente, en la literatura médica del siglo XVIII y principios del XIX, se encuentran consignados algunos hechos que nos demuestran que a veces la pura observación es suficiente para interpretar la herencia de algunas enfermedades. Maupertuis, por ejemplo, describió en 1752 una familia con polidactilia en cuatro generaciones y consignó que la anomalía era transmitida tanto por el padre como por la madre. Como hoy sabemos, la polidactilia

que este autor reportó, se transmite de manera autosómica dominante¹.

Ya en los siglos XVIII y XIX, anteriores a Mendel, están los de Knight en 1799 y los de Goss en 1824. Ambos autores trabajaron con el chícharo, la misma planta que Mendel ocuparía.

La Genética Humana se inicia como ciencia en 1865, gracias a los trabajos de Mendel. El genial investigador presentó los resultados originales de sus experimentos ante la Asociación de Ciencias Naturales en Brün en el ya citado año de 1865, y los publica bajo el título *Experimentos en la Hibridación de las Plantas*². Como es muy conocido los trabajos geniales de Mendel pasaron inadvertidos por 35 años, hasta que fueron redescubiertos, en forma totalmente independiente, en 1900, por tres investigadores Correns, Tschermak y Vries.

A partir de ahí se establecieron los principios científicos de la Genética Moderna. Mendel dedujo tres leyes fundamentales de sus trabajos: la Ley de Segregación, la Ley de Segregación Independiente y el concepto de **gen**, al que él llamó "factor"³.

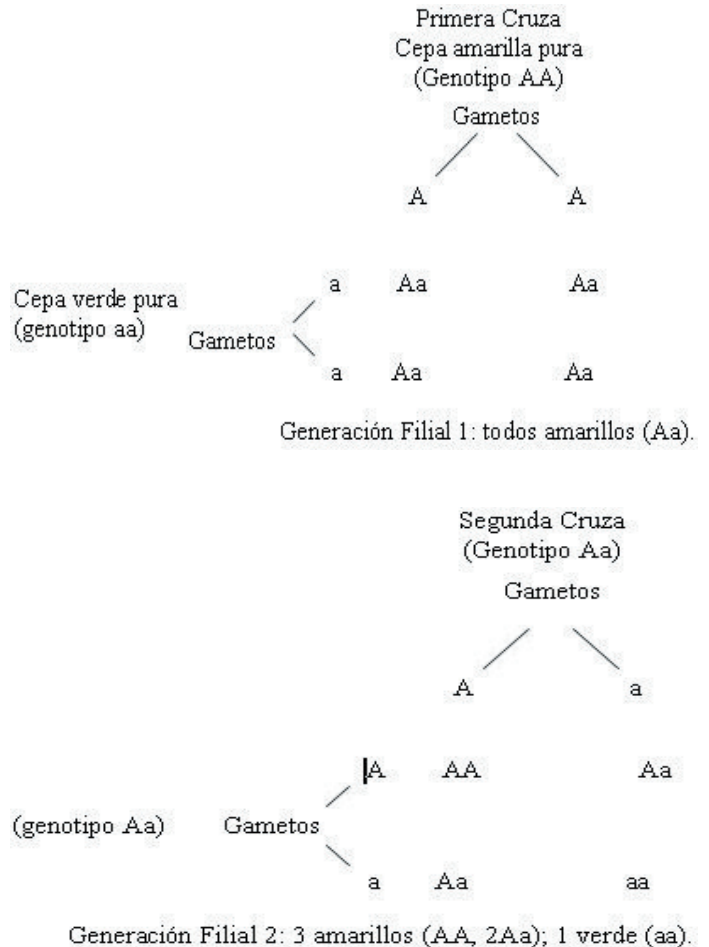
MENDELISMO

Todos los individuos tienen genes, cuyo número para nuestra especie ha sido precisado como de 32 850 a 33 220. Cuando un individuo tiene un par de genes iguales, se dice que es **homocigoto**, por ejemplo los genes AA; cuando posee los genes Aa se dice que es **heterocigoto**.

El gen determinante de un carácter que se manifiesta plenamente en el heterocigoto se llama *dominante*, y *recesivo* al que sólo se presenta en el estado homocigoto (aa).

Existen excepciones a esta regla, así por ejemplo la herencia **codominante**, que podemos ver en el sistema sanguíneo ABO.

Mendel obtuvo siempre, en todos sus experimentos la proporción 3:1, aunque estudiara miles de plantas de chícharos y las 7 características que en ellas estudió, por ejemplo: color y altura de las plantas. Los estudios de Mendel son demasiado conocidos como para que abunde más en ellos, sólo quisiera destacar que la proporción 3:1 fue determinante para las conclusiones de Mendel. Veamos dos ejemplos.



La herencia mendeliana monogénica o simple, lo mismo la autonómica que la ligada al cromosoma X, puede ser dominante, recesiva o codominante. El sistema de grupos sanguíneos ABO sirve para ejemplificar las tres situaciones: 1.- Los individuos homocigotos para el gen A (dosis doble) o heterocigotos para los genes A y O, son fenotípicamente de grupo sanguíneo A y un fenómeno similar ocurre para los individuos BB y BO, que son del grupo B; en ambos casos A y B son dominantes en relación al gen O; 2.- El grupo sanguíneo O sólo se da en sujetos homocigotos para este gen, por lo que es recesivo, y 3.- Las personas con un gen A y el otro B tienen el grupo AB, por lo que A y B son codominantes^{1, 3, 4}.

HERENCIA LIGADA AL SEXO

Cuando se descubrió el paralelismo entre el ciclo del cromosoma X y la determinación del sexo, los investigadores pensaron que otros genes, además de los que determinaban

el sexo, estaban localizados en ese cromosoma. El primer carácter ligado al sexo fue encontrado, en 1906, por Doncaster, en la mariposa nocturna *Abraxas grossulariata*. Cuando se hicieron cruzamientos recíprocos entre los miembros de variedades laticolores, es decir en las que resultan de la cruce, las características laticolores tuvieron un molde que seguiría la segregación del cromosoma X. Cuando se hicieron cruces entre hembras laticolores y machos normales, todas las mariposas de la F1 presentaron apariencia normal; en la F2 $\frac{1}{4}$ presentaron laticolores (como se esperaría para la expresión de un gen recesivo), pero todos los especímenes laticolores fueron hembras. El gen fue localizado en el cromosoma X y las mariposas nocturnas hembras fueron heterogaméticas. Cuando las hembras laticolores se cruzaron con machos F1, la mitad de los machos y la mitad de las hembras fueron laticolores. Al cruzarse los machos laticolores con las hembras F1, todas las hembras producidas fueron laticolores; y todos los machos fueron normales (heterocigotos).

La primera evidencia experimental amplia de herencia ligada al sexo en una especie con machos heterogaméticos la realizó en 1910 T. H. Morgan, con el descubrimiento de un mutante de ojos blancos en *Drosophila*. Un solo macho de ojos blancos apareció en un cultivo de moscas de ojos rojos. Evidentemente, un gen había sufrido un cambio o mutación que resultó en la alteración de una o más reacciones bioquímicas en el desarrollo de la mosca y los ojos fueron blancos en lugar de rojos. El macho de los ojos blancos se cruzó con una hembra de ojos rojos. Las moscas F1 fueron todas de ojos rojos, pero la F2 incluyó tanto moscas de ojos rojos como de ojos blancos en proporción de 3:1, respectivamente. Esta proporción familiar sugirió que el gen para ojos rojos era dominante sobre su nuevo alelo para el color blanco, empero observaciones más detalladas mostraron que todas las moscas de ojos blancos en la generación F2 eran machos; cerca de la mitad de los machos F2 tenían ojos blancos y la otra mitad, ojos rojos; pero todas las hembras tenían ojos rojos. Aparentemente, el gen o alelo recesivo sólo se expresaba en los machos. Morgan dio esta explicación al asociar el gen con el cromosoma X.

Debido a que la mosca macho tenía solamente un cromosoma X y un cromosoma diferente Y, se postuló que

un gen simple para los ojos rojos era capaz de expresarse en ausencia de su alelo. La palabra **hemicigoto** se usa para describir aquellos machos que tiene sólo un miembro de un par alelomorfo de genes. En el humano, el varón es **hemicigoto**, porque posee un cromosoma Y del padre y un cromosoma X de la madre. Volviendo a la mosca, el gen mutado presenta en el cromosoma X de los machos de ojos color blanco originales, paso a sus hijas y transmitieron un cromosoma Y a sus hijos. Todas las hijas, por tanto, eran portadoras del gen. Los machos F2 hemicigóticos obtuvieron su cromosoma X de sus madres heterocigóticas. El 50% de ellos recibieron el gen w^+ y desarrollaron ojos rojos, y el otro 50%, recibió el gen w y desarrollo ojos blancos. Las proporciones iguales de ojos rojos y ojos blancos en los machos F2 se explicaron sobre la base de la segregación de los cromosomas X de las madres F1 a sus hijos.

¿Pudieron aparecer hembras de ojos blancos? A partir de la hipótesis de que el gen era llevado en el cromosoma X, Morgan predijo que se podía originar una hembra del genotipo ww y tendría los ojos blancos. Esto se probó experimentalmente cuando se hicieron cruzamientos entre machos con ojos blancos y hembras F1 con ojos rojos (ww^+). De estas cruces, la mitad de la cantidad de las hembras así como la mitad de la de los machos tuvieron ojos blancos como se había predicho. Los machos y las hembras de ojos blancos se cruzaron entonces y se produjo así un cultivo de moscas de ojos blancos, línea que fue establecida y mantenida y se encuentra en la actualidad en no pocos laboratorios de Genética. Desde el hallazgo de Morgan, la mutación de ojos blancos ha ocurrido espontáneamente en varias ocasiones.

En el humano, la expresión ligada al X se usa para precisar que un gen se encuentra en el cromosoma X, tal y como ocurre en las hemofilias A y B. Las mujeres son portadoras y transmisoras; los hombres padecen la alteración en un 50%. Ahora bien, existen excepciones: una mujer podía padecer una hemofilia o un síndrome de Taybi, si el cromosoma X portador del gen alterado se inactiva, como en efecto ha ocurrido. La mujer es, cromosómicamente hablando, XX; el varón es XY. Uno de los cromosomas X de la mujer se inactiva, siguiendo la Teoría de Lyon y vuelve a activarse muy temporalmente y por poco tiempo. En el hombre no ocurre este fenómeno. Se dice que se inactiva

el cromosoma X menos competitivo biológicamente, pero en ocasiones se inactiva el más competitivo dejando al más “débil” en acción, lo que explica la aparición de enfermedades ligadas al cromosoma X en la mujer¹.

ERRORES INNATOS DEL METABOLISMO

En 1902 Archibald Garrod publica su artículo “La Incidencia de la Alcaptonuria: un estudio de la individualidad química”, que constituye el primer ejemplo de lo que hasta hoy día se llama Errores Innatos del Metabolismo. El trabajo de Garrod no fue apreciado por sus contemporáneos; los biólogos prestaron poca atención a la labor científica de ese médico y se mostraban más interesados, en apariencia, en los aspectos “formales” de la genética que en los mecanismos de acción de los genes. Aunque fue un biólogo, Bateson, quien impulsó a Garrod a aplicar las Leyes de Mendel al estudio de sus pacientes, Garrod fue reconocido muchos años después.

Escribió Garrod el artículo citado “...hasta donde sabemos un individuo es o francamente alcaptonúrico o es normal; es decir, o excreta varios gramos al día de ácido homogentísico o no excreta absolutamente nada de él. La presencia del ácido, ya sea en trazas o en cantidades gradualmente crecientes o decrecientes nunca ha sido observada”. Y continúa “... esa peculiaridad es, en la mayor parte de los casos, congénita”. Prosigue “... la anomalía puede manifestarse en dos o más hermanos o hermanas cuyos progenitores son normales y entre cuyos antecesores no hay evidencia de que haya ocurrido”.

Enseguida Garrod menciona las Leyes de la Herencia de Mendel, una de las cuales ofrece “una explicación razonable de la enfermedad que es compatible con un modo de herencia recesiva”. Garrod resume sus hallazgos en varios postulados de los que sobresalen por su importancia dos: 1.- Además de la alcaptonuria pueden existir otras formas similares de cambios metabólicos alternativos. Por ejemplo, el albinismo y la cistinuria. 2.- Estas alternativas metabólicas pueden ser extremas y, por tanto, ejemplos conspicuos de un principio con aplicabilidad muchos más amplia. Vista así, la alcaptonuria se convierte en paradigma de los Errores Innatos del Metabolismo; así, Garrod creó un nuevo campo dentro de la Genética Humana: la Genética Bioquímica^{5,6}.

BIOLOGÍA MOLECULAR Y BIOQUÍMICA DE LOS ÁCIDOS NUCLEICOS DNA

Una de las propiedades más importantes que tienen los organismos vivos es su capacidad esencial para **replicarse**. En los seres vivos, esta capacidad viene dada por los ácidos nucleicos. Veremos, para seguir un orden, al DNA primero.

En 1869 el médico suizo Friedrich Miescher, trabajaba en el laboratorio del bioquímico alemán Felix Hoppe-Seyler, en leucocitos que obtenía del pus de pacientes que estaban en el posoperatorio. Miescher encontró una sustancia que formaba un precipitado cuando era tratada con álcalis, rica en carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno y un elevado porcentaje de fósforo; nuestro autor llamó a la sustancia nucleína y, más tarde, cuando se percató de su carácter ácido, la denominó ácido nucleico.

Sesenta años después, en la década de los 30's del siglo pasado, Phoebus Levene, ayudado por Albrecht Kossel realizó estudios bioquímicos más profundos y descubrió que el ácido nucleico de Miescher estaba compuesto por:

- 1.- Una base nitrogenada heterocíclica.
- 2.- Una pentosa, es decir, un azúcar de cinco carbonos y un radical oxidrilo que es la 2'-desoxi-D-ribosa.
- 3.- Ácido fosfórico a manera de fosfato (PO₄).

Hablando con más propiedad, el autor citado encontró cuatro bases nitrogenadas heterocíclicas: adenina (A), guanina (G), citosina (C) y Timina (T). Las dos primeras son **púricas**, y C y T son **pirimídicas**. Las cuatro bases provienen del benceno y las dos primeras tienen dos anillos. Como veremos, en el RNA la Timina se cambia por Uracilo (U). Debo adelantar, desde ahora, que la Adenina es en ocasiones confundida bioquímicamente por las enzimas que metabolizan un medicamento, el **metronidazol**, lo que predispone para cáncer; por ello este fármaco debería ser retirado del mercado, ya que sólo sirve para curar el absceso hepático amebiano.

Cuando una base nitrogenada heterocíclica se une a la pentosa citada, gracias a un enlace covalente llamado α -N-glucosídico, se forma un **nucleósido**; al unirse el fosfato, se forma un **nucleótido**. El fosfato se une a la pentosa por un enlace fosfodiéster llamado 5'-3'; la reacción de esterificación ocurre entre el fosfato como ácido fosfórico

y la pentosa, ya que los azúcares se consideran derivados cetónicos y aldehídicos de los alcoholes polivalentes.

Todos los nucleótidos en una cadena polinucleotídica tienen la misma orientación relativa, de modo que si en el primer nucleótido el carbono 5' está por encima del anillo de pentosa y el carbono 3' por debajo, la posición del carbono 5' se mantiene en los nucleótidos restantes. Por tanto, una cadena polinucleotídica es direccional y la dirección de avance se define como $5' \rightarrow 3'$, es decir, partiendo del C-5' del azúcar, a través del C-4', al C-3' que conecta con el siguiente fosfato. Los extremos de las cadenas polinucleotídicas se denominan 5' y 3', denotando la dirección de las cadenas. **Los enlaces fosfodiéster de las dos hebras entrelazadas avanzan en dirección opuesta, es decir, las dos cadenas son antiparalelas.** Esto se debe a que los dos esqueletos de azúcar fosfato rodean el exterior de las bases como un pasamanos de una cadena espiral y están expuestos al medio acuoso. Los anillos aromáticos de las bases son hidrofóbicos y se apilan en el interior casi perpendicularmente al eje de la hélice. Como los enlaces fosfodiéster avanzan en dirección opuesta, las dos cadenas son antiparalelas. (*vide supra*).

La fracción molar de cada base en una muestra de DNA, es decir, la composición de bases, puede determinarse hidrolizando la muestra y analizando cuantitativamente los productos. Debido a que la separación y el análisis cuantitativo eran difíciles, la composición de bases del DNA no se determinó hasta 80 años después de su descubrimiento, cuando se inventó la técnica de cromatografía en papel. A finales de los años 40's Erwin Chargaff empleó la cromatografía en papel para determinar la composición de bases de muestras de DNA aisladas de diferentes organismos, encontrando que el número de moles de A y T, por un lado, y el número de moles de C y G, por otro eran iguales. Aunque el significado de esta observación no se comprendió por aquel entonces, pudo explicarse más tarde en términos de la estructura del DNA.

Así, hacia 1950 se supo que el DNA era un polímero lineal de residuos de 2'-desoxirribonucleótidos unidos por enlaces fosfodiéster 5'-3' y que contenía 4 residuos de nucleótidos distintos dA, dT, dC y dG, es decir, las bases escritas junto con la inicial de la pentosa (*vide supra*), de forma que los pares de dA y dT, y dC y dG se encuentran

en cantidades equimoleculares. En 1953, James Watson y Francis Crick determinaron la estructura tridimensional del DNA. Empleando los estudios de difracción de Rayos X de fibras de DNA obtenidos por Rosalind Franklin y Maurice Wilkins, Watson y Crick elucidaron esa estructura mediante una combinación de análisis de datos de difracción de Rayos X, de modelos teóricos y de intuición. Estos autores compartieron, en 1962, el Premio Nobel por el descubrimiento de la estructura del DNA.

Así, se tiene que el DNA es una **doble hélice**. En ella, cada una de sus dos hebras se enrolla alrededor del eje central generalmente en forma de hélice dextrógira. Los dos esqueletos de azúcar fosfato rodean el exterior de las bases y protegen a éstas.

Cada Adenina de una cadena del DNA está unida mediante enlaces de hidrógeno a la Timina de la segunda cadena, al igual que cada Guanina a una Citosina. (Se entiende por puente de hidrógeno al enlace químico débil que se forma entre dos moléculas de agua o más, cuando el oxígeno de una molécula atrae a uno de los hidrógenos de otra molécula; los enlaces débiles, como los puentes de hidrógeno, las fuerzas de Van der Waals y otras son de capital importancia en Biología).

Los apareamientos AT y CG son los idóneos, mientras que los AC y GT son improbables debido a la química de las bases. Los átomos de hidrógeno pueden desplazarse en las bases del DNA de un átomo de nitrógeno o de oxígeno a otro; estos desplazamientos de protones, llamados reacciones de tautomerización, interconvierten las posiciones de los dadores y los aceptores de enlaces de hidrógeno en los apareamientos de bases. En condiciones fisiológicas normales los equilibrios de tautomerización están desplazados hacia las formas ceto y amino ($C=O$, ceto) y ($C-NH_2$, amino).

El DNA que describimos es el B-DNA; ya que existen el A-DNA, C-DNA, Z-DNA.

El DNA tiene dos surcos, siendo el menor aquél que se forma de trazar una línea imaginaria entre las bases de las pentosas y una línea superior entre las pentosas, se toman siempre como ángulos las bases de la pentosa en cuestión, estos surcos mayor y menor dan origen al ángulo menor y al ángulo mayor. El DNA puede tomar distintas conformaciones bajo diferentes condiciones físicas, la B es

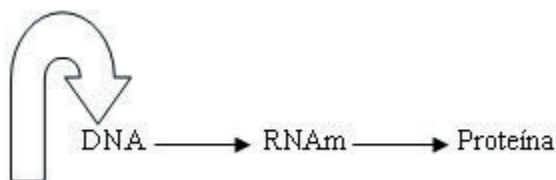
la más común y la que tenemos los humanos. Por medio de estudios de difracción de rayos X se han obtenido los siguientes resultados: la hélice completa una vuelta cada 10.4 pares de bases aproximadamente. Una vuelta de hélice cubre una distancia de 3.4 nm; por lo tanto, cada par de bases incrementa la longitud de la hélice en 0.33 nm. Los nucleótidos adyacentes en cada cadena están desfasados en 34.6° uno con respecto al otro. El diámetro de la doble hélice es de 2.37 nm. (Un nanómetro –nm- equivale a 10⁻⁹ metros).

En los animales superiores, incluido el hombre, el B-DNA se encuentra asociado a histonas, que son proteínas, siendo las topoisomerasas las que cambian el número de uniones del DNA. Al complejo DNA-histonas se le llama **cromatina**.

La holoenzima DNA polimerasa III, cataliza la síntesis de DNA en el medio intracelular, este descubrimiento se debe a Arthur Kornberg, quien ganó el Premio Nobel.

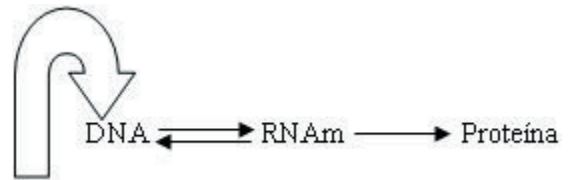
RNA (s)

Las moléculas de DNA, por sí solas, no realizarían el mensaje genético; es necesario el concurso de otras moléculas y otros elementos. Antes de describir a los RNA (s), es necesario enunciar el dogma central de la Biología Molecular, postulado por Watson y Crick:



La flecha curva sobre el DNA nos indica la **replicación** del mismo (*vide supra*), la flecha longitudinal del DNA al RNAm (ácido ribonucleico mensajero) nos señala el paso del mensaje genético, es decir, la **transcripción**, la flecha que va del mensajero a la proteína nos marca la traducción, o sea, el paso del mensaje genético hasta su conversión a proteína.

Muchos años después, H. Temin realizó una modificación al dogma central de la Biología Molecular: indicó el paso de la transcripción del RNAm al DNA, gracias a la enzima transcriptasa inversa:



La transcripción especifica más o menos aquellos segmentos de DNA que contienen información, dado que la mejor definición operativa de un gen es la de un segmento de DNA que es transcrito y que determina un producto simple (una cadena de polipéptido). La transferencia de información del DNA a las proteínas requiere la participación de varios tipos de moléculas de RNA. Un tipo de éstas, la molécula de RNAt, transporta los aminoácidos del ribosoma para la síntesis de proteínas. Otro tipo, también muy importante, es el RNAr, es decir, el ácido ribonucleico ribosomal que constituye la mayor parte del ribosoma. Los genes del RNAt y del RNAr se presentan en copias múltiples en el genoma, ya que para tener elevada la tasa de biosíntesis de proteínas se necesitan miles de moléculas de RNAt y RNAr. En *E. coli* los tres genes diferentes que codifican el RNAr y algunos genes que codifican el RNAt están mezclados y se transcriben en forma de un RNA precursor grande que se escindirá subsiguientemente en moléculas maduras de RNA. Los conjuntos de genes bacterianos que se cotranscriben se denominan *operones* (*vide infra*).

Una tercera clase de moléculas de RNA es el RNA mensajero (RNAm), que contiene la información que especifica la secuencia de las proteínas. El descubrimiento del RNAm fue debido, en gran parte, al trabajo de Jacob y Monod y de sus colaboradores en el Instituto Pasteur de París. A principios de los años 60's, sus resultados pusieron de manifiesto que los ribosomas participan en la síntesis de proteínas traduciendo una molécula inestable de RNA, el RNAm, y que la secuencia de este RNA es complementaria a una de las cadenas del DNA. En todos los organismos las moléculas de RNAm son menos estables que las moléculas que las de RNAt y de RNAr, el RNAr da cuenta de la mayor parte del RNA celular, mientras que el RNAm es sólo un porcentaje minoritario (nivel estacionario = 3%; capacidad de síntesis = 32%). Sin embargo, si se comparan las velocidades de síntesis del RNA con sus niveles estacionarios se ve que la célula emplea casi un tercio de su

capacidad de síntesis de RNA en la producción de RNAm.

Al mismo tiempo que se identificó el RNAm, los investigadores de los laboratorios de J. Hurwitz, A. Stevens y de S. Weiss, descubrieron independientemente una enzima que catalizaba la síntesis de RNA a partir de una molécula molde de DNA y ATP, UTP, GTP y CTP. (El ATP corresponde a adenosintrifosfato, el UTP a uridintrifosfato, el GTP a guanosintrifosfato y el CTP a citosintrifosfato. Estas moléculas son **nucleótidos cíclicos** que provienen del azúcar –pentosa- **ribosa**, que es la propia de los ARN (s), así como los nucleótidos cíclicos que constituyen al DNA tienen su propia fórmula que empieza con d, por la pentosa de este ácido. El ATP se considera la moneda de cambio de la célula, su principal función es la de proveer de energía a muchos procesos biológico moleculares, entre otros la de formar parte de los RNA(s).) Esta enzima descubierta es la RNA polimerasa y cataliza la síntesis de RNA dirigida por DNA o *transcripción*. La DNA polimerasa tiene otras funciones además de la de dirigir la biosíntesis del mensajero. Es una **holoenzima**, es decir, la enzima más su sustrato o grupo prostético, que tiene una estructura cuaternaria, esto es, está integrada por cinco subunidades. (La estructura primaria de una proteína está determinada por la secuencia de aminoácidos que la forman; la estructura secundaria está dada por el orden de los aminoácidos dentro de la proteína; la estructura terciaria por la función de la proteína y la cuaternaria hace referencia a si tiene una sola unidad o varias.) De las cinco subunidades que forman a la RNA polimerasa, sólo cuentan la α^1 , β^1 , β^2 y la γ no tiene función específica. Un ejemplo de lo antes escrito es el siguiente: en 1910, Eric observó en los eritrocitos de un individuo negro con anemia grave, células en forma de hoz (célula drepanocítica o falciforme), pero fue hasta 1949, con el advenimiento de las técnicas electroforéticas, cuando Pauling, Itano, Singer y Wells demostraron, en los individuos portadores de drepanocitos una hemoglobina de movilidad electroforética diferente a la normal y la denominaron hemoglobina S. Neel probó que los pacientes con anemia grave y eritrocitos en forma de hoz eran homocigotos (*vide supra*) para un gen productor de una anomalía similar aunque clínicamente menos grave en ambos padres heterocigotos obligados, probando así el patrón hereditario de la anemia drepanocítica: autonómico

recesivo para la enfermedad y dominante para el estado de portador. En 1950 Harris demostró que la deformidad del heritrocito se debe a la polimerización de la hemoglobina S en fibras elongadas. Finalmente, Vernon Ingram demostró que la hemoglobina S difería de la A, que es la que todos los adultos sanos tenemos, porque el aminoácido **valina** sustituye al **ácido glutámico** en la posición 6 de la cadena α . Así nació el concepto de **enfermedad molecular**. (La valina es un aminoácido de estructura muy sencilla, que está clasificado entre los hidrofóbicos, es decir, no polares; el ácido glutámico, llamado también glutamato es uno tal que tiene una estructura dicarboxílica y está clasificado dentro del grupo de aminoácidos ácidos, que sin embargo pueden trabajar como bases conjugadas aniónicas.)

Muchos años antes de que Jacob y Monod hicieran su descubrimiento, en Alemania Felix Hoppe-Seyler, descubrió una sustancia muy similar al DNA, que obtuvo a partir de levaduras, inicialmente, para posteriormente encontrarla en animales; se creyó que esta sustancia estaba en animales superiores debido al alimento vegetal de los mismos. Estas ideas prevalecieron hasta 1914 cuando Robert Feulgen descubrió un colorante que teñía el DNA, pero no el RNA, y otro que teñía sólo el RNA; al teñir células con ambos colorantes descubrió la presencia conjunta de DNA y RNA en las mismas.

El esqueleto covalente del RNA consiste en un polímero lineal de unidades ribonucleotídicas unidas mediante enlaces fosfodiéster 5'-3'. En este aspecto el DNA y el RNA son muy parecidos, no obstante, el RNA se diferencia estructuralmente del DNA en tres puntos importantes.

- 1.- El grupo azúcar del RNA es la **ribosa**, y no la 2'-desoxirribosa.
- 2.- La timina es sustituida por uracilo (U) en lo que se refiere a las bases nitrogenadas. Recuérdese que la timina posee un grupo metilo (CH₃) en el C-5 cuya sustitución por un hidrógeno resulta en el uracilo. Las bases nitrogenadas comunes del RNA son la adenina, el uracilo, la guanina y la citosina.
- 3.- Las moléculas de RNA son generalmente monocatenarias. Sin embargo, en una única cadena de RNA el apareamiento de bases de Watson-Crick puede ocurrir entre la adenina y el uracilo y la guanina y la citosina, y resultar en toda

clase de estructuras secundarias, entre las que cabe citar las estructuras en bucle y en horquilla que participan en el reconocimiento del RNA por proteínas.

Unas cuantas cadenas de RNA son bicatenarias y su conformación es análoga a la del A-DNA. En este sentido, la doble hélice de RNA completa una vuelta cada once pares de bases; los pares de bases se encuentran inclinados lejos del eje central de la hélice, de forma que permite la solvatación de los grupos oxidrilo en los C-2' de los azúcares. La existencia de una hélice doble de RNA similar del B-DNA no es posible debido a que los grupos 2' oxidrilo no se encontrarían solvatados.

Estructuras helicoidales bicatenarias en las que una cadena es DNA y la otra RNA existen en las células en varios momentos. Por ejemplo, en la transcripción (*vide supra*) se forma una molécula de RNA, copia de una cadena de DNA en una reacción catalizada por la RNA polimerasa, de forma que la molécula de RNA sintetizada es complementaria a la de DNA y, por tanto, durante el proceso de elongación se forma un híbrido pequeño gracias al apareamiento entre la dA y el U, la dT y la A, la dC y la G y la dG y la C. Durante el estudio mediante de difracción de rayos X híbridos sintéticos grandes de RNA y DNA se observó que adoptaban la conformación común al RNA y al DNA, es decir, la conformación conocida como A.

TIPOS DE MOLÉCULAS DE RNA

Si bien el DNA es el depositario celular de la información genética, muchas moléculas de RNA participan en el proceso de expresión de tal información. En una célula dada, las moléculas de RNA se encuentran en múltiples copias y formas. La síntesis de RNA o transcripción (*vide supra*) se lleva a cabo muy precisamente.

Las moléculas de RNA se clasifican atendiendo a su localización celular y a su función. De este modo, en las células procarióticas se diferencian tres formas mayoritarias de RNA:

- 1.- El RNA **mensajero** (mRNA), que transporta la información genética del DNA a los ribosomas, organelos subcelulares responsables de la biosíntesis de proteínas.
- 2.- El RNA **ribosómico** (rRNA), que es una parte constitutiva de los ribosomas y que arroja aproximadamente el 75% del RNA celular. En una célula determinada hay varias especies

moleculares de RNA, que corresponden a los veinte tipos de alfa-aminoácidos que existen en la naturaleza.

3- El RNA de **transferencia** (tRNA), que transporta los residuos de aminoácidos que son adicionados a las cadenas polipeptídicas crecientes durante la biosíntesis de proteínas.

Estos tres tipos de RNA fueron los primeros para los que se describió una función bioquímica. Las células **eucarióticas** contienen, además de estos tres tipos de moléculas de RNA, una población de moléculas grandes de RNA nuclear de peso molecular sumamente variable. Estas moléculas de RNA **heterógeno nuclear** (hnRNA) son los precursores del mRNA maduro. Otro grupo de moléculas de RNA pequeñas y también ubicadas en el núcleo de las células eucarióticas se encuentran unidas a proteínas formando unos complejos conocidos como partículas de **ribonucleoproteínas pequeñas nucleares** (snRNP o "snurps"), que desempeñan un papel importante en la síntesis del mRNA. Por otra parte, en el citoplasma también hay RNAs pequeños asociados con proteínas específicas, algunos de los cuales desempeñan un papel estructural, mientras que otros son necesarios **para la catálisis de ciertas reacciones**; con lo que se está diciendo que este tipo de RNA tiene o posee funciones enzimáticas.

El RNA es químicamente más reactivo que el DNA, esto se debe al cambio de la 2'-desoxirribosa en el DNA por la ribosa en el RNA; tal cambio puede parecer insignificante y, sin embargo, afecta en gran medida a las propiedades del RNA. El grupo 2' hidroxilo o 2' oxidrilo: 1) impide a las moléculas de RNA la adopción de la conformación B-DNA; 2) permite que en las moléculas de RNA ocurra un número mayor de interacciones terciarias; 3) promueve la reactividad química.

Un ejemplo—que no se ilustrará—de lo antes dicho es la importancia del grupo 2'-hidroxilo en el comportamiento del RNA frente a las disoluciones alcalinas. El tratamiento del RNA con un álcali 0.1 M a 25° C produce, al cabo de pocas horas, una mezcla de nucleótidos 2'- y 3'-monofosfato. Sin embargo, el DNA bajo estas mismas condiciones resulta sumamente estable^{7, 8, 9}.

TEORÍA DEL OPERÓN (*lac*)

Se dijo antes (*vide supra*) que los genes bacterianos se

cotranscriben en operones; no sólo los bacterianos, también los eucarióticos. A continuación, veremos la teoría del operón lac, debida a Jacob y Monod, porque es el primer ejemplo de cotranscripción en la historia de la Biología Molecular. Lamento no ofrecer esquemas.

Sin tocar de manera teórica las mutaciones que Jacob y Monod obtuvieron, la teoría puede expresarse de la siguiente manera:

i = gen regulador activo.

z = gen estructural de la beta-galactosidasa.

y = gen estructural de la galactósido transacetilasa.

x = gen estructural de la permeasa.

O = gen operador activo.

P = promotor.

o = operador.

El gen regulador se encuentra un poco distante del operón lac, mismo que está integrado por el promotor, el operador y los genes estructurales de la beta-galactosidasa, la permeasa y la acetilasa.

EN AUSENCIA DEL INDUCTOR

La RNA polimerasa no se une al promotor, puesto que el gen regulador (i) ha sufrido transcripción y traducción produciendo así al **represor**, una proteína que es destruida en el citoplasma.

EN PRESENCIA DEL INDUCTOR

Se introduce en el cultivo al inductor (no confundir con el gen inductor i), que es el azúcar lactosa el inductor se une al represor, se forma el complejo represor-inductor y la RNA polimerasa se une al gen promotor, enseguida hay transcripción y traducción para las enzimas beta-galactosidasa, permeasa y acetilasa. Previamente el gen i había sufrido transcripción y traducción para producir al represor, la enzima que de él depende. Todo este proceso ocurre en el cultivo. Ahora bien el represor era un ente que sólo existía en la teoría de los investigadores judíos-franceses; fue Gilbert quien, un tiempo después en 1966, aisló una proteína que tenía todas las propiedades del represor; con un peso de 40 000 unidades Dalton y una gran afinidad por los galactósidos. Así, Gilbert confirmó todos los datos de Jacob y Monod. Debe tenerse presente que

todos los beta-galactósidos son inductores, que el inductor, aquí, es el azúcar lactosa, y que el gen i, que es el regulador, es el que produce a la molécula llamada represor.

Todo esto es válido para las enzimas **no represibles**.

ENZIMAS REPRESIBLES

Tienen los mismos elementos constitutivos, al que debe agregarse el Co-represor:

EN AUSENCIA DE CO-REPRESOR

El gen que produce al co-represor sufre transcripción y traducción, el represor inactivo no se une al gen operador y hay transcripción y traducción para las proteínas A y B. La RNA polimerasa se une al promotor

EN PRESENCIA DE CO-REPRESOR

El gen regulador sufre transcripción y traducción, el represor se une al co-represor y la RNA polimerasa no se une al operador, quien se une al operador es el complejo represor-co-represor activo.

Este trabajo, que llevo muchos años, mereció un Premio Nobel^{10, 11}.

TRANSCRIPCIÓN

Ya se ha hablado de la transcripción, cuando se inició la exposición del RNA (*vide supra*). Queda decir lo siguiente: teniendo en cuenta la definición de gen, secuencia de DNA que se transcribe, el origen de la transcripción ha de considerarse como su punto de inicio, mismo que se designa por +1 y su terminación como el punto donde acaba. La transcripción de un gen comienza en su extremo 5' y finaliza en el 3'- terminal. El desplazamiento sobre gen según la dirección 5'→3' se denomina **de avance** y en la dirección 3'→5' se llama **de retroceso**. Siguiendo el convenio adoptado para el DNA, la cadena de DNA inferior es la cadena molde en la transcripción, luego la cadena superior de DNA tiene una secuencia idéntica a la del mRNA transcrito, a excepción de los uracilos del mRNA, que equivalen a timinas en el DNA.

Las secuencias del DNA en las que se ensamblan los complejos de transcripción se llaman **promotores**. En las células procarióticas hay cientos de promotores,

mientras que en las células eucarióticas hay miles, ya que la transcripción de cada gen u operón se inicia independientemente, dependiendo de la longitud del promotor.

Antes de 1975, los experimentos de construcción de mapas genéticos demostraron que los promotores podrían encontrarse en los extremos 5'-terminales de los genes bacterianos y que estas regiones eran esenciales para la transcripción. Sin embargo, hasta que se dispuso de métodos rápidos para la determinación de la secuencia de regiones del DNA, no fue posible conocer la estructura primaria de los promotores.

Los primeros genes secuenciados de *E. Coli* no permitieron descifrar los elementos comunes obvios de los sitios de formación de los complejos de transcripción. Sólo cuando se dispuso de la secuencia de gran número de genes se pudo obtener el patrón común de los promotores. Estas secuencias patrón se llaman **secuencias consenso**, pues derivan del consenso de varios ejemplos. Veamos los pasos sucintamente:

- 1.- El primer nucleótido que se transcribe (designado por +1) generalmente es una purina.
- 2.- En la región -10, respecto del origen, la mayoría de los genes contienen una secuencia que se aproxima a la TATAAT, si bien ésta sólo aparece como tal en muy pocos de ellos.
- 3.- En la región -35 la mayoría de los genes tienen una secuencia parecida a TTGACA.
- 4.- Las regiones -10 y -35 están separadas por 17 ± 1 nucleótidos.

La región -10 se conoce como la **caja TATA** o como **caja de Pribnow**, en honor de su descubridor, David Pribnow, y la zona -35 se denomina región -35; ambas conforman el promotor de la holoenzima de *E. Coli*.

Los genes cuyos promotores se ajustan exactamente a la secuencia consenso son muy pocos y, particularmente en la caja TATA, en ajuste es muy pobre, apareciendo Gs y Cs en lugares correspondientes a As y Ts. Otras secuencias promotoras como las de los operones del RNA ribosómico se parecen mucho a la secuencia consenso y se transcriben, generalmente, con una elevada eficacia.

Éstas son algunas de las acciones de la RNA polimerasa^{12, 13}.

BIOSÍNTESIS DE PROTEÍNAS

La traducción genética y la biosíntesis de proteínas se caracterizan por tres etapas: iniciación, elongación y terminación. La traducción del RNA mensajero, una vez asentado en el ribosoma, casi siempre se inicia mediante la exposición del triplete AUG en un pliegue que sigue a la porción llamada "cap". La incorporación del mRNA al rRNA ribosómico requiere de un factor de iniciación proteico, llamado FI-3. Enseguida, se incorpora el primer tRNA con participación de guanosintrifosfato (GTP) y el factor de iniciación 2 (FI-2) para formar una molécula compleja, que se une al anticodón correspondiente al codón a triplete de mRNA mediante el factor de iniciación 1 (FI-1) y así empezar la biosíntesis del polipéptido. Posteriormente, se incorpora a la fracción ribosómica 60S, se efectúa la hidrólisis del GTP y se integra el ribosa 80S. El asentamiento del RNA de transferencia de cada aminoácido ocupa dos lugares subsecuentes en el ribosoma, el primero es el sitio A que corresponde al aminoacil-tRNA para movilizarse al sitio P o peptidil-tRNA en donde se incorpora el aminoácido correspondiente en la cadena polipeptídica que está sintetizando.

La elongación o crecimiento de la cadena polipeptídica se lleva al cabo con la integración del ribosoma 80S con su lugar vacío A la formación de un compuesto entre el aminoacil-tRNA correspondiente al codón por leer, GTP y el factor de elongación (FE-1). Este compuesto permite al aminoacil-tRNA entrar al sitio A con la liberación del FE-1-GDP y P. El grupo α -amino del aminoacil-tRNA, incorporado al sitio A, se une a un grupo carboxílico esterificado del peptidil-tRNA, que ocupa el sitio P formando una unión peptídica mediada por la enzima peptidiltransferasa, que se encuentra en la unidad ribosómica 60S. La reacción produce un crecimiento del polipéptido en el sitio A, moviéndose al sitio P y dejando vacío el sitio para una nueva incorporación de otro aminoacil-tRNA. La **translocación** de una molécula de peptidil-tRNA del sitio A al P se efectúa mediante el factor de elongación 2 (FE-2) y el GTP. La formación de uniones peptídicas, la incorporación del aminoácido en el tRNA, la ubicación del aminoacil-tRNA en el sitio A y la translocación del peptidil-tRNA formado del sitio A al P, requiere la participación de ATP y GTP como fuentes de

energía. La terminación de la síntesis de un polipéptido se efectúa cuando aparece en el mRNA un codón terminal para el cual no existe el anticodón correspondiente al tRNA y que corresponde a los tripletes o codones UAA o UAG, que ocupan el sitio A. Enseguida se llevan al cabo la hidrólisis y la liberación del péptido terminal y del aminoacil-tRNA, que ocupa el sitio P mediante un factor liberador proteico, que es capaz de identificar el codón terminal en combinación con la peptidiltransferasa y el GTP, así la disociación del ribosoma 80S en subunidades 40S y 60S.

La traducción del mismo mRNA puede efectuarse simultáneamente por varios ribosomas, constituyendo polisomas o polirribosomas. Por consiguiente, los ribosomas unidos en serie podrían correlacionarse con la longitud del mRNA.

Durante la biosíntesis proteica un solo ribosoma puede traducir 40 codones por segundo. Los polirribosomas adheridos al retículo endoplásmico dan el aspecto rugoso que se observa al microscopio electrónico, e indican los sitios de síntesis de proteínas secretadas por la célula, previa conjugación en el aparato de Golgi, mientras que los polirribosomas libres sintetizan proteínas que se utilizan en el interior de la célula.

El concepto de **cistrón** ha tenido que modificarse de acuerdo con los nuevos conceptos que hay sobre genes discontinuos observados en eucariotes. Por consiguiente, podría considerarse que un **cistrón** es la unidad que constituye un gen en procariotes y la subunidad integral de un gen en eucariotes.

Un paso importante es el acontecimiento postraducciona para remodelar las proteínas en su estado funcional terminal. Hay varios ejemplos, entre ellos la insulina, que presenta dos cadenas de polipéptidos unidas por puentes disulfuro. Inicialmente se sintetiza como proinsulina, se dobla sobre si misma para adquirir sus uniones disulfuro y posteriormente una proteasa corta la porción acodada de la molécula.

Se modifican otras proteínas sintetizadas, como las prohormonas eliminándose péptidos terminales o fragmentándose en péptidos, como sucede con los factores liberadores que actúan en la hipófisis, así como con las moléculas de la colágena, que es sintetizada inicialmente como procolágena.

Se denomina **supergén** a la porción de DNA que codifica mediante varios intrones (*vide infra*) una molécula proteica citoplasmática, que origina diversas subunidades funcionales. Ciertos compuestos actúan inhibiendo la síntesis proteica a nivel de la traducción del mRNA; algunos actúan simulando el tRNA, como la puomicina, que se incorpora en el sitio A como análogo de la tirosinail-tRNA. Otros, como la toxina de *Corinebacterium diphtheriae* infectado con un fago específico, hace que se unan las ribosomas en el FE-2 (factor elongador) en las células de mamíferos inhibiendo la biosíntesis proteica^{9, 12, 14}.

CÓDIGO GENÉTICO

Como se ha visto a lo largo de este trabajo, la función primaria de los genes es codificar para la biosíntesis de proteínas; ahora bien, la pregunta es: ¿en qué forma la secuencia de las cuatro bases del ADN determina la secuencia de los 20 aminoácidos de las proteínas?, ¿cuál es la secuencia específica de las bases que codifican para un aminoácido en particular?

La longitud teórica mínima de las unidades de codificación, o sea, de los codones, es de tres bases. Si fuera de una base, sólo se podrían codificar cuatro aminoácidos, uno para cada una de las cuatro bases y si fuera de dos bases podrían codificarse únicamente 16 aminoácidos. Con unidades de codificación de tres bases, que es como funciona el código genético, se tienen $4^3 = 64$ tripletes diferentes, cantidad más que suficiente para codificar a los 20 aminoácidos que forman la secuencia de cualquier proteína.

Lo anterior implica que un aminoácido puede ser codificado por más de un codón y por ello se dice que el código genético es “degenerado”; en lo personal, prefiero usar el término **polisémico**, para calificar esta propiedad del código genético.

Por otro lado, algunos tripletes no son codificadores, pero su función también es importante, puesto que sirven para indicar dónde empiezan y termina la lectura de un mensaje, a manera de “espaciadores”, función comparable a la de la puntuación y separación de las palabras de la lengua ordinaria.

Veamos cuál es el código genético.

Codón aminoácido	Codón aminoácido	Codón aminoácido
UUU Fenilalanina	CCA Prolina	AGU Serina
UUC	CCG	AGC
UUA Leucina	CAU Histidina	AGA Arginina
UUG	CAC	AGG
UCU Serina	CAA Glutamina	GUU Valina
UCC	CAG	GUC
UCA Serina	CGU Arginina	GCU Valina
UCG	CGC	GUG
UAU Tirosina	CGA Arginina	GCU Alanina
UAC	CGG	GCC
UAA Terminación	AUU Isoleucina	GCA Alanina
UAG	AUC	GCG
UGU Cisteína	AUA Isoleucina	GCA Aspartato
UGC	AUG Iniciación	GAC
UGA Terminación	ACU Treonina	GAA Glutamato
UGC Triptofano ACC	GAG	
CUU Leucina	ACA Treonina	GGU Glicina
CUC	ACG	
CUA Leucina	AAU Asparagina	GGA Glicina
CUG	AAC	GGG
CCU Prolina	AAA Lisina	
CCC	AAG	

A= Adenina, C = Citosina, G = Guanina, U = Uracilo^{10, 15}

INTRONES Y EXONES

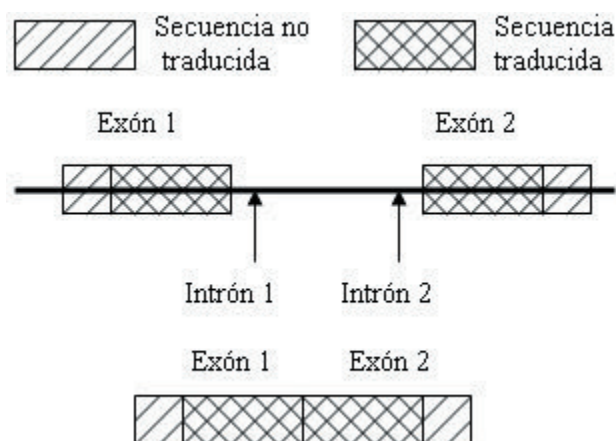
La información contenida en los genes eucarióticos se encuentra frecuentemente interrumpida por secuencias que no aparecen en el producto final el RNA. Estos **intrones** o **secuencias intercaladas** resultaron ser una característica común de los genes y los RNA(s) primarios de transcripción de la mayoría de los organismos eucariotes y de algunos procariotes.

Los intrones se eliminan de las moléculas de RNA por el proceso conocido como ruptura (“splicing”) o montaje del RNA, que ocurre meticulosamente y origina el RNA funcional encargado de mantener el flujo de información biológica desde el DNA a una proteína. La ruptura parece más difícil en un principio que cualquier otra forma de procesamiento del RNA ya que la etapa inicial es la quiebra de un único transcrito en dos fragmentos distintos que deben permanecer asociados para ser, a continuación, soldados en una única molécula madura de RNA. Para que el RNA mantenga su contenido informativo, su escisión y su posterior soldadura deben ocurrir en la posición correcta

y de forma rigurosa. Así, el desplazamiento de un solo nucleótido podría originar un RNA estructurado, como un tRNA o un rRNA, pero afuncional u organizar un mRNA que dirija la síntesis de una proteína inactiva.

El procesamiento del RNA está catalizado por enzimas, cuyo análisis constituyó una sorpresa, ya que algunas de estas enzimas están constituidas por RNA y no por proteína. Además, algunas de estas moléculas activas de RNA están localizadas en los propios intrones, donde autocatalizan su eliminación. Por lo consiguiente, el descubrimiento de los intrones ha alterado significativamente el concepto de evolución de los genes y de la estructura proteica.

ESQUEMA DE UN COMPLEJO INTRONES-EXONES



Obsérvese la ruptura (“splicing”) de los exones y los intrones, y la soldadura de los exones 1 y 2.

Las secuencias en el DNA y el RNA maduro se denominan **exones**. La formación de una molécula madura y continua de RNA se consigue mediante la escisión del RNA, que implica una primera etapa de eliminación de intrones y una segunda de soldadura de los exones.

El punto de referencia de una reacción de escisión está contenido en el propio intrón. En el producto primario de transición cada intrón está intercalado entre dos exones (ver esquema), el primero situado en 5' respecto del intrón y el segundo en posición 3' respecto del intrón. La región-frontera entre el exón en 5' y el intrón se conoce como sitio o conexión 5' de “splicing”, o sea, de escisión o ruptura, y,

análogamente la región-frontera entre el intrón y el exón 3' se denomina sitio o conexión 3' de escisión.

Los sitios de ruptura o escisión están formados por dos nucleótidos en ambos lados de los enlaces fosfodiéster que se rompen, pero si los sitios de ruptura forman parte de la secuencia consenso para la reacción de ruptura, éstos pueden estar formados por más de dos nucleótidos.

En algunas especies el tamaño de los intrones oscila entre 14 y 46 pares de bases. Las levaduras contienen alrededor de 400 genes nucleares de tRNA, de los cuales el 10% contiene un único intrón.

Fue en 1977, cuando Hall, Olson y Goodman aislaron y secuenciaron cuatro de los ocho genes que codifican para el tRNA. Así, la Biología Molecular terminó su largo parto, que se inició cuando Beadle y Tatum enunciaron su hipótesis de "Un gen una enzima", misma que se modificó a "Un gen una cadena de polipéptido", y se inició con el descubrimiento de la doble hélice por parte de Watson, Crick y Wilkins.

Volviendo a los intrones, después de su eliminación el intrón todavía es activo y puede catalizar una o dos reacciones de autociclación. Apareciendo más en eucariotes, no son ajenos a los procariotes. Así, en *Tetrahymena* el proceso de auto-escisión no es una reacción verdaderamente enzimática porque el catalizador originario no se renueva durante el curso de la reacción.

Con los exones y los intrones se muestra la organización de un gen típico que contiene intrones. Los exones son las partes del gen que darán lugar a la secuencia del RNA maduro, por lo que contienen la información que se requiere para la biosíntesis de proteínas. Así mismo, los exones comprenden tanto la secuencia guía 5' que precede a la región codificadora como el fragmento 3' que se encuentra entre la región codificadora y el RNA maduro. Se citan algunas otras propiedades de los intrones:

- 1.- En todos los genes eucarióticos sin excepción, la secuencia GU se encuentra en el punto en el que el extremo 5'-terminal del intrón se une al exón 5'.
- 2.- La secuencia dinucleotídica AG marca el punto de unión del extremo 3'-terminal del intrón con el exón 3'.
- 3.- Un residuo de adenosina situado unos 40 nucleótidos más arriba del sitio de escisión 3' forma parte de un sitio llamado de ramificación.

El complejo de escisión o ruptura posee un gran tamaño molecular (unos 3×10^3 kd) así como distintas subunidades. Las moléculas de RNA constituyen el llamado **RNA nuclear de pequeño tamaño (snRNA)**, asociándose con proteínas para formar las **ribonucleoproteínas nucleares de pequeño tamaño (snRNPs)** estas partículas son esenciales en los procesos de escisión y en otras funciones celulares, algunas de ellas que cursan con patología. Así, las enfermedades autoinmunes comprenden una serie de Síndromes tales como el lupus eritematoso sistémico, la artritis reumatoide y la enfermedad mixta del tejido conectivo. Estas enfermedades se denominan así porque los individuos que las padecen sintetizan anticuerpos dirigidos contra sus propios tejidos y componentes celulares, incluyéndose aquí el DNA, las inmunoglobulinas, los glomérulos renales y las neuronas. Además, suele tratarse de enfermedades multisintomáticas, destacando entre estos síntomas la inflamación de los tejidos. En muchas ocasiones se trata de enfermedades que conducen a la muerte.

Los pacientes con enfermedades autoinmunes suelen producir anticuerpos contra los componentes nucleares. En 1977, Joan Steitz y sus colaboradores analizaron el suero de un paciente con enfermedad mixta del tejido conjuntivo con el fin de identificar las partículas unidas a dichos anticuerpos. En un principio pensaron que los anticuerpos iban dirigidos hacia las hnRNPs (ribonucleoproteínas nucleares heterogéneas), aunque luego observaron que también reaccionaban con otras ribonucleoproteínas nucleares. Después de que cinco de ellas hubieran sido identificadas, se observó que estas snRNPs participaban en la retirada de los intrones. El empleo de sueros de pacientes con enfermedades autoinmunes permitió la caracterización más a fondo de estos componentes nucleares.

Existen dos posibles hipótesis para explicar por qué los sueros de estos pacientes contienen anticuerpos frente a las snRNPs. La primera afirma que las snRNPs se encuentran en el núcleo físicamente separadas de los componentes del sistema inmune, pudiendo ser liberadas a la sangre por la lisis de la célula e inducir entonces la síntesis de anticuerpos. La segunda sugiere que los anticuerpos aislados por Steitz y sus colaboradores podrían no estar dirigidos contra las snRNPs **per se**, sino contra otras proteínas de estructura similar, tales como ciertas

proteínas virales^{8, 12}.

DISCUSIÓN

Como he pretendido demostrar a lo largo del presente trabajo, las diferencias entre la Genética y la Biología Molecular son tenues, y las divergencias mínimas, siendo mayores las convergencias. Esto se debe no a que la Genética sea la ciencia “de moda”, como se mal escribió antes. La causa de estas convergencias y comuniones radica en lo que Thomas S. Kuhn ha denominado **paradigmas**. Dice Kuhn “El descubrimiento de un tipo nuevo de fenómeno es necesariamente un suceso complejo, que involucra el reconocimiento, tanto de **que** algo existe como de **qué** es”. Es decir se parte del mundo exterior, de lo que existe, de lo que vemos, de lo que llama nuestra atención, para llegar, después de años de estudio a explicarnos ese segmento de la realidad que nos interesa y al que Kuhn llama **qué** es; este **qué** es, no es otra cosa más que la descripción (Husserl) y el conocimiento del nuevo objeto que aparece en nuestros sentidos y en nuestra conciencia, el conocimiento de su esencia, en pocas palabras de lo que **es**. Siguiendo de nuevo a Kuhn debo aceptar, con él, que “La ciencia normal es una actividad altamente determinada, pero no necesita estar determinada enteramente por reglas. Ésta es la razón por la cual al comienzo de este ensayo presenté paradigmas compartidos...” Y continúa: “Las reglas, según sugiero, se derivan de los paradigmas; pero éstos pueden dirigir la investigación, incluso sin reglas”. Lo que Kuhn está entendiendo por paradigma es la aplicabilidad de la intuición en la teoría y en la práctica. El paradigma es un modelo a seguir que se ve concretizado en el descubrimiento y la intuición científicos¹⁶.

No se hace ciencia por hacer ciencia, se hace ciencia para conocer y para aplicarla a ese conglomerado al que llamamos sociedad, así como a su célula: el hombre. Trátese de ciencia teórica (**toda ciencia por definición es teórica**) o aplicada, el resultado es por y para el hombre.

Escribí estas páginas sin olvidar la historia de la ciencia porque se entiende mejor el **ethos** humano cuando se conoce la historia de lo sucedido. Por otra parte, dejo entrever que la Genética estudia a todas las enfermedades que conocemos y, por otro lado, que la Biología Molecular estudia los aspectos más teóricos de la Genética, haciendo

ésta un estudio más aplicable al conocimiento de las enfermedades del hombre.

Para hacer ciencia, como ha sostenido Jesús Mosterín, se necesitan **conceptos**: “Así como no se puede dibujar sin líneas, ni se puede pintar sin colores, tampoco se puede hablar ni pensar sin conceptos. Esto vale tanto para la vida cotidiana como para la actividad científica. De hecho, muchos de los conceptos científicos actuales provienen de conceptos cotidianos, aunque durante el viaje se han transformado, ganando sobre todo en precisión. Así, las nociones químicas de hierro (átomo con 26 protones en su núcleo) o de agua (H₂O) precisan nociones previas del lenguaje ordinario. Es usual dividir los conceptos científicos en clasificatorios, comparativos y métricos”¹⁷.

En el presente trabajo se han usado precisamente estos tres tipos de conceptos, como el lector atento podrá ver. También se han hecho relaciones binarias, teniendo en cuenta que entre objetos de un dominio A es una relación de equivalencia, y por tanto binaria, sí y sólo sí es reflexiva, simétrica y transitiva, en este dominio y si $A = B$ y $B = C$, entonces $A = C$. Con esto se está diciendo que el trabajo ha sido dirigido por la Lógica, conceptos comparativos, escalas ordinales, sistemas extensivos, escalas proporcionales, etc. De esta suerte se han manejado las dos ciencias aquí tratadas y se puede concluir, después de la lectura, lo ya dicho: ambas ciencias son teóricas, pero su objeto difiere en lo material, no en lo formal, esto es, en los fundamentos lógicos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Gardner E. J. **Principles of Genetics**. 6ª ed. USA. Ed. John Wiley & Sons, Inc. 2005.
2. Emery A. E. **Methodology in Medical Genetics**. 4ª ed. Edinburgh. Ed. Churchill-Livingston. 2004.
3. Mendel G. “**Versuche über pflanzen-hybriden**”. USA. J. Hered. 42. 1-47. 1974.
4. Ford E. B. **Mendelism and Evolution**. 2ª ed. Londres. Ed. Methuen & Co Ltd. 1984.
5. Garrod A Sir. **Inborn Errors of Metabolism**. Philadelphia, USA. Ed. Saunders. 1980.
6. Scriver C. R. y col. **The metabolic basis of inherited disease**. Toronto, Londres. Ed. Mc Graw-Hill 3 vols. 2000.

7. Davidson J. N. **The Biochemistry of the Nucleic Acids**. 8ª ed. London. Ed. Chapman & Hall. 1980.
8. Vogel F. y col. **Human Genetics**. 3ª ed. Berlin. Ed. Springer-Verlag. 1992.
9. Murray R. K. y col. **Harper's Biochemistry**. 16ª ed. USA. Ed. Appleton & Lange. 2005.
10. Allende J. **Biosíntesis de Proteínas y el Código Genético**. 6ª ed. Santiago. Ed. OEA. 2004.
11. Lehninger A. **Bioquímica**. 2ª ed. Barcelona. Ed. Omega. 1986.
12. Stent G. S. **Molecular Biology**. 4ª ed. San Francisco. Ed. W. H. Freeman & Co. 2005.
13. Harris H. **The Principles of Human Biochemical Genetics**. 9ª ed. USA. A North-Holland publication. 1995.
14. Weatherall D. J. **The new Genetics**. 4ª ed. Oxford. Ed. University Press. 1995.
15. Ochoa S. **Base Molecular de la Expresión del Mensaje Genético**. Madrid. Ed. Rialp. 1989.
16. Kuhn T. S. **La estructura de las Revoluciones Científicas**. Nueva ed. México, D. F. Ed. Fondo de Cultura Económica. 2004.
17. Mosterín J. "Los conceptos científicos". En La ciencia: estructura y desarrollo. C. Ulises Moulines ed. España. Ed. Trotta. 1993.

Responsable:

Víctor Antonio Tejeda Moreno

Obras Públicas No. 49

Col. Murillo Vidal. C. P. 91010

Xalapa, Ver.

01-(228)-8-43-39-92

antonio_91010@yahoo.com



COMUNICACIÓN CIENTÍFICA

Instrucciones para los autores

La Revista Médica de la Universidad Veracruzana es el órgano oficial de Instituto de Ciencias de la Salud, Hospital Escuela y Facultad de Medicina-Xalapa; es un foro abierto a científicos, médicos, investigadores, docentes, estudiantes y otros profesionales de la salud que deseen expresar y compartir experiencias en temas desarrollados por esta comunidad de científicos. Se edita semestralmente e incluye: editoriales, artículos originales, especiales, de revisión bibliográfica, comunicaciones breves, comentarios, cartas al editor, reportes de casos clínicos, reporte de artículos publicados, una sección de historia de la medicina, arte y medicina y un vocabulario inglés-español de términos médicos. Debido a lo multidisciplinario de estos temas, se cubre una amplia gama de actividades médicas, procedimientos de laboratorio y actividades desarrolladas en las facultades y hospitales. Los editoriales sólo se considerarán por invitación.

La aceptación de publicar un trabajo es decisión exclusiva del comité editorial. Los manuscritos deben acompañarse de una carta cediendo los derechos editoriales a la revista, mencionando que no han sido publicados en otras revistas y ninguna publicación parcial o total del material enviado puede ser publicada o empleada en otro sitio sin autorización expresa de la revista. Los artículos en inglés deben ser previamente revisados por un corrector de estilo que tenga experiencia en el campo médico y/o biológico; en caso necesario en la oficina de la Revista se pueden obtener nombre y dirección de algunos expertos.

Toda correspondencia o escrito debe dirigirse a:

Revista Médica de la Universidad Veracruzana

Instituto de Ciencias de la Salud

Av. Dr. Luis Castelazo Ayala s/n

Col. Industrial las Ánimas

C. P. 91190, Xalapa, Veracruz, México

Tel. (228)8418925, fax (228)8418926

Correos electrónicos: revista_medica@uv.mx

rev_meduv@hotmail.com

Todos los manuscritos deberán enviarse en original y dos copias, acompañados de un disquete o CD que contenga la versión original en Microsoft Word, con letra Times New Roman 11, a doble espacio, en papel blanco tamaño carta por una sola cara, y las figuras en archivos JPG.

Cada sección o componente del manuscrito debe iniciar en una nueva página siguiendo la siguiente secuencia: (1) página del título, (2) resumen y palabras clave, (3) texto, (4) agradecimientos, (5) referencias, (6) cuadros (cada uno en una página con su título y pies por separado en otra hoja) y (7) pies de figuras. Todas las páginas deben ir numeradas, incluyendo la página del título, cuadros, figuras y referencias. Deben incluirse los permisos para reproducir material publicado previamente o para ilustraciones que puedan identificarse a alguna persona.

Página del título

El título deberá escribirse en español e inglés. En esta sección debe incluirse los nombres completos de los autores, grados académicos sin abreviaturas, la institución a la que pertenecen y fuentes de apoyo recibido. En la parte inferior debe señalarse nombre, dirección, apartado postal y teléfono, así como correo electrónico del autor responsable, a quien se le enviará cualquier notificación, pruebas de galeras y solicitud de sobretiros.

Resumen y palabras clave

Artículos originales: El resumen y el abstract deben ser menores de 250 palabras y deberán estructurarse con los subtítulos: introducción, objetivos, material y métodos, resultados y conclusiones. Al final debe incluirse una lista de tres a cinco palabras consideradas como clave para la publicación.

Artículo de revisión: El resumen y el abstract deben ser menores de 250 palabras. Al final debe incluirse una lista de tres a cinco palabras consideradas como clave para la publicación.

Texto

Cada parte debe iniciar en una página por separado manteniendo el siguiente orden: introducción, materiales y métodos, ética, resultados, discusión y, cuando sea necesario, conclusiones y recomendaciones. Hacemos un llamado para evitar la jerga exagerada de la especialidad, así como el abuso de las iniciales. Las instrucciones se presentan de acuerdo con el International Committee of Medical Journal Editors que se publicó en el *Ann Intern Med.* 1982; 96 766-71 y en el *Br Med J.* 1877-70, 1982; 284. Los nombres de equipo y fármacos deben hacer referencia a la compañía con su nombre completo. En caso de medicamentos, los nombres genéricos deben ir seguidos del nombre comercial entre paréntesis.

Bibliografía

Las referencias bibliográficas deben numerarse en el orden que fueron citadas en el texto y usar para su identificación números arábigos como superíndices. La lista de referencias también debe ir a doble espacio. Cuando haya más de 4 autores, se escribirá sólo el nombre del primero seguido por: y col. Apegarse a las normas del Index Medicus <http://www.encolombia.com/medicina/infectologia/infectologia4100sup-requisitos3.htm> como es el caso de las abreviaturas de revistas. Las comunicaciones personales y los resultados no publicados deben incorporarse al texto y no como referencias.

Cuadros

Deben contener los resultados más importantes. Sus títulos y pies deben ir en página aparte.

Figuras

Las figuras e ilustraciones deben ir en papel ilustración, papel albanene o equivalente. Las fotografías deben ser impresas en alto contraste, en blanco y negro y ser de tamaño postal (127 x 173 mm). Todas las figuras y fotos deben ir debidamente identificadas en su parte posterior con una etiqueta adherible, no escribir directamente sobre las figuras o fotografías. Toda figura debe ir acompañada de su texto o pie en hoja aparte.

Los artículos aceptados serán sometidos a una revisión editorial que puede incluir, en caso necesario, la condensación del texto, la corrección del estilo y la supresión o adición de cuadros, ilustraciones y anexos, sin modificarse el sentido del artículo.

La aceptación de los artículos será comunicada por escrito a los autores en un periodo no mayor a un mes desde la fecha de recepción. Para ello, deberán indicar claramente la dirección, teléfono, fax, correo electrónico y domicilio donde laboren los autores principales.