

Fosfatasa alcalina (E.C.3.1.3.1): bioquímica y aplicaciones en las ciencias biomédicas, ecológicas y alimentarias

Alkaline phosphatase (E.C.3.1.3.1): biochemistry and applications in biomedical, environmental and food sciences

GILBERTO MERCADO-MERCADO¹, NORMA L. DUARTE-MUÑOZ¹,
EMILIO ÁLVAREZ-PARRILLA¹, LAURA A. DE LA ROSA¹ Y ABRAHAM WALL-MEDRANO^{1,2}

Recibido: Marzo 26, 2012

Aceptado: Junio 7, 2012

Resumen

Las fosfatasas alcalinas (FAI; E.C.3.1.3.1) son una superfamilia de metaloenzimas homodiméricas que hidrolizan mono ésteres orto fosfóricos unidos a nucleótidos, proteínas y muchos otros sustratos, a pH entre 8-11 y en presencia de iones Zn^{+2} y Mg^{+2} . Se inhiben con Be^{++} , Fe^{++} , Cu^{++} y varios poli aniones. Varios estudios han confirmado su carácter pleiotrópico, pero nuevos estudios estructurales, cinéticos y genéticos revelan nuevos roles metabólicos y funcionales. La concentración de FAI total y/o isoenzimas, ha sido explotada como marcador de varios fenómenos biológicos en ciencias biomédicas (e.g. funcionalidad renal, hepática y ósea), ambientales (e.g. fosfatos en suelo marino y su remoción de aguas residuales), zoología (e.g. ciclos de fertilidad en aves) y alimentos (e.g. pasteurización de la leche). Como herramienta analítica, seguirán dando pie al desarrollo de varias técnicas inmuno enzimáticas, para beneficio de las ciencias biológicas.

Palabras clave: fosfatasa alcalina, cinética enzimática, biomedicina, ciencias ambientales, ciencias alimentarias.

Abstract

The alkaline phosphatases (AP) are a superfamily of homodimeric metalloenzymes (E.C.3.1.3.1) that hydrolyze orthophosphoric monoesters linked to nucleotides, proteins and many other substrates, at pH 8-11 and in the presence of Zn^{+2} and Mg^{+2} ions. They are inhibited by Be^{++} , Fe^{++} , Cu^{++} and several anions. Several studies have confirmed their pleiotropic nature, but new structural, kinetic and genetic studies reveal novel metabolic and functional characteristics. Total AP concentration and/or isoenzyme quantification, has been exploited as a marker of several biological phenomenon in biomedical sciences (e.g. renal, hepatic and bone functionality), environmental (e.g. phosphate in the seafloor and its removal from wastewater), zoology (e.g. fertility cycles in birds) and food sciences (e.g. milk pasteurization). As an analytic tool, will give rise to the development in various immune enzymatic techniques for the benefit of the life sciences.

Keywords: alkaline phosphatase, enzyme kinetics, biomedicine, environmental sciences, food sciences.

Introducción

Producto de la concepción estructura-afinidad implícita a los modelos tradicionales «llave-cerradura» de Emil Fisher o «encaje inducido» de Daniel Koshland y a las propuestas de algunos otros enzímólogos estructurales, tradicionalmente a las enzimas se les ha visto como proteínas catalíticas altamente sustrato-específicas, siguiendo el dogma histórico de «una enzima, una actividad».

¹ Universidad Autónoma de Ciudad Juárez - Instituto de Ciencias Biomédicas. Anillo Envolvente del Pronaf y Estocolmo s/n. C.P. 32300. Tels. +52 (656) 688-1800, Fax (656) 688-1821. Ciudad Juárez (32300) Chihuahua, México.

² Dirección electrónica del autor de correspondencia: awall@uacj.mx.

Sin embargo, diariamente aparecen nuevos estudios que cuestionan estos preceptos, a la luz de nuevas herramientas en bioquímica estructural y a la construcción de nuevo conocimiento sobre el legado de los primeros enzímólogos como Pasteur, von Liebig y Kühne. Ahora se sabe, por ejemplo, que hay enzimas cuyo control biológico radica en su afinidad gradual por diversos sustratos (Panosian *et al.*, 2011), que son dispuestas en ambientes más o menos convenientes para su actividad catalítica (Zhang *et al.*, 2005), que pueden intercambiar su estructura cuaternaria (Hawrylak y Stinson, 1998) e incluso llevar a cabo reacciones de primer o segundo orden a conveniencia (Van Loo, 2010), o incluso exhibir «promiscuidad» enzimática (López-Canut *et al.*, 2011).

El aprendizaje sobre estas y otras características de una enzima en particular, da cuenta no solo de su complejidad estructural y eficiencia metabólica, sino también de su posición en la escala evolutiva. Tal es el caso de la superfamilia de las fosfatasas alcalinas (FAI), enzimas con actividad pleiotrópica distribuidas ampliamente en todos los seres vivos (Coleman, 1992; Zalatan *et al.*, 2008) y que han sido explotadas como indicadores biológicos en diversas disciplinas químico-biológicas.

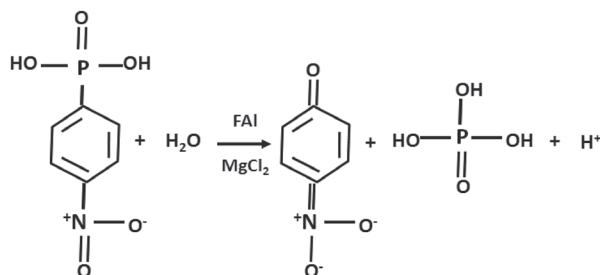
Nomenclatura y cinética enzimática de las FAI

Las FAI son metaloenzimas homodiméricas que hidrolizan fosfatos unidos a nucleótidos, proteínas, y muchos otros sustratos (Koutsioulis *et al.*, 2010), a pH entre 8 y 11 y en presencia de iones Zn^{+2} y Mg^{+2} (Zalatan *et al.*, 2008) y ocasionalmente de Co^{+2} (Chen *et al.*, 2008; Koutsioulis *et al.*, 2010). Su reacción catalítica se da en dos pasos: en el primero de ellos genera un intermediario covalente de fosfoserina y en el segundo se da un ataque nucleofílico (en medio acuoso o alcohólico) para liberar un fosfato inorgánico y un nuevo fosfoéster o especie libre (Koutsioulis *et al.*, 2010). Su nombre sistemático es fosfohidrolasa monoéster ortofosfórica (E.C.3.1.3.1) y debido a la gran cantidad de

reacciones en donde se les ve involucradas, se les considera una superfamilia (van Loo *et al.*, 2010). Por esta razón, frecuentemente son sub clasificadas en grupos, por organismo y por sustrato utilizado (Brenda, 2011).

Sustratos. Tanto las fosfatasas ácidas (FAC) como las FAI, catalizan la hidrólisis del *p*-nitrofenil-fosfato, a un compuesto (*p*-nitrofenol) que absorbe a los 405 nm de longitud de onda (Figura 1). Esta reacción generalmente ha sido explotada con fines analíticos, en estudios cinéticos y de identificación de FAI aisladas de nuevas fuentes naturales (Wild-type) y modificadas (mutantes). Así, se han reportado diversos grados de afinidad por este sustrato (*Km*) que van desde 1×10^{-8} mM y 0.265 mM en organismos como *Escherichia coli* (Atyaksheva *et al.*, 2008) y bovinos (Barcena-Ruiz *et al.*, 2007) hasta 5.0 o 50.0 mM en isoenzimas humanas (Kihn *et al.*, 1991).

Figura 1. Reacción de catálisis del *p*-nitrofenol-fosfato por la fosfasa alcalina. Fuente: elaboración propia.



Neuman (1968) evaluó la afinidad por fosforotioatos O- y S-substituidos de las FAI de *Escherichia coli*, de riñón y glándula prostática bovina y las FAC de papa y germen de trigo, en solución saturada de $MgCl_2$ (7×10^{-3} M). El cisteamin-S-fosfato [*Km* entre 9.4×10^{-5} mM (*E. coli*) y 2.4×10^{-4} mM (Bovina)] fue hidrolizado por las FAI, el O-*p*-nitrofeniltiofosfato lo fue por la FAC de papa (2.4×10^{-4} mM) y el *p*-nitrofenil fosfato por las dos, básicamente a las mismas velocidades reportadas con los sustratos hidrolizados en forma individual. Por último, algunas FAI catalizan preferentemente reacciones de trans fosforilación en presencia de aceptores de

fosfatos (Koutsioulis *et al.*, 2010; Kozlenkov *et al.*, 2002) mientras que otras son muy específicas a un solo sustrato (Xie *et al.*, 2010).

Cofactores. Para que una FAI pueda ser activada, se necesita de cationes divalentes. Ejemplos de estos son el Mg^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Ca^{2+} y Co^{2+} (Xie *et al.*, 2010). A nivel celular, la FAI necesita de los iones Mg^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , cuando su actividad se da en el citoplasma y a los demás iones se les ha involucrado en la actividad de FAI de membranas. A mayor concentración disponible de estos iones, mayor es la actividad de la enzima, salvo para el caso del Zn^{2+} con el que se observa una acción inversa (Cuadro 1).

Cuadro 1. Efecto de la concentración (mM) de cationes en la actividad ($\mu M/min$) de la fosfatasa alcalina (FAI).

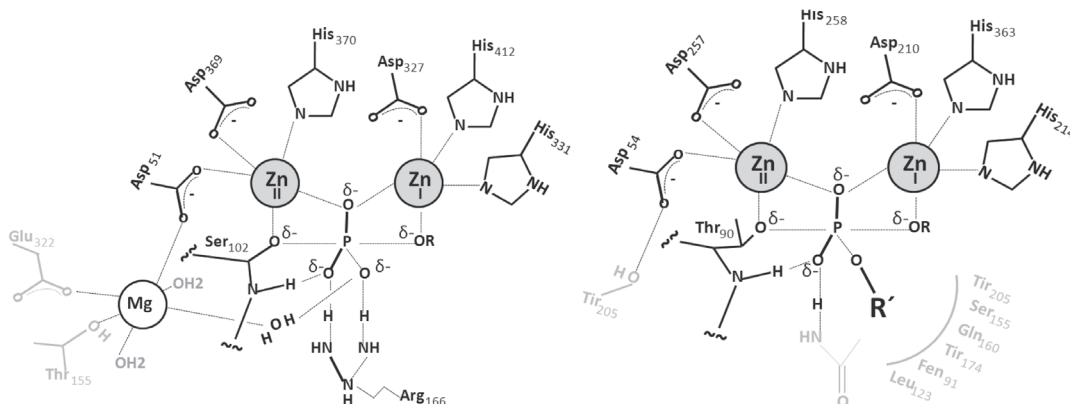
Cación	Concentración (mM)			
	0	0.5	2.5	5.0
Mg ²⁺	100	102.3	108.6	119.1
Zn ²⁺	100	88.7	78.6	71.2
Ca ²⁺	100	104.7	104.2	113.6
Mn ²⁺	100	138.6	132.9	124.5
Co ²⁺	100	115.8	133.5	135.9
K ⁺	100	101.5	104.6	143.8
Na ⁺	100	102.6	103.2	103.4
Ni ²⁺	100	109.3	101.9	108.2
Pb ²⁺	100	136.3	262.2	235.7
Cr ⁶⁺	100	139.1	261.5	267.9

Fuente: Xie *et al.*, 2010.

En casi todas las FAI de las que se ha elucidado completamente su estructura, se involucra la coordinación de dos iones Zn (Zn_1 - Zn_2 , separados a 3.9 Å en FAI bacterianas) y uno de Mg (a 4.9 y 7.1 Å de cada átomo de Zn) en la vecindad del centro activo (Coleman, 1992; Figura 2). En la primera etapa de hidrólisis, el Zn_1 coordina el oxígeno del enlace ester ortofosfórico, mientras que Zn_2 lo hace durante la hidrólisis del intermediario fosfoseril (Coleman, 1992). Los datos reportados por Xie *et al.* (2010) sugieren una cooperatividad entre estos iones que parece favorecer el ambiente electropositivo necesario para la hidrólisis de grupos fosfato y la perfecta conformación de la FAI para realizar la catálisis.

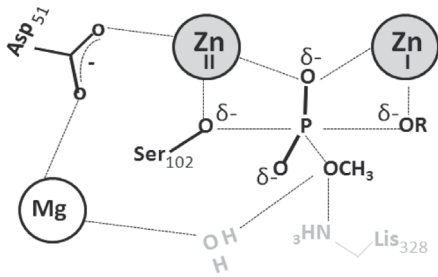
Más aún, la «promiscuidad» para hidrolizar fosfomono- o fosfodiésteres observada en algunos miembros de la superfamilia de las FAI (O'Brien y Herschlag, 2001) es consecuencia de las interacciones establecidas entre algunos residuos de aminoácidos del centro activo (e.g. Lys328 en FAI de *E. coli*), los átomos de oxígeno del grupo fosfato y el agua de coordinación asociada al ion Mg^{2+} (Figura 3). El Co^{2+} es el único metal que puede sustituir al zinc en forma dosis y pH dependiente, aunque también puede sustituir al Mg^{2+} (Chen *et al.*, 2008). Esta sustitución disminuye la actividad de algunas FAI bacterianas (e.g. *E. coli*) pero en otras la aumenta (e.g. *Bacillus subtilis* y *Thermotoga*

Figura 2. Iones involucrados en el centro activo de dos representantes de la superfamilia FAI. FAI de *Escherichia coli* (izquierda) y Nucleótido pirofosfatasa/diesterasa de *Xanthomonas axonopodis* (derecha). Fuente: Zalatan *et al.*, 2008.



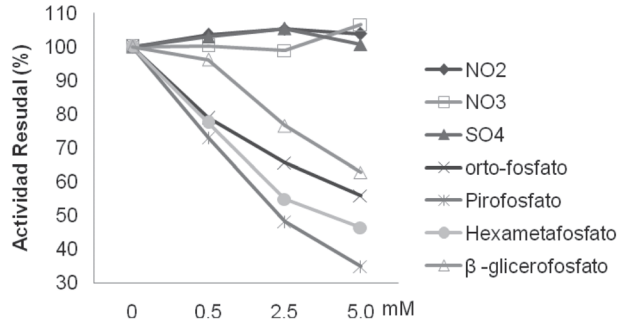
maritima) (Wang *et al.*, 2005). Sin embargo, resulta importante señalar que la afinidad por estos co factores, al menos para aquellas de origen humano, es órgano-específica (Butterworth, 1983). Por último, aunque no asociados estructuralmente de forma natural, existen otros cationes que aumentan la capacidad catalítica de las FAI dos a tres veces, como lo son el K^+ , Na^+ , Ni^{2+} , Pb^{2+} y el Cr^{6+} (Cuadro 1).

Figura 3. Fuerzas de coordinación involucradas en «promiscuidad catalítica» de la FAI de *Escherichia coli*. Fuente: López-Canut *et al.*, 2011.



Inhibidores. Existen varias formas de inhibir a las FAI con metales ionizados. Uno de ellos es el vanadio (V) cuyo efecto inhibitorio es atribuido a la formación de estados de transición análogos a las bipirámides trigonales (Holtz *et al.*, 1999). La estructura de los complejos con V es más parecida al estado de transición que muestran los grupos fosfato, y probablemente interaccionen más fuertemente con el sitio activo de la enzima (Marchand *et al.*, 2009). Otros cationes divalentes como berilio, plata, cobre y el estroncio, provocan efectos inhibitorios en la FAI (Koncki *et al.*, 2006; Llinas *et al.*, 2006). Además, el NO_2^- , NO_3^- y SO_4^{2-} parecen no tener una influencia significativa en la actividad de las FAI (Figura 4) mientras que otros aniones de fosfato tienen una influencia estero específica. Por último, las FAI de mamíferos difieren de las bacterianas en ciertas propiedades alostéricas y su susceptibilidad a la inhibición no competitiva por L-amino ácidos tales como fenilalanina, triptófano, homoarginina y leucina (Llinas *et al.*, 2006), aunque ciertos azúcares como la trehalosa, glucosa, fructosa y sacarosa pueden estabilizar a ciertas FAI (Sekiguchi *et al.*, 2012).

Figura 4. Efecto de los aniones, fosfatos y fosfatos orgánicos en la actividad de la FAI. Fuente: Chunsheng, 2010 (imagen elaboración propia).



Bioquímica estructural de la FAI

La *estructura primaria* de las FAI de las que ya se ha elucidado su estructura completa, demuestra una alta conservación entre especies. Un análisis de las secuencias revisadas y depositadas en Uniprot (<http://www.uniprot.org>) revela que su composición va de 407 (e.g. *Pseudomonas putrida*; Q50HR6) hasta 596 aa (e.g. *Drosophila melanogaster*, Q24238; Cuadro 2) y que su identidad estructural se conserva entre un 25 y 30% (Murphy y Kantrowitz, 1994) con una relación 2:1 de aminoácidos hidrofílicos:hidrofóbicos (Butterworth, 1983). Cabe señalar, sin embargo, que la sola sustitución por 2 His del Asp-153 y Lis-328, es la responsable del incremento en 20 a 30 veces más de las FAI de mamíferos vs las bacterianas (Murphy y Kantrowitz, 1994).

La *estructura secundaria* del sitio activo de la mayoría de las FA, consiste de dos cadenas de polipéptidos idénticos (homo dímero) que al plegarse, forma regiones con estructuras secundarias basadas principalmente en hélices alfa y vueltas beta, pero también algunas regiones plegadas sólidamente de espiral aleatoria. Debido a su naturaleza homo-dimérica, su peso molecular puede ir desde 35 000 (e.g. intestino de camello, Fahmy *et al.*, 2008) hasta los 494 000 KDa en células de linfoma de Hodgkin humano (Belland, 1993), dependiendo del organismo o tejido involucrado (Schillace y Scott, 1999; Luan *et al.*, 2003).

Cuadro 2. Residuos de aminoácidos de algunas FAI representativas.

	UNIPROT	AA	Gen asociado	Género/especie
Bacteriana	Q50HR6	407	N/D	<i>Pseudomonas putrida</i>
	P19406	461	phoA phoAIV BSU09410	<i>Bacillus subtilis</i>
	P19405	462	phoB phoAIII BSU05740	<i>Bacillus subtilis</i>
	P00634	471	phoA b0383 JW0374	<i>Escherichia coli</i>
Humano	P05187	535	ALPP (PLAP)	<i>Homo sapiens</i>
	P10696	532	ALPPL2	<i>Homo sapiens</i>
	P09923	528	ALPI	<i>Homo sapiens</i>
	PO5186	524	ALPL	<i>Homo sapiens</i>
Roedores	P08289	524	AlPi	<i>Rattus norvegicus</i>
	P24823	529	Akp5 Eap	<i>Mus musculus</i>
	P24823	559	lap Akp-3 Akp3	<i>Mus musculus</i>
Insectos	Q16JH5	558	AAEL013330	<i>Aedes aegypti</i>
	Q24238	596	N/D	<i>Drosophila melanogaster</i>

Fuente: <http://www.uniprot.org>. No disponible (N/D).

En algunas especies la FAI es una glicoproteína, puesto que se le han encontrado algunos glúcidos unidos a su molécula, en especial a la glucosa, fructosa, galactosa, manosa y fucosa, representando en muchos casos alrededor del 20% del peso de la molécula madura (Butterworth, 1983). Por último, las características de la estructura terciaria y cuaternaria así como la capacidad catalítica de las FAI, ha sido explotada para desarrollar técnicas para su identificación y cuantificación. Por ejemplo, la porción glicosilada, actividad catalítica y potencial antigénico de las isoformas de FAI humana (Seibel *et al.*, 2005) y de perro (Calderón-de la Barca *et al.*, 1993), ha permitido en desarrollo de técnicas inmunoradiométricas (IRMA por sus siglas), ensayos inmuno absorbentes ligados a enzimas (ELISA) y ensayos de precipitación o electroforesis con lectinas.

Genética y metabolismo

Para que una célula pueda sobrevivir a un ambiente dinámico e impredecible, ésta debe interpretar e integrar las señales extracelulares con los vectores de señal internos, los cuales deberán iniciar la transducción de señales que modifican el metabolismo intermediario y la regulación genética. Para el caso que nos ocupa, pese a que la reacción básica de la superfamilia de FAI se cumple en prácticamente todos los organismos y reinos, su participación metabólica difiere a razón de la complejidad del organismo y sus necesidades. Por ejemplo, la forma activa de la FAI de *E. coli*, generalmente se localiza en el peri plasma y se mantiene inactiva (reducida) en el citoplasma de células en crecimiento o cuando la condición de fosfatos es baja (Derman y Beckwith, 1995). En el caso de *Saccharomyces cerevisiae*, su FAI es

generalmente secretada al exterior de la célula en vesículas fabricadas en el citoplasma, las cuales se ponen en contacto con ciertos transportadores vacuolares implicados en la detoxificación de metales, de los que obtiene el zinc necesario para su actividad catalítica (Qiao *et al.*, 2009). Tanto en *E. coli* (Brocklehurst *et al.*, 1999) como *S. cerevisiae* (Eide, 2003) la homeostasis de zinc citoplasmático es controlada por la regulación pre y post-transcripcional, así como el funcionamiento de varios transportadores de entrada y salida para este ion divalente, regulando consecuentemente la actividad de FAI, junto con muchas otras metaloenzimas.

Las fosfatasa en plantas son muy semejantes a las de animales. Se han tenido varios registros acerca esta enzima con respecto a los vegetales. Por mencionar algunas de ellas, en el genoma de *Arabidopsis* existen 112 genes que probablemente codifiquen FAI; las cuales, la mayoría son fosfatasa del tipo 2C (PP2C) (de la subfamilia PPM), mientras que sólo una es específica de Tyr (Kerk *et al.*, 2002). Sin embargo, son las FAc las que más abundan en el reino vegetal y la mayoría no presentan una marcada especificidad de sustrato, y están involucradas en el aprovechamiento de los fosfatos orgánicos del suelo.

En humanos, hay cuatro tipos de isoenzimas: la no específica a tejido (TNAP, por sus siglas en inglés) que se encuentra en hueso, hígado y riñón y son codificadas por el cromosoma 1 (1p36.1-34; Llinas *et al.*, 2006). La isoenzima placentar (PLAP), la de células germinales (GCAP) y la intestinal (IAP), muestran una homología entre 90-98% pero se identifican entre su composición glicosilada (Seibel, 2005) y sus genes se ubican en el cromosoma 2 del humano (Orimo *et al.*, 2010). Mutaciones en los genes que codifican a TNAP provoca hipofosfatasa, una alteración rara familiar (Orimo *et al.*, 2010). Además, existen otras en neutrófilos, hueso y en secreciones como la leche (Butterworth, 1983). Mientras que

en la mayoría de los tejidos cada FAI se encuentra asociada a las membranas celulares con su centro y capacidad catalítica orientados al citoplasma, en los neutrófilos forma parte de los denominados fosfosomas. En adultos con función hepática normal, aproximadamente el 50% de la actividad de FAI detectada en el plasma corresponde a la isoenzima hepática, mientras que en niños y adolescentes el 90% corresponde a la isoenzima ósea (Seibel, 2005). Todas estas isoenzimas difieren en propiedades fisicoquímicas, antigénicas y catalíticas (Miao y Scutt, 2002) y también se pueden presentar otras formas atípicas: a) Fracción biliar (hepática rápida o alfa rápida), b) Neoplásica y c) De migración lenta (complejos moleculares de gran tamaño constituidos por la enzima y una molécula de IgG (Blake *et al.*, 1984; Banik, 2009).

Por último, Eguchi (1995) estudió dos isoenzimas (m-PA y s-PA) de la FAI en insectos. Al igual que en los humanos, estos isómeros fueron controlados por distintos genes de un mismo cromosoma. El estudio se realizó en distintos tejidos, bajo condiciones de alcalinidad y cadenas de azúcares. Los resultados mostraron que el 43% de la secuencia de aminoácidos a partir de cDNA de la m-PA, mostró homología con tres tipos de fosfatasa de humano. También, se da la conclusión que dichas isoenzimas son funcionalmente importantes en la conservación de los insectos, desde una perspectiva evolutiva.

FAI como marcador bioquímico

La FAI también ha sido una herramienta muy útil en el desarrollo de métodos en biología molecular, tales como las técnicas inmunoquímicas (Khatkhatay y Desai, 1999) y para la remoción de 5'-fosfatos de fragmentos de DNA (Koutsoulis *et al.*, 2010). Para reacciones de identificación de proteínas (Western Blot) en soportes poliméricos (e.g. nitrocelulosa) ha sido usada con bastante éxito debido a la estabilidad que presentan los cromógenos catalizados por FAI-acopladas a anticuerpos (Blake *et al.*, 1984).

En las últimas dos décadas, las FAI se han utilizado ampliamente en ensayos de inmuno absorción ligando a enzimas (ELISA), utilizando una sal disódica de *p*-nitrofenil fosfato (PNPP) como sustrato y un tampón de dietanolamina con ácido clorhídrico (0.1 M con pH 9.8) y cloruro de magnesio (Banik, 2009). Sin embargo, hoy por hoy se usan más los anticuerpos acoplados a otras enzimas (e.g. HRP) por conveniencia técnica.

FAI en biomedicina

Aparte de su aplicación como reactivo en numerosas pruebas inmuno histoquímicas, las diversas isoenzimas de la FAI han sido utilizadas como criterio diagnóstico de varias patologías desde ya hace muchos años. Por ejemplo, la inmuno detección de TNAP ha sido utilizada como marcador de remodelación ósea (Hoshi *et al.*, 1997; Millan *et al.*, 2006) mientras que la actividad de fosfatasa total en orina lo ha sido como marcador precoz de lesión tubular renal (Di Carlo *et al.*, 2007). Sin embargo, la sensibilidad de cada isoenzima para definir el funcionamiento normal y patológico del tejido al que pertenece, ha sido relegado a un segundo nivel diagnóstico en los últimos 20 años, previendo el mejoramiento en las técnicas de detección de otras bio moléculas que resultan mejores «marcadores». Por ejemplo, la FAI total plasmática ha quedado en desuso, dando paso a su isoforma ósea y más recientemente a otros marcadores más sensibles como la osteocalcina, la hidroxiprolina o la sialoproteína ósea (Seibel, 2005).

Aun así, el valor diagnóstico de la FAI sérica total todavía sigue siendo útil en la práctica clínica diaria como parte de las baterías diagnósticas óseas y hepáticas. Desde un punto de vista farmacológico, salve decir que existen numerosos compuestos orgánicos fosforilados que inhiben la acción de ciertas FAI asociadas a neoplasias como es el caso del poliestradiol fosfato en el cáncer de próstata (Xie *et al.*, 2007) y el polifloretil fosfato para enfermedades dérmicas, ambos son grandes inhibidores sobre esta enzima (Sorimachi, 1987).

FAI en Zoología

En principio, el valor de la FAI en las disciplinas de la biodiversidad tiene prácticamente el mismo fundamento y aplicación que en las ciencias biomédicas mencionadas anteriormente. Por ejemplo, la competencia estructural entre el vanadio y los grupos fosfato donadores mencionada anteriormente, ha sido señalada como el posible mecanismo hipoglicemiante observado tras la administración de vanadato a perros y ratas diabéticas (Kim *et al.*, 2006; Li *et al.*, 2009).

La FAI también se ha estudiado en la conservación de distintos animales como marcador de su alimentación. En el estudio reportado por Nicolescu (2008) con el tucán real (*Ramphastos sulfuratus*), se observaron valores de FAI más elevados en hembras que en machos en época de ovulación, producto de la hipercalcemia que incrementa los niveles séricos de esta enzima. Cabe señalar que valores semejantes habían sido detectados en casos de infección por rickettsias, hepatitis herpesvirus, neoplasia y colestasis. Los autores recomendaron administrar dietas controladas en minerales para no alterar enzimas ni biomoléculas que el tucán real utilice a lo largo de su vida.

La FAI también ha sido estudiada en veterinaria clínica. Schlesinger (1995) estudió el efecto que contenía methamoglobinemia y anemia en perros a partir de la dosificación de la acetaminofen. En dicho estudio, a los perros se les administró seis a siete tabletas de acetaminofen de 500 mg para hacerles un análisis hematológico, en donde se encontró que la FAI fue incrementada conforme a los días transcurridos. En contraste, la actividad de la enzima en el sistema hepático fue disminuida ligeramente. Pizzani *et al.* (2008) observaron las concentraciones de fósforo fítico sobre la actividad de la FA en el epitelio intestinal de ovinos de cuatro meses de edad. Los animales fueron distribuidos en cuatro grupos de cuatro animales cada uno y fueron alimentos con alto contenido de fósforo fítico en proporciones de

0, 40, 60 y 80%, respectivamente. Los ovinos fueron sacrificados después de ayuno y se les realizó una punción en la vena yugular, e inmediatamente se les extrajo el intestino delgado. La actividad de la FA fue disminuida en el porcentaje de fósforo fítico del 80%. Esto se debió a que la superficie de las células del epitelio intestinal incrementa la actividad de esta enzima a partir de la flora intestinal.

Por último, la FAI se ha ido utilizando como indicador biológico de adaptación de insectos fitófagos. Yan *et al.* (2011) evaluaron la interacción de dos hemípteros (*Aleirodidae*) patógenos: *Bemisia tabaco* biotipo B y *Trialeurodes vaporarium*. Ellos teorizaron que *B. tabaco* tenía una capacidad fitofágica mayor que *T. vaporium* en parte debida a una mayor actividad de las isoenzimas de FAI. Sus hallazgos demostraron que la FAI de *T. vaporium* se adaptaba con mayor rapidez (respuesta a corto plazo) cuando se le cambiaba de un tipo de planta a otra, pero que *B. tabaco* tenía una mayor velocidad al largo plazo cuando se le dejaba en un mismo huésped vegetal.

FAI en ciencias ambientales

Las reacciones de fosforilación/defosforilación involucradas en la transducción de señales son muy importantes en la membrana plasmática de las células vegetales. Por ejemplo, la actividad de la H⁺-ATPasa está regulada por una fosforilación dependiente de Ca²⁺ y muchas cinasas de membrana son dependientes de este cofactor. Sin embargo, se han identificado muy pocas fosfatasas en ella. Hoy se sabe que la fosforilación se puede dar en forma reversible, lo cual modula muchos procesos celulares, incluyendo procesos del ciclo celular, respuesta a factores de crecimiento, hormonas y otros estímulos ambientales, control metabólico y procesos de desarrollo (Marchand *et al.*, 2009).

Por otra parte, la hidrólisis es un paso primario y a menudo limitante en los procesos de tratamiento de aguas residuales. La hidrólisis

enzimática de compuestos orgánicos en lodos activados en condiciones aeróbicas es más eficiente que la observada en condiciones anaeróbicas o en condiciones de anoxia. En particular, una gran proporción del fósforo total presente en las aguas residuales se encuentra en forma de compuestos orgánicos, por lo que las enzimas hidrolíticas presentes en los lodos activados aeróbicamente son críticas para la eficiente eliminación de fósforo durante el tratamiento de aguas residuales. En estos casos, la FAI y no la FAc, es la enzima indicada para degradar las especies orgánicas o-fosfóricas, mismas que se encuentra por ocurrencia natural. Sin embargo, los lodos también pueden tener cantidades importantes de iones divalentes (e.g. K⁺, Na⁺, Ca⁺, Mg²⁺, Ca²⁺, Al³⁺, Mn²⁺ y Ni²⁺) y aniones diversos (e.g. o-fosfato, pirofosfato, hexametáfosfato y β-glicerofosfato) que pueden afectar seriamente la actividad de la FAI presente (Luan *et al.*, 2003).

La actividad de FAI en rizosferas y suelos también ha sido propuesta como indicadores de fertilidad de suelos y/o de su nivel de contaminación. En el primer caso, el cooperativismo entre especies fúngicas y/o bacterias y la rizosfera asociada a plantas como la manzana tropical (*Solanum viarum*; Hemashenpagam y Selvaraj, 2011) o soya (*Glycine max*, Ramesh *et al.*, 2011) ha sido monitoreado, como parte de otros indicadores bioquímicos, mediante la actividad de FAI en el suelo. Para el segundo caso se ha evaluado el nivel de FAI en suelos contaminados con compuestos organoclorados (Gao *et al.*, 2012), herbicidas a base de sulfonilureas (Sofa *et al.*, 2012) o metales pesados como el mercurio (Tazisong *et al.*, 2012), cuya presencia la carga y metabolismo microbiano del suelo. Por último, la FAI se ha ido utilizando como bioindicador de la limitación de fósforo en sitio marítimo. Iriarte *et al.* (2006) observaron la importancia de la actividad enzimática de ensamblajes fitoplanctónicos como indicadores de su metabolismo y la relación que existía la FAI con la producción de nutrientes inorgánicos en la

Antártida. En dicho estudio se encontró que la actividad de la FAI tuvo una correlación negativa con las concentraciones de fósforo, esto indica que hay un déficit en la actividad de la enzima cuando existe un alto contenido del fósforo inorgánico en el fitoplancton.

FAI en ciencia de alimentos

La actividad de la FAI se ha utilizado en estudios de calidad e impacto metabólico de diversos alimentos. En el primer caso, se le ha utilizado como un indicador de eficiencia en la pasteurización de la leche, pues la presencia y metabolismo microbiano de bacterias de alta resistencia térmica como *Mycobacterium tuberculosis*, se debe interrumpir por encima de los 70 °C (Bárcena-Ruiz *et al.*, 2007; Banik, 2009; Payne y Wilbey, 2009) y en la respuesta y rendimiento del maíz, tras la exposición de este cultivo a fertilizantes y abonos (Álvarez-Solís, 2010). Por otro lado, en varios estudios se ha visto que el perfil nutrimental de algunos alimentos modifica la expresión y actividad de la fosfatasa alcalina, como es el caso de la respuesta diferencial al consumo de aceites de soya, coco, palma y pescado en ratas sanas (Wahnon *et al.*, 1992; Edem y Akpanabiatu, 2006) o sujetas a estrés xenobiótico (Rasmy *et al.*, 2011). Por último, la expresión y actividad de la FAI en respuesta a los antioxidantes del ajonjolí (Sharma *et al.*, 2012), ajo (Whang *et al.*, 2012) y uva (Shin *et al.*, 2010), ha dado cuenta de los efectos hepatoprotectores de estos ingredientes comunes en la cocina mexicana.

Conclusiones


Diversos integrantes de la superfamilia de fosfatasas alcalinas (FAI) han sido utilizados como marcadores de fenómenos biológicos en ciencias biomédicas (e.g. funcionalidad renal, hepática y ósea), ambientales (e.g. fosfatos en suelo marino y su remoción de aguas residuales), zoología (e.g. ciclos de fertilidad en aves) y alimentos (e.g. calidad de productos lácteos). En este artículo se han revisado solamente algunas de estas aplicaciones. Sin embargo, la elucidación día con día de nuevos

roles metabólicos, aspectos cinético-enzimáticos o estructurales incrementará el número y calidad de las investigaciones a nivel internacional. Por lo pronto, la FAI como marcador bioquímico, seguirá dando pie al desarrollo de varias técnicas inmuno enzimáticas, para beneficio de las ciencias químico-biológicas.

Literatura citada

- ÁLVAREZ-SOLÍS, J.D., Gómez-Velasco, D.A., León-Martínez, N.S., Gutiérrez-Miceli, F.A. 2010. Manejo integrado de fertilizantes y abonos orgánicos en el cultivo del maíz. *Agrociencia* 44: 575-586.
- ATYAKSHEVA, L.F., Chukhrai, E.S. and Poltorak, O. M. 2008. The catalytic properties of alkaline phosphatases under various conditions. *Russ. J. Phys. Chem. A* 82: 1947-1951.
- BANIK, R. 2009. Selection of metals salts for alkaline phosphatase production using response surface methodology. *Food Res Int* 42: 470 – 475.
- BÁRCENA-RUIZ, J. A, García, A. C., Padilla-Peña, C.A., Martínez-Galisteo, E., Díez-Dapena, J. 2007. Caracterización Cinética de la fosfatasa. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Córdoba.
- BELLAND, L., Visser, L., Poppema, S., Stinson, R. A. 1993. Characterization of the alkaline phosphatase expressed on the surface of a Hodgki's lymphoma cell line. *Enzyme Protein* 47(2): 73-82.
- BLAKE, M. S., Johnston, K. H., Russel-Jones J. and Gotschlich, E. C. 1984. A rapid, sensitive method for detection of alkaline phosphatase-conjugated anti-antibody on Western blots. *Anal Biochem* 136(1): 175-179.
- BRENDA. 2011. Comprehensive Enzyme Information System, [Online]: <http://www.brenda-enzymes.info/index.php4>. Consultada el 5 de Marzo del 2012.
- BROCKLEHURST, K. R., Hobman, J. L., Lawley, B., Blank, L., Marshall, S. J., Brown, N. L. & Morby, A. P. 1999. ZntR is a Zn(II)-responsive MerR-like transcriptional regulator of zntA in *Escherichia coli*. *Mol. Microbiol* 31(3): 893-902.
- BUTTERWORTH, P. J. 1983. Biochemistry of mammalian alkaline phosphatases. Alkaline phosphatase. *Cell Biochemistry and Function* 1(2): 66-70.
- CALDERON-DE LA BARCA, A. M., Jensen, A. L., Bog-Hansen, T. C. 1993. Affinity methods with lectins: a tool to identify canine alkaline phosphatase isoenzymes. *J Biochem Biophys. Methods* 27(3): 169-180.
- CHEN, F., Liu, G., Xu, Z. and Seng, Z. 2008. Effect of metal ions on the secondary structure and activity of calf intestine phosphatase. *BMB reports* 41(4): 305-309.
- COLEMAN, J. E. 1992. Structure and Mechanism of Alkaline Phosphatase. *Ann. Rev. Biophys. Biomol. Structure* 21: 441-483.
- DERMAN, A. L., Beckwith, J. 1995. *Escherichia coli* alkaline phosphatase localized to the cytoplasm slowly acquires enzymatic activity in cells whose growth has been suspended: a caution for gene fusion studies. *J. Bacteriol.*: 177(13): 3764-3770.
- DI-CARLO, M. B., Gomez, A. G., Madalena, L. B., Facio, M. L., Pizzolato, M. A. and Negri, G. A. 2007. Utilidad de la fosfatasa alcalina urinaria como marcador precoz de lesión tubular renal. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana* 41(3): 369-77.
- EGUCHI, M. 1995. Alkaline phosphate isozymes in insects and comparison with mammalian enzyme. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part B. Biochem. Molecular Biol.* 111(2):151-62.
- EIDE, D. J. 2003. Multiple regulatory mechanisms maintain zinc homeostasis in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Nutr.* 133 (5 suppl 1): 15232S-5S.

- FAHMY, A. S., El-Badry, M.O., Zein, H.A., Shousha, W.G. and Mahdy, E. M. 2008. Purification and characterization of two alkaline phosphatases from camel small intestine. *Egypt. J. Biochem. Mol. Biol.* 26(1): 31-54.
- GAO, Y.F., Yang, H., Zhan, X.H., Zhou, L.X. 2012. Scavenging of BHCs and DDTs from soil by thermal desorption and solvent washing. *Environ Sci Pollut Res Int* Jun 2. [Epub ahead of print]
- HAWRYLAK, K and Stinson, R. A. 1998. The solubilization of tetrameric alkaline phosphatase from human liver and its conversion into various forms by phosphatidylinositol phospholipase C or proteolysis. *J. Biol. Chem.* 263(28): 14368-14373.
- HEMASHENPAGAM, N., Selvaraj, T. 2011. Effect of arbuscular mycorrhizal (AM) fungus and plant growth promoting rhizomicroorganisms (PGPR's) on medicinal plant solanum viarum seedlings. *J Environ Biol* 32(5): 579-83
- HOLTZ, K. M., Stec, B. and Kantrowitz, E. R. 1999. A model of the transition state in the alkaline phosphatase reaction. *J. Biol. Chem.* 274(13): 8351-8354.
- HOSHI, K., Amizuka, N., Oda, K., Ikehara, Y. and Ozawa, H. 1997. Immunolocalization of tissue non-specific alkaline phosphatase in mice. *Histochem. Cell Biol.* 107(3): 183-191. Journal of Biological Chemistry www.jbc.org
- IRIARTE, J., Gonzalez RR, Quiñonez RA, Kang S-H, Shim JH, Valenzuela CP. 2006 Enzyme activities of phytoplankton in the South Shetland Islands (Antarctica) in relation to nutrients and primary production. *Rev Chil Hist Nat* 79(4): 505-516.
- KHATKATAY, M. I. and Desai, M. 1999. A comparison of performances of four enzymes used in ELISA with special reference to beta-lactamase. *J. Immunoassay* 20(3): 151-83.
- KERK, D., Bulgrien, J., Smith, D. W., Barsam, B., Veretnik, S. and Gribskov, M. 2002. The complement of protein phosphatase catalytic subunits encoded in the genome of Arabidopsis. *Plant Physiol.* 129(2): 908-925.
- KIM, J. M., Chung, J.Y., Lee, S. Y., Choi, E. W., Kim, M. K., Hwang, C. Y. and Youn, H. Y. 2006. Hypoglycemic effects of vanadium on alloxan monohydrate induced diabetic dogs. *Vet Sci.* 7(4): 391-395.
- KIHN, L., Rutkowski, D., Nakatsui, T. and Stinson, R. A. 1991. Properties of amphiphilic and hydrophilic forms of alkaline phosphatase from human liver Enzyme. 45(3): 155-164.
- KONCKI, R., Rudnicka, K. and Tymecki, K. 2006. Flow injection system for potentiometric determination of alkaline phosphatase inhibitors. *Anal. Chem. Acta.* 577(1): 134-9.
- KOZLENKOV, A., Manes, T., Hoylaerts, M. F. and Milan, J. L. 2002. Function assignment to conserved residues in mammalian alkaline phosphatases. *J. Biol. Chem.* 277(25): 22992-22999.
- KOUTSIOLIS, D., Lyskowski, A., Mäki, S., Guthrie, E., Feller, G., Bouriotis, V. and Heikinheimo, P. 2010. Coordination sphere of the third metal site is essential to the activity and metal selectivity of alkaline phosphatases. *Protein Science* 19(1): 75-84.
- LI, M., Ding, W., Smee, J. J., Baruah, B., Wilsky, G. R. and Crans, D. C. 2009. Anti-diabetic effects of vanadium (III, IV, V)-chlorodipicolinate complexes in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biomaterials* 22(6): 895-905.
- LLINAS, P., Masella, M., Stigbrand, T., Ménez, A., Stura, E. A. and Le Du, M. H. 2006. Structural studies of human alkaline phosphatase in complex with strontium: Implication for its secondary effect in bones. *Protein Science* 15(7): 1691-1700.
- LOPEZ-CANUT, V., Roca, M., Bertran, J., Moliner, V. and Tuñon, I. 2011. Promiscuity in Alkaline Phosphatase Superfamily. Unraveling Evolution through Molecular Simulations. *J. Am. Chem. Soc.* 133 (31): 12050-12062.
- LUAN, S. 2003. Protein phosphatases in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 54: 63-92.
- MARCHANT, S., Merchiers, M., Messens, W., Coudijzer, K. and De Block, J. 2009. Thermal inactivation kinetic of alkaline phosphatase in equine milk. *International Dairy Journal* 19: 763-767.
- MIAO, D., Scutt, A., J. 2002. Histochemical localization of alkaline phosphatase activity in decalcified bone and cartilage. *Cytochem.* 50(3): 333-340.
- MILLAN, J. L. 2006. Mammalian alkaline phosphatases: from biology to applications in medicine and biotechnology. Wiley-VCH Verlag GmbH and Co. New York. 237-238p.
- MURPHY, J. E. and Kantrowitz, E. R. 1994. Why are mammalian alkaline phosphatases much more active than bacterial phosphatases? *Mol. Microbiol.* 12(3): 351-7.
- NEUMANN, H. 1968. Substrate selectivity in the action of alkaline and acid phosphatases. *J. Biol. Chem.* 243(18): 4671-4676.
- O'BRIEN, P.J., Herschlag, D. 2001. Functional interrelationships in the alkaline phosphatase superfamily: phosphodiesterase activity of *Escherichia coli* alkaline phosphatase. *Biochem.* 40(19): 5691-5699.
- ORIMO, H. 2010. The mechanism of mineralization and the role of alkaline phosphatase in health and disease. *J. Nippon. Med. Sch.* 77(1):4-12.
- PAYNE, C., Wilbey, A. 2009. Alkaline phosphatase in pasteurized milk: A quantitative comparison of Fluorophos and colourimetric procedures. *Int J Dairy Technol* 62(3): 308-314
- PANOSIAN, T.D., Nannemann, D. P., Watkins, G. R., Phelan, V. V., McDonald, W. H., Wadzinski, B. E., Bachmann, B. O. and Iverson, T. M. 2011. *Bacillus cereus* phosphopentomutase is an alkaline phosphatase family member that exhibits an altered entry point into de catalytic cycle. *J. Biol. Chem.* 286: 8043-8054.
- PIZZANI, P., Godoy S, León M, Rueda E, Castañeda MV, Arias A. 2008. Efecto de concentraciones crecientes de fósforo fítico sobre La actividad de la enzima fitasa y fosfatasa alcalina en el epitelio intestinal de ovinos jóvenes. *Rev Científica* 18(1): 59-64.
- QIAO, W., Eliis, C., Steffen, J., Wu, C. Y. and Eide, D. J. 2009. Zinc status and vacuolar zinc transporters control alkaline phosphatase accumulation and activity in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Microbiol.* 72(2): 320-4
- RAMESH, A., Sharma, S.K., Joshi, O.P., Khan, I.R. 2011. Phytase, phosphatase activity and p-nutrition of soybean as influenced by inoculation of bacillus. *Indian J Microbiol* 51(1): 94-9
- RASMY, G.E., Khalili, W.K.B, Mharib, S.A., Kawkab, A.A., Jwany, E.W. 2011. Efecto del aceite de pescado de la dieta en cáncer de colon inducido por dimetil hidrazina en ratas. *Grasas y aceites* 62(3): 253-267
- SEKIGUCHI, S., Hashida, Y., Yasakawa, K., Inouye, K. 2012. Stabilization of bovine intestine alkaline phosphatase by sugars. *Biosci Biotechnol Biochem* 76(1): 95-100
- SCHILLACE, R. V. and Scott, J. D. 1999. Organization of kinases, phosphatases, and receptor signaling complexes. *J. Clin. Invest.* 103: 761-765.
- SCHLESINGER, D.P. 1995. Metahemoglobinemia and anemia in a dog with acetoaminphen toxicity. *Can Vet J* 3:515-517
- SEIBEL, M. J. 2005. Biochemical markers of bone turnover: Part 1: biochemistry and variability. *Clin. Biochem.* 26(4): 97-122.
- SHARMA, A.K., Bharti, S., Bhatia, J., Nepal, S., Malik, S., Ray, R., Kumari, S., Arva, D.S. 2012. Sesamol alleviates diet-induced cardiometabolic syndrome in rats via up-regulating PPAR α , PPAR β and e-NOS. *J Nutr Biochem*, ahead of print.
- SHIN, M.O., Yoon, S., Moon, J.O. 2010. The proanthocyanidins inhibit dimethylnitrosamine-induced liver damage in rats. *Arch Pharm Res* 33(1): 167-73.
- SOFO, A., Scopa, A., Dumontet, S., Mazzatura, A., Pasquale, V. 2012. Toxic effects of four sulphonylureas herbicides on soil microbial biomass. *J Environ Sci Health* 47(7): 653-9
- SORIMACHI, K. 1987. Activation of alkaline phosphatase with Mg and Zn in rat Hepatoma Cells. *J. Biol. Chem.* 262(4): 1535-1541.
- TAZISONG, I.A., Senwo, Z.N., Williams, M.I. 2012. Mercury speciation and effects on soil microbial activities. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng* 47(6): 854-62

- VALENTÍN, N.I.R.A. 2008. Determinación de valores de referencia para hepatología, química sérica, fisiología y morfometría del tucán real (*Ramphastus sulfuratus*) en cautiverio en Guatemala. Tesis Profesional. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad de San Carlos en Guatemala. 60p. Disponible en: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/10/10_1092.pdf
- VAN-LOO, B., Jonas, S., Babbie, A. C., Benjdia, A., Berteau, O., Hyvönen, M. and Hollfelder, F. 2010. An efficient, multiply promiscuous hydrolase in the alkaline phosphatase superfamily. *Proc Nat Acad Sci USA* 107(7): 2740-2745.
- WAHNON, R., Cogan, U., Mokady, D. 1992. Dietary fish oil modulates the alkaline phosphatase activity and not the fluidity of rat microvillus membrane. *J Nutr* 122: 1077-1084.
- WANG, J. Stieglitz, K. A. and Kantrowitz, E. R. 2005. Metal specificity is correlated with two crucial active site residues in *Escherichia coli* alkaline phosphatase *Biochemistry* 44(23): 8378-86.
- XIE, C. Lu, R., Huang, Y., Wang, Q. y Xu, X. 2010. Effects of ions and phosphates on alkaline phosphatase activity in aerobic sludge system. *Bioresource Technology* 101(10): 3394 – 3399.
- XIE, W. Nakabayashi, M. and Regan, M. M. and Oh, W. W. 2007. Higher prostate-specific antigen levels predict improved survival in patients with hormone-refractory prostate cancer who have skeletal metastases and normal serum alkaline phosphatase. *Cancer* 110(12): 2709-15
- YAN, Y., Peng, L., Liu, W-X., Wan, F-H., Harris, M.K. 2011. Host plant effects on alkaline phosphatase activity in the whiteflies, *Bemisia tabaci* biotype B and *Trialeurodes vaporariorum*. *J Insect Sci* 11(9): 1-13.
- ZALATAN, J. G., Fenn, T. D., Herschlag, D. 2008. Comparative enzymology in the alkaline phosphatase super family to determine the catalytic role of an active site metal ion. *J Mol Biol* 384(5): 1174-1189.
- ZHANG, C.L., Zeng, T., Zhao, X.L., Yu, L.H., Zhu, Z.P., Xie, K.Q. 2012. Protective effects of garlic oil on hepatocarcinoma induced N-nitrosodiethylamine in rats. *Int J Biol Sci* 8(3):363-74.
- ZHANG, L., Balcerzak, M., Radisson, J., Thouverey, C., Pikula, S., Azzar, G. and Buchet, R. 2005. Phosphodiesterase Activity of Alkaline Phosphatase in ATP-initiated Ca²⁺ and Phosphate Deposition in Isolated Chicken Matrix Vesicles *J. Biol. Chem.* 280: 37289–37296. 

Este artículo es citado así:

Mercado-Mercado, G., N. L. Duarte-Muñoz, E. Álvarez-Parrilla, L. A. De la Rosa y A. Wall-Medrano. 2012: *Fosfatasa alcalina (E.C.3.1.3.1): bioquímica y aplicaciones en las ciencias biomédicas, ecológicas y alimentarias*. *TECNOCENCIA Chihuahua* 6(2):112-122.

Resúmenes curriculares de autor y coautores

GILBERTO MERCADO MERCADO. Terminó su licenciatura en 2007, año en que le fue otorgado el título de licenciatura en Química, por el Instituto de Ciencias Químicas Biológicas de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez (UACJ). Realizó su posgrado en Ciudad Juárez, Chihuahua; donde obtuvo el grado de Maestro en Ciencias (especialidad en Agroalimentaria) en el 2011. Desde el 2009 labora en el Instituto de Ciencias Biomédicas de la UACJ y posee la categoría de Profesor Honorario en el Departamento de Bioquímica. Es autor de 4 artículos científicos en revistas indexadas como arbitradas; ha participado en diversos proyectos de investigación financiados por fuentes externas, incluyendo fondos sectoriales y mixtos CONACyT. Ha asistido a ponencias en congresos nacionales e internacionales, ha realizado estancias a Universidades nacionales financiado por DEFLIN y AMC. Ha asistido a cursos de actualización en el área de bioquímica, microbiología y alimentos.

NORMA LETICIA DUARTE MUÑOZ. Terminó su licenciatura en 1986, año en que le fue otorgado el título de Ingeniero Industrial en Química, por el Instituto Tecnológico de Chihuahua. Realizó su posgrado en el Instituto de Ciencias Biomédicas de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez; donde es candidato a Maestro en Ciencias Químico-Biológicas con especialidad en Ambiental. Actualmente labora en el Instituto de Ciencias Biomédicas de la UACJ, como profesor honorario en el área de Química.

EMILIO ÁLVAREZ-PARRILLA. Terminó su licenciatura en 1992, año en que le fue otorgado el título de Licenciado en Oceanología por la Facultad de Ciencias Marinas de la Universidad Autónoma de Baja California (UABC). Realizó su posgrado en España, donde obtuvo el grado de Maestro en Ciencias en Ciencia e Ingeniería de Alimentos en 1995 por la Universidad Politécnica de Valencia y el grado de Doctor en Ciencias Químicas en el 2000 por la Universidad de Santiago de Compostela. Desde 2001 labora en el Instituto de Ciencias Biomédicas de la UACJ y posee la categoría de Profesor Investigador de Tiempo Completo categoría C. Ha sido miembro del Sistema Nacional de Investigadores desde 2001 (Nivel II a partir de 2011). Su área de especialización es fitoquímicos de alimentos y sus efectos benéficos sobre la salud. Ha dirigido 22 tesis de licenciatura y de maestría. Es autor de 28 artículos científicos, más de 40 ponencias en congresos, y 18 capítulos de libros científicos, y coeditor de 2 libros científicos; ha participado 18 proyectos de investigación financiados por fuentes externas. Es evaluador de proyectos de investigación del CONACyT (Fondos institucionales, mixtos y sectoriales) y proyectos internos de la Universidad de Colima y Universidad Autónoma de Baja California. Es árbitro de once revistas científicas de circulación internacional.

LAURA A. DE LA ROSA. Terminó su licenciatura en 1996, año en que le fue otorgado el título de Licenciada en Oceanología por la Facultad de Ciencias Marinas de la Universidad Autónoma de Baja California (UABC). Realizó su posgrado en España, donde obtuvo el grado de Doctor en Ciencias Biológicas en el área de Farmacología en 2001 por la Universidad de Santiago de Compostela. Desde 2002 labora en el Departamento de Ciencias Químico-Biológicas de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez (UACJ) y posee la categoría de Profesor-Investigador titular C. Recientemente ha realizado una estancia sabática en el Departamento de Bioquímica de la Memorial University of Newfoundland, Canadá en el área de alimentos funcionales. Ha sido miembro del Sistema Nacional de Investigadores desde 2002 (Nivel I). Actualmente trabaja en el área de caracterización química y actividad biológica de fitoquímicos obtenidos de productos alimenticios. Ha dirigido 13 tesis de licenciatura y 1 de maestría. Es autora de aproximadamente 25 artículos científicos en revistas internacionales, 9 capítulos de libro y co-editora de 2 libros científicos. Es evaluadora de proyectos de investigación del CONACyT y proyectos internos de la universidades Autónoma de Baja California, Autónoma de Chihuahua y Universidad de Colima.

ABRAHAM WALL-MEDRANO. Terminó su licenciatura en 1990, año en que le fue otorgado el título de Químico Farmacéutico Biólogo, por la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Guadalajara (UAG). Realizó su posgrado en Hermosillo Sonora, donde obtuvo el grado de Maestro en Ciencias (especialidad en Nutrición Humana) 1999 y Doctor en Ciencias en el 2004, por el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Desde el 2006 labora en el Instituto de Ciencias Biomédicas de la UACJ y posee la categoría de Profesor Investigador de Tiempo Completo categoría C. Su área de especialización es nutrición humana y experimental. Ha dirigido más de 40 tesis de licenciatura y maestría. Es autor de 20 artículos científicos, más de 40 ponencias en congresos, y 10 capítulos de libros científicos; ha participado en diversos proyectos de investigación financiados por fuentes externas, incluyendo fondos sectoriales y mixtos CONACyT.