

CONTRIBUCIONES ORIGINALES

**LA ACCION DE LA INSULINA SOBRE LA MEMBRANA
CELULAR Y LA ENSEÑANZA DE LA MEDICINA ***

DAVID ERLIJ ‡

Se determinaron los efectos de la insulina sobre los movimientos de salida de sodio y la fijación de ouabáina marcada en el músculo esquelético de la rana, encontrándose que dicha hormona estimula tanto la expulsión activa de sodio como la fijación de ouabáina radiactiva. Dado que estas observaciones indican que la insulina estimula la bomba de sodio aumentando el número de sitios de bombeo, se llevó a cabo otro grupo de experimentos para explorar esta posibilidad. Después de bloquear todos los sitios de bombeo presentes en el músculo en reposo, la adición de insulina descubre nuevos sitios para el bombeo de sodio. Este experimento da gran solidez a la tesis de que la insulina aumenta el bombeo de sodio por aumentar el número de sitios de bombeo presentes en la membrana. También, se ha iniciado la investigación del mecanismo

* Trabajo de ingreso a la Academia Nacional de Medicina, presentado en la sesión ordinaria del 11 de septiembre de 1974.

‡ Académico numerario. Departamento de Biología Celular. Centro de Investigación y Estudios Avanzados. Instituto Politécnico Nacional.

de este aumento en el número de sitios de bombeo y se ha encontrado que no es debido a la síntesis de nuevas bombas de sodio, sino probablemente a la activación de sitios de bombeo que se encuentran en forma inactiva en la membrana. Finalmente, se recuerda que la proscisión original de que la insulina actúa sobre la membrana celular fue hecha en un departamento de medicina y se subraya el importante papel que juega el médico de dedicación exclusiva a la medicina académica, tanto en la enseñanza como en el desarrollo de las ciencias médicas.

El propósito principal de este trabajo es describir algunos experimentos que contribuyen a aclarar el mecanismo de la acción celular de la insulina. Además del interés intrínseco que tiene la acción de esta hormona, el análisis tiene implicaciones más amplias, pues es parte del campo de estudio de los mecanismos de interacción entre las sustancias extracelulares y la célula. Es bien conocido que numerosos agentes químicos —hormonas, neurotransmisores, antígenos, drogas y otros— modifican drásticamente la actividad celular cuando se encuentran disueltos en pequeñas cantidades en el medio que rodea a las células. Para explicar las modificaciones de la actividad celular causada por dichos agentes químicos, se ha postulado la interacción de éstos con receptores específicos en la célula. Dicha interacción puede dividirse en dos procesos: *a*) reconocimiento y combinación entre los agentes químicos y los receptores celulares, y *b*) una vez efectuada la combinación, ésta debe traducirse en una respuesta biológicamente significativa.

El grupo de trabajo del autor se ha dedicado a investigar el proceso por el cual la insulina modifica los movimientos de algunas sustancias a través de la membrana celular. La importancia de este

proceso reside en que una parte importante de la acción reguladora que ejerce la insulina sobre el metabolismo celular es mediada por cambios selectivos en el movimiento de sustancias a través de la membrana.

El concepto de que la insulina actúa sobre la membrana celular fue propuesto en 1949 por Rachmiel Levine y col.,¹ quienes se basaron en experimentos que mostraban que la insulina estimula los movimientos de galactosa a través de la membrana de los adipocitos y de las células musculares del perro.

Desde entonces, se ha demostrado que la insulina, además de estimular el movimiento de galactosa, modifica el transporte de otros azúcares,² aminoácidos³ y cationes alcalinos (Na^+ y K^+).^{4, 5} Es interesante señalar que los movimientos de todas estas sustancias a través de la membrana son mediados por acarreadores específicos. Este problema se vuelve aún más fascinante si se considera que el número de receptores de insulina por unidad de superficie⁶ de membrana —que es de 10 por μ^2 — se encuentra muy por debajo del número de acarreadores presentes por unidad de área de membrana —sólo para el transportador de Na^+ y K^+ hay entre 500 y 1 500 sitios^{7, 8} por μ^2 , y que se

ignora el mecanismo por el cual el complejo insulina-receptor modifica los transportes mediados por todos los acarreadores mencionados.

En 1923 se descubrió que la inyección de insulina reduce los niveles de potasio plasmático.⁹ Recientemente se ha reconocido que esta acción es mediada por la estimulación de la bomba de sodio y potasio,^{4, 5} la cual es una enzima, una adenosintrifosfatasa (ATPasa), que se encarga de expulsar el sodio de las células y absorber el potasio del medio extracelular.^{10, 11}

Para el presente estudio se seleccionaron los efectos de la insulina sobre este sistema de transporte de cationes porque tiene las siguientes ventajas: La ATPasa dependiente de sodio y potasio es selectivamente inhibida por la ouabaína.^{10, 11} Mediante el uso de la ³H ouabaína (ouabaína marcada) es posible determinar la magnitud de la fijación del inhibidor y estimar el número de sitios de transporte, mientras que simultáneamente el transporte de cationes puede ser medido mediante la determinación de los movimientos de Na⁺ o K⁺ radiactivos.

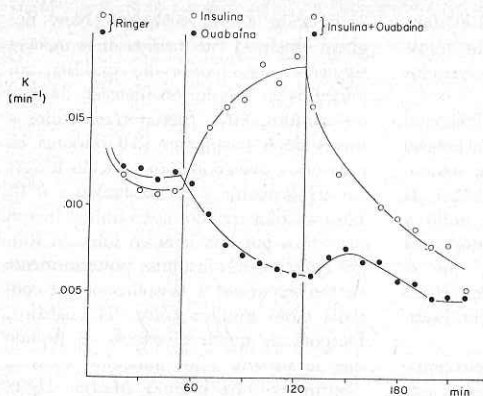
Métodos

Se determinaron los efectos de la insulina sobre la fijación de ³H ouabaína y sobre la salida de ²²Na del músculo estriado de la rana (*Rana pipiens*). Con este propósito se diseccionaron ambos músculos sartorios de un mismo animal, para obtener así un músculo control y otro experimental de cada animal. Las técnicas usadas para medir la salida del sodio radiactivo han sido descritas previamente.^{12, 13} Se utilizó un aparato que transfiere automáticamente los músculos de un recipiente al otro.¹⁴

La fijación de ³H ouabaína (New England Nuclear) fue medida de la manera siguiente: después de equilibrar los músculos en la solución marcada durante 50 minutos, éstos fueron transferidos a través de 6 recipientes (10 minutos en cada uno) que contenían solución Ringer sin ³H ouabaína y se mantenían a 0°C. Los músculos tratados con insulina fueron incubados por una hora en solución Ringer que contenía insulina; posteriormente fueron expuestos a la solución que contenía tanto insulina como ³H ouabaína. Después de quitar el exceso de líquido que se adhería a los músculos, éstos se pesaron en una balanza Mettler H-10, luego fueron digeridos con el solubilizante NCS y contados en una mezcla de tolueno en un contador de centelleo Beckman LS150. El apagamiento (*quenching*) fue determinado por el método de cociente de los canales, utilizando un estándar externo. En todos los experimentos la concentración de insulina usada fue 250mU/ml.

Resultados y discusión

La figura 1 muestra un experimento en que se midió la salida de sodio —que representa la actividad de la bomba de sodio, su estimulación por la insulina y la inhibición causada por la ouabaína. El inhibidor redujo la salida de sodio en el músculo control a un nivel igual a 0.5 veces el valor de reposo. Este hallazgo está de acuerdo con observaciones previas que muestran que sólo la mitad aproximadamente de la salida del sodio en el músculo de la rana es bloqueada por la ouabaína, es decir, representa la expulsión activa de sodio; el resto de la salida de sodio se efectúa mediante difusión por



1 Efectos de la ouabaína sobre la estimulación de la salida de sodio causada por la insulina. Después de un periodo de reposo, el músculo control (círculos llenos) fue transferido a soluciones que contenían ouabaína (1×10^{-6} M), mientras que el músculo experimental (círculos vacíos) recibió insulina (250 mU/ml.). Después, ambos músculos fueron transferidos a soluciones que contenían tanto insulina como ouabaína.

En ésta y el resto de las figuras, la abscisa representa el tiempo en minutos, y la ordenada la salida de sodio expresada como constante de velocidad K.

intercambio (exchange diffusion).^{12, 16, 10} La adición de insulina en presencia de ouabaína en el medio causó sólo un aumento pequeño y transitorio de la salida de sodio. En el músculo control, la insulina aumentó la salida del sodio hasta 1.86 ± 0.10 veces ($n=5$) el valor de reposo. Después de añadir ouabaína, la salida de sodio se redujo a un nivel similar al que se había observado en el músculo control.

Las diferencias de fijación de ^3H ouabaína encontradas entre músculos pareados sin tratamiento fueron siempre menores de 5 por ciento, aunque la diferencia es marcada cuando se comparan músculos obtenidos de animales distintos. En los experimentos en que se midieron los efectos de la insulina sobre la fijación de ^3H ouabaína, se emplearon dos concentraciones de ouabaína, 2.5×10^{-7} y 1×10^{-6} molar; estas concentraciones in-

Cuadro 1 Acción de la insulina sobre la fijación de ^3H ouabaína *

	Concentración de ouabaína		"Preincubados"
	2.5×10^{-7} M	1×10^{-6} M	1×10^{-6} M
Control	1661 \pm 304	4037 \pm 554	1153 \pm 325
Insulina	2735 \pm 499	6639 \pm 825	2700 \pm 336
Δ (I-C)	1074 \pm 218	2602 \pm 683	1546 \pm 91
	$p < 0.01$	$p < 0.02$	$p < 0.001$
I/C	1.66 \pm 0.08	1.71 \pm 0.21	3.03 \pm 0.66

* Todas las cifras de fijación están expresadas en dpm/mg. de peso húmedo. Los valores son promedios \pm error estándar ($n = 5$). La actividad específica de la ouabaína fue de 11.7 Ci/mMol.

Δ (I-C) Se refiere a las diferencias de fijación entre músculos control y músculos tratados con insulina; los valores de p fueron calculados de la prueba "t" Student.

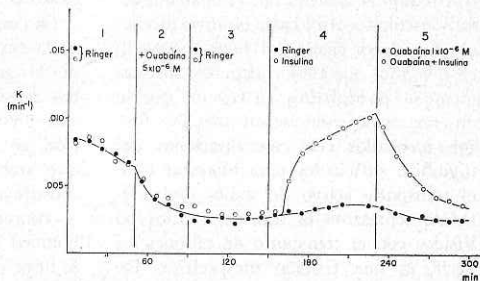
I/C Se refiere al cociente obtenido al dividir la cantidad de ouabaína fijada por el músculo tratado con insulina entre la fijada por el control.

hiben en 40 y 100 por ciento, respectivamente la salida de sodio sensible a ouabaína. El cuadro 1 muestra que la insulina produjo un gran aumento de la fijación de ^3H ouabaína. El promedio de los cocientes obtenidos al dividir la fijación de ouabaína marcada en músculos tratados con insulina entre los controles fue de 1.7. La diferencia promedio de fijación entre músculos control y los tratados con insulina fue significativa para ambas concentraciones de ^3H ouabaína utilizadas. La dispersión en las medidas de fijación es el resultado de diferencias en la cantidad de ^3H ouabaína fijada por músculos obtenidos de ranas diferentes.

La estimulación paralela, tanto de la expulsión activa de sodio como de la fijación de ^3H ouabaína, sugiere fuertemente que la insulina puede aumentar el número de sitios de bombeo activo que se encuentran en la membrana del músculo. Para someter esta posibilidad a una prueba adicional se efectuó otra serie de experimentos, basados en la siguiente observación: la inhibición de la bomba de sodio que causa la ouabaína en el músculo de rana revierte muy lentamente;^{17, 18} por ello, es posible bloquear todos los sitios de bombeo presentes en un músculo en

reposo y después transferirlo a una solución libre de ouabaína y determinar si la insulina es aún capaz de aumentar el bombeo de sodio. La figura 2 muestra uno de los siete experimentos en que se exploró esta posibilidad. Después de un periodo control, ambos músculos fueron transferidos a una solución que contenía ouabaína (5×10^{-6} M). Esta concentración bloqueó totalmente el componente sensible a la ouabaína de la salida de sodio. Posteriormente los músculos fueron lavados por 50 minutos con solución Ringer que no contenía ouabaína. La ouabaína no se desprende de sus sitios específicos durante este tratamiento; prueba de ello es que no hay recuperación en la expulsión de sodio. El pequeño aumento en la salida de sodio observado en la figura 2, después de que el músculo control fue lavado durante 140 minutos en solución Ringer libre de ^3H ouabaína, es la recuperación más grande que el autor ha observado en ésta y en otra serie de experimentos.¹⁷ En los siete músculos control del presente estudio, el cociente obtenido al dividir los valores de salida observados después de lavar con soluciones libres de ouabaína por 140 minutos, sobre el valor más bajo medido

2 Después de un periodo control, ambos músculos fueron tratados con ouabaína (5×10^{-6} M). Luego, la ouabaína de la solución externa fue lavada con solución Ringer libre de inhibidor. Posteriormente, el músculo experimental (círculos vacíos) fue tratado con insulina y finalmente recibió ouabaína (1×10^{-6} M) e insulina. El músculo control permaneció en las soluciones libres de ouabaína por 140 minutos y finalmente también recibió ouabaína (1×10^{-6} M).



durante la acción del inhibidor, fue de 1.06 ± 0.05 . Cuando se añadió la insulina al músculo se observó un gran incremento de la salida de sodio, el cual fue igual a 0.76 ± 0.10 veces el valor de salida control. Esta estimulación de la salida de sodio fue inhibida cuando se agregó nuevamente ouabaína (1×10^{-6} M) a la solución Ringer.

Otro grupo de experimentos de diseño similar a los anteriores fue llevado a cabo para medir la fijación de ^3H ouabaína después de haber saturado los sitios disponibles en los músculos en reposo con ouabaína fría. Estos resultados se encuentran resumidos en el cuadro 1, en la columna titulada "preincubados". Después de incubar durante 40 minutos, tanto el músculo control como el experimental en una solución con concentración de 5×10^{-6} M de ouabaína sin marcar, ambos fueron lavados en solución Ringer libre del inhibidor. Luego, el músculo experimental fue equilibrado en una solución que contenía insulina y finalmente en una mezcla de insulina y ouabaína 1×10^{-6} M. El músculo control también fue incubado con ^3H ouabaína durante el periodo final.

En el cuadro 1 se puede apreciar que la preincubación con ouabaína no radiactiva redujo la fijación de ^3H ouabaína en los músculos control hasta un nivel alrededor de 30 por ciento del valor observado en músculos que fueron expuesto directamente a ^3H ouabaína. La fijación que se observa después de que los músculos fueron incubados con concentraciones del digitálico suficientes para bloquear todo el transporte activo de sodio, probablemente representa la fijación a sitios no ligados con el transporte de cationes, es decir, es una fijación inespecífica. De

hecho, las medidas de fijación de ^3H ouabaína por músculos controles, muestran que dicha fijación del marcador en las células musculares, al igual que en otras células, tiene dos componentes, uno asociado con la inhibición de la bomba de sodio, y otro que representa fijación inespecífica. El cuadro también muestra que la adición de insulina a los músculos preincubados con ouabaína sin marcar causó un aumento muy grande y significativo de la fijación de ^3H ouabaína. Las dos últimas columnas del cuadro 1 muestran que el aumento absoluto en la fijación de ^3H ouabaína causada por la insulina, fue un poco menor en el grupo de músculos que habían sido preincubados con ouabaína sin marcar, que en los músculos que no fueron preincubados con el inhibidor. En principio, se esperaría que el aumento en marcaje causado por la insulina fuera el mismo en ambos grupos experimentales. Al parecer, el hecho de que haya una diferencia cuantitativa se debe en gran parte a la dispersión en los valores de fijación de ^3H ouabaína entre músculos obtenidos de diferentes ranas, como ya se mencionó anteriormente, dado que las diferencias entre los aumentos de fijación causada por la insulina en los dos grupos, no fueron estadísticamente significativas.

En cualquier caso, el aumento paralelo en la expulsión de sodio y en la fijación de ^3H ouabaína por músculos cuyas bombas de sodio presentes en reposo habían sido previamente bloqueadas por incubación en ouabaína no marcada, sugiere que ambos fenómenos están ligados y constituye evidencia adicional para apoyar el concepto de que el aumento en el bombeo de sodio causado por la insulina se lleva a cabo mediante un aumento en el

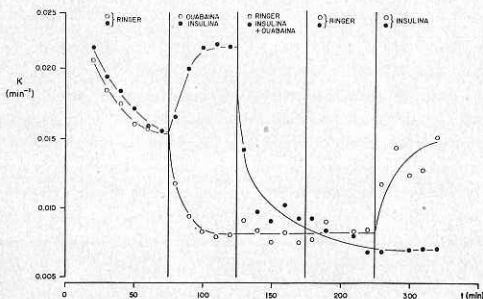
número de bombas de sodio disponibles en la membrana muscular.

Se podría aun argumentar que la insulina rompe la estabilidad del complejo formado entre la ouabaína y la enzima de transporte. La disociación del complejo daría lugar a la terminación de los efectos inhibitorios de la ouabaína sobre la expulsión de sodio y dejaría disponibles, para fijación con ^3H ouabaína, aquellos sitios que antes habían estado ocupados por el inhibidor no radiactivo. Esta posibilidad queda descartada por tres observaciones: *a*) como muestra el cuadro 1, la fijación de ^3H ouabaína medida en músculos que no fueron expuestos previamente a ouabaína sin marcar es incrementada por la insulina. Si la insulina volviera inestable el complejo entre la ^3H ouabaína y la enzima de transporte, debería haber una reducción en la fijación del marcador. *b*) Después de equilibrar cuatro pares de músculos con ouabaína tritiada por 50 minutos, los músculos experimentales fueron lavados por 60 minutos en soluciones que contenían insulina, mientras que los controles fueron lavados en solución Ringer. El lavado con insulina no disminuyó la cantidad

de ^3H ouabaína fijada por los músculos. El cociente obtenido al dividir la cantidad de ^3H ouabaína en los músculos lavados con insulina sobre la que quedó en aquéllos lavados únicamente con Ringer, fue de 1.008 ± 0.04 ($n=4$). *c*) En la figura 3 se demuestra que si se bloquea la expulsión de sodio de un músculo que ha sido previamente estimulado con insulina y después se lavó el inhibidor del medio externo, no se encuentran efectos estimulantes al añadir una segunda dosis de insulina. Esta segunda dosis debería ser efectiva si la acción de la insulina se debiera a la producción de inestabilidad en el complejo enzima-inhibidor.

Suponiendo que una molécula de ^3H ouabaína se combina con un sitio de bombeo, que la inhibición de la bomba es directamente proporcional al número de moléculas de ^3H ouabaína fijadas específicamente por la célula y que la relación entre peso y superficie en el músculo sartorio de la rana es de $0.415 \text{ cm.}^2/\text{mg.}$,¹¹ se puede calcular que hay alrededor de 1 500 sitios de bombeo por micra cuadrada de superficie de la membrana en el músculo control. Este cálculo da

3 El músculo experimental (círculos llenos) recibió insulina inmediatamente después del periodo inicial; después, fue tratado con ouabaína y luego lavado con solución Ringer libre de inhibidor. Finalmente, el músculo recibió otra dosis de insulina. El músculo control (círculos vacíos) fue sometido a un tratamiento similar al que se le dio al músculo experimental de la figura 2.



resultados similares con ambas concentraciones de ^3H ouabaína ilustradas en el cuadro 1. En los cálculos de superficie de membrana se consideró la superficie cilíndrica del músculo; dado que tal vez haya también sitios de bombeo de sodio dentro de los túbulos transversos, es posible que se estén sobreestimando el número de sitios por unidad de superficie por un factor constante. Además en estos cálculos se ha hecho la suposición de que 90 por ciento de la fijación fue específica cuando la concentración de ^3H ouabaína fue 2.5×10^{-7} M, y que 70 por ciento fue específica cuando dicha concentración fue 1×10^{-6} M. Estos valores de fijación específica fueron estimados de medidas de la cinética de la fijación de ^3H ouabaína por músculos control y siguiendo los criterios establecidos a partir de observaciones en células de la cepa HeLa,⁷ dado que la fijación de ^3H ouabaína en estas células tiene muchas características en común con la fijación en el músculo.

La conclusión más interesante de estos experimentos es que la insulina estimula el bombeo de sodio porque aumenta el número de sitios de bombeo disponibles en la membrana del músculo.

Esta conclusión conduce a preguntar: ¿cómo la combinación de la insulina con un escaso número de receptores, causa la aparición de un número relativamente elevado de transportadores de Na^+ y K^+ ?

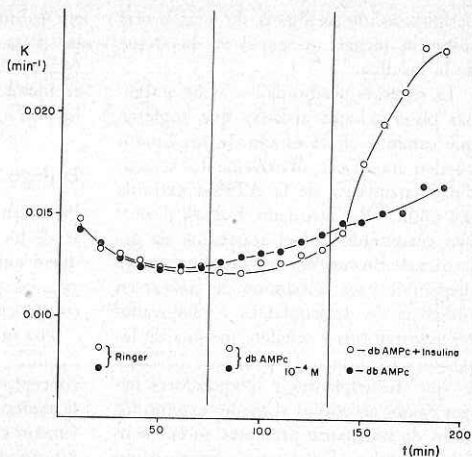
La respuesta más sencilla —porque se puede demostrar experimentalmente de inmediato— es proponer que la insulina induce la síntesis de nuevos sitios de bombeo. Para examinar esta proposición se realizaron dos tipos de experimentos. Por un lado, se midió el efecto de la insulina sobre la fijación de ^3H ouabaína en músculos tratados con 100 $\mu\text{g.}/\text{ml.}$ de

cicloheximida, que es un potente inhibidor de la síntesis de proteínas. El aumento en la fijación de ^3H ouabaína causado por la insulina, no es modificado por la cicloheximida. Este hallazgo indica que dicho aumento en el número de sitios de bombeo no se debe a síntesis de nuevas proteínas. Por otro lado, experimentos como el de la figura 3 dan evidencia de que la poza de bombas en el músculo es limitada y que la insulina no crea nuevos sitios, sino sólo expone un grupo de sitios que previamente no estaban disponibles para el bombeo y para la fijación de ^3H ouabaína. Esta conclusión se basa en la observación de que, una vez que la insulina expuso los sitios y éstos fueron bloqueados con ouabaína, una nueva adición de insulina ya no es capaz de volver a estimular la salida de sodio.

Dado que la evidencia disponible excluye prácticamente la posibilidad de que el aumento en el número de sitios de bombeo se deba a síntesis de nuevos acarreadores, es necesario proponer que en la célula hay formas activas e inactivas de la bomba de sodio y que la insulina hace disponibles, tanto para el bombeo de cationes como para la fijación del inhibidor, sitios previamente inactivos. Cabe suponer dos maneras en las que la combinación de la insulina con su receptor daría lugar a esta activación: a) la producción de un cambio en la concentración intracelular de algún mediador que determina la conformación de la bomba de sodio, o b) a un cambio en la relación topológica de las ATPasas inactivas con respecto a otros elementos de la membrana, por ejemplo fosfolípidos o glucoproteínas, alternando su activación.

La primera posibilidad queda sugerida por los numerosos procesos celulares que

4 Efectos de la insulina en músculos tratados con dibutilil AMP cíclico (db AMPc). Ambos músculos fueron tratados con este compuesto durante una hora. Después, el músculo experimental (círculos vacíos) recibió además insulina, mientras que el músculo control continuó en las soluciones con db AMPc.



son mediados, por ejemplo, a través de la activación de la adenil ciclasa y el aumento en la concentración de AMP cíclico,¹⁹ o por la liberación de calcio en la célula.²⁰

En conexión con esta posibilidad se ha examinado experimentalmente una de las ideas postuladas recientemente para explicar la acción de la insulina. Basándose en que la insulina es capaz de bloquear el aumento en la concentración de 3'5' AMP cíclico que causa el glucagon y la corticotropina, se ha propuesto que la insulina es capaz de bloquear la adenil ciclasa y de reducir AMP cíclico en el citoplasma.²¹

Para este examen se determinaron los efectos de la insulina sobre músculos que se encontraban bañados por una solución que contenía 10⁻⁴ M de dibutilil AMP cíclico (db AMPc), el cual es un análogo del AMP cíclico, que penetra con facilidad las membranas celulares y que tiene efectos similares a los del mediador na-

tural. La figura 4 muestra que la incubación con db AMPc no modificó los efectos de la insulina sobre la salida de sodio, a pesar de que en experimentos usando db AMPc marcado con ¹⁴C se encontró que, después de incubar músculos por una hora, se alcanzaban concentraciones intracelulares de 2 × 10⁻⁵ M. En el músculo esquelético del conejo se ha encontrado que en condiciones de reposo la cantidad de AMP cíclico es de 1.6 × 10⁻⁷ M/Kg. de tejido y que bajo la acción del isoproterenol alcanza niveles de hasta 6.4 × 10⁻⁷ M/Kg.²² Los resultados de estos experimentos muestran que la acción de la insulina sobre la bomba de sodio no se halla mediada por una reducción en la cantidad de AMP cíclico. Es claro que la insulina puede cambiar las concentraciones intracelulares de otras sustancias biológicamente activas, como el GMP cíclico, el calcio o el magnesio, pero aún no se dispone de evidencia concluyente que

permita decidir si alguna de éstas u otra sustancia juegan un papel en la acción de la insulina.

La segunda posibilidad se debe a algunas observaciones aisladas que sugieren que cambios en el estado de los lípidos pueden modificar drásticamente la actividad enzimática de la ATPasa extraída del riñón.²³ Por otro lado, Kaback y col.²⁴ han encontrado que el acarreador de galactosa de *Escherichia coli* no se encuentra disponible para la fijación del azúcar en presencia de desacoplantes o bloqueadores respiratorios y señalan que una de las posibles explicaciones para este hallazgo es que desacoplantes y bloqueadores hacen menos accesibles al medio externo los sitios de transporte presentes en la membrana celular. Estos antecedentes hacen concebible que la insulina sea capaz de alterar la localización del acarreador de sodio y potasio dentro de la membrana celular y modificar así su disponibilidad para el bombeo. En caso de que realmente ocurra este desplazamiento del acarreador dentro de la membrana, es posible que sea causado tanto por la interacción directa de la insulina con su receptor, como por el cambio en la concentración de algún intermediario químico.

Conclusiones

Estos experimentos muestran que la bomba de sodio y potasio puede existir en dos formas en la célula: activa e inactiva. También muestran que la insulina convierte aquellas bombas que se encuentran inactivas a la forma activa. Estos hallazgos originan varias preguntas específicas acerca del proceso de activación. Hasta el momento, se ha podido demostrar que la activación no se debe a una reducción

en los niveles de AMP cíclico intracelular. Para responder a otras preguntas se está estudiando el proceso de activación en membranas aisladas y así saber cuál de los mecanismos propuestos es correcto.

Epílogo

Para terminar, es deseo del autor apartarse de los asuntos puramente científicos y dejar anotadas algunas reflexiones provocadas por la coincidencia de dos circunstancias alrededor de este trabajo.

Por un lado se refiere la acción de la insulina sobre la membrana celular. El concepto de que la insulina actúa sobre la membrana celular se originó en experimentos llevados a cabo no en un laboratorio de fisiología, ni en uno de bioquímica, ni en uno de farmacología, sino en el Departamento de Medicina del Hospital Michael Reese de Chicago, donde Levine era profesor de medicina. Por otro lado, constituye el trabajo de ingreso del autor a la Academia Nacional de Medicina, la agrupación de mayor prestigio entre las que se ocupan del desarrollo de las ciencias médicas en el país.

Es propicia la ocasión para expresar preocupación ante la escasez de profesionales del tipo de Levine en nuestro medio, que actúan como puente entre la práctica médica y las ciencias básicas. Es seguro que este tipo de médico, dedicado totalmente a la vida académica dentro del hospital, ha jugado y juega un papel capital en el progreso de la medicina.

En este momento en que la medicina en México se enfrenta a un futuro difícil es apremiante preguntarse qué tipos de médicos se requieren para tener un sistema médico adecuado. Las dificultades tienen dos orígenes. Por un lado, el rá-

vido crecimiento demográfico ha hecho indispensable gran número de médicos que atiendan las necesidades asistenciales de la masa de población y ha dado lugar a una presión para elevar el número de estudiantes admitidos en las escuelas de medicina. Por otra parte, el rápido avance en las ciencias y técnicas médicas demanda grupos de personal calificado dentro de instituciones donde están generando y valorando los descubrimientos más recientes. La respuesta que se intenta dar a estos problemas ha sido sólo parcial. Por ejemplo, la Facultad de Medicina de la UNAM ha aumentado continuamente el número de estudiantes que recibe, alcanzando cifras de cerca de 6 000 alumnos de nuevo ingreso. El deterioro que ha sufrido la enseñanza por este inmenso aflujo de estudiantes intenta corregirse con nuevos planes de estudios. El propósito de los nuevos planes es garantizar que los graduados conozcan y sepan llevar a cabo el número de procedimientos mínimos indispensables para practicar una medicina básica. De cumplirse este propósito, será de gran utilidad para producir el médico asistencial que tanto necesita el país. Pero no hay que olvidar que el entrenamiento de estos nuevos profesionales se hará dentro de centros de salud que evidentemente carecen de los recursos y el personal para ir más allá del entrenamiento en la medicina asistencia básica.

Aunque ya parece existir la preocupación por resolver el problema asistencial, ¿quién se está preocupando del sistema que se encargará de producir los profesores de medicina que estén encargados, en forma concertada, de mantener la práctica médica del país dentro de la vanguardia de las ciencias médicas? Hasta ahora, las condiciones concretas que pro-

pician dicho avance han sido limitadas; las oportunidades para ejercer la medicina académica a tiempo exclusivo casi no existen; algunos grupos han tomado sobre sus hombros el peso de dar a nuestra medicina un perfil académico, pero no hay el reconocimiento de que estas actividades son piedra miliar del desarrollo de la medicina en el país.

Así como la vitalidad biológica se mide por la capacidad que una especie tiene para reproducirse y persistir a través de generaciones sucesivas, el éxito de la medicina en el país dependerá de la calidad de los nuevos profesionales que se produzcan. Por ello, una de las prioridades más altas de la Academia es la de evaluar continuamente la enseñanza de la medicina en México, y sugerir medidas que tiendan a mantener niveles congruentes con nuestras aspiraciones y necesidades. Más precisamente, pudiera proponerse a la Academia que creara algún mecanismo con el cual contribuyera sistemática y regularmente a evaluar la calidad y las metas de la enseñanza médica en el país y a considerar las opciones disponibles. Las soluciones no son fáciles y el problema es complicado, pero es mejor reconocerlo y enfrentarlo que olvidarnos de la ciencia, esperar a que descubran los otros, gozar la tranquilidad de nuestras posiciones, como dijo Góngora:

Ándeme yo caliente
y ríase la gente;
traten otros del gobierno,
del mundo y sus monarquías,
mientras gobiernan mis días
mantequillas y pan tierno
y las mañanas de invierno
naranjadas y aguardiente,
y ríase la gente.

El doctor David Eriij sustentó examen profesional de Médico Cirujano en 1961 con la tesis "Los receptores adrenérgicos del corazón". Todavía como estudiante fue becario en el Departamento de Fisiología del Instituto Nacional de Cardiología. Después de un año de estudios en fisiología en la Escuela de Medicina de la Universidad de Nueva York efectuó sus estudios de doctorado, recibiendo en 1970 el grado de Doctor en Ciencias en Fisiología con la tesis "Una preparación del epitelio aislado de rana". Es actualmente profesor titular en los departamentos de fisiología del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional y de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México. Sus trabajos de investigación son fundamentalmente en el área del transporte a través de las membranas y de ellos se viene dando cuenta en un gran número de publicaciones aparecidas fundamentalmente en la literatura fisiológica extranjera y en contribuciones a congresos. La Academia Nacional de Medicina lo recibió como miembro numerario de su Departamento de Biología Médica el 11 de septiembre de 1974.

NOTA DE AGRADECIMIENTO

Los experimentos originales descritos en este trabajo fueron realizados en colaboración con el doctor Sergio Grinstein.

REFERENCIAS

1. Levine, R.; Goldstein, M.; Klein, S. y Huddleston, B.: *The action of insulin on the distribution of galactose in eviscerated nephrectomized dogs*. J. Biol. Chem. 179:985, 1949.
2. Levine, R.: *The action of insulin at the cell membrane*. Amer. J. Med. 40:691, 1966.
3. Manchester, K. L. y Young, G. F.: *The effect of insulin in vitro on the accumulation of amino acids by isolated rat diaphragm*. Biochem. J. 75:487, 1960.
4. Zierler, K. L.: *Effect of insulin on membrane potential and potassium content of rat muscle*. Amer. J. Physiol. 197:515, 1959.
5. Moore, R. D.: *Effect of insulin upon the sodium pump in frog skeletal muscle*. J. Physiol. 232:23, 1973.

6. Cuatrecasas, P.: *Insulin receptor of liver and fat cell membranes*. Fed. Proc. 32:1838, 1973.
7. Baker, P. F. y Willis, J. S.: *Binding of the cardiac glycoside ouabain to intact cells*. J. Physiol. 224:441, 1972.
8. Grinstein, S. y Eriij, D.: *Unmasking of latent sodium pump sites in frog muscle by insulin*. Nature, 251:57, 1974.
9. Briggs, A. P.; Kochig, I.; Doisy, E. A. y Weber, C. J.: *Some changes in the composition of blood due to the injection of insulin*. J. Biol. Chem. 58:721, 1923.
10. Schatzmann, H. J.: *Herzglykoside als Hemmstoffe für den aktiven Kalium und Natriumtransport durch Erythrocytenmembran*. Helv. Physiol. Pharmac. Acta 11:346, 1953.
11. Glynn, I. M.: *The action of cardiac glycosides on ion movements*. Pharmac. Rev. 16:381, 1971.
12. Horowitz, P.; Taylor, J. W. y Waggoner, D. M.: *Fractionation of sodium efflux in frog sartorius muscles by strophanthidin and removal of external sodium*. J. Gen. Physiol. 55:401, 1970.
13. Keynes, R. D. y Swan, R. C.: *The effect of external sodium concentration on the sodium fluxes in frog skeletal muscle*. J. Physiol. 147:591, 1959.
14. García, M.; Leblanc, G. y Eriij, D.: *Automatic collector of samples for determining isotope washout curves in muscle tissues*. Pflügers Arch. 311:278, 1969.
15. Keynes, R. D. y Steinhart, R. A.: *The components of the sodium efflux in frog muscle*. J. Physiol. 198:581, 1968.
16. Eriij, D. y Leblanc, G.: *The effects of ethacrynic acid and other sulphhydryl reagents on sodium fluxes in frog muscle*. J. Physiol. 214:327, 1971.
17. Eriij, D. y Elizalde, A.: *Rapidly reversible inhibition of frog muscle sodium pump caused by cardiotonic steroids with modified lactone rings*. Biochim. Biophys. Acta 345:49, 1974.
18. Abeles, A. L.: *Structure-activity relationships of several cardiotonic steroids with respect to inhibition of ion transport in frog muscle*. J. Gen. Physiol. 54:268, 1969.
19. Sutherland, E. W.; Øye, I. y Butcher, R. W.: *The action of epinephrine and the role of the adenyl cyclase system in hormone action*. Recent Progr. Horm. Res. 21:623, 1965.
20. Ebashi, S. y Endo, M.: *Calcium ion and muscle contraction*. Progr. Biophys. Mol. Biol. 18:123, 1968.
21. Exton, J. H.; Lewis, S. B.; Ho, R. J.; Robinson, G. A. y Park, C. R.: *The role of cyclic AMP in the interaction of glucagon and insulin in the control of liver metabolism*. Ann. N. Y. Acad. Sci. 185:85, 1971.
22. Mayer, S. E. y Sull, J. T.: *Cyclic AMP in skeletal muscle*. Ann. N. Y. Acad. Sci. 185:433, 1971.

23. Grisham, C. M. y Barnett, R. E.: *The role of lipid-phase transitions in the regulation of the Na⁺-K⁺ ATPase*. *Biochemistry* 12:2635, 1973.

24. Reeves, J. P.; Schechter, E.; Weil, R. y Kaback, H. R.: *Dansyl-galactoside, a fluorescent probe of active transport in bacterial membrane vesicles*. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 70:2722, 1973.

COMENTARIO OFICIAL

GUILLERMO CARVAJAL *

La diabetes mellitus es indudablemente el trastorno endocrino conocido desde hace más largo tiempo. Han pasado más de 1800 años desde que fue bien caracterizada por Aretaeus de Cappadocia. Por el año de 1674, Thomas Willis observó que la orina de los pacientes con "la diabetes u orina maligna", era dulce, aunque tuvieron que pasar varios cientos de años para que se identificara glucosa en la orina.

Fue hasta 1869 cuando el joven patólogo Paul Langerhans describió los islotes en el páncreas que más tarde llevarían su nombre. Algo más de 50 años después, la fructífera colaboración entre el joven cirujano ortopedista de 29 años de edad, Frederick Banting, y el estudiante de medicina de 22 años, Charles Best, revolucionó la terapéutica de la diabetes, con lo que bruscamente descendió la mortalidad de esta terrible enfermedad y se inició la era de la insulina.¹

Más tarde, Frederick Sanger, en 1953, dilucidó la estructura de la insulina, que en 1966 fue sintetizada por un grupo de químicos de China Popular y poco después por Katsuyanish de los Estados Unidos de América. Sin embargo a pesar de que conocemos desde hace más de 200 años la estructura primaria y más recientemente la secundaria, terciaria y cuaternaria de esta hormona, no obstante que conocemos su mecanismo de biosíntesis y la formación de la proinsulina de Steiner, a pesar de que sabemos que la insulina se une

a una proteína receptora en la membrana celular, que Cuatrecasas ha aislado, ignoramos aún cómo actúa esta hormona al nivel molecular.

La breve introducción histórica anterior tiene como finalidad hacer resaltar la contribución del doctor David Erlj en su trabajo de ingreso a nuestra corporación, porque constituye, a mi juicio, el principio de una contribución trascendental al conocimiento de la diabetes.

El antecedente más directo al trabajo del doctor Erlj es el de Hadden y col., quienes en 1972 demostraron que la insulina estimula la ATPasa de la membrana plasmática y también la entrada de glucosa en linfocitos humanos íntegros.² En este sistema la insulina no demuestra inhibir la adenilciclase que Sutherland y Robinson encontraron se inhibe en diversos tejidos. Este resultado, análogo al observado por Erlj, excluye el que esta enzima esté involucrada en la activación de la ATPasa Na-K dependiente.

Hadden y col. encuentran que tanto la insulina como la noradrenalina estimulan la ATPasa directamente, más que a través de la acción de la adenil ciclase.

No se conoce la relación entre la actividad de la ATPasa y el transporte de glucosa, aunque la flordizina, que bloquea la estimulación del consumo de glucosa por la insulina, inhibe la ATPasa dependiente de Na y K. Lo anterior sugiere la posible relación directa entre los dos procesos.

Lo atractivo del trabajo del doctor Erlj es que ha avanzado en el camino que habrá de conducirnos al conocimiento del modo de

* Académico numerario. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional.

acción de la insulina, al encontrar que la interacción insulina-receptor provoca cambios membranales que exponen nuevas moléculas de ATPasa o "sitios de bombeo" como él los llama, que se encuentran inactivos o escondidos en la membrana.

Parecería que la unión de la insulina con los sitios receptores modifica de tal modo la estructura de la membrana que hace se exponga un número considerablemente mayor de sitios de bombeo.

Sería muy interesante que el doctor Erlj y sus colaboradores trataran de demostrar si la interacción insulina-receptor membranal también expone sitios de transporte de glucosa, aunque para esto parecen presentarse problemas metodológicos aún no resueltos, como el del bloqueo irreversible de los sitios de transporte de glucosa. Ya el autor mencionó en su trabajo que Kaback y col. encontraron que el acarreador para la galactosa en *E. coli* no se encuentra disponible para el carbohidrato en presencia de desacoplantes o inhibidores respiratorios, quizá haciendo menos accesibles al exterior los sitios de transporte presentes en la membrana celular.

Quiero nuevamente destacar la importancia de esta contribución, que abre el camino a la comprensión del modo de acción de la insulina a nivel molecular. Estoy seguro que Erlj y su grupo continuarán trabajando hasta aclarar con más detalle el cambio espectacular en el número de sitios de bombeo, que muy probablemente se acompaña de un fenómeno similar

o idéntico en los sitios de transporte de carbohidratos y/o de aminoácidos. El trabajo es irreprochable tanto metodológicamente como en el planteamiento del problema y la interpretación de sus resultados.

Las preocupaciones de Erlj no sólo son intelectuales, también tiene profundas preocupaciones sociales y docentes, y al igual que las primeras, trata de canalizarlas hacia el logro de una mejor sociedad y una mejor docencia de la medicina.

Es por lo tanto, un verdadero hombre de ciencia de los que tanto necesitamos en nuestro medio; científicos preparados, pero que no sólo se preocupan por su ciencia sino también por los seres humanos que los rodean.

Para terminar, quiero felicitar muy calurosamente al doctor Erlj por su trabajo y por su ingreso a esta distinguida Corporación. Así mismo, quiero felicitar a nuestra Academia Nacional de Medicina porque, ingresando personas de la calidad intelectual y humana del doctor Erlj, el futuro de ella seguirá siendo promisorio.

REFERENCIAS

1. Greep, R. O.; Astwood, E. B.; Steiner, D. F.; Freinkel, N. y Geiger, S. R.: *Endocrine pancreas*. En: *Endocrinology*. Amer. Physiol. Soc. (Ed.). Washington, (1972), v. 1, p. vii.
2. Hadden, J. W.; Hadden, E. M.; Wilson, E. E.; Good, R. A. y Coffey, R. G.: *Direct action of insulin on plasma membrane ATPase activity in human lymphocytes*. *Nature*, New Biol. 235:174, 1972.