

CONTRIBUCIONES ORIGINALES

**ACARREADORES MODELO DE CALCIO.  
SUS IMPLICACIONES EXPERIMENTALES EN LA BIOLOGIA  
Y LA MEDICINA \***

SERGIO ESTRADA-O.‡

*En años recientes se ha observado que algunos antibióticos aislados de diversos hongos forman complejos móviles de alta selectividad con iones monovalentes como el Na<sup>+</sup> o el K<sup>+</sup>, o bien canales moleculares acuosos para dichos iones en membranas biológicas. En ambos casos, los antibióticos crean sistemas de transporte de gran especificidad que permiten el flujo rápido de iones a través de las membranas de la célula y sus partículas subcelulares. Estos enfoques han permitido tanto el reconocer la importancia como el predecir el mecanismo molecular del transporte de iones monovalentes, en diversos fenómenos biológicos fundamentales. En el presente trabajo se describen las propiedades electroquímicas y el posible mecanismo molecular del transporte de calcio mediado por el antibiótico X537A, un acarreador modelo para dicho ion divalente, en membranas artificiales de fosfolípidos y en un ejemplo de*

\* Trabajo de ingreso a la Academia Nacional de Medicina, presentado el 11 de septiembre de 1974.

‡ Del Centro de Investigación y Estudios Avanzados, del Instituto Politécnico Nacional.

*membrana biológica: la membrana interna de la mitocondria. Se señala su posible utilidad en el esclarecimiento de diversos procesos celulares fundamentales, iniciados o regulados por el transporte de calcio y se resaltan hallazgos que orientan hacia sus posibles implicaciones terapéuticas en la medicina, particularmente en procesos que afectan la capacidad contráctil de la fibra miocárdica.*

El proceso de transporte de calcio que se lleva a cabo a través de las membranas de la célula es un fenómeno de importancia central en la regulación de un amplio espectro de fenómenos biológicos fundamentales. Aunque sin conocerse la naturaleza de su participación en un nivel molecular, se ha establecido el papel de control que desempeña en el ciclo de contracción-relajación del músculo estriado;<sup>1</sup> de modo similar se ha reconocido su importancia en los mecanismos de diferenciación celular.<sup>2</sup> También se ha demostrado que la excitabilidad neuronal en estado de reposo es regulada por los movimientos del calcio, al inducir cambios en la permeabilidad al sodio y al potasio.<sup>3</sup> Estos últimos efectos del calcio se presentan también en membranas no excitables como la del eritrocito.<sup>4</sup> Dentro de los efectos del calcio sobre superficies biológicas debe también señalarse el papel selectivo que posee en facilitar la adhesión celular en regiones específicas de la membrana plasmática.<sup>4</sup> Así mismo, se ha identificado que el transporte de calcio está íntimamente asociado a la liberación de mediadores químicos en membranas sinápticas,<sup>5</sup> en células de la glándula suprarrenal<sup>6</sup> y en células plasmáticas.<sup>7</sup>

Por otro lado, quizá a través de inducir modificaciones en la conformación de macromoléculas de la membrana, el calcio actúa como regulador de la actividad de varias enzimas que están unidas a las

membranas de la célula.<sup>8</sup> Dentro de esta alternativa pueden también encontrarse los efectos de control que posee el calcio, quizá actuando junto con el 3'-5'-AMP cíclico como segundo mensajero, en la expresión del mecanismo de acción de diversas hormonas.<sup>9</sup>

Finalmente, en años recientes se ha identificado también la importante participación que poseen los flujos del calcio a través de la membrana en el proceso de la fotoexcitación visual.<sup>10</sup> Mediante la formación de canales en la retina en lo que interviene la rodopsina, los movimientos de calcio constituyen uno de los estadios iniciales de mayor relevancia en la fotoexcitación. Quizá a través de un mecanismo similar a este el transporte de calcio ejerce un control en la conservación de energía acoplada al transporte de electrones en la membrana mitocondrial.<sup>11</sup>

Basta esta muy breve relación de hechos para que emerja la importancia que poseen los procesos celulares de transporte de calcio en la regulación del inicio, expresión y término de numerosos fenómenos biológicos fundamentales.

Dentro del marco de referencia de estos antecedentes puede ahora plantearse la siguiente pregunta: ¿Es posible reconocer componentes moleculares comunes a todos los procesos celulares regulados por el calcio, cuyo aislamiento y reconstitución en células o partículas subcelulares, nos permita comprender el proceso biológico

regulado por este ion divalente? Desde hace ya varios años se ha considerado una posible respuesta positiva a esta pregunta. Esto es, en base a diversos hallazgos experimentales, derivados en su mayor parte de la elevada afinidad del calcio para interactuar con membranas o fracciones de las mismas, se planteó la existencia de sitios estereoespecíficos de la membrana cuya alta selectividad para fijar el calcio dependiera de segmentos moleculares que, de algún modo, identificaran y coordinaran al calcio dentro de varios otros iones expuestos a estos *loci*. De este modo emergió la idea de sitios receptores que fijarán y en muchos casos transportarán al calcio a través de la membrana, bien por medio de un mecanismo de acarreo móvil, o a través de túneles o canales moleculares.

Sin embargo, la realidad ha sido que a pesar de los vigorosos esfuerzos hechos para aislar estos transportadores iónicos de alta selectividad para el calcio, no se ha logrado hasta ahora separar ninguno de ellos de las membranas de células animales. Un notable acercamiento a resolver este problema ha sido el aislamiento, purificación y caracterización estructural detallada, de dos proteínas polares que poseen varios sitios específicos para fijar al calcio con elevada afinidad.<sup>12, 13</sup> Cada uno de estos sitios está constituido por la asociación de varios átomos de oxígeno, provenientes de los grupos funcionales de diversos aminoácidos como el glutámico y el aspártico. Al estar en la cercanía y la conformación apropiada, estos grupos condicionan la formación de una corona electronegativa de cuatro oxígenos que sustituye a los oxígenos del agua de hidratación del calcio, formando con él un complejo geométrico y termodinámicamente estable. Con respecto a la pregunta

antes señalada, sin embargo, hay que aclarar que estas proteínas no son de la membrana. Empero, los hallazgos experimentales recientes de varios grupos de investigadores, incluyendo el nuestro,<sup>14-19</sup> han señalado los lineamientos de lo que parecen ser las bases del comportamiento molecular de los acarreadores de calcio en las membranas biológicas. Estas observaciones, como se hará resaltar en este trabajo, permiten vislumbrar la importancia de estos componentes celulares, no sólo desde el ángulo de la biología sino del de la medicina.

Fue por primera vez en 1966, que observaciones de nuestro laboratorio permitieron interpretar el mecanismo a través del cual un grupo de antibióticos de elevada toxicidad como la nigericina<sup>20</sup> inhibían las transformaciones energéticas de células y partículas subcelulares. En forma casi accidental se descubrió el requerimiento de potasio que tenía una familia de varios antibióticos carboxílicos, representados por la nigericina y la monensina,<sup>21</sup> para inhibir la síntesis acoplada de ATP en mitocondrias animales. La medición de los flujos de  $K^+$  y protones promovidos por estos compuestos, en membranas de partículas subcelulares como la mitocondrial, permitió concluir que estos antibióticos, independientemente o con la cooperación de hipotéticos acarreadores naturales de iones, transportaban  $K^+$  a través de las membranas. Estas observaciones junto con las previas de Berton Pressman, de la Universidad de Pennsylvania, con otro tipo de antibióticos diferentes a la nigericina como lo es la valinomicina,<sup>22</sup> iniciaron una época de renovado auge experimental en el campo de bioenergética. Así mismo, a partir de este momento, las propiedades de estos

antibióticos se estudiaron con considerable detalle en membranas naturales y artificiales, así como en difracción de rayos X y otros enfoques de análisis físico, estableciéndose algunas conclusiones que no dejan de ser sorprendentes:

1. Las membranas de algunos actinomicetos liberan a su medio moléculas de polipéptidos o poliéteres que poseen la capacidad de formar complejos específicos de alta afinidad con cationes como el  $K^+$  o el  $Na^+$ ; lo mismo ocurre para el calcio con algunas proteínas polares, como la enzima subtilisina o una macromolécula similar a la meromiosina extraída de los músculos del pez.<sup>13</sup> Los grupos oxígeno de amidas de éteres, carboxilos y carbonilos de los antibióticos del tipo de la nigericina y la valinomicina, en un número promedio de seis, forman complejos polidentados con el  $K^+$ ; el antibiótico excluye entonces al ion del agua y le proporciona un microambiente hidrófobo que lo solubiliza en la zona apolar de la membrana lipídica, en donde el antibiótico penetra libremente y en donde, de otra forma, el potasio no hubiera podido penetrar.

2. En el interior de la membrana algunos de estos antibióticos poseen una gran movilidad y transportan a gran velocidad al  $K^+$  o al  $Na^+$  a través de la misma, capturando y soltando al ion a ambos lados de la interfase lipídica, aunque desplazando el equilibrio de flujos en función del gradiente de concentración del ion y el gradiente eléctrico de la membrana; por esta circunstancia de mover o transportar al ion a través de interfaces apolares, a estos antibióticos móviles se les ha denominado ionofóreticos.

3. Por otro lado, algunos antibióticos como la monazomicina,<sup>23</sup> la alameticina<sup>24</sup>

o la gramicidina<sup>25</sup> no son móviles sino que tienen la propiedad de ensamblar entre sí específicamente varios monómeros o subunidades del antibiótico, en un solo componente que también con gran velocidad crea un túnel o canal relativamente inelástico, en el seno de la membrana para que a través de él sólo pasen iones como el  $K^+$  o el  $Na^+$  y alguna moléculas de agua.

4. Lo realmente sorprendente es que las propiedades de los sistemas de acarreo móvil o canal iónico mediados por antibióticos en membranas artificiales, hasta ahora se han encontrado prácticamente idénticas a las que se han podido cuantificar en supuestos canales o sistemas de transporte naturales existentes en membranas biológicas. El mejor ejemplo de esta situación lo constituye la reciente reconstitución hecha por Paul Mueller<sup>24</sup> de las propiedades eléctricas del potencial de acción del nervio, mediado por el hipotético sistema de canal del  $Na^+$ , realizado por este investigador en membranas artificiales de lípidos únicamente por medio de un antibiótico formador de canales: la monazomicina. Prácticamente todas las propiedades eléctricas planteadas por Hodgkin y Huxley para el potencial de acción natural las cumple el canal transportador de  $Na^+$  formado por el antibiótico.

Igualmente sugerentes son las analogías estructurales que se encuentran entre el modelo molecular previsto por Bertil Hille en cuanto a la asociación de oxígenos existentes en la boca del canal de  $Na^+$  del nervio<sup>26</sup> y la conocida estructura geométrica del sitio de los antibióticos ionóforos que forman complejo con un ion.

Parece entonces que la naturaleza tiende a repetir las estructuras que le son más

eficientes para formar complejos con iones o para transportarlos a través de la membrana, y que sin importar la estirpe celular de donde provengan (actinomicetos, bacterias, protozoarios o células animales superiores) las propiedades físico-químicas fundamentales entre ellas serán comunes. Toda proporción guardada, y aun esperando un grado de diversidad estructural importante, creemos que al igual que las características vertebrales del DNA repetidas con variantes dentro de facetas comunes en los seres vivientes, así mismo los transportadores de iones en la membrana, debe tener características estructurales comunes en los seres vivientes que, en su expresión más sencilla, están representadas en la cavidad molecular de los antibióticos que transportan iones a través de las membranas.

Se señalarán ahora en forma breve los avances realizados hasta la fecha, particularmente en nuestro laboratorio, sobre un nuevo grupo de antibióticos acarreadores de iones que presentan una elevada capacidad para transportar calcio a través de membranas. Es evidente que estas y otras observaciones que califican las propiedades de los antibióticos ionóforos para  $\text{Ca}^{++}$ , serán de utilidad no sólo en el esclarecimiento de los mecanismos moleculares del transporte de calcio en membranas biológicas, sino también, en hacer aparente las numerosas ventajas que tendrá en la medicina el aplicar los conocimientos obtenidos de ellos.

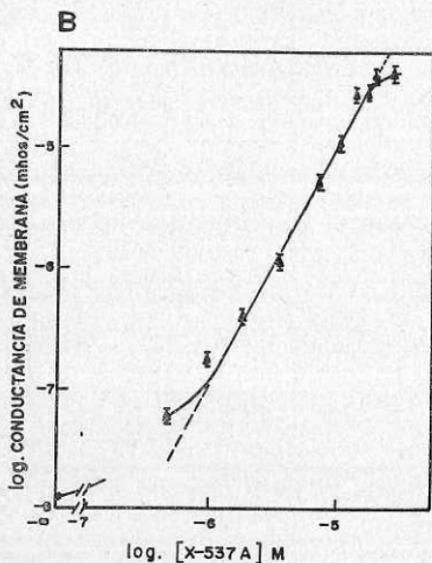
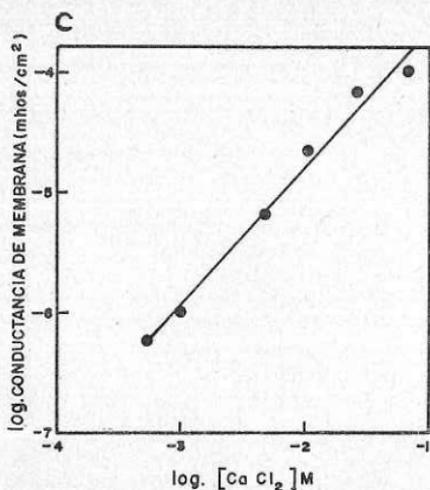
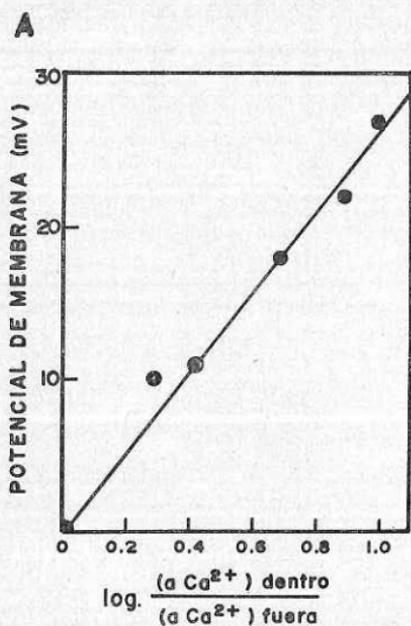
#### **El transporte específico de calcio mediado por antibióticos ionóforos en membranas modelo**

De 1970 a la fecha, publicaciones nuestras<sup>27</sup> así como de Scarpa y Azzone<sup>28</sup>

señalaron que antibióticos que primariamente transportan  $\text{K}^+$  o  $\text{H}^+$ , pero no  $\text{Ca}^{++}$  eran capaces de, secundaria e indirectamente, inducir flujo de calcio como consecuencia de alterar los gradientes electroquímicos de otros iones diferentes al calcio a los lados de una membrana. Observaciones cercanas al objetivo, pero aún no las precisas. No obstante, en fechas más recientes, Pressman encontró un antibiótico (el compuesto Hoffman La Roche X-537A R-02-2985/1) que formaba complejos específicos con calcio en soluciones de diferente polaridad.<sup>29</sup> Como otros grupos de trabajo interesados, supusimos que ese podía ser uno de los ionóforos modelo de calcio detrás del que varios laboratorios habían iniciado una búsqueda. Los hallazgos subsecuentes, llevados a cabo en colaboración con H. Célis y Mauricio Montal en nuestro grupo de investigación, corroboraron con claridad esta suposición.

#### **El antibiótico X-537A, acarreador modelo para el transporte de $\text{Ca}^{2+}$ en membranas artificiales de lípidos**

Mueller y Rudin han desarrollado un sistema experimental que permite registros directos de las variaciones en las propiedades eléctricas de una membrana de lípidos.<sup>24</sup> Si a estas membranas se añade el antibiótico mencionado y existe calcio en el medio acuoso que la baña, se observa un incremento en la conductancia eléctrica de la interfase lipídica, como se ve en la figura 1. Si en estas condiciones se induce un gradiente de calcio a través de la membrana, se puede medir una acentuada diferencia de potencial eléctrico. Claramente, el signo de dicho potencial



indica que el  $\text{Ca}^{++}$  es transportado por el antibiótico a través de la misma. La dependencia del potencial de membrana en el logaritmo de las relaciones en la actividad del calcio, como lo indica la figura 1A, señala que, partiendo de una pendiente de Nernst teórica de 29 mV/década, el antibiótico genera un potencial membranar de 27 mV/década. Esta observación establece entonces que el antibiótico X-537A es un transportador *quasi* ideal para calcio en las membranas. En consonancia con este hecho, el cálculo del número de transferencia para el calcio derivado de este experimento, señala un valor de 0.95, lo cual manifiesta que el antibiótico X-537A confiere a la membrana propiedades que le permiten comportarse como un sistema *quasi*-selectivo para el calcio. La figura 1B señala la dependencia de la conductancia eléctrica de la membrana en la concentración del antibiótico ionóforo. Es bien aparente la forma sigmoidea de la curva obtenida, lo cual sugirió que el transporte

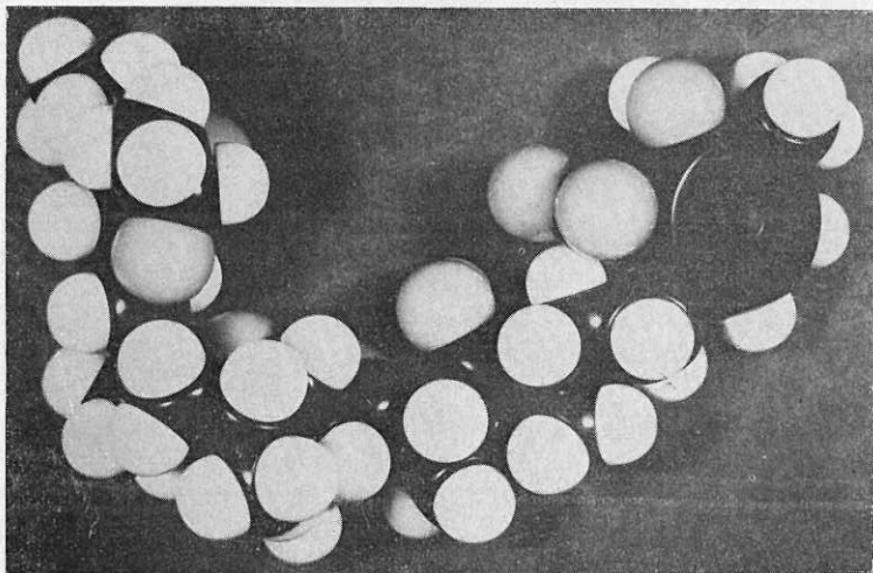
de  $\text{Ca}^{2+}$  podría ser un fenómeno cooperativo. Debido a que a lo largo de la recta principal puede establecerse una pendiente con un valor de 2.0, es evidente que se requiere de dos antibióticos para ensamblar una unidad transportadora. Es más, como lo ilustra la figura 1C, la conductancia de la membrana depende en forma lineal de la concentración de calcio, y presenta una pendiente con valor de 1.0 a lo largo de la misma. Esta observación claramente apunta a que en el seno de la membrana se mueven rápidamente dos moléculas de antibiótico acarreador junto con un ion calcio.

Es importante señalar que de las observaciones de nuestro grupo<sup>14-16</sup> destaca que el ionóforo antes mencionado también posee capacidad para transportar protones ( $\text{H}^+$ ) a través de membranas artificiales, aunque mediante un mecanis-

mo que se aparta del *quasi-ideal* encontrado para el calcio. En mucha menor proporción que el calcio, el antibiótico también transporta  $\text{Cs}^+ > \text{Rb}^+ > \text{K}^+ > \text{Li}^+$  en membranas bimoleculares de lípidos.<sup>14, 15</sup>

De la estructura del antibiótico ionóforo (fig. 2) y de nuestras observaciones experimentales pueden deducirse algunas consideraciones importantes. Los sitios potenciales de coordinación del ionóforo con iones como el calcio o el potasio son: dos oxígenos de éteres, dos oxhidrilos, un carbonilo cetónico y el oxígeno de un carboxilo. La asociación del  $\text{H}^+$  con el ionóforo no se lleva a cabo con seguridad en ninguno de estos sitios sino en el grupo carboxilato de la molécula de salicilato del mismo. Esta última aseveración pro-

2



ACARREADORES MODELO DE CALCIO

viene de experimentos realizados sobre la dependencia de la conductancia membranal en el  $pH$  y en el  $pK_a$  del antibiótico, derivado de experimentos realizados por la extracción del catión acridina del agua a una fase de hexano, lo cual resulta en un  $pK_a$  de 3.7, que es el  $pK_a$  de la molécula del salicilato.<sup>30</sup>

Johnson y col.<sup>30</sup> han resuelto por difracción de rayos X la estructura del ionóforo X-537A en la forma cristalina que adopta como sal de bario. Encuentran que con este ion divalente —similar al calcio de nuestros estudios— se asocian dos antibióticos en condiciones en que el ion es atrapado por seis átomos de oxígeno de un antibiótico, por dos de otro y por el oxígeno de una molécula de agua. Es entonces aparente que el ionóforo X-537A forma complejos con iones mediante tres alternativas: *a*) con su anión salicilato para protones; *b*) con seis átomos de oxígeno de un monómero para los cationes monovalentes, y *c*) con los oxígenos de dos monómeros para el calcio, estructura que resulta la más cercana a un acarreador de iones ideal. Por otro lado, también llegamos a la conclusión en esta fase del trabajo, que las propiedades mostradas por el ionóforo en membranas bimoleculares de lípidos lo califican como un acarreador móvil para transportar al calcio a través de la membrana.<sup>14, 15</sup>

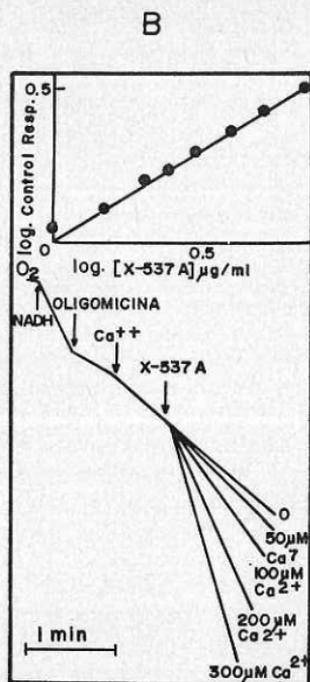
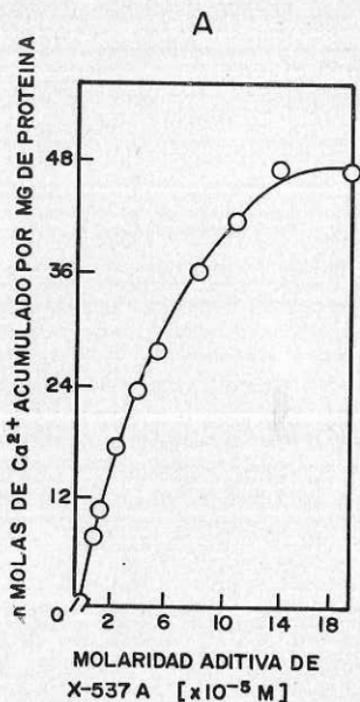
### El antibiótico X-537A un acarreador modelo para transportar calcio a través de membranas biológicas

En forma paralela a los resultados obtenidos en membranas artificiales, nuestras observaciones experimentales nos permiten concluir que el ionóforo X-537A también transporta calcio a través de ve-

sículas de membranas selladas como en las mitocondrias intactas.<sup>16</sup> Como se muestra en la figura 3A, el antibiótico claramente es capaz de acumular  $Ca^{2+}$  en el interior de las vesículas submitocondriales, en relación directa con la concentración del ionóforo. La resultante de esta acción es el desacoplamiento de la capacidad de las membranas mitocondriales para conservar energía (fig. 3B). No sólo el antibiótico es capaz de desacoplar el control respiratorio de las vesículas, en función de las concentraciones de calcio añadido al medio, sino, como se ve en el inserto superior de la figura 3B, su acción desacoplante depende, a bajas concentraciones del antibiótico, de un factor equivalente a 0.8 del exponente de su concentración. A concentraciones superiores a  $5 \times 10^{-6}M$  este valor aumenta a 1.5, lo cual es muy parecido al valor de 2 obtenido en membranas artificiales.

Debido a que existen evidencias indirectas de que el potencial interno de las vesículas submitocondriales es positivo, no es posible explicar la penetración de  $Ca^{2+}$  promovida por el antibiótico a través de un transporte electroforético convencional. La carga neta positiva del calcio sería repetida por el potencial interno de la membrana. Como se sabe que el antibiótico es también capaz de interactuar con el protón en su grupo salicilato libre, se considera factible que la especie real que desacopla la conservación energética de la membrana es el antibiótico protonado que penetra  $(2HA)_{int}$ , mientras que lo que favorece el antibiótico es un incremento del recambio de  $Ca^{++}$  con tendencia a promover la fase de eflujo de  $Ca^{++}$  ( $CaA_2$ ) fuera.

En forma adicional a estas observaciones, se sabe ahora que el ionóforo X-



537A transporta  $\text{Ca}^{2+}$  no sólo en membranas mitocondriales, sino también en membranas de retículo sarcoplásmico del músculo,<sup>19</sup> en células plasmáticas y cloroplastos, así como en sinaptosomas colinérgicos;<sup>31</sup> esta última observación la hemos realizado recientemente en colaboración con Víctor Alemán. Es obvio que en un futuro cercano, se demostrará la capacidad del ionóforo X-537A para transportar  $\text{Ca}^{2+}$  a través de diversas membranas biológicas, siendo potencialmente de gran utilidad para explorar los efectos que esto induzca en los mecanismos de regulación celular que dependen del transporte de calcio.

3

### Implicaciones del uso de acarreadores modelo de $\text{Ca}^{2+}$ en la medicina

Estudios recientes llevados a cabo por Pressman<sup>29</sup> y Schwartz<sup>32</sup> han demostrado que los ionóforos modelo de calcio estudiados por nosotros, pueden tener aplicaciones terapéuticas importantes en la medicina. En 1973, Pressman observó que el antibiótico X-537A producía un notable incremento en la capacidad contráctil de las fibras aisladas de músculo cardíaco, lo que permitió reconocer la existencia de antibióticos inotrópicos del corazón.<sup>32</sup> Subsecuentemente, a principios de 1974, Ar-

nold Schwartz estudió en perros anestesiados el efecto del antibiótico en flujos aórtico y coronario, en la fuerza contráctil del corazón y en las presiones sistólica, diastólica y aórtica central media, así como en los trazos electrocardiográficos del animal normal. Midió así mismo la resistencia vascular periférica en una preparación de músculo *gracilis* aislado. Observó este autor que el antibiótico produjo un marcado incremento en la fuerza contráctil de los ventrículos derecho e izquierdo, en el flujo aórtico y coronario y en la presión aórtica media, sin inducir variaciones en la velocidad de los latidos del corazón o en la resistencia vascular periférica. El antibiótico no modifica la respuesta del corazón a un gran número de drogas cardioactivas del tipo de los antagonistas  $\beta$ -adrenérgicos o de las sustancias liberadoras de catecolaminas. Este efecto parece estar asociado a su capacidad para transportar calcio en membranas. Sin embargo, debe señalarse la existencia de un nuevo antibiótico ionóforo de  $\text{Ca}^{++}$ , introducido por Reed y Lardy,<sup>18</sup> al que en nuestro laboratorio hemos encontrado capaz de transportar  $\text{Ca}^{++}$  pero no protones a través de las membranas mitocondriales y los sinaptosomas. A diferencia del compuesto X-537A este ionóforo (A-23187 de Lilly) no es capaz tampoco de inducir modificaciones en la conductancia de las membranas bimoleculares de lípidos dependientes de flujos de protones. No obstante que el ionóforo A-23187 transporta  $\text{Ca}^{++}$  a través de membranas tan eficientemente como el X-537A, es aparentemente incapaz de promover procesos de intercambio  $\text{Ca}^{++}/\text{H}^+$  no simétrico a través de una membrana. A diferencia del compuesto X-537A, el ionóforo A-23187 es también incapaz de modificar el proceso de

contracción muscular de la fibra miocárdica así como las propiedades hemodinámicas del corazón. Aparentemente, como lo señala Schwartz<sup>32</sup> nuestros hallazgos experimentales<sup>14-16</sup> pueden explicar las diferentes propiedades de los dos ionóforos sobre el corazón, aunque es menester explorar si las diferencias están a nivel de los procesos de liberación de neurotransmisiones en terminales nerviosas, o bien en modificaciones en la actividad de ATPasas dependientes de  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  que al afectar los flujos de  $\text{Ca}^{++}$  modifiquen la asequibilidad de este ion para el sistema cardiaco de la troponina y por tanto causen el incremento en la fuerza de contracción muscular encontrada. Este efecto, por otro lado, no parece existir en ninguna otra droga existente.<sup>32</sup>

No es posible con la información de que se dispone a la fecha, establecer el mecanismo responsable de los efectos del ionóforo de  $\text{Ca}^{++}$  en el sistema antes descrito. No obstante, es claro que la evaluación experimental de los acarreadores de  $\text{Ca}^{++}$  en los diversos niveles de organización de diversas especies animales, no sólo podrá informar sobre la naturaleza molecular del transporte de calcio en la célula, sino también abrirá nuevas y promisorias sendas en algunos aspectos de diagnóstico y terapéutica que, en su substrato fundamental, impliquen perturbaciones en el transporte de calcio en las células o las partículas subcelulares.

El doctor Sergio Estrada Orihuela, graduado en 1961 en la Facultad Nacional de Medicina, se doctoró en bioquímica en la Facultad de Química de la UNAM en 1973 pero antes había hecho estudios e investigaciones en el Institute of Enzyme Research de la Universidad de Wisconsin, E.U.A.

Fue profesor de bioquímica por varios años en la Facultad Nacional de Medicina y desde

1971 es titular de la docencia e investigación en bioquímica, con dedicación de tiempo completo, en el Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional.

Tiene una producción científica vastísima con publicaciones en varios periódicos nacionales y extranjeros, y libros escritos, como autor único o en colaboración, también algunos de ellos publicados en el extranjero.

Ha sido el recipiente de varios donativos de fundaciones como la Research Corporation de Burbingham, California y la Fund for Overseas Research Grants and Education de Nueva York, para realizar aquí investigación en bioenergética.

En 1971 por último, obtuvo el primer premio de Investigación Médica y Farmacéutica de México, de la Cámara Nacional del Instituto Químico-Farmacéutico.

Fue aceptado como miembro numerario de la Academia Nacional de Medicina en 1974.

## REFERENCIAS

- Inesi, G.: *Activite transport of calcium ion in sarcoplasmic membranes*. Ann. Rev. Biophys. Bioeng. 1:191, 1972.
- Ozawa, G.: *The role of calcium ion in avian myogenesis in vitro*. Biol. Bull. 143:431, 1972.
- Shanes, A. M.: *Electrochemical aspects of physiological and pharmacological action in excitable cells*. Pharmacol. Rev. 10:59, 1958.
- Manery, J. F.: *Rheology of complex fluids and some observations on joint lubrication*. Fed. Proc. 25:1054, 1966.
- McLennan, H.: *Synaptic transmission*. Saunders, Filadelfia, 2a. ed. 1970.
- Douglas, W. W. y Rubin, R. P.: *The mechanism of catecholamine release from the adrenal medulla and the role of calcium in stimulus-secretion coupling*. J. Physiol. (Londres) 167:288, 1965.
- Foremna, J. C.; Gomperts, B. D. y Mongar, J. L.: *Hystamine release and calcium transport in mast cells*. Transact. Biochem. Soc. (Londres), abril, 1973.
- Horvath, C. y Sovals, M.: *Members coarctation by calcium as a regulator for bound enzymes*. Biochim. Biophys. Acta 298:850, 1973.
- Rasmussen, H.: *Cell communication, calcium ion, and cyclic adenosine monophosphate*. Science 170:404, 1970.
- Cone, R. A.: *Rhodopsin, visual excitation and membrane viscosity*. En: Estrada-O., S. Gitler, C. (Eds.). *Perspectives in Membrane Biology*. Nueva York, Academic Press, p. 423, 1974.
- Rossi, C. S. y Lehninger, A. L.: *Stoichiometry of respiratory stimulation, accumulation of  $Ca^{++}$  and phosphate, and oxidative phosphorylation in rat liver mitochondria*. J. Biol. Chem. 239:3971, 1964.
- Hitchcock, S. E.: *Regulation of muscle contraction. Effect of calcium on the affinity of troponin for actin and tropomyosin*. Biochemistry 12:2509, 1973.
- Kretsinger, R. H.: *Calcium binding proteins and natural membranes*. En: Estrada-O., S. y Gitler, C. (Eds.). *Perspectives in Membrane Biology*. Nueva York, Academic Press, p. 229, 1974.
- Estrada-O., S.; Célis, H.; Fernández, M. y Montal, M.: *The mode of action of compound X-537A: A model calcium translocator in natural and artificial membranes*. En: W. Drabikowski, H. Strzelecka-Golaszewska, E. Carafoli (Eds.). *Calcium Binding Proteins*. Varsovia, Polish Scientist. Publishers, p.896, 1974.
- Célis, H.; Estrada-O., S. y Montal, M.: *Model translocators for divalent and monovalent ion transport in phospholipid membranes. I. The ion permeability induced in lipid bilayers by the antibiotics X-537A*. J. Membrane Biol. 18:187, 1974.
- Estrada-O., S.; Célis, H.; Gallo, G.; Calderón, E. y Montal, M.: *Model translocators for divalent and monovalent ion transport in phospholipid membranes. II. The effects of ion translocator X-537A on the energy-conserving properties of mitochondrial membranes*. J. Membrane Biol. 18:201, 1974.
- Pressman, B. C.: *Properties of ionophores with broad range cation selectivity*. Fed. Proc. 32:1698, 1973.
- Reed, P. W. y Lardy, H. A.: *A23187; a divalent cation ionophore*. J. Biol. Chem. 247: 6970, 1972.
- Scarpa, A. e Inesi, G.: *Ionophore mediated equilibration of calcium ion gradients in fragmented sarcoplasmic reticulum*. FEBS Letters 22:273, 1972.
- Estrada-O., S.; Graven, S. N. y Lardy, H. A.: *Effects of nigericin on mitochondrial ion transport and oxidative phosphorylation*. Fed. Proc. 26:610, 1967.
- Estrada-O., S.; Rightmire, B. y Lardy, H. A.: *Antibiotics as tools for metabolic studies. XI. Specific inhibition of ion transport in mitochondria by the monensins*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. p. 279, 1967.
- Pressman, B. C.: *Induced active transport of ions in mitochondria*. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 53:1076, 1965.
- Estrada-O., S. y Gómez-Lojero, C.: *Effects of monazomycin on ion transport and oxidative phosphorylation in liver mitochondria*. Biochemistry 10:1598, 1971.
- Mueller, P. y Rudin, D. O.: *Translocators in bimolecular lipid membranes: their role in dissipative and conservative bioenergy transduction*. Current Topics in Bioenergy 3:157, 1969.

25. Urry, D. W.: *The gramicidin A transmembrane channel: A proposed II<sub>(L, D)</sub> helix*. Proc. Natl. Acad. of Sci. 68:672, 1971.
26. Hille, B.: *The permeability of the sodium channel to organic cations in myelinated nerve*. J. Gen. Physiol. 58:599, 1971.
27. Estrada-O., S.; de Céspedes, C. y Calderón, E.: *Accumulation of calcium and phosphate stimulated by carboxylic antibiotics into mitochondria*. J. Bioenergetics 3:361, 1972.
28. Scarpa, A. y Azone, G. F.: *The mechanism of ion translocator in mitochondria. 4. Coupling of K<sup>+</sup> efflux with Ca<sup>2+</sup> uptake*. Eur. J. Biochem. 12:328, 1970.
29. Pressman, B. C., en M. A. Mehlmán y R. W. Hanson (Eds.). *The Role of Membranes in Metabolic Regulation*. Nueva York, Academic Press, p. 149, 1972.
30. Johnson, S. M.; Herrin, J.; Liu, S. J. y Paul, I. C.: *Crystal structure of a barium complex of antibiotic X-537A, Ba (C<sub>21</sub>H<sub>23</sub>O<sub>5</sub>)<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O*. Chem. Comm. 72:73, 1970.
31. Alemán, V.; Calderón, E.; Peña, L. y Estrada-O., S.: *Ca<sup>2+</sup>-binding to synaptosomal fractions*. Sixth Meeting of the American Society for Neurochemistry, p. 213, abst. 271, 1975.
32. Schwartz, A.; Lewis, R. M.; Hanley, H. G.; Munson, R. G.; Dial, F.; Ray, V. M.; y Thyrum, T.: *Hemodynamic and biochemical effects of a new positive inotropic agent: antibiotic ionophore Ro 2-2985/1 (X-537A)<sup>1</sup>*. Circulation Research. En prensa.

## COMENTARIO OFICIAL

JESÚS GUZMÁN-GARCÍA \*

El transporte de iones a través de membranas biológicas es un evento que está involucrado en un gran número de procesos biológicos de capital importancia, desde la expulsión activa de Na<sup>+</sup> a través de la membrana celular, o las relaciones entre la captación de energía y el intercambio de iones en la membrana mitocondrial, comunes a prácticamente todos los organismos vivos, hasta la concentración de H<sup>+</sup> en la luz estomacal en mamíferos o la excreción de Na<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup> por algunas aves marinas.

Sin embargo, el estudio de los mecanismos que permiten el paso de una partícula cargada, altamente polar, por el medio esencialmente hidrófobo que forma parte de la membrana, requiere un armamentario experimental especial, del que forman parte las membranas lipídicas artificiales y los transportadores que "envuelvan" al ion, cubriendo su carga eléctrica y formando en ocasiones un túnel, o canal de entrada como lo ha hecho el doctor Sergio Estrada Orihuela, para introducirnos a las complejidades apasionantes de los procesos de translocación de iones a través de las membranas, que ha sido su inquietud en el trabajo de investigación desde hace diez años.

Este campo es realmente fascinante. La comprensión de los mecanismos a través de los cuales las células conservan y transforman energía es uno de los problemas centrales de la biología contemporánea y está relacionado íntimamente con aspectos de importancia médica como lo ha indicado el ponente. Hay que hacer notar que, además de los datos y comentarios presentados, las contribuciones científicas de Estrada Orihuela y su grupo han coadyuvado de manera importante a definir que el transporte de iones es uno de los eventos principales (quizá el evento primario) en el proceso de captación y transformación de energía más importante en la célula: el acoplamiento entre la respiración celular y la producción de ATP por fosforilación del ADP, conocido como fosforilación oxidativa.

El empleo de antibióticos carboxílicos transportadores de iones, como el X-537A mencionado en el trabajo, ha permitido fundamentar algunos de los aspectos clave de la hipótesis quimiosmótica para explicar el mecanismo de la fosforilación oxidativa. En este sentido también resalta la contribución de nuestro nuevo compañero de corporación: los grupos de trabajo que dirige, o de los que forma parte, introdujeron como arma experimental el anti-

\* Académico numerario.

biótico ionóforo conocido como monazomicina que forma túneles para el  $K^+$  o el  $Na^+$  en las membranas biológicas, y presentaron evidencias experimentales, señaladas por primera vez, de la existencia de un sistema transportador de  $Na^+$  en la membrana funcional de la mitocondria, sistema que fue previsto sobre bases teóricas hace más de diez años.\*

Considero conveniente hacer ver que el grupo de investigación de Estrada Orihuela forma

parte de los grupos de investigadores adiestrados en nuestro país a través de la Universidad Nacional o del Instituto Politécnico, cuyas contribuciones no son trabajos de repetición de informes aparecidos en la literatura científica mundial, sino son piezas que significan una gran creatividad y una alta calidad académica y que los coloca en una posición destacada en la competencia a nivel internacional en la investigación bioenergética.

## TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD DE PARKINSON

... todos los autores la consideran incurable, pero muchos aseguran que puede detenerse en su curso y el enfermo vivir muchos años.

El tratamiento preconizado por Grasset y Rangier, que es la obra que lo trae más detallado, comenzando por prescribir gránulos Chanteaud de hiosciamina, diez días de cada mes, así: un miligramo el primer día, aumentar un miligramo diario hasta cinco y disminuir la misma cantidad hasta tomar un miligramo el décimo día.

Los veinte días restantes de cada mes, tomar con cada comida una cucharada de:

Agua destilada	300.00 gr.
Cloruro de oro y sodio	0.5 a 0.10 cg.

Cada quince días purgante con Villacabras, o

Sulfato de sodio	20.00 gr.
Sulfato de magnesio	15.00 gr.
Hipofosfito de sodio	10.00 gr.
Con o sin cloruro de sodio	1.00 gr.
Agua destilada	120.00 gr.

Cucharadas: una cada media hora hasta efecto purgante.

Inyecciones intramusculares de 1. c. c. de Hectina A. diecinueve días sí y diez días no. *R. Ortega*. GACETA MÉDICA DE MÉXICO. Tomo 10, tercera serie, pág. 95, marzo de 1914.