

Modulación de la función de la membrana celular por colesterol y su relación con enfermedad

Jaime Mas Oliva*

La arterioesclerosis es una enfermedad que al parecer evoluciona bajo la influencia de factores múltiples; sin embargo, se ha definido que el esencial es la presencia de colesterol elevado en sangre. Este padecimiento es aparentemente ubícuo en el hombre de más de 20 años de edad pudiendo considerarse como un fenómeno concomitante del envejecimiento.

En nuestros días ya no es posible pensar que la propensión a esta enfermedad sea juzgada tan sólo como una función del tipo de herencia vascular. Si bien la tendencia general del depósito de lípidos en la íntima de las arterias, aunada al aumento en la presión arterial, alteración en la dinámica de flujo y a cambios en la integridad de la íntima vascular influyen poderosamente a nivel del lugar donde se formará un ateroma. La condición general denominada aterosclerosis lleva consigo la alteración en muchos otros sistemas aparte del sistema vascular, cuyo origen es desconocido.

El presente trabajo propone discutir los estudios realizados durante los últimos años en mi laboratorio, al investigar los mecanismos de control de la homeostasis del colesterol de la membrana plasmática de la célula y su relación con la función de la membrana, fenómeno muy poco investigado y que pudiera proporcionar datos clave en el entendimiento del origen de las alteraciones mencionadas anteriormente. El colesterol sanguíneo se encuentra esencialmente formando parte de las lipoproteínas séricas, y principalmente de las lipoproteínas de baja densidad o LDL (por *low-density lipoprotein*) (Figura 1). La cantidad de colesterol que se libera de las LDL controla el metabolismo del colesterol en la célula, la acumulación modula tres procesos: en primer lugar, reduce la capacidad de la célula para elaborar su propio colesterol, pues interrumpe la síntesis de la enzima HMG CoA reductasa que cataliza uno de los pasos de la vía biosintética del colesterol. La supresión de esta enzima obliga a la célula a depender del colesterol externo que procede de la captación de LDL por sus receptores específicos. En segundo lugar, la entrada del colesterol procedente de la LDL promueve, activando la enzima llamada ACAT1 el almacenamiento de colesterol en la célula. Esta enzima reincorpora un ácido graso a las moléculas de colesterol que sobran, haciendo de

ellos esteres de colesterol que se depositan en pequeñas gotas intracelulares de almacenamiento. En tercer lugar, la acumulación de colesterol en la célula pone en marcha un mecanismo de retroinhibición que lleva a la célula a detener la síntesis de nuevos receptores de LDL¹ (Figura 2). Las células ajustan el número de sus receptores, de modo que se incorpore el suficiente colesterol para cubrir sus necesidades. Por ejemplo, los fibroblastos en fase activa de división y que por consiguiente requieren un aporte de material para la formación de nuevas membranas, mantienen una dotación máxima de receptores de LDL (unos 40 000 por célula). En las células que han superado la fase de multiplicación, el colesterol que les sigue llegando del exterior comienza a acumularse y el sistema de retroinhibición reduce a un décimo la producción de receptores².

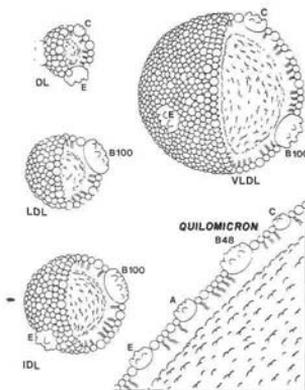


Figura 1. Las diferentes lipoproteínas mostrando su relativa diferencia en tamaño y por consiguiente en densidad. Se muestran los principales componentes aporotéicos de las partículas.

El papel central del receptor de LDL en la aterosclerosis quedó patente al demostrarse que su ausencia era la causa de una grave enfermedad, la hipercolesterolemia familiar (HF).

Trabajo de ingreso leído el 20 de octubre de 1993.

*Académico numerario. Instituto de Fisiología Celular y Depto. de Bioquímica de la Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México.

En 1939, Carl Muller identificó esa enfermedad como un defecto congénito del metabolismo; quienes la padecen presentan un nivel sanguíneo muy elevado y sufren infartos de miocardio en edades muy tempranas.

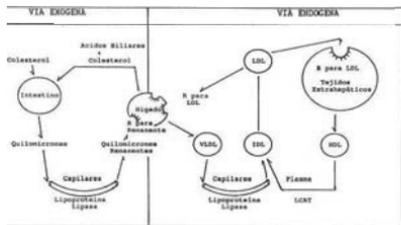


Figura 2 Vías de formación y catabolismo de las lipoproteínas. R, receptor; LD₂, lipoproteína de baja densidad; VLDL₁, lipoproteína de muy baja densidad; DL₁, lipoproteína de densidad intermedia; HDL₂, lipoproteína de alta densidad; LCAT, lecitina colesterol aciltransferasa.

Concepto del “anillo lipídico”

El concepto de que ciertas proteínas de membrana con actividad enzimática requieren de lípidos específicos para alcanzar su máxima actividad fue desarrollado hace aproximadamente 15 años. Durante este tiempo, un grupo de investigadores que logró purificar proteínas unidas a membrana mediante la solubilización con detergentes, observó la dependencia de las diferentes actividades enzimáticas de cierto tipo de lípidos. Estos experimentos, aunados a la reactivación enzimática provocada con moléculas hidrofóbicas diferentes a los lípidos presentes en las membranas nativas, llevaron a postular la existencia de un grupo de lípidos fuertemente unidos a las proteínas membranales y eventualmente al concepto del anillo lipídico³ (Figura 3).

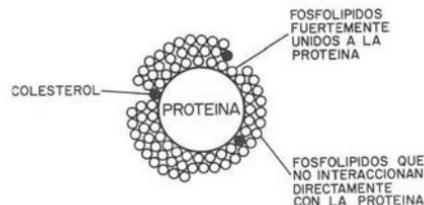


Figura 3. Concepto del anillo lipídico en la membrana.

En relación con este concepto, los lípidos que forman parte de este “anillo” aparentemente interactúan con las diferentes proteínas a través de uniones de Vander Walls y de fuerzas electrostáticas en la región de las cabezas polares de los fosfolípidos. Una de las funciones importantes de este anillo lipídico consiste aparentemente en seleccionar algunas especies lipídicas sobre otras. Por ejemplo, la deshidrogenasa del betahidroxibutirato interactúa preferentemente con fosfatidilcolina, la 5'-nucleotidasa con esfingomielina, la citocromo c oxidasa con glicoforina, la ATPasa sodio/potasio y la rodopsina específicamente con fosfolípidos ácidos^{4,5}. Otra función importante de este anillo lipídico es la formación de un sello entre la proteína y la bicapa, previniendo fugas en la interfase lípido-proteína. Más aún, en vista de los rápidos cambios observados en la transición de fase, así como en la composición de los lípidos en las diferentes regiones de la membrana, el anillo lipídico actúa como un amortiguador aislando a las proteínas integrales de los cambios generales que ocurren en las biomembranas⁶. Independientemente de la existencia de este fenómeno, el intercambio de lípidos entre el anillo lipídico y la poza general de lípidos de la membrana, aún no ha sido estudiada en detalle.

En este sentido, se ha propuesto que el anillo lipídico podría causar un efecto significativo sobre la proteína, solamente si el tiempo de residencia de los diferentes lípidos que componen el anillo fuese comparable a la velocidad de recambio de la enzima⁷. Sin embargo, East y Lee han argumentado que ésta es una concepción errónea, ya que el punto principal en el fenómeno no es el tiempo de residencia de cada uno de los lípidos en el anillo, sino más bien del estado físico promedio en el tiempo, así como la composición química de este anillo⁸.

De acuerdo al concepto desarrollado con el modelo del mosaico fluido, los lípidos presentes en las membranas biológicas no necesariamente existen en el mismo estado fluido a temperaturas fisiológicas. A pesar de que diferentes estudios utilizando ¹³C NMR (resonancia magnética nuclear), indican que una fracción importante de los lípidos en las biomembranas lleva a cabo una difusión translacional rápida, existen evidencias que demuestran que la mayoría de los lípidos membranales pueden ser inmovilizados en regiones o zonas específicas y presentar tiempos de correlación translacional mucho más largos que aquellos incorporados con sondas moleculares de rotación del electrón⁹. El uso exclusivo de sondas tanto fluorescentes como de movimiento de rotación del electrón para caracterizar la llamada fluidez en la bicapa ha sido recientemente criticada, ya que éstas pueden ser concentradas en regiones de alto “desarreglo”, así como también perturbar la organización de sus componentes vecinos. Sin embargo, un buen número de sondas fluorescentes como sondas de movimiento de rotación del electrón han sido empleadas en membranas modelo, observándose su habilidad para distribuirse preferentemente en las regiones más fluidas de la membrana¹⁰.

Utilizando sondas de movimiento de rotación del electrón, se ha observado que el solo incremento de la relación colesterol/ fosfolípido en la membrana, permite una agregación de éstas en regiones específicas¹¹. Más aún, gráficas de dependencia de temperatura muestran que la incorporación de colesterol a la membrana aumenta la temperatura umbral de 28 a 37-38°C, temperatura a la cual ciertas sondas forman agregados¹². Estos experimentos apoyan la hipótesis de la formación de regiones ricas en colesterol, las cuales forman parte de las llamadas zonas "cuasicristalinas" en la membrana plasmática¹³.

En vista de la existencia de estas zonas o regiones las cuales no son fácilmente explicadas por el modelo del mosaico fluido, se ha propuesto una modificación de éste, denominado como modelo de placas⁵. En este modelo de placas, la continuidad de la membrana es rota por un cierto número de regiones ordenadas con movimiento continuo y separadas entre sí por zonas relativamente desorganizadas de membrana (Figura 4).

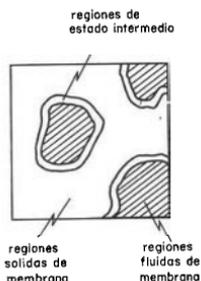


Figura 4. Modelo de membrana denominada de "placa"

De esta manera, las regiones ricas en colesterol y las regiones pobres en colesterol (líquidas), identificadas en las membranas plasmáticas de hepatocitos, plaquetas y eritrocitos reflejan la existencia de estas "placas", mostrando diferentes estados de ordenamiento, en comparación a la generalidad de los lípidos que forman parte de la matriz membranal¹⁴.

Durante la formación de estas placas en la membrana, por un mecanismo relacionado directamente con el proceso de intercambio lipídico entre regiones cuasicristalinas, regiones líquidas y regiones sólidas, se ha observado que tanto en membranas biológicas como en membranas modelo, las proteínas integrales se acumulan en regiones de baja concentración de colesterol¹⁴ (Figura 5). A pesar de que la separación de fase puede ser desarrollada mediante una disminución en la temperatura por debajo de T_c , se ha comprobado que un fenómeno similar puede ser inducido a temperaturas fisiológicas mediante la incorporación de colesterol¹² o mediante la adición de calcio o magnesio al sistema¹⁵.

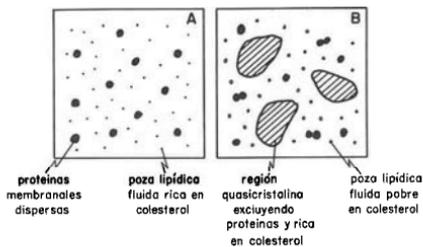


Figura 5. Distribución en la membrana de regiones o placas ricas en colesterol.

A pesar de existir un consenso general de que el nivel de colesterol presente en la membrana celular afecta las propiedades y actividades asociadas a éstas, en la literatura existe un buen número de ejemplos de confusión en relación con la magnitud y dirección de esta influencia. Sin embargo, como se ha mencionado anteriormente, en nuestros días se encuentra bien establecido que la velocidad óptima de la mayoría de las funciones asociadas a la membrana plasmática, responde a una relación directa con los lípidos contenidos en estas membranas¹⁶. Por lo tanto, a pesar de que la función de estas membranas *per se* está representada por las propiedades de las diferentes proteínas membranales, las diferentes funciones de estas membranas tales como actividades enzimáticas, unión a ligandos y transfección de metabolitos, invariablemente requieren de cambios conformacionales en las proteínas que intervienen en los diferentes mecanismos específicos, los que a su vez pueden ser profundamente afectados por los diferentes lípidos membranales^{17,18}. Reportes de nuestro laboratorio indican que el colesterol puede ser efectivo en la modulación de estos cambios conformacionales^{18,19,20,21}, como a continuación se amplía.

Efecto del colesterol sobre receptores de membrana

Una de las preguntas clave aún sin resolver en el estudio del metabolismo lipoprotéico y uno de nuestros objetivos, es el de definir los mecanismos celulares y moleculares que intervienen en la internalización de remanentes de quilomicrones por la célula hepática. Al parecer, el metabolismo de estos remanentes de quilomicrones requiere de algunos pasos intermedios: 1) el secuestro de los remanentes de quilomicrones en el espacio de Disse en el hígado como paso inicial, el cual requiere de apo-E. 2) El proceso lipolítico de estos remanentes de quilomicrones dentro del espacio de Disse. 3) La internalización de estas partículas por las células parenquimatosas mediante la utilización de receptores espe-

cíficos a apo-lipoproteínas. Dentro de estos tres pasos bien definidos en el metabolismo de estos remanentes de quilomicrones, aún en nuestros días constituye una incógnita el papel que juega la membrana plasmática en la realización del proceso de captura.

Herz y asociados²², han aislado clonas de ADN complementario para una lipoproteína de membrana muy parecida al receptor de VLDL y que pudiera corresponder al receptor para apo-E. Esta proteína se ha denominado como LRP por sus siglas en inglés que corresponden a proteína receptora relacionada al receptor a LDL. Este posible candidato de receptor para los remanentes de quilomicrones tiene un peso molecular de aproximadamente 600,000 daltones y tiene múltiples repeticiones de diferentes regiones del receptor a LDL, incluyendo sus regiones unidoras del ligando. El hecho de que LRP esta presente en diferentes tejidos incluyendo el hígado, y que une a lipoproteínas que contienen apo-E como lo son los remanentes de quilomicrones, abre la posibilidad de que esta proteína juegue un papel importante en el metabolismo de estas partículas, de las cuales aún se desconoce su real receptor.

Un estudio realizado por Goldstein y Brown en la Universidad de Texas ha demostrado que las partículas beta-VLDL (remanentes de lipoproteínas inducidos por dietas altas en colesterol) se unen al receptor LRP cuando un exceso de apo-E es añadido a las partículas beta-VLDL²³. Una de las características peculiares de la internalización de los remanentes de quilomicrones es que ésta puede ser inhibida por apo-100. Esta evidencia circunstancial sugiere que el receptor conocido como LRP pueda tener un papel importante, ya sea como una proteína unidora de apo-E en el espacio de Disse, o como el receptor real de remanentes de quilomicrones ricos en apo-E.

Recientemente ha sido demostrado que la proteína LRP corresponde, por homología de secuencia al receptor de la alfa2-macroglobulina^{24,25}. Esta alfa2-M es un inhibidor de endopeptidasas de amplio espectro que se encuentra presente en el plasma humano a concentraciones de entre 2 y 4 miligramos²⁶. La forma activa de la alfa2-M contiene cuatro uniones internas tiolester y no interacciona con el receptor para alfa2-M. Cuando esta alfa2-M inactiva interacciona con proteasas o es expuesta a nucleófilos, una o más de estas uniones tiolester son rotas y la alfa2-M lleva a cabo un cambio conformacional. Esta forma activa (TC-alfa2-M) interacciona con el receptor LRP-alfa2-M con alta afinidad²⁷.

En colaboración con el laboratorio de Robert Mahley (Universidad de California, San Francisco) hemos demostrado la posibilidad de que el receptor LRP-alfa2-M hepático esté involucrado en la unión e internalización de los remanentes de lipo-proteínas demostrada mediante el uso de tres ensayos experimentales: experimentos de cultivo de células *in vitro*, estudios del metabolismo de estas partículas *in vivo*, así como análisis de anticuerpos²⁷. Los resultados sugieren que el

receptor LRP/alfa2-M está involucrado en la internalización de ambos, los remanentes de quilomicrones, así como también la alfa 2-macroglobulina²⁷.

Tomando en cuenta que la mayoría de las moléculas receptoras son proteínas integrales de membrana, uno podría predecir que el colesterol juega un papel central en estos procesos mediados²⁸.

Esto último aunado a que el colesterol aún no ha sido reconocido como una molécula clave en la internalización mediada por receptores, y con base en nuestro trabajo experimental, contamos con evidencia original de que la presencia de colesterol en la membrana plasmática de diferentes tipos celulares modula la unión de partículas beta-VLDL al receptor a LDL (Figura 6).

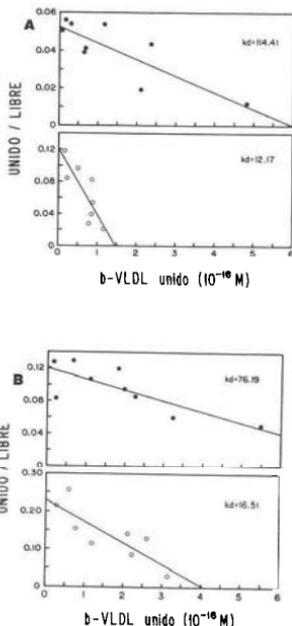


Figura 6 Unión de partículas β -VLDL a células del neuroblastoma de ratón NBP15 (A) y fibroblastos primarios murinos (B) en condiciones normales (o) y condiciones controladas (o) para aumentar la concentración de colesterol de la membrana plasmática mediante el uso de liposoma. Utilizando gráficas de Scatchard podemos observar que tanto la concentración máxima de pegada del ligando al receptor, así como la constante de disociación se encuentran disminuidas al realizar el ensayo con las células que contienen un nivel alto de colesterol membranar en contraste con el ensayo control.

Efecto del colesterol sobre la bomba de calcio de membrana plasmática

En forma interesante hemos llegado a dilucidar un importante papel del colesterol sobre la bomba de calcio de la membrana celular. En específico, la molécula de colesterol, al encontrarse en concentraciones elevadas en la membrana, inhibe a la ATPasa (Ca^{2+} , Mg^{2+}) como función cinética de la llamada bomba de calcio. La depleción de este lípido de las membranas produce un aumento en la actividad de esta ATPasa, pudiéndose suponer que existen en la membrana plasmática celular mecanismos finos de regulación de su concentración de colesterol^{19,20}.

Los cambios observados en la bomba de calcio llevados a cabo por la acción directa del colesterol sobre la enzima, apoyan nuestra teoría de la importancia de la regulación del colesterol en la membrana en la homeostasis del calcio intracelular. Nuestros estudios nos han llevado a proponer al mecanismo de inhibición de la bomba de calcio como a un inductor primario en la génesis de daño celular.

Estos mecanismos de salida para el ion calcio a nivel de la membrana plasmática al estar inhibido produciría a lo largo del tiempo una acumulación anormal de este catión en el espacio intracelular, pudiendo ser perjudicial a la célula en una variedad de circunstancias. Un aumento en la concentración del calcio citoplásmico, por ejemplo, podría activar proteasas y fosfolipasas destruyendo membranas y la mitocondria dejaría de producir ATP con el consiguiente desbalance energético, llevando a la célula a la muerte (Figura 7).

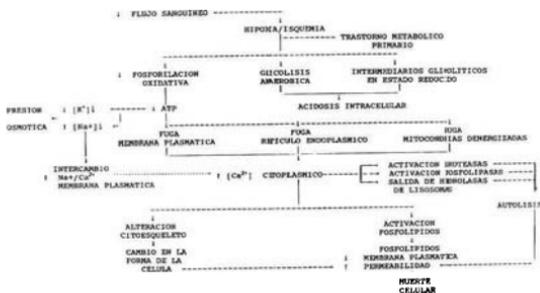


Figura 7. Mecanismo de inducción de daño celular por el ion calcio.

La ATPasa de calcio de membrana interacciona con el ion calcio con una muy alta afinidad (K_m alrededor de $0.5 \mu\text{M}$) presentan capacidad de transporte de calcio relativamente baja (alrededor de $0.5 \text{ nmoles} \times \text{mg}$ de proteína membranaral por segundo, esto en tejidos cardiacos). La alta afinidad de calcio de esta enzima sugiere que exporta calcio de las células aun cuando las concentraciones de este ion en el citosol en el

estado basal se encuentran a un nivel submicromolar. Por lo tanto, la ATPasa de calcio probablemente juega el papel más importante en el mantenimiento del gradiente de calcio a través de la membrana plasmática de las células y su medio circundante. La enzima es una ATPasa de la clase P, esto es que forma un aparsil fosfato durante su mecanismo de reacción, el cual es inhibido por vanadato.

Esta ATPasa consiste en un polipéptido de alrededor de 140 KDa, el cual puede ser reconstituido en liposomas con una eficiencia óptima de transporte. El sistema liposomal ha permitido establecer que la ATPasa transporta calcio con una estequiometría de 1 a 1 en relación con la hidrólisis de ATP que esta molécula realiza. Se ha encontrado que un proceso de fosforilación unido al AMP cíclico estimula a la ATPasa y a su bombeo de calcio asociado. Ya que el AMP cíclico también estimula a la actividad del canal del calcio, el papel del AMP cíclico es por lo tanto considerado como el de incrementar de manera total el flujo de calcio en la membrana plasmática, más que el de estimular unidireccionalmente al transporte de calcio.

Trabajos realizados con la ATPasa de calcio purificada han establecido que la enzima puede ser estimulada por diferentes tratamientos alternativos a la estimulación por calmodulina, entre los cuales se encuentra la exposición a fosfolípidos ácidos, ácidos grasos polinsaturados y a la acción de proteólisis controlada por un número bien establecido de proteasas. El trabajo realizado con proteólisis, aunado a la utilización de técnicas de secuencia química y de DNA recombinante, ha sido importante en el establecimiento de la

estructura primaria de la enzima, así como en el asignamiento de los diferentes dominios funcionales de esta enzima²⁹. La bomba contiene 1220 aminoácidos, lo que corresponde a un peso molecular de 134,683. El aspártico 475 forma el acilfosfato durante el ciclo catalítico y la lisina 601 une al isotiocinato de fluoreceína, un antagonista del ATP. También contiene, próximo a su región N-terminal, dos regiones de 11

aminoácidos (residuos 22-33 y 310-321), que pueden formar sitios de unión para calcio. Diez regiones hidrofóbicas que atraviesan a la membrana han sido identificadas: cuatro se localizan en la región N-terminal y 6 en la porción C-terminal de esta ATPasa, mientras que la región medial de la bomba (alrededor de 500 residuos) no contiene regiones hidrofóbicas. Estas zonas transmembranales muy probablemente son las regiones que pudieran estar afectadas por la presencia o ausencia de colesterol en la vecindad y causar el fenómeno de inhibición o activación enzimática. Mas aún, un interesante efecto de termoeestabilidad de esta enzima, recientemente descrito por nuestro grupo³⁰, (figura 8) pudiera tener su explicación en cambios observados en estas regiones hidrofóbicas.

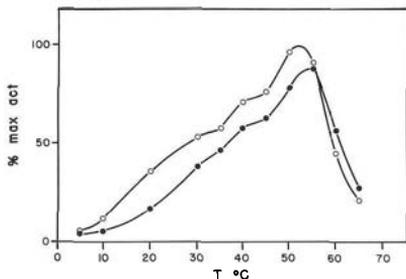


Figura 8. Termoeestabilidad de la bomba de calcio inducida por colesterol. Membranas nativas (•, 35 µg colesterol/mg proteína) y membranas depletadas de colesterol (◦, 15 µg colesterol/mg proteína). Podemos observar una menor actividad enzimática a temperaturas bajas de la proteína localizada en las membranas con alto contenido de colesterol.

En general, una propuesta importante para explicar los diferentes resultados de termoeestabilidad enzimática, ha sido relacionar a este fenómeno con el desdoblamiento de las proteínas, lo cual resultaría en una disminución en las fuerzas que mantienen la conformación nativa de las proteínas³¹. Más aún, existen evidencias que permiten proponer al agua como responsable de muchas de las interacciones covalentes en diferentes sistemas enzimáticos. Con base en estas observaciones y a la propuesta de que el colesterol es capaz de reducir la hidratación de la bicapa lipídica³², se ha planteado la posibilidad de que el arreglo normal de uniones de hidrógeno entre el agua y los diferentes fosfolípidos sea alterada al introducir colesterol al sistema.

En vista de la evidencia que permite proponer al agua como responsable del mantenimiento de muchas de las interacciones no covalentes en los diferentes sistemas enzimáticos, se ha propuesto al colesterol como responsable de reducir la hidratación de la bicapa lipídica³² y así desesta-

bilizar el arreglo normal de uniones de hidrógeno entre el agua y los diferentes fosfolípidos que rodean a las enzimas membranales.

Control de la homeostasis del colesterol de membrana celular

Experimentos realizados en nuestro laboratorio demuestran la presencia de una molécula descubierta y denominada por nosotros como CHTP (por *cholesterol-transfer-protein*) en la membrana plasmática de la célula muscular cardíaca³³. Esta proteína fue solubilizada con detergentes a partir de una preparación enriquecida de sarcolema, inicialmente fraccionada mediante cromatografía de afinidad y purificada mediante el uso de electroforesis preparativa en geles de poliacrilamida no disociantes.

En contraste con una serie de proteínas aisladas de la fracción soluble celular³⁴, las cuales presentan alta afinidad por colesterol, CHTP debe ser reconstituida en membranas artificiales para poder observar su actividad de acarreo de colesterol del medio de incubación a la membrana. De manera interesante, se encontró también que CHTP debe estar en la membrana en forma multimérica para observar una expresión completa de su actividad de transferencia de colesterol.

En el plasma sanguíneo también se ha reportado la presencia de una proteína transferidora de colesterol llamada CETP^{35,36}. Esta proteína que presenta características físicas y cinéticas similares a CHTP se está estudiando en mi laboratorio para investigar su capacidad de reconstitución en membranas artificiales y dilucidar si se trata de una molécula similar a CHTP.

Basados en las principales propiedades de CHTP, pensamos que esta proteína pudiera representar un sistema regulador adicional en la homeostasis de las concentraciones de colesterol celular. En vista de haber propuesto anteriormente qué cambios en la concentración del colesterol en la membrana plasmática pudieran alterar el equilibrio del calcio citoplásmico a través de cambios ocasionados a la bomba de calcio de membrana plasmática, o bien alterar la afinidad del receptor a remanentes de lipoproteínas, pensamos que una alteración en la expresión o regulación de la proteína CHTP pudiera estar directamente asociada a daño celular.

Agradecimientos

Las investigaciones reportadas por el autor han sido apoyadas por la Dirección de Asuntos del Personal Académico de la Universidad Nacional Autónoma de México y el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, México. Se agradece el apoyo secretarial de la Sra. María Gutiérrez.

Referencias

1. Brown, S.M. y Goldstein, L.J. *Current Topics in Cellular Regulation* 26: 3-15, 1985.
2. Brown, S.M. y Goldstein, L.J. *Science* 232: 34-47, 1986.

3. Singer, S.J. y Nicholson, G.L. *Science* 175: 720-731, 1972.
4. Dipple, I., Gordon, L.M. y cols. *J. Biol. Chem.* 257: 1811-1815, 1982.
5. Houslay, M.D. LKY, Stanley, K.K. *Dynamics of Biological Membranes* (Wiley, Nueva York, 1982).
6. Melchior, P.L. y Steim, J.M. *Prog. Surf. Memb. Sci.* 13: 211-289, 1979.
7. Mitranić, M.M., Boggs, J.M. y cols. *Biochim. Biophys. Acta.* 693: 65-84, 1982.
8. East, J.M. y Lee, A.G. *Biochemistry* 21: 4144-4151, 1982.
9. Jain, M.K. y White, H.V. *Adv. Lipid Res.* 15, 1-60, 1977.
10. Butler, K.W., Tattlie, N.H. y Smith, *Acta* 363, 351-360, 1979 *Biochim. Biophys. Acta.*
11. Houslay, M.D. y Stanley, K.K. *Dynamics of Biological Membranes* (Wiley, Nueva York, 1982).
12. Gordon, L.M., Mobley, P.W., Esgate, J.A. y Hofmann, G. Whetton, A.D. y Houslay, M.D. *J. Memb. Biol.* 76: 139-149, 1983a.
13. Gordon, L.M., Saverheber, R.D., Esgate, J.A., Diple, I., Marchmont, R.J. y Houslay, M.D. *J. Biol. Chem.* 255: 45194527, 1980.
14. Gordon, L.M. y Mobley, P.W. *Membrane Fluidity in Biology*, Vol. 4, pp 1-49. RC Aloia y J.M. Boggs (Eds) (Academic Press, Nueva York, 1985).
15. Gordon, L.M., Whetton, A.D. Rawal, S., Esgate, J.A. y Houslay, M.D. *Biochim. Biophys. Acta* 729 104-114, 1983b.
16. Rice, D.M., Meadows, M.D., y cols. *L. Biochemistry* 18: 5893-5903, 1979.
17. Chauhan, V.P.S.I Ramsammy, L.S. y cols. *Biochim. Biophys. Acta* 772: 239-243, 1984.
18. Yeagle, F.L., Kyoung, J. L. y cols. *Biochemistry* 271: 6449
19. Ortega, A. y Mas-Oliva, J. *Biochim. Biophys. Acta.* 773: 231-236, 1984.
20. Ortega, A., y Mas-Oliva, J. *Biochim. Biophys. Res. Commun.* 139: 868-873, 1986.
21. Mas-Oliva, J. y Santiago-García, J. *Int. Biochem.* 21: 233-241, 1990.
22. Herz, J., Hamann, y cols. *EMBO. J.* 7: 4119-4127, 1988.
23. Kowal, R.C., Herz, J., y cols. (*J. Biol. Chem.* 265: 10771-10779.
24. Strickland, D.K., Ashcom, J.D. y cols. *J. Biol. Chem.* 256: 17401-17404, 1990.
25. Kristensen, T., Moestrup, S.K., y cols. *FEBS Lett.* 276: 151-155, 1990.
26. Harpel, P.C., and Brower, M.S. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 412: 1-9, 1983.
27. Hussain, M.M., Maxfield, F.R., Mas-Oliva, J. y cols. *J. Biol. Chem.* 266: 13936-13940, 1991.
28. Mas-Oliva, J. *Ciencia (MEX)* 42: 249-256, 1991.
29. Carafoli, E. *J. Biol. Chem.* 267: 2115-2118, 1992.
30. Santiago-García, J. Olivares-Villagómez, D. y Mas-Oliva, J. *Biochim. Biophys. Res. Commun.* (enviado a publicación).
31. Cheng, K.H., Hui, S.W. y Lepock, J.R. *Cancer Res.* 47, 1255-1262, 1987.
32. Simon, S.A., McIntosh, T.J. y Latorre, R. *Science* 216, 65-68, 1982.
33. Santiago-García, J. y Mas-Oliva, J. *Mol. Cellular Biochim.* 100: 51-59, 1991.
34. Lenard, J. y Rothman, J.E. *Proc. Natl. Acad. Science* 73: 391-395, 1976.
35. Drayna, D., Jarnagin, A.S., McLean, J. y cols. *Nature*, 327: 632-634, 1987.
36. Ohnishi, T., Yokoqama, S. y Yamamoto, A. *J. Lip. Res.* 31: 397-406, 1990.

Comentario

Enrique Piña Garza*

Es motivo de satisfacción dar la bienvenida a nuestra centenaria corporación al doctor Jaime Mas Oliva, a quien conocía cuando contaba con 20 años de edad, como un inquieto estudiante de la Facultad de Medicina. Recuerdo sus trabajos con levaduras, las cuales se cruzaban genéticamente y tenían progenia al realizar los experimentos en Baltimore, pero no se cruzaban ni tenían progenia al efectuar los experimentos en la Ciudad Universitaria. Al final se demostró que la menor presión parcial del oxígeno en la ciudad de México fue la responsable directa de la diferencia.¹ Pronto pudimos cruzar con éxito las levaduras en la ciudad capital.

También recuerdo el entusiasmo de Jaime al regresar de su internado clínico que realizó en Querétaro, trayendo consigo células de *Candida albicans* aisladas de pacientes; las células mostraban resistencia al tratamiento con antibióticos del tipo de la nistatina. Jaime encontró que los hongos resistentes habían perdido su capacidad de sintetizar ergosterol, ubicada en la membrana celular. Después demostró que el ergosterol exógeno se incorporaba a la membrana del hongo

y lo hacía susceptible a la acción del antibiótico.² Finalmente pudo concluir que la nistatina se une específicamente al ergosterol de la membrana en los hongos, lo cual produce, literalmente, poros, por donde se escapa el contenido celular y sobreviene la muerte.³

En esta ocasión Mas Oliva nos acaba de presentar sus investigaciones más recientes sobre la participación fisiológica del colesterol en la homeostasis, esto es, en la regulación de la función de las membranas plasmáticas celulares. Los datos del doctor Mas nos muestran que en el colesterol puede regular la plasticidad de las proteínas membranales y de ahí, la función de las membranas plasmáticas y, como consecuencia, la función y la estabilidad de la célula completa.

En un primer ejemplo de su trabajo experimental el doctor Mas señala la influencia del colesterol plasmático en la muy probable internalización de remanentes de quilomicrones al interior de la célula hepática.

En el segundo modelo, que me resulta más atractivo, nuestro recién aceptado académico muestra la inhibición de

* Académico numerario

una importante enzima membranal al elevar la concentración de colesterol en la propia membrana. La enzima inhibida es una adenosín trifosfatasa dependiente de calcio y su papel fundamental es el exportar calcio al exterior celular. La inhibición de la enzima, por el aumento del colesterol membranal, abatiría la degradación del ATP celular y favorecería la acumulación del calcio intracelular. La propuesta de Mas y colaboradores, en el sentido de que la inhibición de la bomba de calcio por el colesterol sería la causa inicial de daño celular, es innovadora y atractiva. Sin embargo, persiste el reto de acumular evidencias experimentales eficientes para disipar todo género de duda. Las interrelaciones entre la ATPasa de calcio, su inhibición por el colesterol y su activación por fosfolípidos ácidos o por proteasas, permanecen en su etapa descriptiva de información, requiere también de un desarrollo experimental para iniciar la resolución de numerosas incógnitas. El último modelo experimental que nos ofrece el ponente se refiere a una proteína inflada de la membrana plasmática de miocitos cardíacos. Dicha proteína incluida en membranas artificiales, acarrea colesterol del medio de

incubación hacia la membrana. Se propone a la proteína y a otras similares, como participantes en la regulación de la cantidad de colesterol presente en las membranas celulares. Asimismo, se trata de un tema innovador y atractivo, máxime si se considera que se han descrito proteínas similares en el plasma sanguíneo normal.

En conclusión, el doctor Mas nos muestra otras facetas del colesterol contribuyendo a regular la delicada y complicada función celular. Deseo se trate de la primera de sus presentaciones en el seno de nuestra Academia, que sigan varias más que nos permitan apreciar con mayor detalle otras funciones del colesterol en las células de los mamíferos.

Referencias

1. Mas J, Celis E, Piña E, Brunner A. Effect of O₂, Ergosterol and Sterol Precursors on the Mating Ability of *Kluyveromyces lactis*. *Biochim Biophys Res Comm*. 1974;61:613-20
2. Mas J, Piña E. Disappearance of nystatin resistance in *Candida* mediated by ergosterol. *J. Gen Microbiol*. 1980;117:249-52.
3. Mas J, Piña E. *Candida* resistant to nystatin becomes sensitive upon culture with ergosterol. *Arch Invest Med Mex*. 1985;16:145-155.