

## Conformación macromolecular e iones calcio y magnesio

Dr. Alfredo Planchart

Académico de Número

El papel biológico de los iones calcio y magnesio, ha sido estudiado principalmente desde el punto de vista de lo que en nutrición se llaman microelementos que, en general, es el concepto de su papel en la alimentación, sus necesidades diarias y algunas acciones terapéuticas farmacológicas como las del magnesio en el sistema nervioso central y periférico y en el circulatorio. No se ha tomado en cuenta la relación que tienen sus propiedades químicas como metales de la segunda familia en sus efectos celulares, o como se dice ahora su acción molecular. Comprendemos que es difícil referirse a la relación que tienen los átomos libres con su acción biológica. La descripción de las diversas fuerzas de interacción atómica que forman las moléculas, aunque ha permitido el conocimiento químico actual con todo el adelanto consiguiente, es fundamentalmente normativa. Es posible que existan enlaces, fuerzas químicas, de energía menor, que permitan una nueva relación entre las macromoléculas y estos iones y que precisamente, esto influya en la conformación espacio-temporal de las macromoléculas. Como es conocido, los orbitales externos son los que comparten sus cargas en las reacciones químicas conocidas. Es posible que estos sean los que intervengan desde el medio inmediatamente externo para mantener la conformación o tercer estadio de las macromoléculas, entre ellas y los oncogenes.

La presencia común de los iones calcio y magnesio en la parte externa de la pared celular nos ha hecho pensar que estos iones presentan una relación específica que interviene en la conformación de las macromoléculas. Esta conformación, o tercer estadio de las macromoléculas, se ha referido hasta ahora, principalmente a las proteínas (1), pero como éstas son fabricadas por la interrelación ácido desoxirribonucleico-acido ribonucleico (2) (ADN-

ARN), es lógico pensar que una alteración de la conformación de los genes que son también macromoléculas (la forma del gen en el sentido espaciotemporal), también acarreará la alteración en la forma espacial de la proteína resultante. Esto podría explicar por ejemplo, la formación de los priones (3), agentes de tipo proteico que actúan como virus y que son la posible causa de enfermedades como las de la vaca loca en el ganado, la enfermedad de Jacob Creutzfeldt que es su equivalente en el humano y el *kuru* de los antropófagos de Indonesia, que ingieren cerebros de humanos muertos, como demostró Gajduseck, (citado por Pocchiari (4)). Posiblemente, también sea el mecanismo por el cual se forma la sustancia amiloide del Alzheimer. Proponemos una relación similar de estos iones, como causa de la activación de los oncogenes y su producción de cáncer.

Por todas estas razones hemos estudiado durante mucho tiempo, la acción de los iones divalentes  $Ca^{2+}$  y  $Mg^{2+}$  en su relación con el mecanismo celular de acción de la insulina (5) y de su acción en la contracción de la aurícula aislada de la rata (6).

Una demostración de la importancia de la conformación molecular en la acción farmacológica y, por tanto, de la respuesta de la célula, es el experimento de la acción de fármacos como la norepinefrina, la tiramina y la acetilcolina sobre la contracción de la aurícula aislada de la rata (7).

Habíamos tratado de buscar experimentalmente si existía una acción farmacológica, tanto para la glucosa como para otras hexosas (8). En la Figura 1 puede apreciarse que la glucosa responde a una curva dosis respuesta a nivel de la aurícula, pero solamente a dosis exorbitantes, por encima de 1 g por ml, dosis imposibles de alcanzar en el ser humano. La Figura 2 muestra una curva de

Lineweaver Burke, en la cual se demuestra la acción inotrópica de varias hexosas (9).

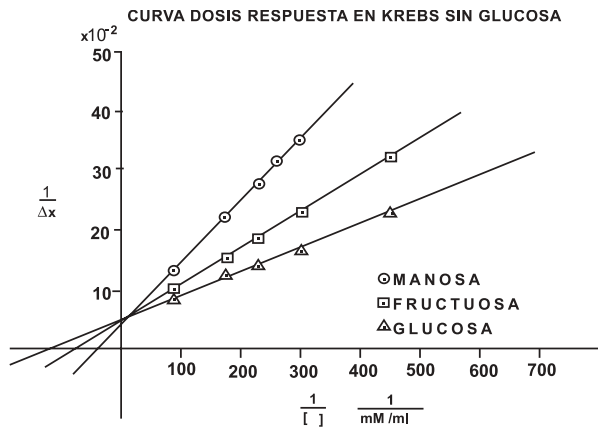


Figura 1. Curva dosis-respuesta en Krebs sin glucosa. Acción inotrópica de la glucosa y otras hexosas sobre la aurícula de rata. Gráfico tipo Lineweaver-Burke.

También se encontró acción inotrópica para la insulina pero sólo a concentraciones muy elevadas.

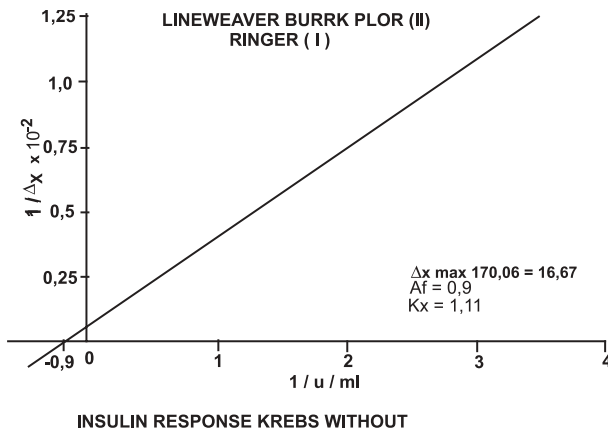


Figura 2. Acción inotrópica de la insulina.

Estos resultados nos llevaron a tratar de buscar la situación espacial de los receptores para la insulina en la aurícula. Pudimos demostrar que tanto el ácido cítrico como el ácido acético tienen efecto inotrópico negativo. El Cuadro 1 muestra los resultados del

experimento. Una vez demostrada la acción inotrópica de estos dos ácidos, continuamos el experimento, para comprobar si la acción inotrópica de la insulina se correlaciona con otras drogas de acción fisiológica. La adición de la norepinefrina, y de la tiramina a la solución que baña la aurícula aislada es potenciada, por la insulina, pero sólo si son añadidas previa a la adición de insulina. La acetilcolina también es disminuida en su efecto si se administra antes de la insulina. Si se añade la insulina primero que los otros fármacos, estas drogas no actúan. Sólo se observa el efecto inotrópico de la insulina.

Concluimos que los receptores para la acción de la insulina, así como los de los otros fármacos, están agrupados muy cerca uno de otros, pero como la insulina es una molécula proteica (10), por tanto, de mucho mayor tamaño que las demás, cubre los receptores de estos impidiéndoles ejercer su efecto. Existe así, la posibilidad que los receptores para el inotropismo de la aurícula de rata estén agrupados muy de cerca uno de otro.

El ácido acético y el ácido cítrico, como la acetilcolina, tienen acción inotrópica negativa. Sin embargo, a diferencia de ella, son potenciados por la insulina, ya sea antes o después de la adición de la hormona al preparado. No importa si se añaden antes o después de la insulina. El Cuadro 1 muestra esquemática y cuantitativamente estos resultados.

Cuadro 1

Valores de la acción inotrópica sobre la aurícula aislada de rata, antes y después de la adición de insulina.

Concentración	Aprox. Respuesta tamaño A°
Estimulantes	
Norepinefrina 5,9 x 10 <sup>-6</sup> - 5,9 x 10 <sup>-5</sup> M	<10 -
Tiramina 7,3 x 10 <sup>-7</sup> - 7,3 x 10 <sup>-5</sup> M	<10 -
Hexosas	
Glucosa 5,5 x 10 <sup>-5</sup> - 5,5 x 10 <sup>-3</sup> M	<10 -
Fructosa 5,5 x 10 <sup>-5</sup> - 5,5 x 10 <sup>-3</sup> M	<10 -
Manosa 5,5 x 10 <sup>-5</sup> - 5,5 x 10 <sup>-3</sup> M	<10 -
Depresores	
Ácido cítrico 2,0 x 10 <sup>-5</sup> - 2,0 x 10 <sup>-4</sup> M	>10 +
Ácido acético 2,0 x 10 <sup>-5</sup> - 2,0 x 10 <sup>-4</sup> M	>10 +
Acetilcolina 2,7 x 10 <sup>-6</sup> - 2,7 x 10 <sup>-4</sup> M	<10 -

Interpretamos estos resultados como que, si bien el tamaño de la molécula de insulina cubre los receptores del inotropismo e impide el paso de moléculas como la norepinefrina, la tiramina y la acetilcolina, la molécula de insulina en su forma terciaria espaciotemporal, como descrita por Hodgkin (11) es piriforme, pero hay un orificio, más bien un túnel, que la atraviesa. Por ese orificio pueden penetrar el ácido cítrico y el ácido acético. Sin embargo, no es sólo el pequeño tamaño de las moléculas de estos dos ácidos, lo que permite su paso, porque las otras moléculas aunque son de mayor tamaño, no son tan grandes. En la molécula de insulina la pared del túnel descrito por Hodgkin, está formada por aminoácidos con diversas cargas polares orientadas hacia su interior por lo que más bien, se presenta como una cerradura, cuya llave coincide con la de los dos ácidos y no con los otros. Este es un caso típico de la influencia de la conformación en la producción de los efectos biológicos.

Desde hace varias décadas, Gajdusek (4) basándose en sus estudios sobre la afección que los nativos de Nueva Guinea llamaban *kuru*, propuso la existencia de nuevos agentes patógenos que no eran ni virus, ni microbios, sino que correspondían a un tipo de moléculas proteicas.

Gajdusek demostró que la afección, el *kuru*, aparecía sólo entre los antropófagos que ingerían el cerebro de los muertos como ritual religioso. El *kuru* es una enfermedad degenerativa en la cual el cerebro de los afectados presenta una consistencia esponjosa.

La reciente epidemia de las vacas locas en Inglaterra, así como la rara enfermedad descrita por Creutzfeldt y Jacob con patología cerebral similar a la que se encuentra en el ganado afectado por la enfermedad de las vacas locas, despertaron de nuevo el interés por los priones. Nombre propuesto por Prusiner y DeArmond (12) por las siglas de *proteinaceous infectious agent* (agente proteináceo de las ovejas) que corresponde a un agente encontrado en una enfermedad denominada *scrapie* en inglés o “deameño” en español, llamada así porque la ovejas afectadas se frotan contra las paredes y pierden porciones de su lana, hasta que mueren. La patología cerebral, también es similar al *kuru* y a la Creutzfeldt-Jacob.

El mecanismo de la formación del “prion” que de la causa el *scrapie* o deameño, ha sido bien estudiado por Prusiner y DeArmond (12). La demostración de

que se trata de una proteína especial que no era atacada por las proteasas, vino del matemático inglés JS Griffith, (citado por Prusiner (12)), quien demostró que era un agente patógeno mucho más pequeño que los virus, resistentes a la acción de las proteasas. En el caso del *scrapie* o deameño, la formación del agente patógeno, se debe a que los animales propensos a la enfermedad, poseen un gen normal denominado PrP<sup>c</sup> que produce una proteína normal que por acción de un prion adquirido en forma externa, infeccioso, se transforma en una proteína PrP<sup>Sc</sup> que es el agente causal. El agente infeccioso, el prion, induce una alteración de la conformación molecular en la proteína normal, que la hace no atacable por las proteasas, lo que le permite ejercer su acción patógena. El *kuru*, la Creutzfeldt-Jacob y el amiloide del Alzheimer, es posible que sean causados también por una alteración similar en la conformación molecular de alguna proteína específica.

Por estas razones y basándonos en los experimentos que nos llevaron a demostrar que la presencia de los iones  $Ca^{2+}$  y  $Mg^{2+}$ , lo cual creemos que es la causa de la diferenciada acción de los dos iones divalentes en el caso de la insulina, tengan influencia directa en la conformación o tercer estadio de macromoléculas como los oncogenes. La acción de estos iones tiene que ejercerse sobre los receptores de la insulina que, como demostró Quatrecasas (13), son macromoléculas. Proponemos, la hipótesis que la malignización celular, es producida por un agente (probablemente un prion en el sentido de Prusiner y Griffith) ocasionado por alteración de la conformación originada por un desequilibrio de los iones calcio y magnesio del medio, inmediatamente externo a los oncogenes. En este caso, estos iones estarían en el medio externo inmediato al oncogen. Este desequilibrio produciría una alteración conformacional del oncogen que daría origen a una proteína, por lo tanto de conformación alterada, el verdadero protooncogen que altera el mecanismo de regulación de la reproducción de la célula normal, transformándola en inmortal. Es posible que la acción de la proteína patógena, el prion, agente de las otras enfermedades ya señaladas, sea también ocasionado por el desequilibrio de estos iones que, desde este mismo momento, podríamos llamar conformación.

La acción de los iones divalentes, demostrada por nosotros (14) como reguladora de la acción de la insulina, no puede explicarse sino como un efecto de alteración de la conformación sobre los receptores

celulares de la insulina, debido a la influencia que el balance  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ , inmediatamente exterior a la membrana celular, debe tener sobre la conformación de las macromoléculas.

Son conocidas, desde el punto de vista clínico, las acciones farmacológicas del magnesio. Se caracterizan sobre el sistema nervioso central y sobre el cardiovascular, cuyas acciones se ven claramente en el método para el tratamiento de la eclampsia gravídica en su fase aguda, que cursa con convulsiones y crisis hipertensiva. La administración endovenosa de sulfato de magnesio repetidas veces, la mejora definitivamente y es el tratamiento ideal. Es conocido también clínicamente su efecto por vía endovenosa en los estados hipertensivos agudos.

Se ha demostrado que la fibra muscular de los vasos se relaja por la acción del magnesio sobre ellas. Este efecto se debe a una posible acción sobre la colinesterasa de la sinapsis. Nuestros experimentos sobre la aurícula aislada demostraron que cuando se utiliza Mg solamente en el Ringer, al cual no se la agrega Ca, el ritmo de la aurícula se hace más lento.

Estos experimentos demuestran que los iones  $\text{Mg}^{2+}$  actúan como un agonista parcial de los  $\text{Ca}^{2+}$ , lo que hace que aparezca como un inhibidor de estos iones. La fisiología del ion  $\text{Ca}^{2+}$  es suficientemente conocida para no tener que discutirla aquí.

### CONCLUSIONES

El hecho que la insulina sea un factor de crecimiento y que se haya descrito que ella y el calcio estimulan el crecimiento y acción de los tumores nos ha llevado a pensar que los iones divalentes calcio y magnesio, son necesarios para la respuesta insulínica por acción de conformación. Por esta razón nos hemos atrevido a proponer esta teoría de la producción de que la malignización celular es causada por acción de los efectos de conformación producidos por el desequilibrio de la concentración  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ , sobre los oncogenes.

### REFERENCIAS

1. Fruton JS, Simmonds S. General biochemistry. New York: John Wiley and Sons; 1954.
2. Chambers DA. The double helix. Ann New York Acad Sc New York 1995;758.
3. Bessen RA. Neurodegenerative prion diseases. Science and Med EE.UU. 1996;3:12-22.
4. Pocchiari M. Prion and related neurological diseases. Molecular aspects of medicine. Science and Med EE.UU. 1994;5:25-103.
5. Herrera FC, Whittembury G, Planchart A. Effect of insulin on short-circuit across isolated frog skin in the presence of calcium and magnesium. Biochim Biophys Acta Amsterdam 1963;66:170-172.
6. Planchart A. Potentiation of insulin action by calcium and magnesium. Diabetes EE.UU. 1962;14:30-31
7. Planchart A, Méndez L. Insulina e iones divalentes. Gac Méd Caracas 1968;7:175-181.
8. Planchart A, Méndez L, Barrós Pita JC. Calcium cryollabile et contraction des oreillettes du rat. Comptes Rendus Soc Biol Paris 1984;178:153-159.
9. Planchart A, Méndez L. Acción de la insulina, las hexosas y los iones Ca y Mg sobre la contractilidad auricular. Gac Méd Caracas 1968;7:351-356.
10. Sanger F. The chemistry of insulin. Brit Med London 1960;16:182-186.
11. Hodgkin DC. The secondary and tertiary structure of insulin. Handbook Physiol Amer Phisyol Soc Endocrinol 1972;1:111-137.
12. Prusiner SB, DeArmond SJ. Neuropathology of prion diseases. Brain Pathol 1995;5:25-103.
13. Quatrecasas P. Insulin receptors. Handbook Physiol. Amer Physiol Soc Endocrinol 1972;1.103:213-222.
14. Planchart A. La insulina y sus receptores celulares. Acta Diabet Latina 1973;10:1269-1285.