

Aislamiento y composición de membranas sarcolemales

por

JOSE A. CABEZAS FERNANDEZ DEL CAMPO (*)

Departamento de Bioquímica - Facultades de Ciencias y Farmacia
Universidad de Salamanca

Conferencia pronunciada el día 8 de marzo de 1979

RESUMEN

El aislamiento e identificación de la membrana sarcolemal es de gran interés. En este trabajo se describen brevemente las características del sarcolema y las dificultades que presenta el aislamiento de fracciones ricas en membranas sarcolemales. Después de señalar algunos antecedentes acerca de los métodos destinados a la preparación de membranas sarcolemales, se indica el fundamento de los dos grupos principales de métodos destinados a esta finalidad. Se discuten los criterios empleados para la valoración de la pureza de estas preparaciones de membranas. Finalmente, se resumen, con un enfoque preferentemente comparativo, algunos resultados obtenidos en este Departamento acerca de la composición química de membranas sarcolemales procedentes de las siguientes especies animales: Hamster, pollo, conejo, rana y carpa. Se deduce que, modificando ligeramente uno de los

(*) Los resultados experimentales aquí resumidos han sido obtenidos, a partir del año 1970, en este Departamento Interfacultativo de Bioquímica de las Facultades de Ciencias y Farmacia de la Universidad de Salamanca, y Centro coordinado del C. S. I. C., en colaboración con las Doctoras M.^a Teresa Agapito Serrano y Amparo Martín del Mo'ino, y de los Licenciados M.^a Eugenia Muñoz Bermejo y Francisco Sevillano García.

La bibliografía inicial y una valiosa orientación experimental sobre membranas las debe el autor a los Profs. L. Warren, M. C. Glick y M. K. Nass, a cuyo lado trabajó en el «Department of Therapeutic Research» de la Universidad de Pennsylvania (Philadelphia), mediante una beca de la Fundación Juan March, durante seis meses en 1966; a todos ellos, y al Prof. F. Carvalho Guerra, de la Universidad de Oporto, por haberle facilitado la asistencia, en 1968, a un cursillo sobre membranas patrocinado por la OTAN, les expresa su agradecimiento. Asimismo, agradece a la Comisión Asesora para la Investigación Científica y Técnica la concesión de las subvenciones que hicieron posible la compra de aparatos para llevar a cabo estos trabajos.

métodos que emplean soluciones salinas de elevada fuerza iónica, se obtienen preparaciones sarcolemales de calidad adecuada a partir de las especies antes mencionadas. La composición química de dichas membranas sarcolemales presenta notables similitudes entre sí, aunque estos resultados no son generalizables a los de otras procedencias.

SUMMARY

The isolation and identification of the sarcolemmal membranes is of great significance. Unfortunately, there is not enough satisfactory procedures to obtain pure membrane preparations from skeletal muscle.

The basis of two groups of preparative procedures are reported. The main criteria to evaluate the purity of the sarcolemmal preparations are discussed. Finally, the results obtained by the author and collaborators on the chemical composition of sarcolemmal membranes from hamster, chick, rabbit, frog and carp skeletal muscle are reported with a comparative point of view. The same method, based on the use of salt solutions of high ionic strength and differential centrifugation in a sucrose gradient, was employed. Remarkable similarities in the chemical composition of the preparation from the above mentioned sources were observed.

INTRODUCCIÓN

Hace nueve años, en un trabajo nuestro titulado «Bioquímica de citomembranas» (1), se señaló que la membrana celular constituía (en sus tres vertientes de composición química, ultraestructura y funciones) uno de los temas más investigados últimamente en el amplio campo de la Bioquímica y Biología Molecular, juntamente con otros tales como el de mecanismos de acción de las hormonas y el de las bases moleculares de los procesos que rigen la memoria.

Actualmente, puede decirse que el interés de los estudios sobre membranas no ha decaído desde aquella fecha, sino que se ha incrementado, a juzgar por el número de publicaciones (artículos, monografías, libros) que siguen apareciendo referentes a este tema.

En aquella ocasión (1) se expusieron datos sobre las membranas biológicas en general, desde un punto de vista bioquímico, indicando sólo algunos de nuestros resultados preliminares acerca de la membrana de los eritrocitos o glóbulos rojos. El presente trabajo se refiere a la membrana —o, más bien, membranas— de otra procedencia: El músculo esquelético de varias especies animales.

CARACTERÍSTICAS DEL SARCOLEMA

Es sabido que una fibra del músculo esquelético consta de varios cilindros estriados o miofibrillas, que tienen de 1 a 2 μ de diámetro. Estas miofibrillas constituyen los elementos contráctiles. Se hallan

separadas unas de otras por mitocondrias (= sarcosomas), sarcoplasma y el llamado retículo sarcoplásmico (que constituye un sistema de vesículas o laminillas unidas) (2).

Las células del músculo esquelético son estructuras cilíndricas, que miden a veces varios centímetros de largo, por 50 a 100 μ de diámetro, y que empiezan y terminan en el origen y en la inserción del músculo completo.

Las miofibrillas ocupan la mayor parte del volumen de la célula muscular, y se hallan formadas en gran proporción por proteínas. Existen proteínas musculares solubles en agua, con propiedades de albúminas, y que forman en gran proporción el sarcoplasma. Las principales proteínas insolubles en agua que integran los filamentos musculares son: miosina, actina, tropomiosinas A y B, y el complejo de la troponina. De la mezcla de la miosina pura con la actina resulta la actomiosina, que desempeña un destacado cometido en el proceso de la contracción muscular. Una vez aislada esta proteína, es soluble en disoluciones de ClK de concentraciones comprendidas entre la 0,3 y la 0,6 M (2).

Las miofibrillas se encuentran integradas en lo que ha sido denominado «citoesqueleto», juntamente con elementos del retículo sarcoplásmico y del sistema de membranas.

Las miofibrillas carecen de membrana. En cambio, la fibra muscular se halla cubierta por una membrana celular denominada *sarcolema*. Habitualmente cada fibra estriada establece contacto, por medio del sarcolema, con la terminación de una neurona. Es sabido que el impulso nervioso se propaga a toda la fibra muscular como un potencial de acción asociado al sarcolema. Además, el sarcolema penetra en cada miofibrilla en las zonas denominadas líneas Z.

El sarcolema aparece al examen mediante microscopio óptico como una membrana homogénea, de 0,1 μ de grosor. Al microscopio electrónico se pueden distinguir en él, de fuera a dentro, los cuatro componentes siguientes:

- a) Una malla de filamentos finos, de unos 100 Å de grosor.
- a) Una capa, formada por filamentos de colágeno, de unos 300 Å de grosor.
- c) Una zona amorfa, prácticamente carente de estructura, de unos 300 a 500 Å de grosor.
- d) Una zona de unos 100 Å de grosor, que es la inmediata al citoplasma y representa la membrana plasmática propiamente dicha, en la que se puede distinguir la típica estructura de doble capa de lípidos envueltos por las capas de componentes no lipídicos. La palabra sarcolema debe reservarse para el conjunto de esta estructura compuesta, aunque a veces se aplica sólo a su zona más interna.

Se estima actualmente que el sarcolema regula el paso al interior de la célula de los iones Na^+ y K^+ , con lo que controla la contracción

e irritabilidad de la célula. Asimismo, se considera que esta membrana posee sitios de unión para cationes monovalentes y divalentes, para agentes estimulantes y depresores, así como para algunos transportadores (= «carriers»). (De las enzimas situadas en esta membrana nos ocuparemos después con cierto detalle).

DIFICULTADES QUE PRESENTA EL AISLAMIENTO DE MEMBRANAS SARCOLEMALES

La membrana del eritrocito maduro de mamíferos presenta considerables ventajas para los estudios sobre membranas citoplasmáticas, por su facilidad de obtención, resistencia y carencia de orgánulos endocelulares. Por ello, numerosos trabajos se han efectuado empleando este material. No debe olvidarse, sin embargo, que se trata de una célula altamente especializada que lleva a cabo un cometido biológico importantísimo; pero que sus características, por eso mismo, no son iguales, ni a veces comparables, a las de otras células.

También las células hepáticas, sobre todo de rata, debidamente «reforzadas» por tratamientos previos han constituido un material de partida para el aislamiento de la membrana citoplasmática (1, 3, 4).

Las membranas citoplasmáticas de células de otras procedencias no suelen resistir sin serio daño los procesos que conducen a su obtención. En el caso concreto del tejido muscular, las dificultades para la obtención de la membrana sarcolemal se incrementan por la elevada concentración de proteínas insolubles, por la presencia de otras estructuras tales como el retículo sarcoplásmico, y también por la abundancia de tejido conjuntivo.

Por otro lado, siendo la membrana sarcolemal de escaso grosor, los métodos habituales de ruptura celular y homogeneización no logran una buena separación de la misma, más que a riesgo de su desintegración, con lo que se hace irreconocible por las técnicas microscópicas. Tal sucede cuando se emplean para la desintegración del músculo tratamientos de trituración con arena o con dispositivos mecánicos tales como «Waring Blendor», «Dounce» o «Potter-Elvehjeh». Tampoco resultan satisfactorios los tratamientos con ultrasonidos, choque osmótico o mediante enzimas tales como la tripsina, la colagenasa o la hialuronidasa.

En resumen, hay que procurar conciliar en los procesos de extracción de la membrana muscular dos aspectos que se contraponen: el uso de técnicas suaves que garanticen el mantenimiento (desde los puntos de vista estructural, químico y enzimático) de una membrana particularmente frágil, y ello a pesar de que hay que partir precisamente de un material como el músculo esquelético que es resistente a la ruptura celular, que posee gran cantidad de proteínas insolubles y que se halla dotado de una estructura peculiar.

Todo esto explica el que hasta la fecha no exista un método plenamente satisfactorio para el aislamiento de la membrana de la célula muscular, a lo menos con un rendimiento que facilite la adecuada caracterización de tales preparaciones de membranas según criterios químicos, enzimáticos y estructurales. Además, hay que tener en cuenta las diferencias entre el tejido muscular procedente de especies distintas, con lo cual se complica la puesta a punto de un método único para la obtención de dicha membrana sarcolemal.

No obstante, la importancia del tema justifica el que haya habido numerosos intentos, más o menos afortunados, tendentes a lograr unas «preparaciones de membranas sarcolemales» de calidad aceptable.

ANTECEDENTES HISTÓRICOS SOBRE MÉTODOS DESTINADOS AL AISLAMIENTO DEL SARCOLEMA

El material habitualmente empleado ha sido el músculo esquelético de rata. Ya en 1947, Baker trató el tejido muscular con ácidos y álcalis diluidos hasta conseguir que el sarcoplasma saliera de las fibras musculares, pudiéndose apreciar a veces áreas vacías correspondientes al sarcolema.

En 1950, Casella logró la retracción del contenido de la fibra muscular y la aparición de tubos sarcolemales vacíos mediante tratamientos mecánicos. También en 1950, Szent-György y Wickoff investigaron la naturaleza del sarcolema.

Más tarde, Wang llegó a aislar túbulos sarcolemales a partir de músculo sometido a tratamientos térmicos, a la temperatura de ebullición.

Lörincz y Biró obtuvieron preparaciones sarcolemales mediante incubaciones de músculo esquelético con disoluciones de NaOH 0,2 N, extracción acuosa y nueva incubación, con ácido tartárico.

A partir de 1961, Kono y Colowick (5) pusieron a punto un procedimiento fundado en el empleo de técnicas de centrifugación diferencial de fracciones de músculo esquelético en presencia de sales como BrLi, ClK y BrK.

Este método ha sido ampliamente utilizado, con algunas modificaciones, por varios autores. (A él nos referiremos después con cierto detalle.)

En 1962, McCollester ha descrito dos procedimientos para la separación de sarcolema. Uno fundado en el empleo de altas presiones en un aparato ideado por él (6); el otro, en el uso de técnicas de centrifugación en presencia de Cl_2Ca y soluciones amortiguadoras (7).

FUNDAMENTO DE LOS MÉTODOS DESTINADOS A LA PREPARACIÓN DE MEMBRANAS SARCOLEMALES

En el momento presente pueden clasificarse los métodos que han ido apareciendo con destino a la obtención de membranas sarcolemas, a partir de músculo esquelético de rata, en dos grupos:

A) El de los que emplean soluciones salinas de elevada fuerza iónica (generalmente BrLi y ClK), con objeto de solubilizar las proteínas musculares, efectuando centrifugación diferencial en gradientes de sacarosa de distinta densidad. A este grupo pueden adscribirse el citado método de Kono y Colowick (5) y el de Schapira *et al.* (8).

B) Otros procedimientos intentan la extracción del contenido celular de la fibra muscular y la purificación de los preparados de membranas mediante el lavado con soluciones salinas de baja fuerza iónica. A este grupo pertenecen las técnicas descritas por McColles-ter (7), Rosenthal *et al.* (9), y la muy reciente de Barchi *et al.* (10).

Otros métodos fueron ideados inicialmente para el estudio de las enzimas $(Na^+ + K^+)$ -ATPasa y $(Na^+ + K^+)$ - Mg^{2+} ATPasa de sarcolema de músculo esquelético o de fragmentos de membranas que contengan ATPasas procedentes de preparados de músculo esquelético de rata, hamster o rana. Algunas de estas técnicas se relacionan en su fundamento con los métodos de obtención de membranas que emplean sales de elevada fuerza iónica; tal sucede con los procedimientos descritos por Boegman *et al.* (11) —al que nos referiremos después detalladamente—, y por Sulakhe *et al.* (12). En cambio, otras técnicas guardan conexión con los procedimientos que usan soluciones salinas de baja fuerza iónica; así ocurre con el método de Peter (13).

Además, algunos procedimientos recientes aspiran a obtener no tanto membranas sarcolemas lo más íntegras posible, sino tales membranas en forma de vesículas.

CRITERIOS PARA PODER VALORAR LA PUREZA DE LAS PREPARACIONES DE MEMBRANAS SARCOLEMALES: MARCADORES DE MEMBRANAS

Al igual que en cualquier trabajo bioquímico, en los estudios experimentales sobre membranas sarcolemas interesa, desde el primer momento, tratar de alcanzar dos metas finales: un rendimiento adecuado y una pureza máxima.

El rendimiento se halla lógicamente limitado por el contenido en el material de partida y por las pérdidas inevitables en todo proceso de extracción.

La pureza está condicionada por la contaminación de otras frac-

ciones acompañantes, muy difíciles de eliminar generalmente, además de por la adición de compuestos químicos (sales, sobre todo) introducidos a lo largo del propio proceso preparativo.

Es indispensable establecer, dentro de algunos límites, qué criterios pueden considerarse válidos para poder juzgar la pureza de los preparados de membranas sarcolemas que se van obteniendo.

Para membranas celulares en general, Wallach (14) establece las dos siguientes categorías:

1. *Criterios morfológicos*, resultantes de la observación de los preparados de membranas mediante microscopías de contraste de fases y electrónica en sus diversas modalidades.

2. *Índices ectobiológicos*, que comprenden:

A) Los grupos específicos ionizables. B) Las enzimas asociadas con membranas. C) Los receptores de macromoléculas.

A) Para cualquier membrana citoplasmática, se considera generalmente que los *ácidos siálicos* o acilneuramínicos constituyen uno de los criterios más fidedignos, dentro del apartado de grupos específicos ionizables. Este dato se apoya en la experiencia (hasta ahora no desmentida) de que los ácidos siálicos se hallan preferentemente o únicamente en las porciones periféricas de las moléculas de las que forman parte (glucidoproteídos = glicoproteínas, y gangliósidos), las cuales moléculas parece ser que integran mayoritariamente o exclusivamente la estructura externa de las membranas de cualquier procedencia o localización.

Asimismo, la razón lípidos totales: proteínas (próxima al valor 1) y la razón molar colesterol: fosfolípidos se han invocado como criterios para juzgar también el grado de pureza de la fracción membranosa obtenida.

B) Acerca de las *enzimas asociadas a membranas*, cabe decir que, aislada una membrana por procedimientos suaves que alteren mínimamente la actividad de las enzimas allí normalmente existentes, la medida de dichas actividades enzimáticas constituye, recíprocamente, un criterio de pureza en el proceso de purificación de membranas a partir de un material problema. Es evidente que lo ideal sería: a) Encontrar una enzima de localización única; esto es, que se halle en una sola fracción celular. b) Que dicha enzima sea relativamente resistente a los tratamientos del proceso extractivo. c) Que sea fácil de valorar. Aunque no de modo absoluto, algunas enzimas se acercan en su comportamiento a estas condiciones límite.

De las numerosas enzimas investigadas con esta finalidad, para el caso de las membranas sarcolemas se consideran actualmente como «marcadoras» las enzimas *5'-nucleotidasa* y $(Na^+ + K^+)$ - Mg^{2+} ATPasa sensible a la ouabaina; la $(Na^+ + K^+)$ - Mg^{2+} ATPasa (= ATPasa estimulada por $Na^+ + K^+$ y dependiente del Mg^{2+} =

= ATPasa total), lo sería de las membranas citoplasmáticas de diversas procedencias.

Análogamente, convendrá analizar a lo largo del proceso extractivo la presencia de otras fracciones subcelulares, tales como mitocondrias y lisosomas, para poder deducir de su escasa proporción o ausencia que la concentración de la fracción de membrana sarcolemal que se intenta purificar va progresivamente enriqueciéndose a lo largo del proceso preparativo. En este sentido resulta muy conveniente efectuar ensayos de succinatodeshidrogenasa (como enzima marcadora de mitocondrias) y de fosfatasa ácida como marcadora de lisosomas) en las fracciones principales que se obtengan.

C) Además, en algunos casos puede resultar útil el caracterizar una membrana plasmática por sus antígenos, aprovechando su capacidad de aglutinación, o su reacción con anticuerpos marcados con colorantes fluorescentes.

ALGUNOS DATOS REFERENTES A RESULTADOS OBTENIDOS EN NUESTRO DEPARTAMENTO SOBRE MEMBRANAS SARCOLEMALES PROCEDENTES DE VARIAS ESPECIES ANIMALES

La disponibilidad en nuestro Departamento, en el año 1970, de centrifugas que alcanzaban solo un número de g (= fuerza centrífuga relativa) muy escaso nos aconsejó centrar los esfuerzos propios y de nuestros colaboradores en el estudio de membranas como las de eritrocitos, que no requieren aparatos costosos para su obtención. Fruto de aquellos trabajos fue una publicación, aparecida años más tarde, referente a membranas de eritrocitos de especies animales (15).

Cuando dispusimos de una supercentrífuga y más tarde de una ultracentrífuga, nos propusimos afrontar el problema del aislamiento y caracterización de membranas sarcolemas procedentes de especies no estudiadas por otros autores.

En el momento actual disponemos de datos correspondientes a las siguientes especies: conejo y hamster, como representantes de mamíferos; pollo, como ejemplo de ave; rana, como anfibio; carpa (joven), como pez; y se hallan en curso de realización otros trabajos sobre un crustáceo.

Estos resultados serán ahora muy brevemente comentados, y sólo desde un punto de vista comparativo, con objeto de poder apreciar sobre todo las similitudes y diferencias en este campo entre unas y otras especies. Así intentaremos avanzar algo más en problema tan árduo como es el de la «unidad y diversidad en Bioquímica».

Por otro lado, las propias vicisitudes por las que hemos pasado en cuanto a disponibilidad de centrifugas nos han obligado inexorablemente a tener que efectuar un trabajo comparativo de métodos, ya que inicialmente tuvimos que seguir aquellas técnicas, como las de Kono y Colowick (5), en que el número de g máximo exigido por las mismas no rebasaba el valor de 25.000; o el de McCollester (7), caracterizado por la simplicidad del material que requiere.

Revisando y ampliando algunos de nuestros primeros resultados, recientemente (16) hemos efectuado un estudio experimental comparativo aplicando tres métodos diferentes (los de Kono, McCollester y Boegman) en dos materiales distintos (hamster y pollo).

La tabla I resume algunos de los principales datos logrados.

En lo que se refiere al método de Boegman (11), inicialmente destinado por su autor al estudio de enzimas de las membranas sarcolemas, tuvimos necesidad de introducir algunas modificaciones en el proceso de centrifugación diferencial, que afectaron sobre todo a las concentraciones del gradiente de sacarosa empleado según el material de la especie animal usada (17).

De la tabla I se deduce:

a) La pureza de las preparaciones logradas siguiendo dicho procedimiento de Boegman, modificado, es superior a la obtenida mediante los otros dos métodos, siendo en cambio el rendimiento de estas fracciones puras mínimo cuando se empleó dicha técnica.

b) No existen diferencias significativas entre la composición de las membranas sarcolemas de hamster y pollo cuando se comparan los resultados respectivos obtenidos por un mismo método de los tres usados.

En la tabla II se reúnen los datos más destacados correspondientes a las membranas sarcolemas de otras dos especies analizadas (18, 19) habiendo seguido sólo el método de Boegman. Otros resultados referentes a morfología de las fracciones examinadas al microscopio electrónico, separación de proteínas por electroforesis en gel de poliacrilamida, obtención de fracciones menos puras, etc., han sido detallados en varias publicaciones de nuestro Departamento (16, 17, 18, 19).

Puede deducirse de la tabla II:

a) Que los valores referentes a la composición química de las fracciones enriquecidas de membranas sarcolemas de conejo, rana y carpa (joven) son muy próximos entre sí, difiriendo algo las cifras correspondientes a las actividades específicas de las enzimas marcadoras empleadas. Ahora bien, el significado de estas últimas cifras es más bien relativo.

b) Existe también similitud entre los valores de la tabla II y aquellos de la tabla I obtenidos siguiendo el procedimiento de Boeg-

TABLA I

Actividades específicas de la 5-nucleotidasa y de la succinatodeshidrogenasa; rendimiento y composición química de fracciones enriquecidas en membranas sarcolemales procedentes de hamster y pollo obtenidas por tres procedimientos

Especie	Procedimiento de obtención utilizado	Actividad específica		Rendimiento (*)	Proteínas tot. (**)	Lípidos tot. (**)	Lípidos Proteínas	Ácidos siálicos (**)	Hexosas (**)	Hexosaminas (**)
		5'-Nucleotidasa	SDH							
Hamster	McCollester	0,7 ± 0,1	7,8 ± 3,0	26,0 ± 5,0	89	10,8	0,1	Trazas	0,2	0,06
»	Kono	15,9 ± 0,3	3,5 ± 0,4	1,0 ± 0,03	60	38,0	0,6	Trazas	1,0	0,3
»	Boegman	17,3 ± 1,5	6,2 ± 2,3	0,2 ± 0,05	48	46,0	0,9	0,8	2,0	0,9
Pollo	McCollester	1,0 ± 0,06	1,8 ± 0,1	22,3 ± 1,2	88	9,5	0,1	Trazas	0,3	0,09
»	Kono	26,1 ± 0,08	8,6 ± 2,3	1,0 ± 0,07	62	37,0	0,6	Trazas	1,0	0,2
»	Boegman	60,2 ± 5,6	0	0,2 ± 0,05	48	45,0	0,9	0,2	1,7	1,0

Notas:

Cada valor representa la media ± la desviación estándar, de 4 experimentos.

Para la 5-nucleotidasa, 1 U = μ moles Pi/mg proteína · min.

Para la succinatodeshidrogenasa (= SDH), 1 U = variación de la absorbancia a 490 nm/mg proteína · min; los valores de la tabla han sido multiplicados por 10^3 .

(*) El rendimiento se expresa como mg de proteínas/g de peso húmedo de músculo.

(**) Las concentraciones de proteínas totales, lípidos totales, ácidos siálicos, hexosas y hexosaminas corresponden a mg de cada una de estas sustancias/100 mg de peso seco de muestra procedente de fracción purificada.

TABLA II

Actividades específicas de la 5-nucleotidasa, de la (Na⁺ + K⁺)-ATPasa, de la SDH; rendimiento y composición química de las fracciones enriquecidas en membranas sarcolemales procedentes de conejo, rana y pollo obtenidas siguiendo el procedimiento de Boegman con algunas modificaciones

Especie	Actividad específica		SDH	Rendimiento	Lípidos Proteínas	Ácidos siálicos	Hexosas	Hexosaminas
	5'-Nucleotidasa	(Na ⁺ + K ⁺)-ATPasa						
Conejo.....	3	88	11	0,12	1,1 ± 0,1	0,019	0,12	0,016
Rana.....	15	315	0	0,12	0,98 ± 0,06	0,012	0,13	0,050
Carpín... ..	162	543	12	0,03	1,0 ± 0,05	0,008	0,15	0,079

Notas:

Cada valor indicado representa la cifra media de 4 a 8 experimentos.

Para la 5-nucleotidasa, 1 U = μ moles Pi/mg proteína · min.

Para la (Na⁺ + K⁺)-ATPasa, 1 U = μ moles Pi/mg proteína · min.

Para la succinatodeshidrogenasa (SDH), 1 U = variación de la absorbancia a 490 nm/mg proteína · min; los valores de la tabla han sido multiplicados por 10^3 .

Las concentraciones de ácidos siálicos, hexosas y hexosaminas se expresan en μ moles/mg proteína.

man correspondientes a las otras dos especies (hamster y pollo) estudiadas por nosotros.

En resumen, puede considerarse que entre especies taxonómicamente alejadas (pertenecientes a peces, anfibios, aves y mamíferos) existe una concordancia esencial en los valores de algunos componentes que integran las fracciones más purificadas de sus membranas sarcolemas.

Sin embargo, algunos resultados, aún preliminares, obtenidos en nuestro Departamento parecen indicar que esta similitud no es aplicable a algún otro grupo, cual sucede con el de los crustáceos, en la preparación de cuya membrana sarcolemal el procedimiento de Boegman antes mencionado no nos han dado resultados tan satisfactorios como en las otras especies (10). No debe sorprendernos este hecho, considerando las diferencias que a primera vista ya se aprecian en el músculo esquelético de ésta y las otras procedencias. Así, parece confirmarse la existencia de una diversidad estructural en lo creado, a la que antes nos referíamos, dentro de una similitud básica que afecta sobre todo a la faceta funcional.

Es evidente que también en este campo es mucho lo que queda por hacer y por perfeccionar, aunque algunos resultados ya logrados constituyen hallazgos que deben, a lo menos, estimular investigaciones futuras.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) CABEZAS, J. A.: «An. R. Acad. Farm.», 36, 477-494, 1970.
- (2) VILLAR PALASÍ, V., CABEZAS, J. A. y SANTOS RUIZ, A.: *Tratado de Bioquímica*. Pp. 1208-1214. Editorial Augusta. Barcelona. 1977.
- (3) WARREN, L., GLICK, M. C. y NASS, M. K.: *The Isolation of Animal Cell Membranes*. Pp. 109-128, en «The Specificity of Cell Surfaces», Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs, N. J., 1967.
- (4) WARREN, L. y GLICK, M. C.: *The Isolation of the Surface Membranes of Animal Cells: A Survey*. Pp. 257-284, en «Biomembranes», vol. 1, Plenum Press, New York, 1971.
- (5) KONO, T. y COLOWICK, S. P.: «Arch. Biochem. Biophys.», 93, 520-533, 1961.
- (6) MCCOLLESTER, D. L.: «Biochim. Biophys. Acta», 41, 160-161, 1960.
- (7) MCCOLLESTER, D. L.: «Biochim. Biophys. Acta», 57, 427-437, 1962.
- (8) SCHAPIRA, G., DOBOCZ, I., PIAV, J. P. y DELAIN, E.: «Biochim. Biophys. Acta», 345, 348-358, 1974.
- (9) ROSENTHAL, S. L., EDELMAN, P. M. y SCHWARTZ, I. L.: «Biochim. Biophys. Acta», 109, 512-517, 1965.
- (10) BARCHI, R. L., BONILLA, F. y WONG, M.: «Proc. Natl. Acad. Sci. USA», 74, 34-38, 1977.

- (11) BOEGMAN, R. J., MANERY, J. F. y PINTERIC, L.: «Biochim. Biophys. Acta», 203, 506-530, 1970.
- (12) SULAHKE, P. V., FEDELESOVA, M., MCNAMARA, D. B. y DHALLA, N. S.: «Biochem. Biophys. Res. Comm.», 42, 793-800, 1971.
- (13) PETER, J. B.: «Biochem. Biophys. Res. Commun.», 40, 1363-1367, 1970.
- (14) WALLACH, D. F. H.: *Isolation of Plasma Membranes of Animal Cells*. Pp. 129-164, en «The Specificity of Cell Surfaces», Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs, N. J., 1967.
- (15) CABEZAS, J. A. y SECO, A.: «Comp. Biochem. & Physiol.», 51B, 243-245, 1975.
- (16) MARTÍN DEL MOLINO, A. y CABEZAS, J. A.: «Int. J. Biochem.» (en prensa).
- (17) MARTÍN DEL MOLINO, A. y CABEZAS, J. A.: «Int. J. Biochem.», 9, 253-262, 1978.
- (18) AGAPITO, M. T. y CABEZAS, J. A.: «Int. J. Biochem.», 8, 811-817, 1977.
- (19) MUÑOZ BERMEJO, M. E., MARTÍN DEL MOLINO, A. y CABEZAS, J. A.: «Biochimie», 60, 1323-1327, 1978.
- (20) SEVILLANO, F. I., CALVO, P. y CABEZAS, J. A. (en preparación).