

**Comentarios sobre los
materiales biológicos
utilizados en la inves-
tigación bioquímica**

EDMUNDO CALVA*

LOS INVESTIGADORES pueden disponer del material biológico a diversos niveles de organización para analizar experimentalmente los procesos químicos asociados a las funciones que ocurren en los organismos.

Por su uso desde los albores de la investigación fisiológica debe mencionarse, en primer término, el empleo de organismos intactos, sanos o con anormalidades espontáneas y, más recientemente, el de aquellos con anormalidades provocadas. En este tipo de estudios es frecuente que se analice la sangre recogida en los vasos superficiales o las excreciones o los medios de cultivo. Sin embargo, en muchos casos las muestras por analizar se obtienen mediante intervenciones o manipulaciones que pueden implicar modificaciones más o menos grandes de las correlaciones citológicas, anatómicas, humorales o nerviosas y en ocasiones es necesaria la extirpación parcial o total de uno o varios órganos o la provocación de mutaciones y la selección de cepas adecuadas.

En este punto conviene mencionar que, en la mayor parte de los problemas planteados, siempre ha sido de gran utilidad el uso de organismos diferentes al hombre y se han logrado resultados de trascendencia, quizá de los más fructíferos, con microorganismos y tejidos aparente y taxonómicamente muy distintos a la especie humana. Los estudios así conducidos han revelado una vez más la unidad existente entre todos los sistemas vivientes, unidad que se ha reflejado en la presencia de trayectos metabólicos que ocurren en forma similar en todos los organismos. Estos hechos dan la base química moderna al concepto establecido hace unos cien años por Claude Bernard cuando describió, por primera vez sobre bases experimentales, los fenómenos fisiológicos comunes a los seres vivos. Este concepto de la unidad funcional de los seres vivos

* Jefe del Departamento de Bioquímica, Instituto Nacional de Cardiología. México, D. F.

ha resultado de gran utilidad para la investigación en todas las ramas de la biología. Por esto mismo, el hombre actual, vinculado con los medios científicos en su nivel de estudiante o de profesionalista, no debería extrañarle que los laboratorios de enseñanza o de investigación biológica y, en particular, aquellos dedicados a dilucidar mecanismos fundamentales que servirán para la mejor comprensión de problemas tan complejos como son los estados patológicos, se ocupen en estudiar sistemas vivientes que por costumbre se colocan artificialmente en niveles bajos de organización biológica. Esta falsa diferencia funcional se ha pretendido perpetuar al designarse a la especie humana entre los llamados organismos superiores.

Otro método muy común en la fisiología es el uso de órganos aislados y perfundidos. Este recurso técnico ha constituido la forma de análisis inicial en el planteamiento de algunos problemas trascendentes.

Por último, el grupo de métodos que difiere de los anteriores en el sentido de que provocan una mayor desorganización biológica de los sistemas vivientes, y que por lo mismo han sido catalogados superficialmente como poco o nada fisiológicos, comprende aquellos que pueden tomarse en la actualidad como característicos de las técnicas bioquímicas. Estas preparaciones se refieren al uso de cortes o de rebanadas de tejido, al de suspensiones totales de los mismos hechas homogéneas por trituración o agitación a grandes velocidades y en las cuales ya no se conservan células íntegras y al uso de los componentes intracelulares separados individualmente por centrifugación. Sin embargo, la meta analítica de los bioquímicos es el manejo de preparados enzimáticos purificados, o mejor aún de enzimas cristalizadas, para poder integrar en su tubo de ensayo, con los substratos, activadores e inhibidores necesarios, todo un sistema metabólico completo que reproduzca a los sistemas naturales y cuyo uso implica grandes posibilidades de estudio apenas vislumbradas en la actualidad.

En los organismos multicelulares intactos, los órganos o tejidos reciben y eliminan continuamente compuestos y productos resultantes de su actividad. Este movimiento y la regulación de su función dependen a su vez de órganos y tejidos diferentes del considerado y de influencias nerviosas y humorales.

Cuando el investigador usa un órgano perfundido o los tejidos cultivados, elimina muchas de las determinantes de su función y desde luego la correlación humoral ya no depende del organismo mismo sino del experimentador y la regulación nerviosa se pierde por completo.

Al preparar los cortes de tejido se secciona un buen número de células y el contenido intracelular, con la consiguiente modificación, pasa al líquido extracelular. Durante la incubación, las células del tejido seccionado se nutren al azar al ser suspendidos los cortes en soluciones artificiales en vez de recibir continuamente los líquidos por sus sistemas circulatorios. Además, a menos de que se tomen precauciones especiales, se agotan en el medio unos compuestos y se acumulan otros.

Mayor desorganización anatómica y sobre todo citológica, se produce al triturar los tejidos o los organismos unicelulares en el homogenizador. Es indudable que los diferentes componentes intracelulares microscópicamente diferenciables: núcleo, nucleolos, mitocondrias o sarcosomas, están colocados en la célula original en forma tal que su disposición espacial es una determinante de la marcha de los procesos metabólicos. Todavía más, es probable que aún los compuestos de la llamada fracción soluble de las células se hallen arreglados y distribuidos en forma definida y no difundan libremente en el medio como sucede cuando los tejidos se manejan en soluciones homogenizadas. Esto es, la arquitectura celular implica un arreglo de las enzimas dentro de las células y en esto posiblemente resida el carácter muchas veces unidireccional del funcionamiento de algunos tipos de células y resida también la localización precisa de actividades enzimáticas dentro de la compleja estructura celular.

Finalmente, la separación y la purificación de las enzimas, y con mayor razón su cristalización, inevitablemente pueden eliminar agentes activadores o inhibidores naturales o quizá producen cambios, no aparentes a los análisis actuales, en las estructuras moleculares de las enzimas.

Como corolario de la enumeración anterior conviene reflexionar en lo que significa, para el juicio de los hechos observados experimentalmente, esta desorganización progresiva de los organismos y de sus tejidos y aún de sus células, provocadas artificialmente cuando se utilizan los métodos de preparación descritos. Por una parte, es indudable que cada una de las etapas, en el orden en que se citaron, ofrece al investigador ventajas importantes. Cada nivel de mayor desorganización hace más simple el manejo del material biológico, al mismo tiempo facilita el conocimiento de los componentes necesarios del proceso en estudio y permite un mejor control de los factores variables; pero, sobre todo, hace menos ambigua la interpretación de los resultados. Sin embargo, el investigador debe comprender en todo momento que así como logra esas ventajas obvias, sus métodos pueden hacer perder o modificar algunos factores, influencias o arreglos y particularmente pueden romper equilibrios dinámicos que trasciendan en la cinética de los procesos estudiados.

Estos argumentos, que con frecuencia son postulados por las personas que califican a las técnicas bioquímicas como poco fisiológicas, no deben tomarse en el sentido de que sólo se acepten investigaciones realizadas en organismos intactos. La gran masa de datos que a través de los últimos años se ha adquirido, utilizando todos estos niveles de desorganización biológica, son la mejor muestra de la contribución, que en forma innegable e importante, se ha derivado de datos bioquímicos fundamentales. En muchos casos se han confirmado conclusiones establecidas con anterioridad, en otros se han modificado conceptos, pero cada vez se han abierto nuevas guías de estudio. Asimismo, no son pocos los problemas clínicos que se han aclarado un tanto a partir de conceptos en ocasiones llamados con desdén de gabinete o de investigación pura o académica. Lo importante, pero que en ocasiones no es fácil de concebir aún por los especializados, es analizar, interpretar y valorar los resultados, particularmente aquellos suministrados por la aplicación de los métodos bioquímicos más desorganizadores, a la luz de hechos establecidos y corroborados, una y otra vez, por distintos métodos o diferentes disciplinas; en este juicio radica uno de los más dedicados problemas para el uso correcto de los datos recogidos. Los resultados de la investigación se les debe considerar lo suficientemente ciertos como para originar nuevas hipótesis de trabajo, pero con la suficiente precaución para que no originen un falso optimismo que ilusione por más o menos tiempo el interés de los investigadores y al final conduzcan a resultados ideales que no contribuyen al conocimiento real de las funciones de los organismos. En el análisis experimental de los procesos patológicos, que en ocasiones es el móvil principal de los trabajos de investigación, esta responsabilidad es de gran trascendencia ya que lleva implícita la derivación de normas que van a ser aplicadas en la prevención o en la curación de las enfermedades, objeto y meta de la medicina de todos los tiempos.

En resumen, debe comprenderse que es necesario que todo resultado experimental sea apreciado en su justo valor y para ello se requiere experiencia y sobre todo lealtad al método científico.