**La biología
molecular de los
sistemas
mitocondriales.
Su importancia
en la regulación
del metabolismo
celular.**

SERGIO ESTRADA ORIHUELA*

LOS ÚLTIMOS años han sido pródigos en el descubrimiento de numerosos conocimientos sobre la distribución topográfica, a nivel molecular, de los sistemas bioquímicos que permiten que la célula lleve a cabo sus múltiples funciones. Estas observaciones han construido las bases de una nueva disciplina científica que ha recibido los nombres de biología molecular o bioquemorfogénesis. Su propósito es correlacionar de la manera más estrecha posible la disposición estructural de los complicados sistemas moleculares que constituyen la arquitectura bioquímica de la célula y sus estructuras subcelulares, con las funciones de esta entidad biológica. O dicho en otra forma, investigar no sólo el número y las características de las moléculas que participan en un momento dado en una reacción físico-química dentro de la célula, sino la secuencia de la misma y los sitios en que se lleva a efecto.

Se sabe con seguridad que existen numerosas reacciones enzimáticas que se desarrollan en el citoplasma celular, sin embargo, se ha observado en los últimos años que las reacciones biológicas de más elevada jerarquía fisiológica se llevan a cabo en el interior de las mitocondrias. Específicamente, el metabolismo energético, la fosforilación oxidativa y el transporte de electrones, la oxidación de sustratos importantes y algunos aspectos del transporte activo de electrolitos, parecen estar regulados por los sistemas mitocondriales.

En los siguientes renglones haremos un análisis somero sobre los conceptos actuales de la organización bioquímica de las mitocondrias y su importancia en la regulación del metabolismo celular, con interés especial desde el punto de vista de la fisiología general de la célula, más que sobre aspectos enzimológicos puros.

* Departamento de Bioquímica. Facultad de Medicina. Universidad Nacional de México.

ESTRUCTURA MITOCONDRIAL

Las mitocondrias son pequeños corpúsculos de un tamaño aproximado entre 0.35 y 0.70 micras que se encuentran en suspensión en el citoplasma de la célula. Están constituidas por una doble membrana aparentemente formada por una capa doble de proteínas entre las cuales se encuentran grasas del tipo de las lecitinas²; La membrana interior sufre numerosos plegamientos hacia el interior de las mitocondrias. Estas involuciones, llamadas crestas mitocondriales³ dividen a las mitocondrias en diferentes compartimentos de gran importancia desde el punto de vista morfológico y funcional. El interior de cada mitocondria está constituido por un elemento matriz que parece carecer de estructura y en cuyo interior se observan gránulos oscuros a los que se ha podido identificar actividad enzimática de distintos tipos.

Algunos autores supusieron que las crestas mitocondriales podrían ser artefactos de técnica o bien estructuras independientes de la membrana,⁴ sin embargo, las observaciones de Palade⁵ realizadas con microscopio electrónico han permitido concluir que estas estructuras son prolongaciones de la membrana mitocondrial interna y por tanto, están sujetas a todas las modificaciones que sufra este constituyente de las mitocondrias. Este hallazgo estrictamente morfológico tiene considerables implicaciones funcionales si se toman en cuenta las hipótesis de Lechninger,⁶ que postula que los sistemas enzimáticos intramitocondriales y las coenzimas que permiten las numerosas reacciones antes mencionadas se encuentran adheridas en una unión física real y con una disposición geométrica característica a la membrana y las crestas mitocondriales. Esta suposición ha sido confirmada en gran parte por los recientes hallazgos de Britton Chance⁷ quien ha demostrado espectrofotométricamente no sólo el número de moléculas de enzimas deshidrogenantes que participan en algunas reacciones de transporte de electrones a nivel subcelular, sino la secuencia y la distribución topográfica de las mismas en la membrana mitocondrial, que, por cierto, parece guardar una disposición geométrica constante.

Es de gran interés la demostración de que esta membrana es *semi-permeable* y que su conducta de permeabilidad no parece obedecer a los principios osmóticos de las soluciones, sino a las condiciones metabólicas mitocondriales, lo que hace que la mayor parte de los fenómenos de permeabilidad de las mitocondrias sean fenómenos activos, con determinados requerimientos de energía y no situaciones que dependan de la molaridad

extramitocondrial. Existen numerosas observaciones que se explican con relativa facilidad si se asume que las mitocondrias se encuentran rodeadas por una membrana semipermeable. Así, la fosfatasa ácida⁸, la adenosin trifosfatasa⁹ la deshidrogenasa glutámica¹⁰ y la ribonucleasa¹¹, entre otras enzimas, muestran nula actividad si se les mide en mitocondrias íntegras, sin embargo, al romper estos corpúsculos su actividad enzimática aumenta notablemente, lo que sugiere que la membrana mitocondrial es impermeable a determinados sustratos que sólo pueden introducirse al medio intramitocondrial en determinadas condiciones. Además, el hecho de que las proteínas solubles y algunas moléculas de peso molecular bajo, como el citrato, los nucleótidos y algunas coenzimas¹² sean retenidos por las mitocondrias durante la separación de las mismas de la célula íntegra y se liberen en condiciones que aumentan la permeabilidad de la membrana mitocondrial y se explica por la semipermeabilidad de la membrana. La observación de más importancia a este respecto quizá sea la realizada por Bartley y Davies¹³ y Price, Davies y Fonncsu¹⁴, quienes demostraron que las mitocondrias son capaces de concentrar iones sodio, potasio, calcio, magnesio e hidrógeno contra gradientes definidos de concentración y en situaciones dependientes de las condiciones metabólicas de las mitocondrias lo que sólo es posible si se admite que la membrana mitocondrial es semipermeable.

ORGANIZACIÓN BIOQUÍMICA DE LAS MITOCONDRIAS

El conocimiento de este capítulo ha recibido un gran impulso en los últimos 15 años, sin embargo, su desarrollo está limitado en parte por dificultades de técnica ya que en ocasiones los métodos microquímicos no ilustran de modo suficiente sobre el contenido químico real de estas estructuras. La distribución de ácidos nucleicos (RNA por ejemplo) no han podido medirse con exactitud, aunque ha podido demostrarse que la composición del ácido ribonucleico de las mitocondrias es diferente al de los microsomas o la fracción soluble de la célula¹⁵ en trabajos realizados en hígado de rata y de feto y adulto humanos. Asimismo, la cantidad de lípidos totales varía de una fracción a otra de la célula. La fracción de microsomas es rica en lípidos, la de mitocondrias menos abundante y el núcleo y el citoplasma mucho menos¹⁶. Los lípidos más abundantes en los microsomas y las mitocondrias son del tipo de los fosfolípidos. También se ha estudiado el contenido de nucleótidos totales¹⁷, notándose que existe una carencia casi total de nucleótidos de guanina y uri-

dina aunque existen concentraciones significantes de nucleótidos de adenina (AMP, ADP y ATP) de gran importancia en la realización de los procesos energéticos celulares que, podemos adelantar que se llevan a cabo casi totalmente dentro de las membranas mitocondriales. Se ha observado que las mitocondrias son el sitio de captación de numerosos metales, entre ellos, el Mg, el Mn, el Fe, el Zn, el Co y el Cu, en estudios realizados con metales marcados con isótopos radiactivos¹⁸. Asimismo es bien conocida la distribución de los electrolitos intramitocondriales^{13, 14, 19, 20} habiéndose demostrado que de estos, los principales, desde el punto de vista molar son el potasio, el sodio, el calcio, el magnesio y el cloro. El potasio representa el 0.3 por ciento del peso seco total de las mitocondrias. En líneas posteriores haremos una relación más detallada del metabolismo intramitocondrial de los electrolitos, señalando sus relaciones con algunas vías metabólicas importantes.

Distribución enzimática intramitocondrial

Quizá este sea el terreno que más se ha estudiado respecto a estas estructuras. Por tanto, nos limitaremos a señalar los problemas enzimáticos generales conectados con el metabolismo energético, la fosforilación oxidativa y el transporte de electrones, así como la relación funcional entre estos ciclos metabólicos con el transporte de electrolitos y la permeabilidad de la membrana mitocondrial.

En principio, debe mencionarse que las mitocondrias están constituidas a partes iguales por partículas de material soluble e insoluble²¹; relacionando este dato con el hecho de que algunas enzimas son solubles mientras otras se encuentran firmemente unidas al material insoluble, resulta que existe una disposición o arreglo enzimático altamente especializado dentro de estas partículas. Por ejemplo, dentro de las enzimas que se encuentran en la matriz insoluble de las mitocondrias, se encuentran la adenosintrifosfatasa, la deshidrogenasa succínica, la citocromo oxidasa, la DPN citocromo C reductasa y el citocromo C²²; por otro lado, enzimas como la deshidrogenasa glutámica, la adenilato quinasa y la fumarasa, que se esperaría estuvieran unidas a la matriz insoluble, parecen existir en las mitocondrias en forma difusible o soluble²³.

Los sistemas enzimáticos en el metabolismo energético

Como es sabido, la degradación intracelular de los principios alimenticios sigue 3 grandes etapas: en la primera, las enzimas rompen las mo-

lécúlas de carbohidratos, grasas y proteínas en una unidad simple que representa un común denominador de estas tres estructuras; en las siguientes 2 etapas, otras enzimas toman esta unidad común y oxidan sus carbonos e hidrógenos y conforme la energía se libera en estas reacciones de degradación y oxidación, es captada por las uniones químicas de moléculas dedicadas en especial (ATP y TPN) para su almacenamiento, siendo utilizada posteriormente en las reacciones celulares que requieren energía momentánea para llevarse a cabo.

Un programa de reacciones cíclicas de una secuencia tan extraordinariamente especializada requiere que todas las enzimas actúen en un orden determinado y con un control e integración perfectos, lo que sugiere que los centenares de enzimas participantes tienen una orientación geométrica definida, de unos sistemas enzimáticos con respecto a otros, en la membrana mitocondrial⁶. Como se señalaba con anterioridad, existen numerosas observaciones que confirman este punto de vista. Ernster y Lindberg²⁴, sin embargo, consideran que no son solamente las mitocondrias las encargadas de llevar a cabo el metabolismo energético celular ya que no todas las enzimas que participan en estos ciclos metabólicos se han logrado aislar dentro de las mitocondrias. Piensan que no existe una autonomía definitiva de las mitocondrias para llevar a efecto estos procesos y que lo mismo sucede en el metabolismo lípido.

En los últimos años se ha tenido un interés especial por estudiar la naturaleza de la unión física existente entre los sistemas enzimáticos que regulan el metabolismo celular con la membrana mitocondrial. Hogeboom y Schneider²⁵ analizando la distribución de citocromo oxidasa, DPN citocromo C reductasa y citocromo C en diferentes fracciones subcelulares, demostraron que estas enzimas están en íntima asociación con la membrana mitocondrial en forma de una cadena física real. Este mismo tipo de unión ha podido determinarse para la fosfatasa ácida⁸, la uricasa, la catalasa, la D-amino oxidasa²⁶ y la deshidrogenasa glutámica¹⁰; asimismo, se ha observado que las coenzimas piridin nucleótido mitocondriales se encuentran físicamente unidas a los sistemas enzimáticos encargados del transporte de electrones y por tanto están en la superficie interna de la membrana mitocondrial formando parte del mosaico geométrico constituido por las enzimas respiratorias.

Aun no ha podido demostrarse la hipótesis de que las alteraciones estructurales de la membrana mitocondrial, aumento o disminución de volumen por hinchazón o contracción de la misma, son susceptibles de modificar o desarreglar la orientación espacial de los sistemas enzimáticos

y sus coenzimas entre sí para orientar la actividad de algunos sistemas enzimáticos hacia vías metabólicas específicas.

La fosforilación oxidativa mitocondrial

Recientemente Chance y col²⁷ realizaron una verificación de los resultados obtenidos por diferentes investigadores para aclarar el número y localización de fosforilaciones a lo largo de la cadena respiratoria. De esta manera, por análisis espectrofotométrico, concluyen sobre el número posible de fosforilaciones asociadas a la oxidación aeróbica de algunos compuestos importantes como el DPNH. Estas observaciones son las más aceptadas en la actualidad sobre este fenómeno. Como un dato en relación con estas observaciones de Chance se han propuesto diversos esquemas para explicar los mecanismos del acoplamiento entre los sistemas de transporte de electrones y compuestos *hipotéticos* para formar complejos primarios de elevada energía. Sin embargo, es prudente hacer notar que sólo se han realizado unos cuantos intentos para demostrar estas hipótesis desde el punto de vista experimental y la mayor parte de estos resultados han sido negativos.

De 1954 a la fecha se han realizado considerables progresos sobre la localización de los sistemas enzimáticos respiratorios intramitocondriales. Lo importante de estos trabajos es que han permitido observar que si se destruye la membrana mitocondrial, sus fragmentos aún manifiestan una elevada capacidad para realizar la fosforilación oxidativa²⁸ lo que señala que los fragmentos de membrana poseen intactas e íntegras las cadenas respiratorias de transporte de electrones; también es la demostración indirecta de que la membrana mitocondrial; es el centro de actividad y eje de control, de las reacciones de fosforilación oxidativa mitocondrial, lo que a su vez va a regular el metabolismo de la célula íntegra.

También han aparecido en la literatura numerosos reportes sobre distintos componentes con actividad estimuladora o inhibidora de la fosforilación oxidativa. No obstante la trascendencia mediata de estas sustancias parecía un problema difícil de interpretar ya en el interior de la célula y en el animal íntegro, porque era difícil probar que existieran desacoplamientos selectivos y dirigidos de la P/O dentro de la célula, como medida tendiente a regular el consumo y producción de energía en la célula. Sin embargo, las experiencias recientes de Hullsman y col.²⁹ sobre el descubrimiento de un compuesto intramitocondrial que se encuentra en forma inactiva y que es liberada por un precursor bajo deter-

minadas circunstancias para desacoplar fisiológicamente la P/O, abre nuevas perspectivas en el estudio de estos problemas. Este trabajo viene a ser la posible demostración de lo que Lardy en 1952 propuso como hipótesis para explicar el control del metabolismo celular, al considerar que existían dentro de la célula sustancias que desacoplaban la P/O según las necesidades de la propia célula. Este compuesto se ha aislado directamente de la membrana mitocondrial³⁰ y se le ha dado el nombre de mitocromo. Vuelve a ser notable que en la membrana mitocondrial se encuentran los complejos que dirigen la actividad de las enzimas hacia caminos metabólicos definidos.

El metabolismo electrolítico de las mitocondrias

En los últimos 10 años se ha podido sostener el concepto de que las mitocondrias son capaces de permitir el paso de sustancias de peso molecular bajo contra un gradiente definido de concentración ejercido por su membrana. Y aún más, se ha llegado a la conclusión, a todas luces posible, de que el trabajo osmótico activo de estas partículas subcelulares es el responsable de la actividad secretora de la célula y de gran parte de sus fenómenos de membrana que dependerían de la actividad metabólica intramitocondrial.

En 1954, dos publicaciones de Bartley y Davies^{13, 31} decidieron el camino de las investigaciones actuales en este aspecto del metabolismo subcelular. En primer lugar demostraron que la distribución de Na, K, Ca, Mg, Li, Cl, etc. no sigue las mismas proporciones dentro de las diferentes fracciones celulares, ya que en las mitocondrias su tonicidad es superior a la de la célula en dos o tres veces. Observaron también que una vez que una sustancia entraba al interior de las mitocondrias no difundía libremente sino que era captada casi selectivamente por los diferentes compartimentos en que se encuentran divididas las mitocondrias por las crestas. Por esa misma época Mac Farlane y col.²⁰ encontraron resultados similares a los anteriores pero como notaron que el transporte activo de electrolitos se modificó al inducir la oxidación de algunos sustratos y alterar la fosforilación oxidativa, concluyeron que el transporte activo de electrolitos dependía de la actividad metabólica de las mitocondrias, de la presencia de nucleótidos de adenina y en forma hasta entonces desconocida, de la integridad de la fosforilación oxidativa. Sin embargo, Spector³² utilizando un enfoque experimental diferente, al no encontrar un transporte activo para el sodio y el potasio en varios casos,

sugirió que no existía este transporte activo y que los hallazgos de Bartley y Davies habían sido artefactos de técnica. Este estudio desorientó en la investigación de este aspecto metabólico mitocondrial, pero la numerosa serie de trabajos experimentales realizados posteriormente permitieron concluir que este transporte activo de iones era válido en todas las condiciones experimentales y que sus modificaciones dependían de las alteraciones del metabolismo intramitocondrial. También existen datos que hacen suponer que las diferencias en la concentración de electrolitos en el medio extramitocondrial modifican el metabolismo de estas partículas aunque no se sabe si esto es producido por un efecto de molécula o por la tonicidad dada por los cationes.^{32, 33.}

También ha podido notarse, lo que es de gran interés, que el transporte activo de solutos de peso molecular bajo y de iones depende de la permeabilidad de la membrana mitocondrial. Se ha podido observar que el Na y el K intramitocondriales tienden a disminuir en concentración conforme aumenta la permeabilidad de la membrana y se hinchan las mitocondrias, aunque cuando se añade ATP al sistema se mantiene la misma concentración inicial de potasio. Es indudable por este dato, la participación de los sistemas de alta energía en el transporte de electrolitos, lo que indica que su paso obedece no únicamente a diferencias de molaridad como era de suponerse sino a estados metabólicos definidos. También la conducta de la permeabilidad mitocondrial afirma este concepto. En observaciones realizadas conjuntamente por A. Gómez Puyou y el que escribe,³⁴ se ha podido demostrar que la permeabilidad mitocondrial es una constante fisiológica que depende de las condiciones metabólicas de las mitocondrias, ya que la presencia de esteroides suprarrenales de tipo glucocorticoide modifican esta estructura por factores que dependen no de condiciones osmóticas sino de la presencia de una molécula con actividad hormonal. No obstante, la salida de electrolitos al aumentar la permeabilidad de la membrana no parece ser tan sencilla, toda vez que existen datos para suponer que en determinadas condiciones experimentales el sodio y el potasio pueden entrar al interior de estos corpúsculos en la fase de hinchazón activa.

En la actualidad se han seguido realizando numerosas observaciones sobre el transporte electrolítico intramitocondrial, lo que nos permite llegar a las siguientes conclusiones en este aspecto:

a). El metabolismo y el transporte mitocondrial de electrolitos depende del metabolismo aeróbico de las mitocondrias, o sea de condiciones que permiten la oxidación de sustratos.

b). La concentración intramitocondrial de DPN (difosfopiridin nucleótido) es fundamental para permitir el transporte activo de sustancias ya que la sola variación de su concentración modifica el transporte de las mismas.

c). La adición de nucleótidos de adenina a un sistema que ha perdido sus gradientes de concentración de sodio y potasio, por ejemplo por aumento de la permeabilidad mitocondrial, permite recuperar el gradiente original.

d). Las mitocondrias de diferentes tejidos son capaces de transportar pequeñas moléculas a través de su membrana contra gradientes definidos de concentración, necesitándose que exista una integridad previa de la fosforilación oxidativa, función que es la que permite directamente el transporte activo de iones y solutos al proporcionar la energía activa (formación de moléculas de ATP) necesarias para permitir el transporte de solutos.

e). Finalmente la implicación fisiológica quizá de más importancia en estos conceptos es la propuesta por Bartley, Davies y Hans Krebs, quienes consideran que las mitocondrias al utilizar la energía proporcionada por la reacción: $ADP + \text{pirofosfato} = ATP + \text{energía}$, realizan trabajo osmótico activo, que parece ser el directamente responsable de la actividad secretora de la célula a nivel de su membrana.

La permeabilidad de la membrana mitocondrial en la regulación del metabolismo celular

Existen numerosos trabajos que demuestran que para la membrana mitocondrial no son operantes los principios osmóticos de las soluciones, sino que el aumento o disminución de su permeabilidad depende directamente de las condiciones metabólicas intramitocondriales y no de la molaridad de los líquidos que las rodean. Únicamente en condiciones extremas, como el colocar en agua a las mitocondrias, afecta su permeabilidad de modo definitivo. Asimismo, es notable observar que existen numerosos sistemas mitocondriales que no guardan relación de isotonicidad para el medio que las rodea, como las mitocondrias de músculo de pichón, sarcosomas, en que la presión osmótica de estas partículas llega a ser 2 y hasta 3 veces mayor que el medio que las rodea. O sea, que quizá las mitocondrias y el medio que las rodea estén en equilibrio osmótico, pero definitivamente parece no ser isotónico.

Por otro lado, la permeabilidad de la membrana es una constante

que depende en sus modificaciones de los cambios del metabolismo mitocondrial con la característica que esta situación a la recíproca también parece ser operante, o sea que las modificaciones de la permeabilidad de la membrana pueden modificar el metabolismo intramitocondrial y por lo tanto el de la célula íntegra. La demostración de estos hechos se ilustra con las experiencias de Brenner-Holzach y col.³⁵ quienes demostraron que las mitocondrias comienzan a manifestar un aumento en la permeabilidad de su membrana cuando la concentración intramitocondrial de ATP disminuye de su valor normal de 0.05 micromolas a 0.01 micromolas por mg. de N de mitocondrias. Este hecho hace notar en definitiva que el aumento o disminución de la permeabilidad de la membrana mitocondrial obedece sobre todo a condiciones metabólicas. También ha sido posible observar que el fosfato inorgánico inactiva reversiblemente la fosforilación oxidativa y por tanto promueve el aumento de la permeabilidad mitocondrial, aunque el mecanismo de este fenómeno aún no ha podido explicarse con claridad. Asimismo, para iniciar una cadena metabólica, se ha demostrado que en mitocondrias aisladas, la fosforilación oxidativa se encuentra íntimamente ligada al transporte activo de iones y solutos de bajo peso molecular, lo que hace interdependientes a la permeabilidad de la membrana con estos factores. Puede decirse que la fosforilación oxidativa es el mecanismo esencial para el mantenimiento de la estructura mitocondrial, ya que aparte de que se ha observado que la hinchazón mitocondrial espontánea se presenta junto con una disminución en la concentración de ATP intramitocondrial, también se ha podido notar que algunos agentes desacopladores de la P/O como la tiroxina, el ácido usnico, etc., producen un aumento de la permeabilidad activa de estos corpúsculos, lo que quizá se deba a la modificación de caminos energéticos mal conocidos.

El DPN, como uno de los principales representantes de la cadena respiratoria parece tener un papel importante en la P/O y la membrana mitocondrial. Krebs y col.³⁷ mencionan que es probable que el DPN promueva la fosforilación oxidativa al acelerar la actividad de la deshidrogenasa málica u otras oxidaciones a nivel del sustrato, lo que sugiere una explicación del efecto del oxígeno en la hinchazón mitocondrial, o sea el aumento en la labilidad del sustrato oxidado a DPN reducido. También se ha publicado que el DPN hace reversible la hinchazón mitocondrial en animales tratados con tetracloruro de carbono, lo que es posible-

mente obedezca a otra causa y por tanto requiera otra explicación aún no conocida.

Asimismo, la concentración intramitocondrial de DPN depende del estado metabólico de las mitocondrias, es decir del tipo de sustrato que la mitocondria se encuentre oxidando en un momento dado.³⁸ Gallagher³⁹ y Kaufman⁴⁰ sugieren que el DPN intramitocondrial se sale del interior de las mitocondrias cuando estas sufren un aumento de la permeabilidad de su membrana, lo que podría modificar por este simple hecho, la integridad de algunas reacciones enzimáticas que dependen de la presencia de nucleótidos de piridina. Sin embargo, este dato no está demostrado experimentalmente y va en contra de algunas observaciones realizadas por Gómez Puyou y el que escribe.³⁴

También es claro que la permeabilidad mitocondrial depende del tipo de sustrato que se oxida por las mitocondrias, ya que se ha observado que la permeabilidad de la membrana se modifica según se incuben las mitocondrias con succinato, fumarato, malato, cetoglutarato⁴⁶ etc.

Es muy atractiva la hipótesis de que la membrana mitocondrial es un importante factor de control del metabolismo celular. Las posibilidades de que este hecho sea real son numerosas. La demostración de que los principales sistemas enzimáticos que controlan la fosforilación oxidativa y el transporte de electrones se encuentran adheridos a la membrana mitocondrial con disposición geométrica característica y constante y de que existen complejos desacopladores *in vivo* de la P/O en la propia membrana, destacan a esta estructura mitocondrial como eje de estas especializadas reacciones. Asimismo, la posibilidad de que el transporte activo de iones y algunos fenómenos de membrana, de la membrana celular, estén controlados por la permeabilidad de la membrana mitocondrial es un hecho posible, aunque requiere una comprobación experimental más cuidadosa. Por último, las demostraciones de que los mecanismos de acción de algunos sistemas hormonales como la tiroxina⁴¹ y la hidrocortisona^{34,39,42}, se llevan a cabo en el interior de los complicados ciclos metabólicos de las mitocondrias, es una ratificación del importante efecto del metabolismo mitocondrial sobre el metabolismo celular y tisular, ya que es conocido que el efecto de una hormona produce numerosos efectos metabólicos generales que en parte se deben a la modificación de los caminos metabólicos intramitocondriales. Estos estudios actuales abren amplias perspectivas al estudio sistematizado de estas importantes estructuras subcelulares.

REFERENCIAS

2. Watson M., L., y Siekevitz P., J.: *Biophys. Biochem. Cytol.* 2:639, 1956.
3. Sjöstrand F., S.: *Nature. London.* 171: 30-32, 1953.
4. Low N., F.: *Biophys. Biochem. Cytol.* 2:377, 1956.
5. Palade G., E.: *Jour. Histochem.* 1: 179, 1953.
6. Lehmingcr A., L.: *Scientific American.* 202: 102, 1960.
7. Chance, B.: *J. Biol. Chem.* 217: 395, 1955.
8. Berthet, J.; Bertet, L.; Appelmans, L., y de Duve, C.: *Biochem. J.*: 50:182, 1951.
9. Kielley W., W., y Kielley R., K.: *J. Biol. Chem.* 191:485, 1951.
10. Hogeboom G., H., y Schneider W., C.: *J. Biol. Chem.* 204:233, 1953.
11. De Duve, C.; Pressman B., C.; Gianneto, R., y Wattiaux, R.: *Biochem. J.* 60:604, 1955.
12. Hillarp N., y Nilson, B.: *Acta Physiologica Scandinavica.* 32:11, 1954.
13. Bartley W., E., y Davies R., E.: *Biochem. J.*: 57:37, 1954.
14. Price C., A.; Davies R, E., y Fonnesu, A.: *Biochem. J.*: 64:754, 1956.
15. Ohmsted P., S., y Ville C., A.: *J. Biol. Chem.* 212:179, 1955.
16. Spiro M., J., y Mc Kiblin J.: *J. Biol. Chem.* 215: 221, 1956.
17. Siekevitz, P., y Potter, V.: *J. Biol. Chem.* 216:234, 1956.
18. Maynard L., F., y Cotzias, G. C.: *J. Biol. Chem.* 214:489, 1955.
19. Gamble J., L.: *J. Biol Chem.* 228:953, 1957.
20. Mac Farlane M., G., y Spencer A., G.: *Biochem J.* 54:569, 1953.
21. Hillarp N., y Nilson, B.: *Acta Physiol. Scandinavica.* 32:11, 1954.
22. Hogeboom G., H., y Schneider W., C.: *J. Biol. Chem.* 194:513, 1952.
23. Hogeboom G., H., y Schneider W., C.: *Ann. Rev. Biochem.* 25:207, 1956
24. Ernster L., y Lindberg, A.: *Ann. Rev. Physiol.* 20:13, 1958.
25. Citado en 23.
26. Holt S., J., y Novikoff A., B.: Citados por de Duve C. en *Intracellular localization of enzymes.* *Nature. London.* 187:836, 1960.
27. Chance, B., y Williams B., R.: *Advance in Enzymology.* 17:65, 1956.

28. Devlin T., M.: *J. Biol. Chem.* 234:962, 1959.
29. Hullsman W., C.; Elliot W., B., y Slater E., C.: *Biochim. Biophys Acta.* 39:367, 1960.
30. Pullman M., E., y Racker H., W.: *Science.* 123:1103, 1956.
31. Bartley, W.; Davies R., E., y Krebs, H., A.: *Proc. Roy. Soc. London* 142, 187, 1954.
32. Spector W., G.: *Proc. Roy. Soc London.* 141, 268, 1953.
33. Pressman B., C., y Lardy H., A.: *J. Biol. Chem.* 197:547, 1952.
33. Peña Díaz, A.: *Comunicación personal.*
34. Estrada O., S.: *Tesis recepcional Facultad de Medicina. Universidad de México.* 1961.
35. Brenner Holzach, O., y Raaflaub, J.: *Helv. Physiol. Acta.* 12:242, 1954.
36. Hunter F., E., y Ford L., J.: *J. Biol. Chem.* 216:357, 1955.
37. Krebs, H.; Ruffo, A.; Johnson, M.; Eggleston, V., y Hems, R.: *Biochem. J.* 54:107, 1953.
38. Birt L., M., y Bartley, W.: *Biochem. J.:* 76:427, 1960.
39. Gallagher.: *Biochem J.* 74: 38-43, 1960.
40. Kaufman B., T., y Kaplan N., O.: *Biochim. Biophys Acta.* 32:576, 1959.
41. Tapley D., F.: *J. Biol. Chem.* 222:235, 1956.
42. Cseh, G.: *Acta Physiol. Hungaricae.* 14: 99, 1958.