

El axón gigante de calamar

Un par de años atrás se cumplió el cincuentenario de la publicación de los trabajos de Hodgkin y Huxley sobre el mecanismo iónico de la generación y propagación del potencial de acción. Como resultado de sus trabajos y el de otros investigadores como H. Curtis, K.S. Cole y B. Katz quedó establecido que las señales eléctricas como los potenciales de acción y sinápticos y potenciales de los receptores se deben a cambios selectivos en la permeabilidad de las membranas a determinados iones que se desplazan a favor de un gradiente electroquímico. La intención de este editorial es la de ofrecer algunos aspectos menos conocidos sobre estos trabajos y sus realizadores.

En 1938, Alan Lloyd Hodgkin (1914-1998) como *Junior Research Fellow*, y Andrew Fielding Huxley (1917-) como estudiante, comenzaron a estudiar la transmisión del potencial de acción. El lugar: el Laboratorio de Biología Marina de Plymouth en Inglaterra. Su primer trabajo fue publicado en *Nature*, pero a las tres semanas, esta brillante colaboración fue interrumpida. Alemania invadió Polonia, estalló la Segunda Guerra Mundial y las investigaciones fueron postergadas hasta la finalización de la contienda (sus competidores, entre ellos I. Tasaki, continuaron sus investigaciones en Japón y Alemania). Los conocimientos de física y matemática que había aprendido sin maestros posibilitaron que durante 5 años, Hodgkin contribuyera al desarrollo del radar, un proyecto secreto del gobierno británico y al mejoramiento de otros equipos, por ejemplo, uno acoplado a una máscara que economizaba oxígeno durante la espiración. Esta máscara fue empleada por Hillary y Tensing en la primera ascensión al Everest en 1953. Hodgkin se sentía orgulloso de la tarea realizada y en su autobiografía¹ los capítulos dedicados a la física de las microondas, desarrollo del radar y otros equipos utilizados por la aviación, son intercalados con los experimentos sobre el potencial de acción. Huxley, que no había podido seguir los estudios por la interrupción de las clases, colaboraba en investigaciones en balística para la fuerza aérea y el almirantazgo británico.

Al finalizar la guerra, Hodgkin y Huxley reiniciaron su trabajo con los axones. Las condiciones económicas eran muy duras y obligados a “canibalizar” los equipos existentes, construyeron gran parte del equipo necesario para sus investigaciones. Hodgkin cuenta que un día buscando una pieza que pudiera servirle como pedestal flexible encontró una, más rígida que lo que aparentaba y que lo indujo a examinarla con un microscopio. Se asombró al ver lo intrincado de su diseño y a preguntarse la razón por algo tan complicado hasta que se dio cuenta que era una extremidad desecada de una langosta de mar, olvidada en uno de los cajones.

Dos descubrimientos fueron decisivos para la tarea de Hodgkin y Huxley: un equipo electrónico y la particular anatomía del calamar. En 1946 Cole y Marmont² habían desarrollado el equipo para el control del potencial de membrana celular (*voltage-clamp*). Hodgkin lo conocía por haber visitado los laboratorios de Cole y de otros investigadores de los Estados Unidos. El *voltage-clamp* permite mantener el potencial de membrana cuando la célula es estimulada evitando el fenómeno explosivo –todo o nada– del potencial de acción. La corriente que inyecta para que el potencial se mantenga en un valor establecido es similar en magnitud y opuesta en signo a la corriente transportada por los iones que atraviesan la membrana. El otro elemento clave para su tarea fue el axón gigante de calamar (La portada y Figu-

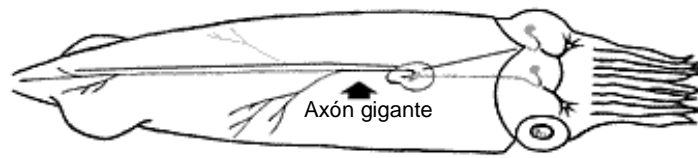


Fig. 1.– Esquema del calamar en donde se observa la trayectoria del axón gigante sobre el cuerpo o manto del animal. Los calamares que se comercializan como el *Loligo vulgaris* o nuestro *Illex argentinus* no tienen un axón de diámetro comparable al del *Loligo pealeii* o *L. forbesi*, empleados en investigación.

AXON DE CALAMAR

NERVIO DE CONEJO

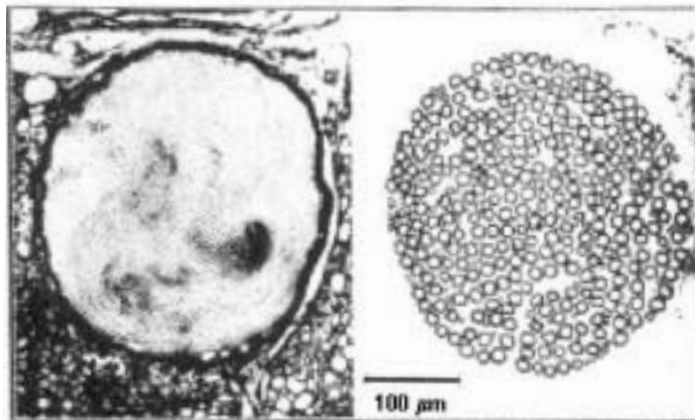


Fig. 2.– Microfotografías de un axón gigante de calamar *Loligo pealeii* y de un nervio de conejo compuesto por numerosos axones. Modificación de una figura de la referencia 2.

ras). Esta rareza anatómica y su función, fue descubierta a principios de los años 30 por JZ Young (1900-1997), un zoólogo inglés. Los calamares son moluscos con diez tentáculos y un cuerpo o manto muscular (tubo) innervado por axones de gran diámetro que en algunas especies llegan a tener cerca de 1 mm, dimensiones enormes cuando se las compara con los 10-20 μm de los axones de mamífero. Cuando el animal es amenazado, vierte desde una glándula y hacia el recto un líquido oscuro –la tinta– que contiene melanina (comestible y utilizada en la escritura), y se aleja del estímulo por la contracción rápida de los músculos del cuerpo (manto). De paso una aclaración: no es lo mismo el axón gigante de calamar que el calamar gigante (*Architeuthis*), una rara especie que alcanza los 20 metros de longitud y 450 kilos de peso y al que conocimos en “Veinte mil leguas de viaje submarino” de Julio Verne.

Muy pronto los electrofisiólogos tomaron en cuenta que tenían en sus manos una preparación única. Se podían insertar a lo largo del axón electrodos metálicos para registro e inyección de corriente, exprimir el axoplasma y cambiar la composición del medio intracelular, ejemplo extraordinario del valor de la investigación *in vitro*. Los calamares que abundan en el Atlántico, como el *Loligo pealeii* y el *Loligo forbesi*, tienen una longitud entre 30-50 cm mientras que en las costas de Chile a las que alcanza la corriente de Humboldt, se pueden hallar especies mucho más grandes como *Dosidicus gigas*, con un axón de cerca de 1 mm de diámetro. El lugar de trabajo debe estar cerca del mar; es muy difícil mante-

ner con vida en estanques al calamar, se lastiman contra las paredes y se desangran. En Plymouth, al sur de Inglaterra, estaba el Laboratorio de Biología Marina y con cada primavera, estación en la que el calamar desova, Hodgkin y Huxley mudaban su equipo desde la Universidad de Cambridge a Plymouth. Así hicieron durante casi cuarenta años.

Como conclusión de casi diez años de trabajo, Hodgkin y Huxley publicaron 5 trabajos consecutivos en el *Journal of Physiology*, los que ocupan 120 páginas del volumen 116 de 1952 (eran fotografiadas por los interesados en la época en que no existía la fotocopidora). En el primero de esos trabajos figura Bernard Katz (1911-2003) quien luego se dedicaría al estudio de la neurotransmisión en la unión neuromuscular y por el que compartió el Premio Nobel de Fisiología de 1970 con Julius Axelrod y Ulf von Euler. Se trata de un trabajo impecable con un marco teórico formidable y magnífica realización experimental. El reconocimiento fue evidente y unánime, consolidado a través de los años. En el número del 23 de agosto de 1947 de *Nature*, una noticia daba cuenta de un trabajo excepcional realizado por Hodgkin y Huxley y presentado en el Congreso Internacional de Fisiología. En 1962 Hodgkin publicó un trabajo en colaboración con Baker y Shaw³ demostrando la generación y propagación del potencial de acción por un axón al que se le reemplazó el axoplasma por una solución salina con sodio y potasio, en ausencia de ATP. Un millón de potenciales pueden generarse en estas condiciones; la señal eléctrica sólo requiere de la integridad de la membrana y de la presencia de esos iones. A pesar de esto, es común en nuestros días la noción de que la bomba de sodio-potasio participa en forma directa en la generación del potencial de acción. Algo parecido al error de los que concluyen que el carro no es arrastrado por el caballo sino por el forraje que éste consume.

De acuerdo a Hodgkin¹, el trabajo de 1962 fue el que convenció al Comité del Premio Nobel acerca de la hipótesis presentada en sus trabajos. Hodgkin y Huxley fueron premiados con el Nobel de 1963; John C. Eccles (1903-1997) lo compartió con ellos por sus trabajos en las sinapsis del sistema nervioso central. Los trabajos de Hodgkin y Huxley anticipan varios fenómenos. La existencia separada de canales de sodio y potasio, su cinética y estructura tetramérica y la presencia de una partícula cargada en el espesor de la membrana que al desplazarse de acuerdo al potencial de membrana sería responsable de la activación de los canales iónicos. Este desplazamiento de una partícula cargada en el espesor de la membrana constituye una corriente eléctrica que precedería a la generada por el movimiento de iones por los canales. Recién en 1973, dos grupos de investigadores, Armstrong y Bezanilla, y Schneider y Chandler, detectaron las *gating currents*⁴. La estructura cristalina de un canal iónico y el mecanismo de la selectividad iónica fueron descubiertas por R. MacKinnon, quien compartió con P. Agre el Premio Nobel de Química de 2003.

La familia de Hodgkin era cuáquera y entre sus antepasados figura Thomas Hodgkin, el patólogo inglés que describió la enfermedad que lleva su nombre. Era primo de Dorothy Crowfoot Hodgkin, ganadora del Nobel de Química de 1964. Estaba casado con la hija de Peyton Rous, premio Nobel de Fisiología y Medicina de 1966 por el descubrimiento en 1911 de los virus que inducen tumores. Hodgkin murió en Cambridge en 1998 y con él la era clásica de la neurofisiología. Andrew F. Huxley era hermano del escritor Aldous Huxley y nieto de Thomas H. Huxley, contemporáneo de Darwin y conocido defensor de la teoría de la evolución. Después de los trabajos con Hodgkin, Huxley continuó su labor en la fisiología de la contracción muscular, siendo uno de los creadores de la teoría del deslizamiento de los miofilamentos en fuerte y comentada competencia con el físico Hugh E. Huxley⁵ (sin parentesco). Desarrolló varios aparatos, el microscopio de interferencia para el estudio de las estriaciones de la fibra muscular estriada, un micrótopo para microscopía electrónica y un micromanipulador. Está vivo y trabaja en el Trinity College de la Universidad de Cambridge.

Hodgkin estuvo en Argentina durante el Congreso Internacional de Fisiología de 1959 pero nada dice en su libro sobre su estadía en el país. En 1977, visitó Rochester, NY, invitado por uno de sus discípulos,

Paul Horowicz, director de beca del suscripto. Hodgkin era un aficionado a la ornitología y en sus viajes se hospedaba en la casa de sus discípulos. Por ese entonces continuaba su labor de investigación y lo hizo hasta 1988, interesado en aspectos electrofisiológicos de los conos y bastones. Fue Presidente de la *Royal Society* y condecorado con la *Order of Merit*. Hodgkin pensaba que la publicación de un trabajo científico debe inducir a pensar que sus autores han empleado una lógica escrupulosa y un planeamiento cuidadoso aunque en nada coincide esto con los hechos. En su autobiografía cuenta que no obtuvo el doctorado (Ph.D.); la investigación científica en Cambridge era informal y dependía de la capacidad propia del estudiante. No se tenían que llenar cronogramas de tareas para que un burócrata se extasiara con ellas, se tenía una hipótesis en amplios términos y los experimentos eran diseñados en la "cocina del laboratorio", siguiendo los resultados obtenidos; la sensación de exploración y descubrimiento en el trabajo científico debían acompañar la vida del investigador. Así lo sintetiza el título de su autobiografía: "*Chance and Design*".

Basilio A. Kotsias

Instituto de Investigaciones Médicas Alfredo Lanari,
Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires

kotsias@mail.retina.ar

1. Hodgkin A. *Chance and design*. Cambridge: Cambridge University Press, 1992.
2. Cole KS. *Membranes ions and impulses*. Berkeley: University of California Press, 1968.
3. Baker PF, Hodgkin AL, Shaw TI. Replacement of the axoplasm of giant nerve fibres with artificial solutions. *J Physiol* 1962; 164: 330-54.
4. Hille B. *Ionic channels of excitable membranes*. Sunderland, MA: Sinauer Associates, 1993.
5. Huxley A. Prefatory chapter: muscular contraction. *Ann Rev Physiol* 1988; 50: 1-16.

What is truly revolutionary about molecular biology in the post-Watson-Crick era is that it has become digital ... the machine code of the genes is uncannily computer-like.

Lo que la biología molecular tiene de verdaderamente revolucionario en la era post Watson-Crick es que se ha vuelto digital ...el código de los genes tiene un extraño parecido al de las computadoras.

Richard Dawkins

River out of Eden. London: Weidenfeld & Nicolson, 1995