



**Universidad Nacional Autónoma de México**

---

FACULTAD DE CIENCIAS

**MECANISMOS DE LA ACCION PROTECTORA  
DE LA TAURINA SOBRE LA ESTRUCTURA  
DEL FOTORRECEPTOR**

TESIS PROFESIONAL  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
BIOLOGO  
PRESENTA  
GONZALO YANES GOMEZ

MEXICO, D. F.

1982



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# TESIS CON FALLA DE ORIGEN

## INDICE

INTRODUCCION.....	1
MATERIALES Y METODOS.....	12
RESULTADOS.....	15
DISCUSION.....	33
REFERENCIAS.....	38

## INTRODUCCION.

La taurina (ácido 2- amino etano sulfónico) es un aminoácido azufrado que, a pesar de que no forma parte de las proteínas, parece ser un componente universal de los tejidos animales. Fué descrito por primera vez en la bilis de toro(1) y ha sido identificado en toda la escala filogenética desde invertebrados hasta vertebrados, llegando a establecerse su amplia distribución en el reino animal (2).

Se ha descrito la presencia de taurina en protozoarios y en los grupos de metazoarios más elementales, tales como poríferos, braquiópodos y sipuncúlidos. El grupo de los moluscos presenta los niveles más elevados de taurina. También se encuentra presente en diversos tejidos de urocordados y en el grupo de los cordados, las concentraciones más elevadas en estos animales se encuentran en el hígado, riñón, bazo, músculo y tejido nervioso(2).

Aún no se conocen totalmente los mecanismos de la síntesis de la taurina a pesar de su amplia distribución en los tejidos animales. Algunas especies tales como el hombre y el gato, son incapaces de sintetizar la taurina y obtienen sus requerimientos por la dieta, en tanto que otras especies presentan varias vías metabólicas para su formación.

A través de varias vías metabólicas diferentes, la taurina se forma a partir de la cisteína, que es su precursor. La vía preferente parece ser aquella que involucra la oxidación de cisteína a ácido cisteín sulfínico, el cual, a través de una descarboxilación,

da lugar a la formación de hipotaurina, que a su vez se convierte - en taurina previa oxidación(3,4,5).

Las enzimas correspondientes y los intermediarios de esta vía han sido encontrados en la mayor parte de los tejidos animales, incluyendo el tejido nervioso(6).

La degradación metabólica de la taurina es sumamente lenta en los tejidos animales. Solamente se ha descrito su conversión a ácido isetiónico, transformación que probablemente se debe a una transaminación(7,8). Sin embargo, esto no debe considerarse como indicio de una lenta utilización de la taurina por los tejidos; el recambio de taurina es muy rápido en tejidos como el riñón, el hígado, el páncreas y las glándulas suprarrenales; es lento en músculo, corazón y cerebro; finalmente es intermedio en bazo, pulmón, intestino y gónadas (9).

Todavía no se ha determinado la función de la taurina, a pesar de su distribución en los tejidos animales. Sin embargo, el hecho de que esté presente desde los grupos más elementales en la escala zoológica, indica que participa en una o varias funciones características de múltiples sistemas.

En los tejidos animales, las concentraciones más elevadas de taurina se encuentran en tejidos excitables tales como el músculo, corazón y sistema nervioso, en los que alcanza niveles de 10 a 40 mM.

La participación de la taurina en estos tejidos aún se desconoce, a pesar de que se encuentra con notable constancia en los sistemas nervioso y muscular de todas las especies hasta ahora estudiadas. En el sistema nervioso se ha propuesto su posible acción como neuro

transmisor inhibitor, ya que la aplicación iontoforética de taurina produce efectos depresores en la mayoría de las neuronas estudiadas(10,11,12,13). El efecto inhibitorio de la taurina está asociado a un incremento en la conductancia de la membrana, probablemente a cloruros, que da lugar a una hiperpolarización(11). Sin embargo, la bicuculina y la estricnina, que son antagonistas de la acción inhibitora del GABA(ácido gamma amino butírico) y la glicina respectivamente, también antagonizan el efecto hiperpolarizante de la taurina(14). No ha sido posible encontrar un antagonista específico de la acción de la taurina hasta la fecha. Por otra parte, su acción depresora es débil y muy generalizada, por lo que se ha planteado la hipótesis de su acción como neuromodulador en relación con el control de la excitabilidad neuronal. Esta acción generalizada sería igualmente responsable de los efectos farmacológicos de la taurina, tanto en el sistema nervioso como en el tejido muscular. La taurina presenta un efecto inotrópico positivo y es capaz de contrarrestar las arritmias cardíacas producidas por norepinefrina(15). En el sistema nervioso presenta un marcado efecto anticonvulsivante, tanto en modelos experimentales como en patrones convulsivos de origen genético(16,17,18,19). Asimismo, ha demostrado ser un eficaz antiepiléptico en humanos, a condición de que se asegure su llegada al cerebro(17,20,21). El mecanismo responsable de estas acciones de la taurina se desconoce. Se ha propuesto que podría ser a través de su efecto como posible neurotransmisor inhibitor; sin embargo existe la observación de que el GABA y la glicina, que presentan una actividad depresora mucho -

más potente(10,22), y que tienen las mismas restricciones para atravesar la barrera hematoencefálica, tienen una acción anticonvulsivante mucho menos eficaz que la taurina(16,17). Otra posibilidad que se ha considerado es que este aminoácido podría actuar como un estabilizador de membranas en general, reduciendo de esta manera la excitabilidad neuronal. Se puede considerar a la taurina como estabilizador de membranas siempre y cuando contribuya al mantenimiento de las funciones y la integridad estructural de las membranas(23).

Se ha observado que en los tejidos excitables la taurina modifica el flujo de iones a través de membranas, particularmente el del calcio y el del potasio, de alguna manera aún no conocida(24,25,26). El efecto de la taurina sobre la traslocación de cationes en una amplia gama de sistemas estudiados es compatible con una acción directa sobre la permeabilidad de la membrana, sugiriéndose así su función como estabilizador(23). Esta acción podría explicar sus múltiples efectos sobre la excitabilidad nerviosa(22), al igual que sus efectos sobre tejidos contráctiles en estados no funcionales(28,29).

#### LA TAURINA EN LA RETINA. -

La concentración de taurina es mayor en la retina que en cualquier otra parte del sistema nervioso central(30), siendo el aminoácido libre más abundante en la retina de todas las especies estudiadas hasta ahora(31,32,33,34,35); su concentración está comprendida en el rango de 10-40 mMolas/Kg, constituyendo del 40% al 50% del total de la poza de aminoácidos libres en este tejido(32,34).

Los estudios realizados han revelado que la región de los foto-



niveles de aminoácidos libres en el plasma y en la retina, concomitantemente a la degeneración específica de los fotorreceptores, --- mientras que los niveles de otros aminoácidos se mantienen dentro de los límites normales. La disminución en el contenido de taurina es un proceso progresivo y selectivo que precede a la muerte de las células fotorreceptoras.

La adición de taurina a la dieta evita el proceso degenerativo, --- mientras que ningún otro aminoácido tiene este efecto protector.

El mecanismo preciso a través del cual se producen las perturbaciones descritas en el gato aún se desconocen; el establecimiento del proceso a través del cual se lleva a cabo este fenómeno sería --- muy útil para determinar la función de la taurina no sólo en la retina, sino además en otros tejidos excitables.

Entre las dificultades que se han presentado para estudiar la acción de la taurina en las funciones biológicas, se tiene que es --- muy difícil disminuir los niveles de taurina en los tejidos. Los distintos mecanismos de síntesis y los procesos de transporte tisular se combinan muy eficazmente, haciendo prácticamente imposible producir experimentalmente una reducción en la concentración de taurina en las células.

Tomando como antecedente directo las observaciones efectuadas en los gatos con deficiencia de taurina en la dieta, se realizó un estudio en nuestro laboratorio (44) sobre el efecto protector de la taurina en segmentos externos de la retina expuestos a la luz, en un sistema sencillo in vitro. Para dicho trabajo, se utilizó la ob-

servación de Schultze(45), quien describió que los segmentos externos de los fotorreceptores aislados de la retina de rana sufren una desintegración al ser expuestos a la luz, similar a lo que se observa en el gato in vivo. Los resultados del trabajo mencionado reprodujeron las observaciones de Schultze, y además mostraron que se requiere de la presencia de bicarbonato de sodio y de cloruro de sodio en el medio de incubación, para observar el efecto perturbador de la luz sobre la estructura de los SE. Cuando los SE se incubaron en un medio Krebs-bicarbonato conteniendo taurina en una concentración de 25 mM, no se observó la desorganización membranal típica -- producida por la iluminación; por el contrario, estos SE presentaron una configuración similar a la observada en los SE mantenidos en la obscuridad. La protección ejercida por la taurina contra la -- desorganización membranal de los SE tuvo un valor cuantitativo del 80% al 90%.

No se conoce el mecanismo responsable del efecto protector de la taurina. Una posibilidad que podría ser considerada es que este aminoácido ejerciera su acción protectora a través de un efecto sobre el transporte de calcio. El efecto de la presencia o ausencia de -- calcio sobre la acción de la luz en los SE no fué explorado a fondo en el trabajo que sirvió de antecedente a este.

Se ha propuesto que el calcio podría ser el mensajero del cambio experimentado por la rodopsina al ser excitada por la luz, y el cierre del canal de sodio en la membrana plasmática, que da origen -- a la hiperpolarización del fotorreceptor, y transmite la señal de

iluminación a las capas neuronales de la retina(46).Esta hipótesis se basa en las observaciones de Hagins y Yoshikami(47), en el sentido de que un aumento en los niveles de calcio citoplasmático, -- que normalmente son del orden de  $10^{-8}$  M, inducen el cambio en permeabilidad al sodio en la membrana del fotorreceptor, simulando la acción de la luz.Evidencia indirecta en favor de esta hipótesis resulta de la observación de que en el interior de los discos, y probablemente en estrecha unión con las membranas de los mismos que alojan a la rodopsina, los iones calcio se encuentran en concentraciones de  $10^{-3}$  M(48).Recientemente se ha podido demostrar que la iluminación del fotorreceptor desencadena la salida del calcio al espacio extradiscal y aún fuera del segmento externo, proporcionando así una prueba más directa de que la hipótesis del calcio como mensajero de la fotoexcitación puede ser verdadera(49).

La acumulación de calcio en el interior del espacio extradiscal se ha considerado como un posible mecanismo para regular la concentración de calcio citoplasmático.Una falla en este mecanismo sería semejante al estado de iluminación continua, y conduciría a la alteración estructural de los SE del fotorreceptor, similar a la que se observa en las retinas iluminadas en forma prolongada y sostenida.

Otra posibilidad que debe considerarse, es que la alta concentración de calcio intradiscal esté relacionada con un efecto estabilizador del calcio en la estructura membranal, similar al que se ha descrito en otros sistemas (50).En cualquiera de estas circunstan-

cias, el efecto protector de la taurina podría relacionarse con -- sus acciones a nivel de transporte de calcio.

Estudios en nuestro laboratorio han mostrado que en los SE de la rana aislados en un medio libre de calcio y en presencia de EGTA - (ácido etilen glicol-bis-N,N'-tetraacético), existe una rápida acumulación de <sup>45</sup>Ca dependiente de ATP(51). Este proceso requiere de - magnesio, no se afecta por sodio externo y se suprime en la presencia de los ionóforos del calcio A23187 y X537A. Por otro lado se ha visto que la presencia de taurina estimula la captación de calcio por sinaptosomas aislados de cerebro de rata a través de un meca--nismo dependiente de ATP similar al observado en los SE(52). Si la taurina ejerciera un efecto similar en los segmentos externos de los fotorreceptores, podría contribuir, a través de esta acción, - a mantener el calcio secuestrado en el espacio intradiscal y participar en los mecanismos de regulación del calcio citoplasmático, y de esta forma mantener estable la estructura de los discos.

En el presente trabajo se utilizó el mismo sistema experimental descrito por Ademe(44), poniendo énfasis en el papel del calcio como elemento necesario para mantener la organización membranal - en el segmento externo. Con base en los antecedentes mencionados, se plantea la hipótesis de que la retención del calcio en los discos, podría ser un factor necesario para el mantenimiento de la integridad estructural del segmento externo, y que la taurina podría proteger esta estructura mediante sus efectos sobre el transporte de calcio.

Específicamente, se llevaron a cabo los estudios que a continuación se mencionan:

1.-Efecto de medios de incubación sin calcio sobre la organización estructural del SE, en condiciones de luz y oscuridad y en presencia de taurina.

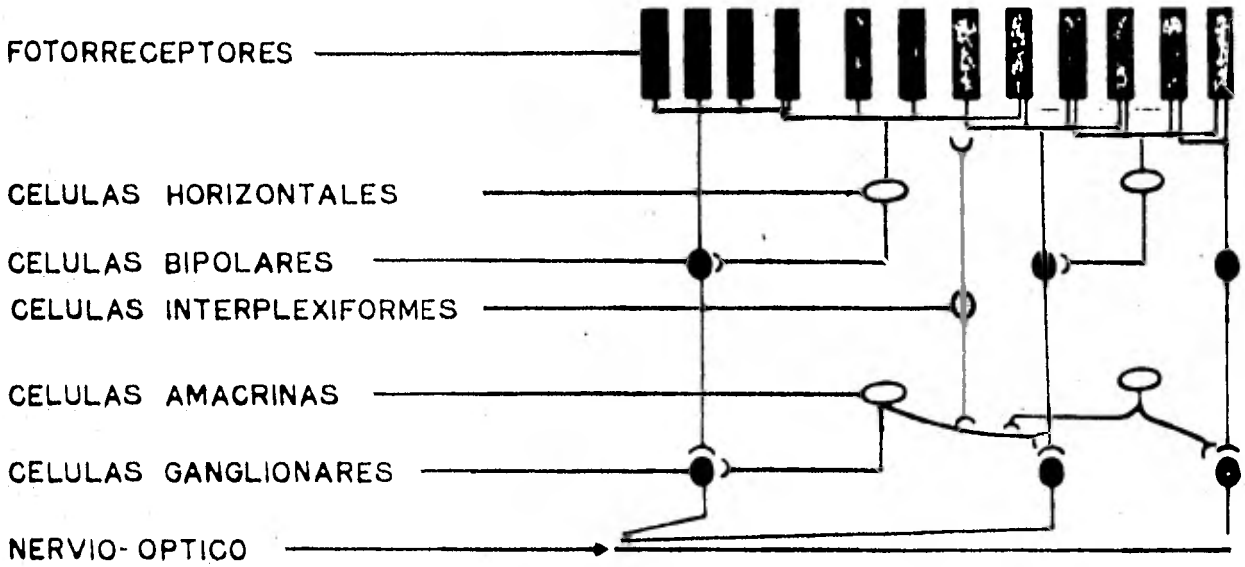
2.-Efecto de ionóforos del calcio, los cuales van a permitir la salida del ión desde el interior de los discos, sobre la estructura del SE en la oscuridad.

3.-Efecto de la taurina sobre la acumulación de calcio por los SE de los fotorreceptores.

Con el objeto de explorar otros posibles mecanismos protectores de la taurina, se examinó su acción sobre la perturbación membranal producida por medios hipotónicos, así como por agentes que se sabe que desestabilizan a las membranas, tales como la clorpromazina y los anestésicos dibucaína y lidocaína.

Por último, considerando la posibilidad de que el mecanismo que mantiene la estructura del fotorreceptor fuera debido a la acción de una ATPasa de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  que se encuentra en el segmento interno, también se llevaron a cabo algunos experimentos iluminando la retina completa antes de aislar los SE. En este mismo sentido, se observó el efecto de la ouabaína, que es un inhibidor de la ATPasa, sobre la estructura de los SE en las retinas completas.

Figura 1.-Concentraciones de taurina en la retina de pollo(36).



Región	$\mu$ Molas/gr.
<u>SE</u> del fotorreceptor	8.0
<u>SI</u> del fotorreceptor	24.5
Capa Nuclear Externa	29.2
Células Horizontales	20.0
Células Bipolares	14.5
Células Amácrinas	5.0
Células Ganglionares	4.8

MATERIALES Y METODO.-

En este trabajo se utilizaron segmentos externos de los fotorreceptores de ranas adultas (Rana berlandieri trilobata).

Se adaptaron a la obscuridad durante un intervalo de 1 a 2 horas. Las retinas se extrajeron bajo luz roja tenue en 10 ml. de medio isotónico Krebs-bicarbonato que contenía las siguientes concentraciones (mM): NaCl, 118; KCl, 4.7; CaCl<sub>2</sub>, 2.5; MgSO<sub>4</sub>, 1.17; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1.2; NaHCO<sub>3</sub>, 25; glucosa, 5.6, con un pH final de 7.4; para desprender los segmentos externos de los fotorreceptores, las retinas se agitaron durante un minuto a velocidad media en el vórtex (fig. 2 y 3).

Los segmentos externos se colectaron mediante centrifugación a baja velocidad (900xg), durante 10 minutos a 4°C; y luego se re-suspendieron en el medio isotónico Krebs-bicarbonato.

Una parte de la fracción de SE se expuso a 100W de luz blanca a una distancia de 15 cm., durante dos horas, y otra parte se mantuvo en la obscuridad como control.

En algunos experimentos las retinas completas se iluminaron antes de aislar los SE.

Los SE se sometieron al efecto de diversas sustancias y de diferentes medios de incubación como se indica más adelante.

Los detalles experimentales se mencionarán en cada uno de los casos correspondientes.

Los SE se cuantificaron utilizando microscopía óptica para contar el número de SE que presentaban desorganización en las membranas contra los que no la presentaban. Para tal efecto, se observa-

ron varios campos de la preparación hasta llegar a contar un total de 200 SE.

La captación de  $^{45}\text{Ca}$  se llevó a cabo en un medio isotónico Krebs bicarbonato sin  $\text{CaCl}_2$ , más  $0.2 \mu\text{Ci}$  de  $^{45}\text{CaCl}_2$ , y ATP 1mM, para un volumen final de 1 ml. El medio de incubación también contiene EGTA 1 mM con el fin de controlar la concentración total de calcio libre. El pH del medio de incubación se ajustó gaseando con una mezcla de  $\text{CO}_2$  5%/ $\text{O}_2$  95% ó con  $\text{O}_2$  100%. La reacción se echó a andar agregando una suspensión de SE que contenía 50-70 ug de proteína. Después de 10 minutos de incubación a  $25^\circ\text{C}$ , se detuvo la reacción mediante la centrifugación por duplicado de alícuotas de 0.3 ml. de la mezcla de incubación en una centrífuga Microfuga Beckman Modelo 152 durante 30 seg.; las pastillas se lavaron superficialmente con agua destilada y se solubilizaron con 0.2 ml. de NCS (Tissue Solubilizer, Amersham). La radioactividad acumulada en el tejido solubilizado se midió después de la adición de 10 ml. de tritosol, preparado con PPO 3 gr., tritón X-100 27 ml., etilenglicol 37 ml., etanol 106 ml. y xilol 600 ml., para un volumen final de 1 lt., en un contador de centelleo Packard para muestras líquidas Modelo 2425.

La determinación de proteínas se llevó a cabo por el método de Lowry y colaboradores (53), utilizando una curva patrón de albúmina desarrollada paralelamente a los datos experimentales.



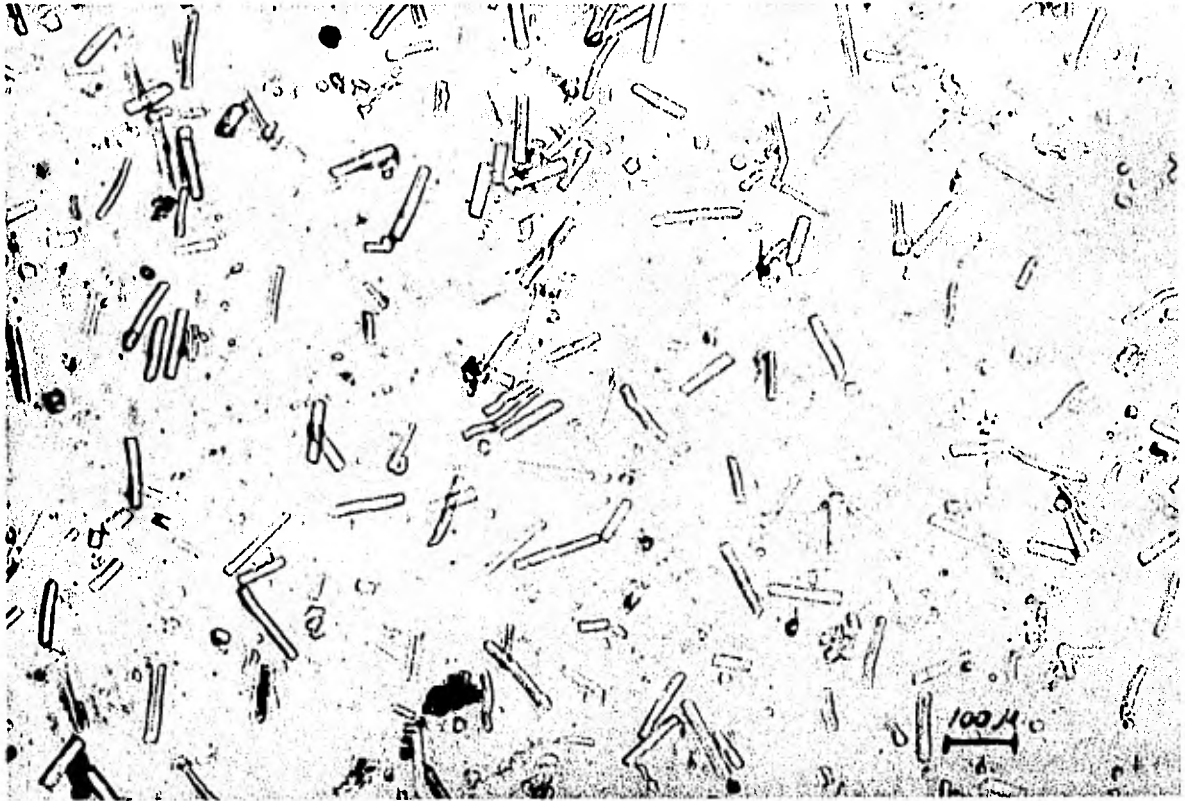


Figura 2.-Preparación de segmentos externos de los fotorreceptores aislados de retina de rana después de dos horas de incubación en la oscuridad(Contraste de Fases 220X).

RESULTADOS.-

Efecto de la iluminación de la retina completa sobre la estructura de los SE.

Los segmentos externos de los fotorreceptores, aislados de la retina de rana después de haber incubado la retina a 4°C en un medio Krebs-bicarbonato normal, bajo un estímulo luminoso durante dos horas, sufren una desorganización en su estructura membranal, la cual se distingue claramente al observarlos bajo microscopio óptico. Esta desorganización es muy semejante a la observada en SE aislados de la retina antes de incubar bajo las mismas condiciones(44). Los SE afectados por la luz presentan una disposición conspicua de los discos y un desarreglo general de la estructura membranosa original -- (fig.3). Esto no es aparente en los SE de aquellas retinas que se han mantenido en la obscuridad las mismas dos horas, ya que éstos tienen un aspecto de "bastones", con la membrana externa bien definida y sin que se observen las membranas de los discos(fig.4).

El efecto perturbador de la luz fué cualitativamente idéntico --- cuando se iluminaron las retinas completas y luego se procedió a la extracción de los SE, que cuando primero se aislaron éstos y se iluminaron de esta forma. Cuantitativamente se observó una marcada diferencia entre estos dos fenómenos, ya que en el primer caso, es decir, cuando se iluminaron las retinas completas, el porcentaje de SE con desorganización membranal fué del 41%(fig.5B), mientras que en los SE aislados previamente a la iluminación, este porcentaje aumentó a 55%(fig.5A).

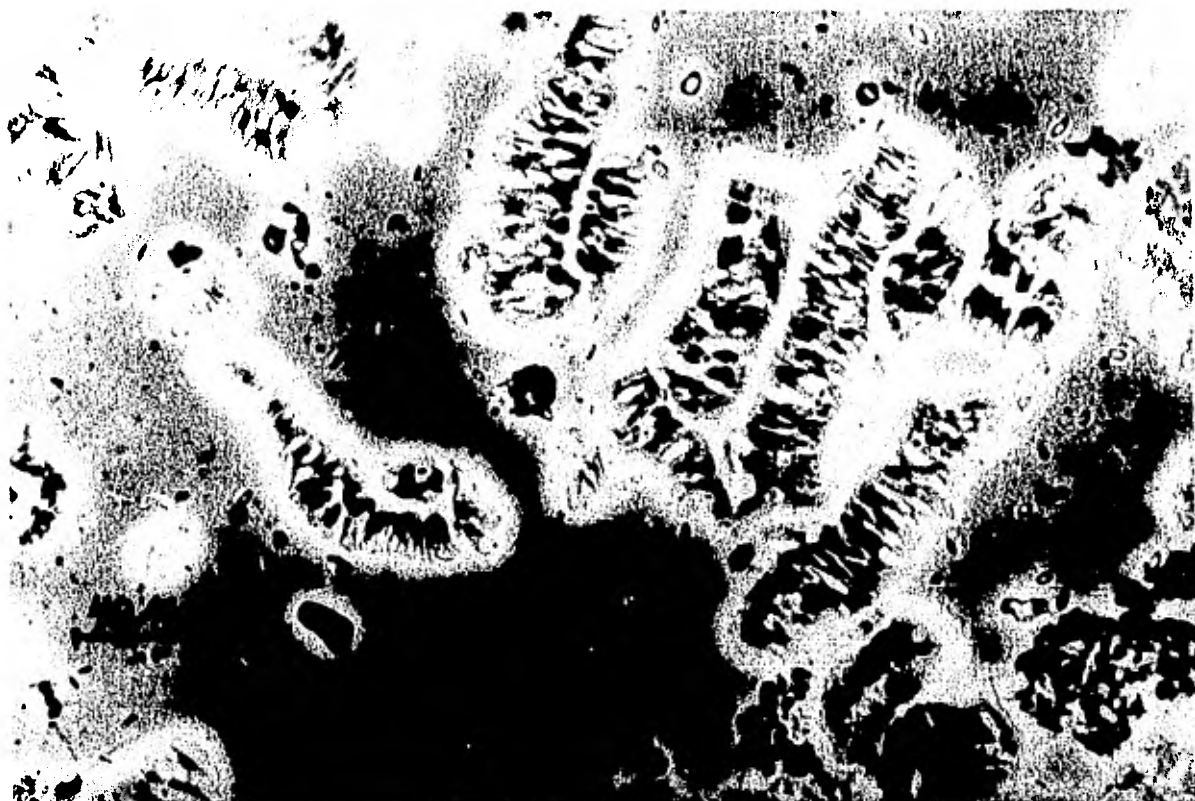


Figura 3.-Segmentos externos de fotorreceptores aislados de retina de rana incubados en medio Krebs-bicarbonato después de dos horas de exposición a la luz (Contraste de Fosfor 880X).

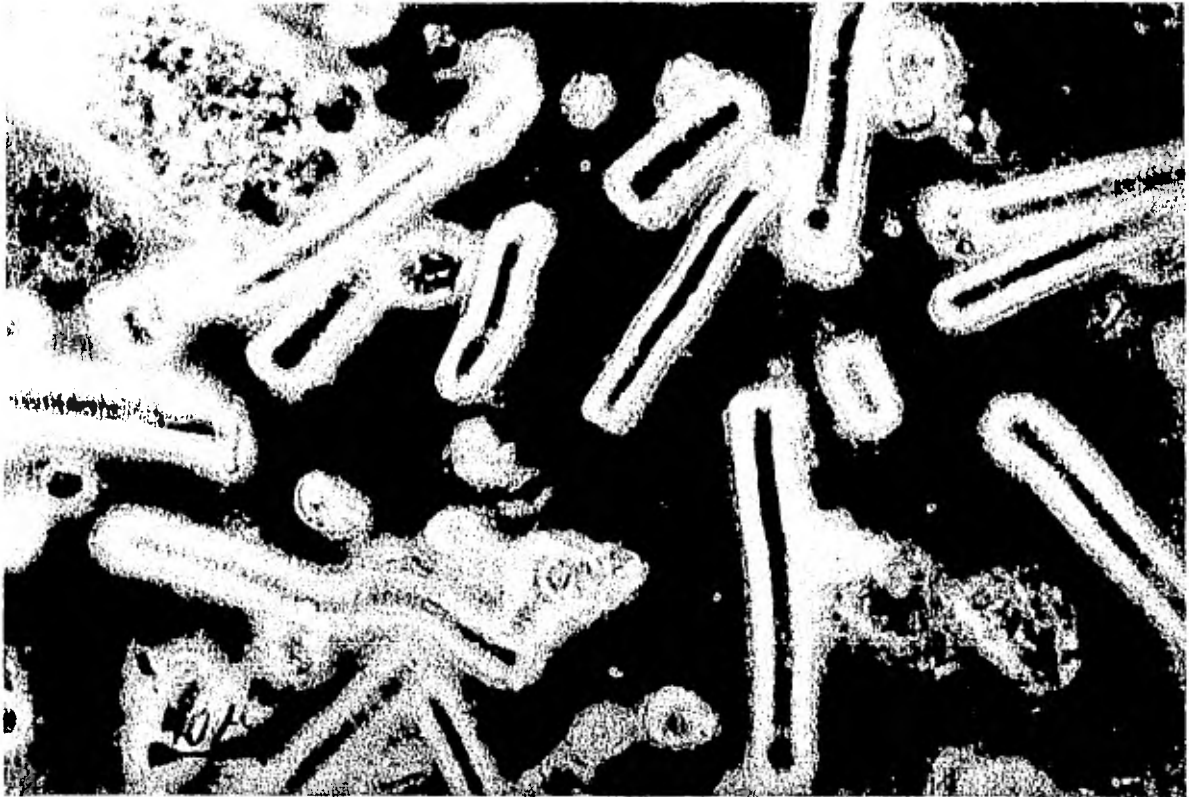


Figura 4.- Segmentos externos de fotorreceptores aislados de retina de rana incubados en medio Krebs-bicarbonato, mantenidos en la oscuridad (Contraste de fases 880X).

Para visualizar más claramente el proceso de desorganización membranaral inducido por luz, se midió el ancho de los SE iluminados y los no iluminados en función del tiempo, a lo largo de dos horas de incubación en frío en un medio Krebs-bicarbonato normal. El ancho de los SE mantenidos en la obscuridad aumentó de 13.2 a 19.8  $\mu$  durante dos horas de incubación mientras que en los SE iluminados, este mismo aumento fué de 13.6 a 19.8  $\mu$  (fig.6).

Para excluir la posibilidad de que este fenómeno de desorganización membranaral fuera debido a un efecto del pH, se tomó el pH antes, durante y después del experimento con papel tornasol. Se vió que el pH se modificó en un rango de 0.5 unidades durante el transcurso del experimento de una manera semejante tanto en los SE incubados bajo la luz, como en aquellos que se incubaron en la obscuridad.

#### Efecto de la ouabaína sobre la estructura de los SE de retinas expuestas a la luz.

Considerando la posibilidad de que los mecanismos que mantienen la estructura del fotorreceptor no se encuentran en el segmento externo, se incubaron las retinas completas bajo la luz en presencia de ouabaína 2 mM, la cual inhibe la acción de la ATPasa de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  que se encuentra en el segmento interno del fotorreceptor. Los resultados indican que los SE de las retinas incubadas en presencia de ouabaína no muestran una mayor desorganización que los SE de aquellas retinas que se incubaron en medio normal (Tabla 3).

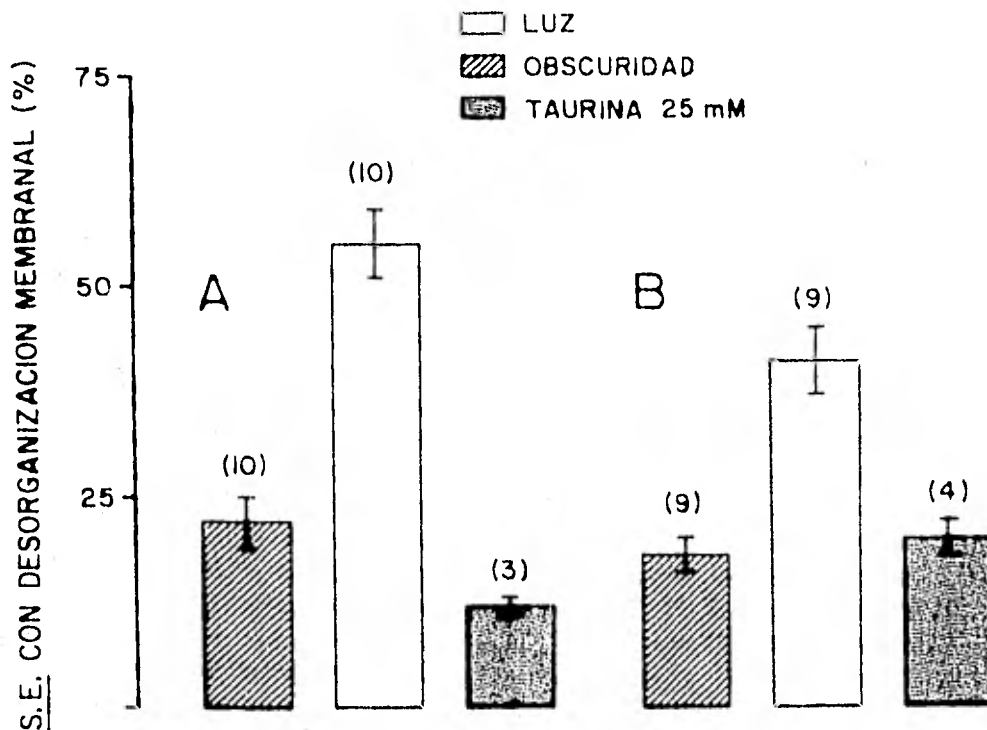


Figura 5.-

A) Efecto de la taurina sobre la desorganización membranaral de SE, incubados en un medio Krebs-bicarbonato después de dos horas de exposición a 100W de luz. Los resultados son promedios  $\pm$  S.E.M. del número de experimentos indicados en el paréntesis.

B) Efecto de la taurina sobre la desorganización membranaral de SE de retinas de rana expuestas a 100W de luz durante dos horas. Los resultados son promedios  $\pm$  S.E.M. del número de experimentos indicados en el paréntesis.

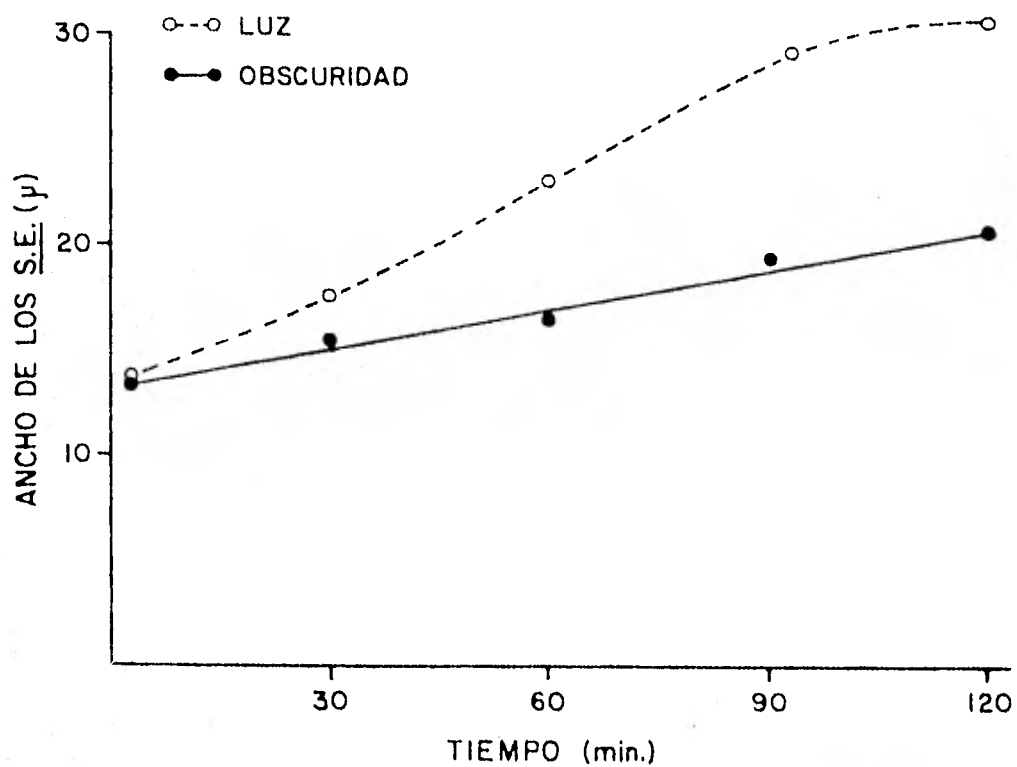


Figura 6.-Gráfica del ancho de los SE en función del tiempo de incubación en un medio Krebs-bicarbonato en la obscuridad(●—●) y en la luz(o-o).

Irreversibilidad del efecto de la luz sobre la estructura de los SE.

Con el objeto de verificar si la desorganización membranal inducida por luz en los SE es reversible, se incubó una muestra de SE en condiciones normales bajo un estímulo luminoso durante 90 minutos; inmediatamente después se volvieron a incubar otros 90 minutos pero en la obscuridad. Los resultados muestran que el efecto de la luz no es reversible, ya que aunque las muestras se coloquen en la obscuridad después de haber sido iluminadas, ya no recuperan su estructura original.

Efecto de la taurina sobre la estructura de los SE expuestos a la luz.

Al incubar las retinas dos horas bajo la luz en un medio Krebs-bicarbonato, que contenía taurina en una concentración de 25mM, no se observó la desorganización membranal típica en los SE, por el contrario, estos SE presentaron una configuración similar a la observada en los SE mantenidos en la obscuridad (fig.5). El efecto protector de la taurina, a esta concentración, fué prácticamente del 100%.

Efecto del calcio sobre la estructura de los SE expuestos a la luz.

Con el propósito de explorar la dependencia al calcio para la aparición de la desorganización membranal en los SE iluminados, éstos se incubaron en un medio libre de calcio. Los resultados encontrados muestran que la ausencia de este catión divalente en el medio de in



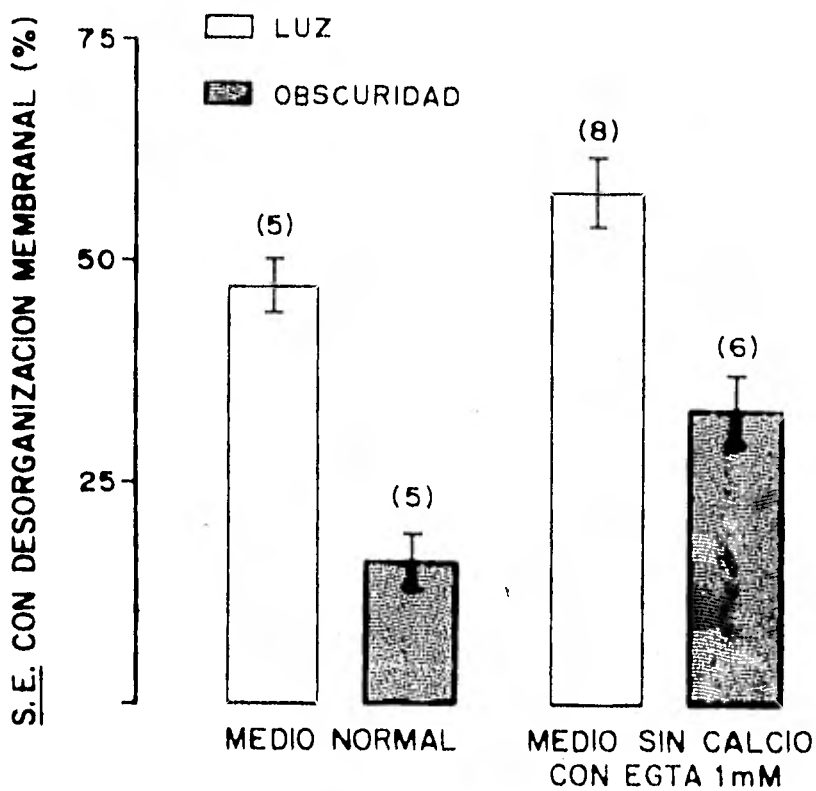


Figura 7.-Efecto de la iluminación sobre la desorganización membranaral de SE incubados en medio Krebs-bicarbonato libre de calcio ( $\text{CaCl}_2$ ), y en presencia de EGTA 1mM, después de dos horas de exposición a la luz. Los resultados son promedios  $\pm$  S.E.M. del número de experimentos indicados en el paréntesis.

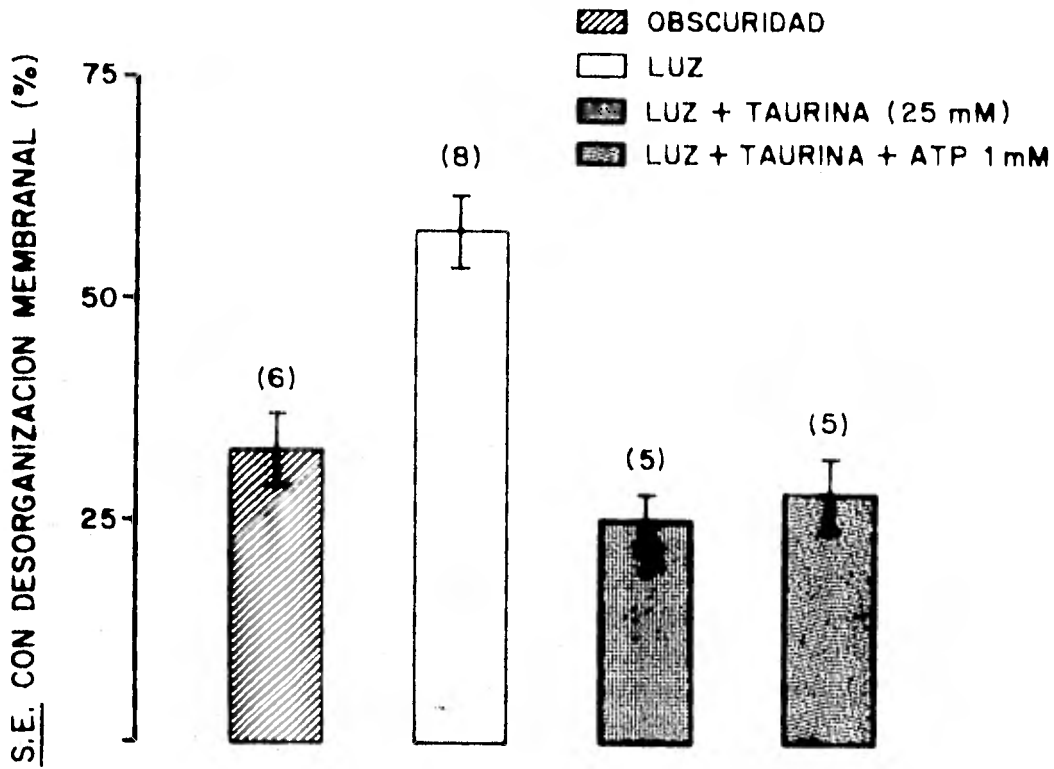


Figura 8.-Efecto de la taurina 25mM y del ATP 1mM sobre la desorganización membranar de SE, incubados en medio Krebs-bicarbonato en ausencia de calcio y en presencia de EGTA 1mM, después de dos horas de exposición a la luz. Los resultados son promedios  $\pm$  S.E.M. del número de experimentos indicados en el paréntesis.

cubación no modifica sustancialmente el porcentaje de SE desorganizados con respecto a aquellos SE que se incubaron en un medio normal con calcio (Tabla 3). Sin embargo, en los SE incubados en un medio sin calcio y en presencia de EGTA 1 mM, se observó un aumento en la desorganización del 15% y 40%, en la luz y la oscuridad respectivamente, con respecto a aquellos SE que se incubaron en un medio normal (fig.7). El EGTA, que es un quelante del calcio, evita que el calcio residual presente en el agua del medio de incubación, contribuya a mantener la estructura membranal del fotorreceptor.

#### Efecto de un ionóforo del calcio sobre la estructura de los SE.

Con el objeto de reforzar la idea de que el ión calcio está involucrado en el mantenimiento de la estructura membranal del SE, éstos se incubaron en la oscuridad en presencia del ionóforo A23187 (5 µg/100 µl). Este tipo de compuestos forman complejos liposolubles con cationes específicos, los cuales son llevados a través de la membrana plasmática. De esta manera, en presencia del ionóforo, el calcio se desplaza en favor de su gradiente de concentración hasta alcanzar el equilibrio. La figura 9 muestra que a medida que transcurre el tiempo de incubación, hay un mayor rompimiento (11%-25%) en los SE que fueron incubados con el ionóforo, con respecto a aquellos SE que fueron incubados en un medio control (etanol).

En estos experimentos, debe tenerse especial cuidado en controlar el efecto del etanol, que es el solvente del ionóforo, ya que aquél tiene un efecto per se sobre las membranas de los SE, con una desorganización membranal del 40%-60% (fig.9).

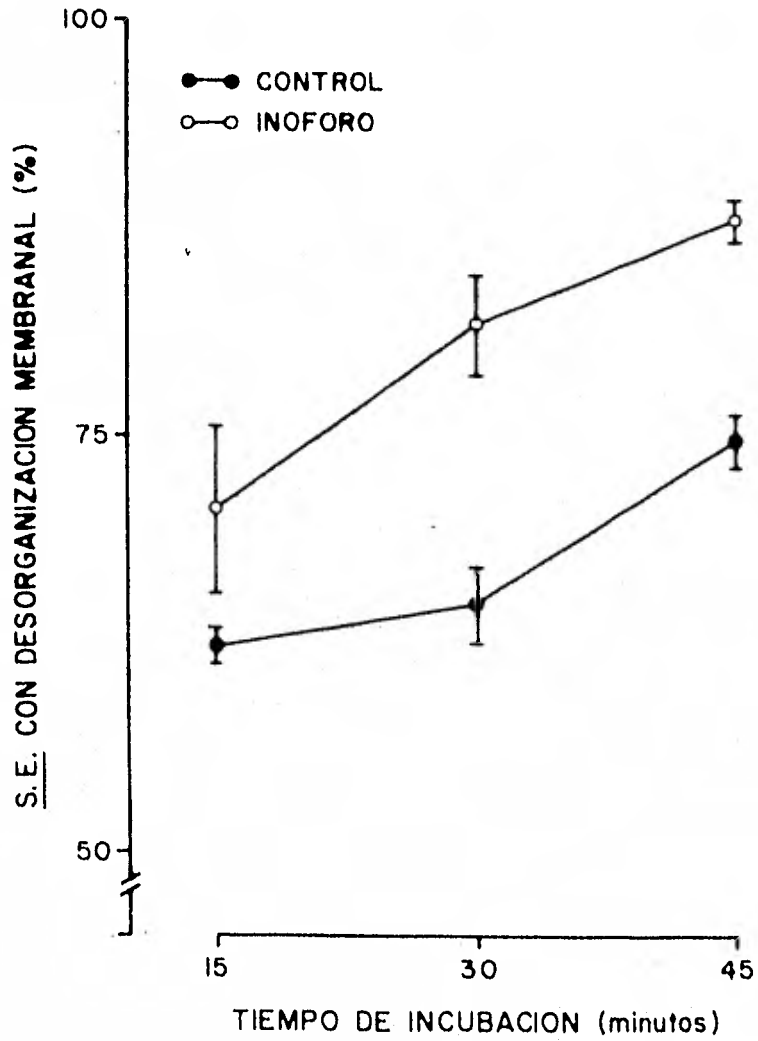


Figura 9.-Efecto del ionóforo del calcio A23187(5  $\mu\text{g}/100 \mu\text{l}$ ) sobre la desorganización membranal de SE mantenidos en la obscuridad. Cada punto de la gráfica es el promedio  $\pm$  S.E.M. de 4 experimentos.

Efecto protector de la taurina contra la desorganización membranal inducida por EGTA y ausencia de calcio en el medio.

La presencia de taurina 25mM en el medio de incubación sin calcio y con EGTA 1mM redujo la cantidad de SE desorganizados en un 100% en relación con aquellos SE cuyo medio de incubación no contenía taurina (fig.8). La presencia de ATP 1mM además de la taurina en el medio de incubación, no modificó significativamente la protección ejercida -- por ésta.

Efecto de la taurina sobre la captación de  $^{45}\text{Ca}$  por los SE.

La adición de taurina 5-25mM al medio de incubación, produjo un incremento marcado en la acumulación de  $^{45}\text{Ca}$  (Tabla 1). La taurina 10 y 25mM aumentó la captación de  $^{45}\text{Ca}$  en un 71% y 110% respectivamente.

Con el objeto de explorar la especificidad del efecto de la taurina, se exploró la capacidad de otros aminoácidos para promover la acumulación de  $^{45}\text{Ca}$ . A una concentración de 10mM, la glicina, el GABA, la histidina y la prolina no afectaron la acumulación de calcio; el análogo azufrado de la taurina, el guanidino etil sulfonato, no aumentó la captación de  $^{45}\text{Ca}$ , mientras que la beta-alanina, el análogo carboxílico, produjo un aumento del 30% aproximadamente. Los aminoácidos ácidos, como el ácido glutámico y el ácido cisteín sulfínico, -- también tuvieron un efecto estimulador (Tabla 1).

El efecto de la taurina sobre la captación en SE iluminados también fué estudiado. El efecto estimulador de la taurina fué mayor en SE incubados en la oscuridad, ya que se dió un aumento del 130% en

Tabla 1.-Efecto de la taurina y otros aminoácidos sobre la captación de  $^{45}\text{Ca}$  dependiente de ATP por los segmentos externos de la retina.

<u>Aminoácidos</u>	<u>Captación de <math>^{45}\text{Ca}</math></u> <u>(nmolas/mg de proteína)</u>
Control	3.9 $\pm$ 0.16 (19)
Glicina	3.7 $\pm$ 0.35 (4)
Beta-alanina	4.8 $\pm$ 0.67 (6)
Histidina	3.6 $\pm$ 0.41 (4)
Prolina	3.8 $\pm$ 0.42 (4)
Acido Glutámico	6.3 $\pm$ 0.54 (4)
Acido cisteín sulfónico	6.0 $\pm$ 0.62 (4)
Guanidino etil sulfonato	3.7 $\pm$ 0.29 (4)
Taurina (25mM)	8.2 $\pm$ 0.52 (4)
(10mM)	6.7 $\pm$ 0.66 (4)
(5 mM)	5.7 $\pm$ 0.54 (4)

Los resultados son promedios  $\pm$  S.E.M. del número de experimentos indicados en el paréntesis.

Tabla 2.-Efecto de la iluminación sobre la captación de  $^{45}\text{Ca}$  dependiente de ATP, por los segmentos externos de la retina de rana.

	Captación de $^{45}\text{Ca}$ (nmolas/ $\mu\text{g}$ de proteína)	
	Control	Taurina(25 mM)
Obscuridad	3.52 $\pm$ 0.27 (6)	7.61 $\pm$ 0.41 (6)
Luz	1.55 $\pm$ 0.12 (8)	2.65 $\pm$ 0.24 (8)

Los resultados son promedios  $\pm$  S.E.M. del número de experimentos indicados en el paréntesis.

la captación de  $^{45}\text{Ca}$ , mientras que en los SE iluminados, la taurina produjo un aumento de menos del 90%(Tabla 2).

Efecto de un medio hipotónico sobre la organización membranal de los SE.

Con el objeto de explorar otros posibles mecanismos protectores de la taurina, se examinó su acción sobre la perturbación membranal inducida al incubar los SE en un medio sin NaCl en la obscuridad. Este medio hipotónico provoca una desorganización membranal típica, cualitativamente diferente a la desorganización inducida por luz -- (fig.10). Bajo estas condiciones, los SE se hincharon y se enroscaron, adquiriendo una forma circular u ovoide.

Los resultados obtenidos muestran que la taurina no protege sustancialmente a los SE de la desorganización membranal inducida por un choque hipotónico(Tabla 3).

Efecto de la clorpromazina, dibucaína y lidocaína sobre la estructura membranal de los SE.

En este trabajo también se probó el efecto de algunos agentes perturbadores de membranas sobre los SE, con el objeto de explorar otros posibles mecanismos de acción de la taurina. Cuando agregamos cada uno de estos tres compuestos al medio de incubación en una concentración de 1 mM, se observó un claro efecto sobre la organización de la estructura de las membranas del fotorreceptor. La desorganización membranal inducida por estos agentes es cualitativamente diferente a la desorganización inducida por la luz o por un choque hipo



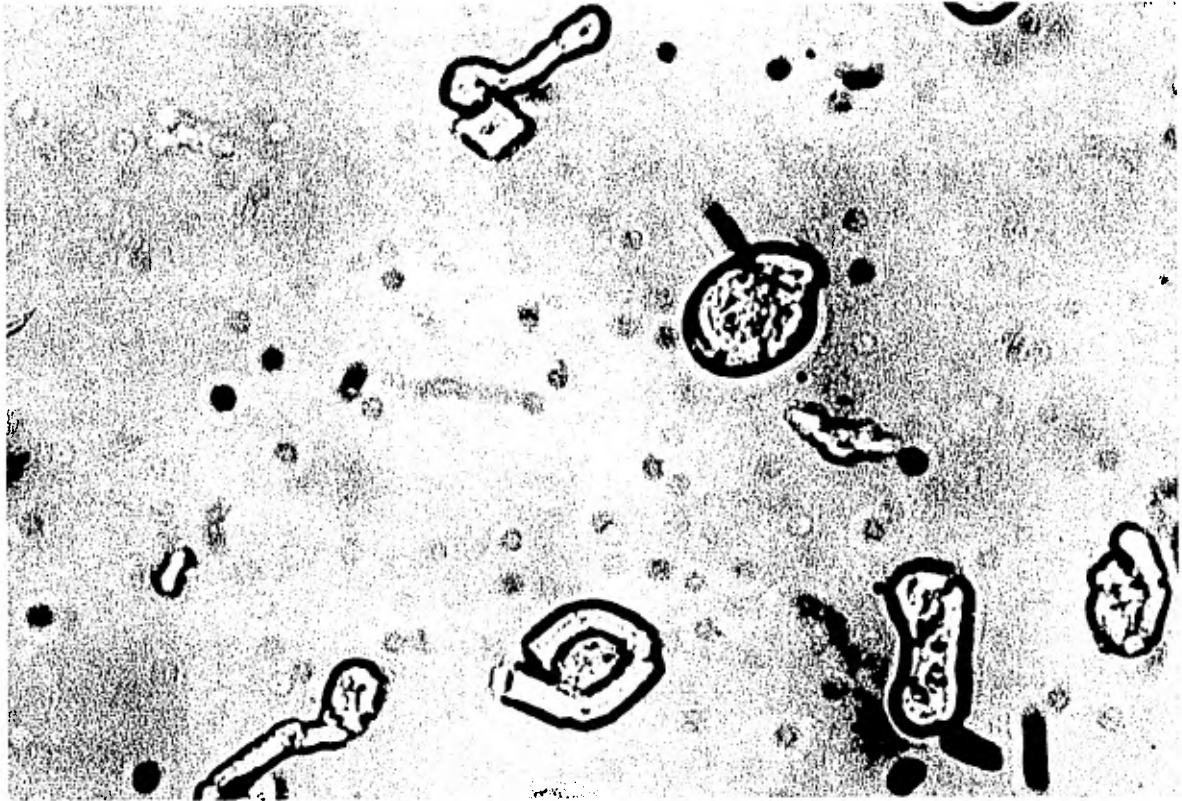


Figura 10.-Segmentos externos de fotorreceptores aislados de retina de rana, después de dos horas de incubación en la oscuridad en un medio Krebs-bicarbonato, en ausencia de sodio( $\text{NaCl}$ ) (220X).

Tabla 3.-Efecto de diferentes medios de incubación sobre la desorganización membranal de SE expuestos a la luz.

Medio de Incubación	<u>SE</u> con desorganización membranal (%)	
	obscuridad	luz
Krebs-bicarbonato (Normal).	26.8 $\pm$ 4.5 (8)	52.8 $\pm$ 4.4 (8)
Krebs sin calcio (CaCl <sub>2</sub> ).	39.0 $\pm$ 5.5 (5)	54.2 $\pm$ 2.7 (6)
Krebs con ouabaína 2mM.*		56.0 $\pm$ 8.3 (4)
Krebs sin sodio (NaCl).		71.3 $\pm$ 6.3 (4)
Krebs sin sodio más taurina 25mM.		72.3 $\pm$ 8.6 (4)

\*Esta serie de experimentos se llevaron a cabo incubando la retina completa en presencia de ouabaína antes de aislar los SE.

Los resultados son promedios  $\pm$  S.E.M. del número de experimentos indicados en el paréntesis.

tónico. Estos tres compuestos modifican de tal manera la estructura de la membrana, que, vistos al microscopio, los SE parecían estar vaciando su contenido celular a través de la membrana en forma de pequeños agregados. Este proceso se prolonga hasta que el fotorreceptor queda completamente vacío.

La presencia de taurina 25 mM no protegió contra la deorganización membranar en ninguno de los tres casos.

DISCUSION.-

El efecto desestabilizador de la iluminación sobre las membranas del fotorreceptor, es menos evidente cuando se ilumina la retina completa antes de aislar los SE. Este resultado puede significar -- que los SE en la retina son menos permeables a los iones que tal -- vez favorezcan a la desintegración de la membrana, como son el sodio y el cloro. Otra posibilidad sería que los mecanismos que mantienen la estructura del fotorreceptor no se encuentran en el segmento externo, sino en alguna otra región del fotorreceptor. Este -- mecanismo podría deberse a la actividad de una ATPasa de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  -- que se encuentra en el segmento interno del fotorreceptor. Sin embargo, los resultados obtenidos muestran que, cuando se incuban -- las retinas en presencia de ouabafina, que es un inhibidor de la actividad de la ATPasa, no existe un mayor rompimiento de los SE, lo cual indica que no es la actividad de la ATPasa la que mantiene la estructura del fotorreceptor.

La desorganización de las membranas en el SE inducido por la luz no es reversible después de los 90 minutos de incubación. Tal vez a menores tiempos de incubación pudiera observarse alguna reversión en el efecto, pero en este trabajo no se exploró esa posibilidad.

En relación con los componentes iónicos del medio que pudieran -- influir sobre la organización de las membranas de los segmentos -- externos, los resultados muestran claramente que el calcio está involucrado en el mantenimiento de la estructura membranal del fotorreceptor. Cuando únicamente se excluye el  $\text{CaCl}_2$  del medio de incu-

bación, las membranas del SE no muestran una desorganización aparente. Este resultado puede deberse a que siempre existe un poco de calcio residual en el agua que se utiliza para preparar el medio de incubación, y este catión también se encuentra unido en pequeñas cantidades al tejido de la preparación. Este calcio residual puede ser suficiente para mantener la estructura membranal del SE. Sin embargo, cuando eliminamos este calcio residual por medio de EGTA, que es un quelante del calcio, el calcio libre en el medio de incubación es prácticamente nulo. De esta manera, se observa una mayor desorganización membranal en los fotorreceptores, muy semejante a la desorganización inducida por la iluminación continua de estos receptores.

También se observó el desarreglo característico de las membranas del receptor cuando se agregó un ionóforo del calcio al medio de incubación. El problema en este caso, fué que los solventes del ionóforo (etanol, dimetil sulfóxido) tienen efectos per se sobre las membranas plasmáticas. Por esta razón, el efecto del ionóforo se ve amplificado en cierta medida. Sin embargo, una vez que se discriminan los efectos del solvente, el efecto del ionóforo aún es significativo.

Con respecto al efecto de la taurina, se ve que protege a los SE contra la desorganización membranal inducida por ausencia de calcio en el medio, en un 100%. El mecanismo preciso a través del cual la taurina lleva a cabo esta protección aún se desconoce.

Los resultados de este trabajo muestran que la taurina estimula la captación de  $^{45}\text{Ca}$  por SE aislados de rana. La captación de  $^{45}\text{Ca}$  estimulada por la taurina se vió aumentada en aquellos segmentos externos que se mantuvieron en la obscuridad, en relación con -- los SE que se iluminaron. Este último dato nos sugiere que efectivamente la taurina podría contribuir a mantener secuestrado al -- calcio dentro de los discos de los SE y esta acción a su vez protegería la estructura en el sistema in vitro.

In vivo, como ya se mencionó, un incremento en los niveles de - calcio citoplasmático (extradiscal), tendría como resultado la mo - dificación de la conductancia al sodio en la membrana externa del fotorreceptor y su consiguiente hiperpolarización. Un estado conti - nuo de hiperpolarización sería equivalente a la iluminación perma - nente y podría conducir a la alteración de la estructura del SE. De esta manera, a través de sus efectos sobre un sistema activo - de captación de calcio, la taurina podría contribuir a mantener - el estado de reposo del fotorreceptor e indirectamente a preser-- var su estructura.

Otro mecanismo mediado a través del calcio por medio del cual - la taurina podría contribuir a mantener la estructura del fotorre - ceptor, es actuando directamente como un estabilizador de membra - nas. Esta hipótesis ya se ha mencionado en relación con los efec-- tos anticonvulsivantes de la taurina, los cuales podrían explicar se a través de un incremento en el umbral de la excitabilidad de la membrana, tal vez mediado por una interacción de la taurina--

con el calcio y los grupos polares de la membrana.

En el músculo se han descrito igualmente efectos farmacológicos de la taurina, relacionados con acciones a través de las corrientes de calcio. En el corazón de cobayo perfundido con un medio sin calcio, se observa la aparición de un efecto inotrópico negativo. Cuando en esta preparación se lleva a cabo una perfusión con taurina, previamente a aquella con un medio sin calcio, se observa que el efecto inotrópico negativo desaparece. Al mismo tiempo, en la preparación perfundida con taurina, se aprecia un incremento en el contenido de calcio total, así como un cambio en la cinética de las pozas de calcio del tejido(54). Estas observaciones sugieren que el tratamiento con taurina aumentaría las concentraciones de calcio disponibles para la contracción, y en esta forma podría contrarrestarse el efecto adverso de la perfusión con los medios sin calcio. La taurina en el corazón también tiene un efecto protector de la arritmia inducida por noradrenalina, o alto potasio, en forma similar al de las drogas digitálicas. Esta acción también podría explicarse a través de un incremento causado por la taurina, sobre la poza de calcio disponible para el acoplamiento excitación-contracción en el músculo(55). En el mismo sentido, se ha descrito que la taurina evita la pérdida de calcio durante el proceso de aislamiento del retículo sarcoplásmico, obteniéndose en estas condiciones una preparación más estable tanto morfológicamente como fisiológicamente(56).

Finalmente, en tejido muscular de invertebrados, se ha demostrado que los aminoácidos, y en especial la taurina, juegan un papel --

crítico en la regulación del volumen tisular, especialmente en aquellos organismos que son capaces de sobrevivir en medios en los cuales la concentración de sodio varía dentro de rangos muy amplios(57,58). Es posible que la taurina desempeñe un papel similar en el segmento externo, y particularmente en los discos del segmento externo, en los cuales la relación superficie volumen es muy grande. Si se considera que la concentración de calcio es de 5 mM en el espacio intradiscal, y que gran parte de esta concentración está asociada a los fosfolípidos de la membrana en la oscuridad y que se libera durante la iluminación, es posible que en un volumen tan pequeño como el de los discos, los cambios de hidratación que sufre el ión al pasar de la forma libre a asociada y viceversa, produzcan grandes modificaciones en el volumen, que deben ser reguladas. La taurina podría tener entonces, en estas estructuras, la misma función que en los invertebrados, actuando como un efector osmótico. Estas distintas posibilidades pueden ser probadas en trabajos futuros.



Referencias.-

- 1.-Tiedemann, F., y Gmelin, L. (1827). Einige neue Bestandtheile der Galle der Ochsen. Physik. Chem., 9: 326-337.
- 2.-Jacobsen, J.G., y Smith, L.L.H. (1968). Biochemistry and physiology of taurine derivatives. Physiol. Rev., 48: 424-511.
- 3.-Awapara, J. (1956). The taurine concentration of organs from fed and fasted rats. J. Biol. Chem., 218: 571-576.
- 4.-Chatagner, F., y Bergeret, P. (1952). Désulfination et decarboxylation enzymatiques de l'acide L-cystéin-sulfonique: sa transformation quantitative en alanine et en hypotaurine. Biochim. Biophys. Acta., 9: 141-147.
- 5.-Fromageot, C., Chatagner, F. y Bergeret, B. (1948). La formation de alanine par désulfination enzymatique de l'acide L-cystéin sulfonique. Biochim. Biophys. Acta., 2: 249-301.
- 6.-Bergeret, B., Chatagner, F. y Fromageot, C. (1956). Etude des decarboxylations de l'acide L-cystéin sulfonique, de l'acide L-cystéique et de l'acide L-glutamique par divers organes du alpin. Influence du phosphate de piridoxal et des groupements thiols. Biochim. Biophys. Acta., 250: 558-567.
- 7.-Huxtable, R. y Bressler, R. (1972). Taurine and isothionic acid distribution and interconversion in the rat. J. Nutr., 102: 805-814.
- 8.-Peck, E.J. y Awapara, J. (1964). Formation of taurine and isethionic acid in rat brain. Biochem. Biophys. Acta., 141: 499-506.
- 9.-Spaeth, D.G. y Schneider, D.L. (1976). Taurine metabolism: Effect of diet and bile salt metabolism. En: Taurine. Editado por R. Huxtable

y A. Barbeau, pp. 35-44. Raven Press, New York.

- 10.-Curtis, D.R., Hosli, L. y Johnson, G.A.R. (1968). A Pharmacological Study of the depression of spinal neurons by glycine and related aminoacids. Exp. Brain Res., 6: 1-18.
- 11.-Curtis, D.R. y Watkins, J.C. (1960). The excitation and depression of spinal neurons by structurally related aminoacids. J. Neurochem., 6: 117-141.
- 12.-Curtis, D.R. y Tébecis, A.K. (1972). Bucuculline and thalamic inhibition. Exp. Brain Res., 16: 210-218.
- 13.-Pasantes-Morales, H., Bonaventure, N., Wioland, N. y Mandel, P. (1973). Effect of intravitreal injection of taurine and GABA on the chicken electroretinogram. Int. J. Neurosci., 5: 235-241.
- 14.-Haas, H.L. y Hosli, L. (1973). The depression of brain stem neurons by taurine and its interaction with strychnine and bicuculline. Brain Res., 52: 399-402.
- 15.-Read, W.O. y Wetty, J.D. (1963). Effect of taurine on digoxin and epinephrine irregularities of the dog heart. J. Pharmacol. Exp. Ther., 139: 238-289.
- 16.-Izumi, K., Donaldson, J., Minnich, J.L. y Barbeau, A. (1976). Ouabain induced seizures in rats: Suppressive effects of taurine and GABA. Can. J. Physiol. Pharmacol., 51: 885-889.
- 17.-Izumi, K., Igisu, H. y Fukuda, T. (1974). Suppression of seizures by taurine specific or non specific. Brain Res., 76: 171-173.
- 18.-Joseph, M.H. y Emeson, P.C. (1976). Taurine and cobalt induced epilepsy in the rat: A biochemical and electrographic study. J. Neurochem., 27: 1495-1501.

- 19.-Van Gelder, N.M., Sherwin, A.L. y Rasmussen, T. (1972). Aminoacid content of epileptogenic human brain; Focal versus surrounding regions. Brain Res., 40: 297-306.
- 20.-Sbarbaro, V. (1974). Electroclinical effects of taurine in some epileptic patients. Preliminar results. Acta Neurol. (Napoli), 29: 33-37.
- 21.-Striano, S., Grasso, A., Buscaino, G.A. y Rerretti, P. (1974). Primi risultati sugli effetti della taurina nella epilossia umana. Acta Neurol. (Napoli), 29: 537-542.
- 22.-Curtis, D.R. y Johnston, G.A.R. (1974). Aminoacid transmitters in mammalian nervous system. Ergebn. Physiol., 69: 97.
- 23.-Huxtable, R. (1976). Metabolism and function of taurine in the heart. En: Taurine. Editado por : R. Huxtable y A. Barbeau, pp. 99-119. Raven Press, New York.
- 24.-Dolara, P., Agresti, A., Giotti, A. y Pasquini, G. (1973). Effect of taurine on calcium kinetics of guinea pig heart. Eur. J. Pharmacol., 24: 352-358.
- 25.-Gruener, R., Bryant, H., Markovitz, D., Huxtable, R. y Bressler, R. (1976). Ionic actions of taurine on nerve and muscle membranes: Electro-physiological studies. En: Taurine. Editado por R. Huxtable y A. Barbeau, pp. 225-242. Raven Press, New York.
- 26.-Welty, J.D., McBroom, M.J., Appelt, A.W., Peterson, M.B. y Read, W.O. (1976). Effect of taurine on heart and brain electrolyte imbalances. En: Taurine. Editado por : R. Huxtable y A. Barbeau, pp. 155-164. Raven Press, New York.

- 27.-Barbeau,A., Inoue,N., Tsukada,Y. y Butterworth,R.F.(1976),The neuropharmacology of taurine.Life Sci.,17: 669-678.
- 28.-Baskin,S.L. y Dagirmanjian,R.(1973).Possible involvement of taurine in the genesis of muscular distrophy.Nature,245: 464-465.
- 29.-Huxtable,R. y Bressler,R.(1974).Taurine concentration in congestive heart failure.Science,184: 1187-1188.
- 30.-Lombardini,J.B.(1976).Regional and subcellular studies on taurine in the rat centra nervous system.En:Taurine.Editado por R.Huxtable y A.Barbeau,pp.311-326.Raven Press,New York.
- 31.-Cohen,A.I.,McDaniel,M. y Orr,H.T.(1973).Absolute levels of some free aminoacids in normal and biologically fractioned retinas.Invest.Ophtalmol.,12; 686-693.
- 32.-Macaione,S.,Ruggeri,P.,DeLuca,F. y Tucci,G.(1974).Free aminoacids in developing rat retina.J.Neurochem.,22: 887-891.
- 33.-Orr,H.T.,Cohen,A.I. y Carter,J.A.(1976).The levels of free taurine, glutamate, glycine and GABA during the postnatal development of the normal and dystrophic retina of the mouse.Exp.Eye Res.,23: 377-384.
- 34.-Pasantés-Morales,H.Klethi,J.,Ledig,M. y Mandel,P.(1972).Free aminoacids of chicken and rat retina,Brain Res.,41: 494-497.
- 35.-Yamamoto,K.,Yoshitani,Y.,Fujiwara,H. y Matsuura,K.(1970).Study on free aminoacids in the retina,Acta Soc.Ophtalmol.Jpn.,74: 1561-1563.
- 36.-Orr,H.T.,Cohen,A.I.,Lowry,O.H.(1976).The distribution of taurine in the vertebrate retina.J.Neurochem.,26: 609-611.

- 37.-Pasantés-Morales, H., Kleithi, J., Ledig, M. y Mandel, P. (1973). Influence of light and dark on the free aminoacid pattern of the developing chick retina, Brain Res., 57: 59-65.
- 38.-Berson, E.L., Hayes, K.C., Rabin, A.R., Schmidt, S.Y. y Watson, G. (1976). Retinal degeneration in cats fed casein II. Supplementation with methionine, cysteine, or taurine. Invest. Ophthalmol., 15: 52-58.
- 39.-Hayes, K.C., Carey, R.E. y Schmidt, S.Y. (1975). Retinal degeneration associated with taurine deficiency in cats. Science, 188: 949-951.
- 40.-Schmidt, S.Y., Berson, E.L. y Hayes, K.C. (1976). Retinal degeneration in cats fed casein: I. Taurine deficiency. Invest. Ophthalmol., 15: 47-52.
- 41.-Schmidt, S.Y., Berson, E.L., Watson, G. y Huang, C. (1977) Retinal degeneration in cats fed casein : III. Taurine deficiency and ERG amplitudes. Invest. Ophthalmol., Vis. Sci., 16: 673-678.
- 42.-Hayes, K.C., Rabin, A.R. y Berson, E.L. (1975). An ultrastructural study of nutritionally induced and reversed retinal degeneration in cats. Am. J. Pathol., 78: 504-524.
- 43.-Rabin, A.R., Hayes, K.C. y Berson, E.L. (1973) Cone and rod responses in nutritionally induced retinal degeneration in the cat. Invest. Ophthalmol., 12: 694-704.
- 44.-Ademe, R.M. (1981). La taurina como estabilizador de membranas en los fotorreceptores. Tesis Profesional. Facultad de Ciencias. UNAM.
- 45.-Schultze, M.J. (1866). Zur anatomie und physiologie der retina. Arch. Mikrosk. Anat., 2: 175.
- 46.-Hagins, W.A. (1979). Excitation in vertebrate photoreceptors. En:

- The Neurosciences. 4th Study Program. Editado por F.O. Schmitt y F.G. Worden. pp. 183-191. MIT Press. Cambridge.
- 47.-Hagins, W.A. y Yoshikami, S. (1974). A role for calcium in excitation of retinal rods and cones. Exp. Eye Res., 18: 299-305.
- 48.-Ungar, F., Piscopo, I. y Holtzman, E. (1981). Calcium accumulation in intracellular compartments of frog retinal rod photoreceptors. Brain Res., 205; 200-206.
- 49.-Gold, G.H. y Korenbrot, J.I. (1980). Light induced calcium release by intact retinal rods. Proc. Natl. Acad. Sci. (USA), 77: 5557-5561.
- 50.-Toko, K. y Yamafuji, K. (1981). Stabilization effect of protons and divalent cations on membrane structures of lipids. Biophys. Chem., 14: 11-23.
- 51.-Pasantes-Morales, H. y Ordóñez, A. (1981). Taurine activation of a bicarbonate-dependent, ATP-supported calcium uptake in frog rod outer segments. Neurochem. Res. En prensa.
- 52.-Pasantes-Morales, H. y Gamboa, A. (1980). Effect of taurine on  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  accumulation in rat brain synaptosomes. J. Neurochem., 34: 244-246.
- 53.-Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. y Randall, R.J. (1951). Protein measurements with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193: 265-275.
- 54.-Dolara, P., Agresti, A., Giotti, A. y Pasquini, G. (1973). Effect of taurine on calcium kinetics of guinea pig heart. Eur. J. Pharmacol., 124: 352-358.

- 55.-Read, W.O. y Welty, J.D. (1963). Effect of taurine on epinephrine and digoxin induced irregularities of dog heart. J. Pharmacol. Exptl. Therap., 139: 283-289.
- 56.-Huxtable, R. y Pressler, R. (1973). Effect of taurine on a muscle intracellular membrane. Biochim. Biophys. Acta, 323: 573-583.
- 57.-Fisher, R.S., Persson, B.E. y Spring, K.R. (1981). Epithelial cell volume regulation: bicarbonate dependence. Science, 214: 1357-1359.
- 58.-Amende, L.M. y Pierce, S.K. (1980). Free amino acid mediated volume regulation of isolated Noctia ponderosa red blood cells: control by  $\text{Ca}^{2+}$  and ATP. J. Comp. Physiol., 138: 291-298.