

de *N*-glucosilación. Estas proteínas componentes se han agrupado en tres **familias de glucoproteínas ZP**. En un principio el grupo de Dunbar (Dev Biol. 106, 1-14, 1984) agrupó a estas familias de acuerdo a la similitud en aminoácidos con las proteínas originalmente informadas para ratón, y las nombraron con números crecientes de acuerdo a la masa molecular aparente en geles de poliacrilamida. Así, ZP1 es la de mayor masa molecular aparente a la que le sigue ZP2 y ZP3. Esta nomenclatura fue modificada años más tarde por Harris y colaboradores (DNA Seq. 4, 361-193, 1994), quienes agruparon estas proteínas en base a la similitud entre las secuencias de ADNc, llamándolas ZPA, ZPB y ZPC. Basándose en el tamaño del ADNc, denominaron ZPA, al producto que correspondía al ADNc más largo y ZPC al de ADNc más corto. Esta nomenclatura es la que más se utiliza hoy en día.

Composición molecular de la EV de los ovocitos de *B. arenarum*

La envoltura vitelina de *B. arenarum* está compuesta por cuatro proteínas mayoritarias, todas ellas glucoproteínas. Por tal motivo se denominaron con la sigla gp, seguidas de un número correspondiente a sus masas moleculares aparentes en kDa. Así, de mayor a menor se las conoce como gp120, gp75, gp41 y gp38 (Barisone *et al.*, Biol Reprod. 66, 1203-9, 2002). Aunque se ha descrito que todos los componentes de la EV de *B. arenarum* son glucoproteínas que intervienen en el proceso de fecundación, entre ellos en la unión del espermatozoide, aún no se ha descrito cuáles de ellas están realmente involucradas, es decir, cuáles de ellas son los ligandos específicos. En un esfuerzo por identificar los ligandos específicos para el espermatozoide de *B. arenarum*,

se han realizado experimentos de fecundación *in vitro* utilizando una técnica que permite evaluar la cantidad de células móviles (espermatozoides) a macromoléculas inmovilizadas en una superficie de vidrio (proteínas purificadas). Los resultados, aunque no son concluyentes, indican que dos de las cuatro proteínas mayoritarias de la EV estarían involucradas en la unión del espermatozoide *in vitro*.

Aunque existe similitud entre estas glicoproteínas de cubierta oocitaria en distintas especies, los componentes responsables de unión al espermatozoide han mostrado ser diferentes. Así, se describió que ZPC es el ligando principal en ratón (Bleil JD *et al.* Cell 1980; 20:873-882), en cerdo es ZPB (Yonezawa N *et al.*, Eur J Biochem 1997; 248:86-92) y ZPC (Vo LH *et al.*, Biol Reprod 2000; 62:766-744) y ZPA (Tian B *et al.*, J Cell Biol 1997; 136:1099-1108) para el anfibio *X. laevis*. Tales diferencias podrían deberse, al menos en parte, al papel crítico en la unión al espermatozoide que juegan las cadenas de azúcares en estas glucoproteínas.

El continuo estudio de las moléculas involucradas en la interacción espermatozoide-ovocito permitirá conocer al menos uno de los sucesos fundamentales en la generación de un nuevo individuo. Conociendo los puntos de control de la fecundación, así como las moléculas involucradas en el reconocimiento entre gametos, se podría intentar la manipulación de éstos para regular el proceso de fecundación positiva o negativamente. Los resultados obtenidos utilizando este anfibio como **modelo** de estudio permiten inferir sobre lo que podría suceder en **otras especies**, para así plantearse nuevas hipótesis que se deben analizar detalladamente en aquella que sea de interés.

PATRONES GENÉTICOS CONSERVADOS EN LA REGULACIÓN DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL: INSECTOS FRENTE A MAMÍFEROS

Daniel Pineda Tenor

Becario de Investigación, Dpto. Biología Celular, Genética y Fisiología, Universidad de Málaga

Durante décadas el hombre se ha esforzado en comprender los complejos mecanismos implicados en el desarrollo del sistema nervioso, realizando multitud de experimentos en diversos modelos que abarcan desde la aparente sencillez de los sistemas invertebrados hasta la enorme complejidad presente en la mayoría de los vertebrados. La disparidad aparecida en la morfología de los sistemas nerviosos de estos alejados organismos ha tenido como consecuencia que durante mucho tiempo los investigadores pensasen que los mecanismos de control relacionados con su ontogenia no guardaban relación alguna. Sin embargo, en los últimos años se ha demostrado que, pese a la enorme diferencia anatómica existente entre los cerebros de insectos y mamíferos, se

pueden encontrar similitudes en cuanto a la expresión de los genes reguladores del desarrollo en los sistemas nerviosos de ambos grupos.

El cerebro de *Drosophila*, modelo de insecto por excelencia, se halla constituido por un ganglio supraesofágico anterior, subdividido en protocerebro (PC o b1), deutocerebro (DC o b2) y tritocerebro (TC o b3) y por un ganglio subesofágico posterior, subdividido en los neurómeros mandibular (MD o s1), maxilar (MX o s2) y labial (LB o s3) [Younossi-Hartenstein y cols. J Comp Neurol 370:313-329 (1996)].

El cerebro de los mamíferos, por su parte, difiere bastante del anterior, hallándose estructurado en tres regiones principales que, ordenadas rostrocaudalmente,

reciben los nombres de prosencéfalo, mesencéfalo y rombencéfalo. Estas regiones se originan a partir de un tubo neural segmentado transversalmente en dominios neuroméricos. Así, la región rostral del tubo se halla dividida en 6 neurómeros denominados prosómeros, los cuales darán origen al diencéfalo (p1 a p3) y al prosencéfalo secundario (p4 a p6). La porción ventral de este último originará el hipotálamo, mientras que la región dorsal dará lugar a las vesículas telencefálicas. El mesencéfalo, por su parte, tiene su origen en un único neurómero central, mientras que el rombencéfalo posee la nada desdeñable cifra de nueve segmentos, llamados rombómeros, que darán lugar a puente, cerebelo (r0 a r5) y bulbo raquídeo (r6 a r8) en el individuo adulto [Rubenstein y cols. *Science* 266:578-580 (1994)].

Pese a la enorme diferencia existente en la macroestructura del sistema nervioso de ambos grupos es posible establecer grandes similitudes en cuanto a la regulación de su ontogenia, en base a la expresión de los genes homeóticos. Estos genes se describieron por primera vez en 1915 por Calvin Bridges, uno de los discípulos del afamado genetista Thomas H. Morgan, el cual observó una curiosa mutación en la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster* en la que los halterios, estructuras esenciales para la estabilización del vuelo del insecto, estaban transformados en alas. A este tipo de mutación capaz de alterar la morfología del individuo originando que una parte del cuerpo fuese en su apariencia similar a otra distinta se le llamó homeótica, y los genes responsables del control de las distintas estructuras del organismo pasaron a denominarse genes homeóticos. Estos genes se han estudiado de forma intensa por los biólogos moleculares, lo cual no sólo ha permitido caracterizar sus productos génicos y delimitar los efectos generados por su mutación, sino que además ha podido determinar el alto grado de conservación que estos genes han mantenido a lo largo de la evolución. De esta forma, los genes homeóticos (*hox*) se hallan dispuestos en *Drosophila* en dos agrupamientos (*clusters*) que reciben en su conjunto los nombres de complejo *antennapedia* y complejo *bithorax*. El orden en el que se disponen los genes de dichos complejos a lo largo del cromosoma es el mismo que el orden de expresión anteroposterior, o lo que es lo mismo, la mayor proximidad de un gen a la región 3' del cromosoma condiciona la presencia del mismo en las porciones rostrales del organismo. Asimismo, existe también una colinealidad temporal, siendo más temprana la expresión de los genes cercanos a la región 3' del cromosoma que los presentes en la región 5' [Duboule y cols. *Trends Genet* 10:358-364 (1994)]. Uno de los genes incluidos en el complejo *antennapedia*, el llamado *labial*, está implicado en la regulación del desarrollo del tritocerebro, de tal forma que una mutación en el gen tiene como consecuencia defectos en las proyecciones axonales de esta región. Así, tanto las células progenitoras del desarrollo temprano como las neuronas subsiguientes se ubican correctamente en su posición natural, pero

presentan una ausencia total de ramificaciones dendríticas y proyecciones axonales, privando por tanto a esta región del contacto con otras áreas cerebrales. Los resultados de esta carencia se traducen en la ausencia de la comisura tritocerebral, la desaparición de las vías entre los ganglios supra y subesofágicos, y la pérdida de identidad neuronal reflejada en la carencia de expresión de numerosos marcadores moleculares. [Hirth y cols. *Development* 125:1579-1589 (1998)]. En los vertebrados se han descrito genes *hox* homólogos estructural y morfológicamente a los genes homeóticos de *Drosophila*. Así, en el caso de mamíferos se conocen 13 grupos de genes *hox* organizados en 4 agrupamientos llamados *hoxA-hoxD*. Al igual que en insectos, estos genes poseen un paralelismo entre su posición 3'-5' en el cromosoma y la expresión espaciotemporal en el organismo. En este contexto, se ha visto que existen en ratón dos genes considerados homólogos al *labial* de *Drosophila*, denominados *hoxa1* y *hoxb1*. La inactivación funcional del gen *hoxa1* genera defectos de segmentación manifestados de forma evidente en la reducción del tamaño de los rombómeros r4 y r5, alteraciones en las proyecciones axonales de las neuronas motoras de estas regiones y defectos en las localizaciones de los cuerpos celulares de los núcleos del trigémino. Sin embargo, la identidad de r4 se mantiene en estos mutantes. Por el contrario, la pérdida de función de *Hoxb1* no influye en la reducción de tamaño de r4, pero sí en la modificación de la identidad de esta región, de tal forma que induce la transformación parcial de r4 a r2. De esta forma, la actividad combinada de estos genes resulta ser muy similar a la mostrada por su homólogo *labial* de *Drosophila*, reflejando, pues, el paralelismo presente en la regulación de ambos sistemas [Reichert. *Int. J. Dev. Biol.* 46:81-87 (2002)].

Los genes homeóticos son responsables del desarrollo de las estructuras complejas generadas a partir de los segmentos en los que se halla dividido un embrión. Sin embargo, la especificación de dichos segmentos tiene lugar en los estadios iniciales del desarrollo, y se halla regulada por los primeros genes cigóticos expresados en el embrión, entre los cuales encontramos a los genes *gap* (hueco en inglés). El nombre de estos genes se debe a que las mutaciones originadas en su seno tienen como consecuencia la ausencia de grandes regiones que pueden comprender varios segmentos del embrión. El gen *orthodenticle* (*otd*) de *Drosophila* constituye un claro ejemplo de este tipo de genes, hallándose implicado en el desarrollo y segmentación de la porción anterior del cerebro. La pérdida de función de este gen tiene como consecuencia la desaparición de todos los neurómeros del protocerebro y la mayoría de los del deutocerebro, ocasionando, por tanto, una reducción drástica del encéfalo embrionario [Hirth y cols. *Neuron* 15:769-778 (1995)]. Existen en los vertebrados genes *gap* de secuencia homóloga a *otd*, habiéndose aislado éstos en organismos tales como el pez cebra, el ratón o incluso el ser humano. Así, en el ratón se han encontrado dos

genes homólogos, denominados *otx1* y *otx2*, esenciales para el correcto desarrollo de la porción anterior del cerebro. Los mutantes *otx1* muestran anomalías que afectan al córtex dorsal, mesencéfalo y cerebelo, mientras que los mutantes *otx2* originan la pérdida total del prosencéfalo, mesencéfalo y la parte más rostral del rombencéfalo [Acampora y cols. *Development* 25:1691-1702 (1998)]. Lo que resulta realmente sorprendente es la enorme similitud existente en los mecanismos de regulación del desarrollo cerebral mostrado por el gen *otd* de *Drosophila* y los genes *otx* del ratón. Este hecho ha sido puesto de manifiesto mediante experimentos de rescate genético, en los que se han introducido y sobreexpresado genes *otx1* y *otx2* de humanos en moscas dotadas de una mutación nula *otd*, obteniéndose como resultado el perfecto desarrollo de un cerebro de insecto carente de los defectos propios de la mutación *otd*. De la misma forma, la incorporación de genes *otd* en ratones mutantes nulos *otx1* tiene como consecuencia la supresión

de todas las anomalías cerebrales del mamífero [Leuzinger y cols. *Development* 125:1703-1710 (1998)]. El hecho de que los sistemas de regulación del desarrollo mantengan un nivel de conservación tal, que incluso sus genes pueden ser potencialmente intercambiables entre especies, contrasta con la diversidad de estructuras cerebrales aparecidas a lo largo de la evolución. Una posible respuesta a esta paradoja podría venir dada por el hecho de que estos genes conservados adquiriesen, pese a mantener casi intacta su secuencia, diferentes papeles en el contexto global de un sistema de regulación superior de mayor complejidad. Otras opciones posibles pasan por la variación en el número de copias del gen, las diferencias en cuanto a patrones de expresión o las modificaciones en los procesos postranscripcionales, las cuales podrían originar interacciones previamente inexistentes que contribuyesen a la aparición de nuevos procesos morfogénicos.

INTEGRACIÓN DEL METABOLISMO I: ¿CÓMO SE ADAPTA EL ORGANISMO A LAS FLUCTUACIONES EN LA DISPONIBILIDAD DE SUS FUENTES ENERGÉTICAS?

Evangelina Palacios Alaiz* y María Jesús Miró Obradors¶

*Profesora Titular y ¶Profesora Contratada del departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid.

Entre los múltiples desafíos que la bioquímica hubo de afrontar en el siglo XX, se encuentra el de proporcionar una imagen de la célula, organizada como un sistema químico funcional. En la década de los sesenta, el intento fue brillantemente coronado y el bioquímico se planteó la necesidad de conocer, no sólo la química interna de las células, sino también el lenguaje para su intercomunicación. La investigación fue dando respuestas parciales que han permitido entender los mecanismos mediante los cuales el flujo de moléculas a través de encrucijadas metabólicas fundamentales, la compartimentación celular y la interconexión entre órganos y tejidos con diferentes perfiles metabólicos permiten coordinar una complicada red de reacciones para satisfacer las necesidades de ATP, poder reductor y precursores biosintéticos del organismo completo y asegurar su perfecto funcionamiento.

El metabolismo debe estar estrictamente regulado y coordinado para atender a las necesidades de la célula en diferentes situaciones

Para el ser humano, así como para otros muchos organismos, los alimentos representan la fuente que puede cubrir las necesidades energéticas inmediatas, a la vez que transformarse en una reserva de nutrientes y energía que las células de los diferentes tejidos puedan

utilizar en periodos de ayuno o restricción de aporte exógeno de nutrientes.

El metabolismo, definido como el conjunto de reacciones que proporciona un aporte continuo de sustratos para el mantenimiento de la vida, incluye procesos catabólicos y anabólicos. En las rutas catabólicas se libera energía, parte de la cual se transforma en trifosfato de adenosina (ATP) y se recoge en nucleótidos reducidos (NADH, NADPH y FADH₂). Las reacciones anabólicas necesitan un aporte energético que usualmente lo proporciona la hidrólisis del ATP, molécula que es transportadora universal de energía metabólica y que también es el poder reductor necesario, suministrado por los nucleótidos reducidos.

Tanto las rutas catabólicas como las anabólicas se suceden en tres niveles. En el nivel 1, se produce la interconversión entre las macromoléculas complejas (proteínas, ácidos nucleicos, polisacáridos y lípidos) y las moléculas sencillas, monoméricas (aminoácidos, nucleótidos, azúcares, ácidos grasos y glicerol). En el nivel 2 tiene lugar la interconversión de los monómeros y compuestos orgánicos más sencillos (piruvato y acetilCoA). Finalmente, en el nivel 3, se lleva a cabo la degradación de estos intermediarios metabólicos a compuestos inorgánicos (CO₂, H₂O y NH₃) o la utilización de estos