

El factor de la muerte

En un reciente comentario (*Encuentros en la Biología*, 13, 1 (1994)) describíamos como el receptor Fas disparaba el proceso de apoptosis o muerte celular programada, en respuesta a algún ligando desconocido. La naturaleza de este ligando, decíamos, era un misterio en cuya resolución se estaba trabajando. Bien, pues ya se han producido resultados que desvelan en parte la cuestión. Un equipo japonés partió de la observación de que una vía por la cual las células T citotóxicas provocan la muerte de otras células es la activación de sus receptores Fas. A partir de un híbrido de células T citotóxicas lograron aislar el ligando del receptor Fas (Suda et al., *Cell*, 75, 1169 (1993)). Se trata de una proteína de membrana, lo cual parece sugerir que para disparar el proceso de apoptosis es necesario un contacto célula-célula, aunque no se pueda descartar que el ligando pueda ser liberado al medio en determinadas circunstancias. Su dominio extracelular muestra muchas similitudes con los factores de necrosis tumoral (TNF), aunque no activa los receptores de dichos factores. Los papeles fisiológicos de esta nueva proteína y su receptor siguen siendo intrigantes, aunque posiblemente intervienen en la regulación de la respuesta inmune y la respuesta al estrés en algunos órganos.

en la actualidad, cambios, incluso muy ligeros, en los niveles de CO_2 , seguramente tuvieron una incidencia notable sobre la vida y el clima de la época.

Con niveles de CO_2 durante el Cretácico de hasta una docena de veces superior a los actuales, Rigby apunta a que las plantas debieron de lanzarse a una actividad fotosintética de locura, produciendo nubes inmensas de O_2 . Así pues, durante el Cretácico se produjo un incremento espectacular de las plantas Angiospermas, a expensas de las más antiguas Gimnospermas. El CO_2 superabundante transformó al planeta en un cálido invernadero. Éste ambiente permitió a gran número de animales y plantas vivir incluso cerca de los polos. Una vegetación tan exuberante, y el forraje que suponía, aumentó la complejidad de las cadenas tróficas y favoreció la aparición de nuevas especies de animales, tanto herbívoras como carnívoras. De esta manera el Cretácico se puede considerar como un período de elevados niveles de CO_2 y O_2 , y altas temperaturas constantes, casi un perpetuo verano. Estas condiciones climáticas supusieron un aumento importante de la diversidad.

Sin embargo, hacia finales del Cretácico las cosas cambiaron. Cuando los volcanes se calmaron, el proceso que había provocado la explosión demográfica se volvió contra ellos. Cuando los niveles atmosféricos de CO_2 bajaron, las temperaturas cayeron y el clima cambió. Los sistemas metabólicos de los organismos que se habían desarrollado durante el exceso de O_2 sufrieron cada vez más dificultades. Los animales debieron desarrollar métodos para soportar el progresivo enfriamiento. Además, el nivel del mar bajó y quedaron expuestos compuestos orgánicos que comenzaron a oxidarse. Este proceso, aparentemente inocuo, tuvo consecuencias importantes pues redujo la cantidad de O_2 disponible y modificó la proporción CO_2 / O_2 . La respiración se hizo más dificultosa y muchos animales murieron. Ciertos grupos, de sangre fría y necesidades metabólicas limitadas, como los reptiles escamosos y quelonios, pudieron aguantar esta crisis, al igual que algunos pequeños mamíferos, que habían desarrollado una respiración más eficiente. Sin embargo, las grandes formas animales, con altos requerimientos energéticos y respiración mucho menos eficiente, como eran los enormes, activos y posiblemente de sangre caliente dinosaurios, quedaron condenados a muer-

te. Estas formas sufrieron daños irreparables. No sólo el descenso de las temperaturas extremas fue un desafío para el frágil termostato de los dinosaurios, sino que incluso pudo haber causado esterilidad o incapacidad reproductora en muchos ejemplares. Si añadimos a esto el descenso de los niveles de O_2 podemos imaginar cómo los dinosaurios literalmente se asfixiaron poco a poco. L.J.P.

EL MOVIMIENTO DE LA INMÓVIL SHIGELLA FLEXNERI

Si bien el hombre está expuesto continuamente a una amplia variedad de microorganismos presentes en el ambiente, sólo una pequeña proporción de éstos interaccionan con el hospedador para producir infección y enfermedad. La capacidad para producir enfermedad está determinada por la producción de diversos factores de virulencia por parte del microorganismo. Los factores de virulencia se refieren a las propiedades, es decir productos de los genes, que permiten el establecimiento de un microorganismo en un hospedador y estimulan su potencial para causar enfermedad. En ocasiones y a través de ciertos factores de virulencia, incluso ponen a "su servicio" estructuras o moléculas de la célula u organismo infectado. Este parece ser, según las últimas investigaciones, el caso de *Shigella flexneri*.

S. flexneri es un microorganismo inmóvil que causa diarrea, incluyendo disenteria bacilar, por invasión de la mucosa del colon. Esta invasión implica el desarrollo de una serie de etapas que corresponden a: entrada en las células epiteliales por una fagocitosis inducida, liberación de la vacuola fagocítica, multiplicación y dispersión en el citoplasma celular, diseminación a células adyacentes, y por último muerte de las células hospedadoras. Pues bien, varias etapas del proceso como la entrada y la diseminación inter e intracelular, implican la interacción del microorganismo con el citoesqueleto celular. Trabajando con células HeLa, y empleando anticuerpos marcados con moléculas fluorescentes, se ha podido demostrar en el lugar de entrada del microorganismo la presencia

Resistencia de las micobacterias a fármacos

Asociado al hecho del dramático incremento de la tuberculosis en todas las partes del mundo, está la aparición de nuevas cepas de micobacterias (el organismo causante de la tuberculosis es *Mycobacterium tuberculosis*) que pueden resistir muchos de los fármacos que se estaban utilizando. Uno de estos es la isoniazida, utilizado contra la tuberculosis desde 1952, pero sin que nunca se hayan comprendido muy bien sus mecanismos de acción: la mejor hipótesis es que el fármaco bloquea la síntesis de ácido micólico, un ácido graso que forma parte de la pared celular de todas las micobacterias. Lo interesante es que se ha identificado un gen implicado en la resistencia a la isoniazida, el *inhA*. Los investigadores que lo han identificado creen que codifica para la proteína que es la diana del fármaco, así que una sobre-expresión o una mutación del gen haría perder la efectividad de la isoniazida. Lo importante es que a partir de ahora se puede desarrollar un test diagnóstico basado en el DNA para saber rápidamente si un paciente está infectado por un micobacterium resistente a la isoniazida, y así poder elegir un tratamiento alternativo.

de actina polimerizada, además de miosina y vinculina entre otras proteínas celulares, [Luna & Hitt, *Science*, 258, 955 (1992)]. Esto concuerda con observaciones realizadas con anterioridad y que mostraban la inhibición de la entrada de *S. flexneri* por medio de citocalasinas B y D, que son moléculas inhibitorias de la polimerización de la actina.

En el intervalo de tiempo de 15 minutos desde la entrada en la célula epitelial, la bacteria escapa de la vacuola fagocítica y se libera en el citoplasma celular. Por experiencias con inmunomarcaje se ha demostrado que, inmediatamente a la entrada del microorganismo se acumulan en un extremo del microorganismo filamentos cortos de actina citoplasmática polimerizada [Bernardini et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86, 3867 (1989)]. Esta actina se empaqueta formando una "cola" de varios micrómetros, que permite a la bacteria desplazarse por el citoplasma de la célula hospedadora. El diámetro de esta cola de actina inmediatamente detrás del cuerpo bacteriano es más ancho y recibe el nombre de zona A, en tanto que la otra zona más alejada de la bacteria y que es más estrecha se denomina zona B [Goldberg & Sansonetti, *Infect. Immun.*, 61, 4941 (1993)]. Nuevamente mediante ensayos de inmunomarcaje, se ha demostrado que la zona A contiene una proteína, la *plastina*, que enlaza con la actina celular [Prévost et al., *Infect. Immun.*, 60, 4088 (1992)]. La *plastina* se enlaza con dos moléculas de actina, las cuales se mantienen muy próximas entre ellas, y de esta forma se originan paquetes de actina extremadamente apretados. Esta distribución de la *plastina*, combinada con su capacidad para formar estos apretados paquetes de actina, sugiere que pueden contribuir a la motilidad del microorganismo en el interior celular. También se han identificado en esta cola otras proteínas asociadas con la actina, como la *filamina* que se ha detectado en toda la longitud de la cola.

En base a lo expuesto anteriormente, parece razonable pensar que la bacteria utilizaría al menos alguno de estos elementos del aparato citoesquelético celular, probablemente en conjunción con ciertos elementos bacterianos, para impulsarse entre y a través de las células hospedadoras. Confirmando esta teoría, se han encontrado ciertos elementos bacterianos que se ha-

llan implicados en el movimiento bacteriano. Así, se ha demostrado que la proteína bacteriana *IcsA* (*VirG*), codificada por un plásmido, es esencial para el movimiento intracelular y la posterior diseminación intercelular [Vasselon et al., *Infect. Immun.*, 59, 1723 (1992)], ya que una cepa mutante en *IcsA* no acumulaba actina polimerizada sobre su superficie, siendo incapaz de desplazarse por el citoplasma celular, ni de infectar las células adyacentes. Por medio de inmunomarcaje se ha podido demostrar en *S. flexneri* la localización superficial de la proteína *IcsA*, tanto en lugares intra como extracelulares. Más concretamente, durante la fase intracelular, esta proteína está localizada en la cola de actina. Existen datos que sugieren que la *IcsA* interactúa directamente con elementos dentro de la cola y que la hidrólisis de ATP por parte de esta proteína bacteriana suministra la energía necesaria para alguno de estos procesos.

Por último, para diseminarse de una célula a otra la bacteria induce la formación de una protrusión similar a un "dedo de guante" desde la superficie de la célula infectada. Alrededor del lugar de salida de la protrusión se da un importante reorganización del citoesqueleto, con formación de múltiples vellosidades pequeñas. La bacteria, por medio de su cola de actina, se desplaza al interior de la protrusión. El final de la protrusión penetra en la superficie de una célula adyacente y luego es fagocitada por ésta, con lo cual la bacteria infecta una nueva célula.

Recientes trabajos han demostrado que uno de los factores implicados en esta diseminación intercelular es un componente celular, la *cadherina L-CAM*. Así se ha podido observar, que en una línea de fibroblastos de ratón que no produce *cadherinas* (células S180), las *shigelas* son incapaces de pasar de célula a célula, sin embargo, cuando se adiciona a estas células *L-CAM* sí se da esa diseminación intercelular. El conocimiento de los factores de virulencia implicados en las diferentes fases de la patogenia de los microorganismos permitirá, en un futuro no muy lejano, interferir su función, por ejemplo diseñando inhibidores competitivos de estos factores virulentos (en el caso que nos ocupa, un competidor del *IcsA*) que permitirán contrarrestar o anular el efecto deletéreo del microorganismo. M.A.M.