

detergentes iónicos. Adicionalmente, se han descrito reacciones del ozono con hidrocarburos saturados e insaturados de cadena larga de las ceras epicuticulares. Por otro lado, a nivel de la cutina, ha sido descrita la acumulación de NO_x en determinados compuestos fenólicos de la misma. Esta acumulación en la matriz cuticular es irreversible e implica una auténtica nitración de la membrana cuticular.

Por último, las interacciones y reacciones que se presentan en la denominada fase gaseosa son muy heterogéneas. En esta fase ha sido observada la formación de oxidantes fuertes a partir de reacciones entre NO_2 y O_3 , catalizadas por radiación UV, y la presencia de compuestos insaturados. Puede ocurrir, además, la formación de diversos radicales oxidantes por reacción del ozono en agua y la formación de formaldehído y peróxido

de hidrógeno a partir del ozono y del etileno producido por la planta en situaciones de estrés.

Como conclusión debe quedar claro que determinadas características de la superficie foliar son modificadas por contaminantes atmosféricos y que la presencia de determinados compuestos incrementa la posible formación de productos de distinta naturaleza y más reactivos. Es deseable, en el futuro próximo, el uso e investigación de características a nivel cuticular más sofisticadas y de nuevas técnicas de trabajo para una más sensible detección y conocimiento del modo de acción de los contaminantes antropogénicos.

A. Heredia y P. Luque (Profesor Titular de Bioquímica y Becaria de Investigación, respectivamente).

teínas G y modulan la liberación de calcio a partir de depósitos intracelulares (ver figura)

En condiciones 'normales' el glutamato liberado en las sinapsis por la actividad de las neuronas excitadoras es eliminado rápidamente del espacio extracelular, fundamentalmente por la recaptación por los propios terminales presinápticos y por las células de la glia, lo que limita la actuación de este aminoácido sobre la neurona postsináptica. Sin embargo, en determinadas condiciones patológicas del sistema nervioso se produce una acumulación tóxica de glutamato en el espacio extracelular cerebral debida, probablemente, a un fallo en la captación de glutamato por parte de las neuronas y la glia.

Las propiedades neurotóxicas del glutamato fueron apreciadas por primera vez a finales de los años 60, cuando Olney observó que la administración por vía parenteral de glutamato producía una degeneración masiva en determinados núcleos hipotalámicos y otras regiones cerebrales que no poseían barrera hemato-encefálica. Más tarde, Olney y sus colegas demostraron que la inyección directa de glutamato (o sus análogos) en el cerebro producía daños dramáticos de los cuerpos celulares y las dendritas de las neuronas, no afectando prácticamente a los axones ni a la glia circundante. Como ya se conocía el papel fisiológico excitador del glutamato,

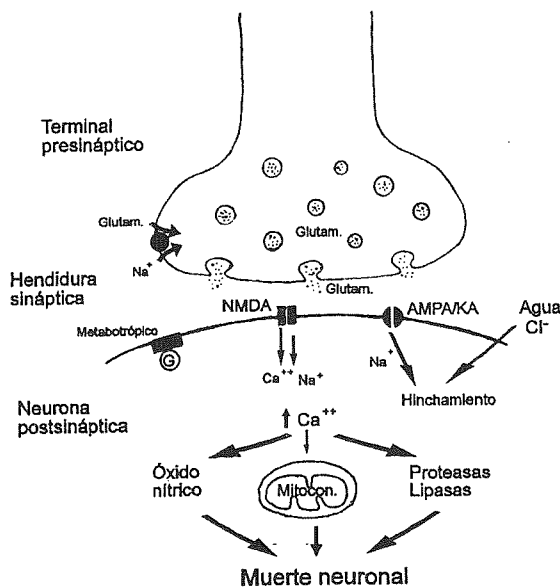
Olney llamó a este fenómeno 'excitotoxicidad'. Al principio, no se prestó demasiada atención al descubrimiento de Olney y sus colaboradores sobre la relación entre el glutamato y la neurotoxicidad. Sin embargo, la producción de neurotoxicidad en primates jóvenes tras la administración oral de grandes cantidades de glutamato, hizo resurgir los trabajos de Olney y planteó serias dudas sobre la práctica, común por aquella época en los Estados Unidos, de añadir glutamato a los alimentos infantiles como 'potenciador del sabor' (finalmente se

BIOLOGÍA CELULAR

GLUTAMATO Y MUERTE NEURONAL EXCITOTÓXICA

Hablar de glutamato en el ámbito del sistema nervioso es como hablar de excitación, ya que este aminoácido es el principal neurotransmisor excitador en el sistema nervioso central de vertebrados. Su acción como transmisor está mediada por diferentes tipos de receptores, denominados comúnmente con las siglas de los análogos sintéticos que se unen selectivamente a ellos y los activan: **AMPA** (α -amino-3-hidroxi-5-metil-5-isoxazolepropionato), **KA** (ácido kaínico) y **NMDA** (N-metil-D-aspartato). La acción específica del glutamato sobre la neurona postsináptica depende del receptor al que se una. Así, la unión del glutamato a los receptores **AMPA/KA** provoca la apertura de canales para el ion sodio, el cual entra en la neurona siguiendo un gradiente electroquímico y produce una despolarización de la membrana postsináptica. Esta acción del glutamato sobre los receptores **AMPA/KA** es muy rápida y de corta duración, debido a que el tiempo que permanece el neurotransmisor en la hendidura sináptica (estrecho espacio extracelular que queda entre el botón presináptico y la membrana postsináptica) es extraordinariamente breve (del orden de milisegundos) y también debido a que el receptor se desensibiliza en cuestión de

milisegundos. El glutamato también puede unirse a los receptores **NMDA** produciendo una acción más lenta sobre la neurona postsináptica. Una propiedad especial del receptor **NMDA** es que su activación provoca la apertura de canales que son muy permeables al ion calcio (además de al sodio), con lo cual entran en la neurona postsináptica cantidades relativamente grandes de calcio a través de esta vía. Además de a estos receptores, el glutamato puede activar a receptores **metabotrópicos** (denominados así, en contraposición a los anteriores o ionotrópicos, porque tienen una acción metabólica en vez de iónica directa). Estos receptores están acoplados a pro-



bajos de Olney y planteó serias dudas sobre la práctica, común por aquella época en los Estados Unidos, de añadir glutamato a los alimentos infantiles como 'potenciador del sabor' (finalmente se

eliminaría el glutamato de los alimentos infantiles, aunque todavía persiste en otros preparados alimenticios).

¿Cómo produce el glutamato la neurotoxicidad? Al principio se pensaba que esta sustancia podía dañar a las neuronas mediante algún tipo de interacción metabólica (recordemos que el glutamato es un metabolito normal en rutas metabólicas intracelulares), aunque ahora parece claro que la toxicidad del glutamato está más relacionada con su acción fisiológica excitadora y que es un mecanismo mediado por receptor. La conexión más obvia entre los aminoácidos excitadores y el daño neuronal es la despolarización (causada por la entrada de iones sodio a través de los canales acoplados a los receptores), aunque hay pocas evidencias de que la despolarización, *per se*, dañe a las neuronas. Sin embargo, la despolarización altera el gradiente electroquímico para los iones cloro, favoreciendo su entrada dentro de las neuronas. Esto crea un desequilibrio osmótico que hace que entre agua en las neuronas, produciendo un edema celular (ver figura). Aunque inicialmente se pensó que esto era el principal factor responsable de la muerte neuronal, actualmente parece claro que las neuronas, al menos en cultivo, toleran la hinchazón durante muchas horas sin morir (este efecto, sin embargo, podría jugar un papel importante *in vivo*, donde el edema podría comprometer el riego sanguíneo y aumentar el daño).

Un factor crítico para iniciar los eventos que conducen a la muerte celular es la entrada de calcio desde el espacio extracelular, siguiendo un gradiente electroquímico (aunque no 'todo' el calcio que entra en la neurona es igualmente perjudicial, algo difícil de comprender). La fuente más 'dañina' de calcio para la mayoría de las neuronas en el sistema nervioso central es la apertura de los canales asociados al receptor NMDA, cuando éste es activado. Una explicación parcial para esta observación es la relativamente alta permeabilidad para el calcio del canal NMDA (al contrario que los canales AMPA/Ka, el canal NMDA tiene una permeabilidad superior para el calcio que para el sodio). Sin embargo, ésta no es la explicación completa ya que otros aminoácidos excitadores pueden abrir canales de calcio, produciendo elevaciones del calcio intracelular equivalentes a las producidas por el glutamato y los receptores NMDA. Por tanto, el calcio que entra en las neuronas a través de los canales NMDA debe tener acceso selectivo a algunos compartimentos especialmente sensibles a sus efectos tóxicos.

Una vez establecida la conexión entre las elevaciones patológicas del calcio y la desintegración celular, el problema estriba en determinar qué mecanismo o mecanismos, activados por el calcio, podrían dañar las neuronas. Lo más razonable sería pensar que no existe un único mecanismo, sino más bien una serie de vías, actuando en serie o en paralelo, que podrían interaccionar para lesionar a las neuronas. La magnitud de la contribución de cualquiera de estos mecanismos podría estar influenciada por múltiples factores incluyendo el tipo de neurona, la edad, la duración de la exposición al glutamato y la reserva metabólica. Algunos de los principales procesos activados por el calcio que podrían participar en el daño excitotóxico serían los siguientes:

1) *Proteasas*. Hay fundadas evidencias de que un grupo de proteasas activadas por el calcio, las calpains, pueden degradar los neurofilamentos (que son responsables del mantenimiento de la integridad del citoesqueleto neuronal). Parece lógico pensar que la activación patológica de estas enzimas iría en detrimento de la viabilidad de las neuronas.

2) *Fosfolipasas*. La estabilidad neuronal requiere que la bicapa lipídica permanezca intacta. Una pequeña remodelación y reparación de la membrana es necesaria para la competencia neuronal, pero una amplia destrucción de la membrana podría amenazar la viabilidad de la célula. Varias fosfolipasas que degradan fosfolípidos de membrana son activados por elevaciones del calcio intracelular. Tanto la propia degeneración de la membrana como sus productos resultantes, los cuales incluyen ácido araquidónico y leucotrienos, pueden tener efectos dañinos sobre las neuronas.

3) *Óxido nítrico*. El óxido nítrico se sintetiza en muchos órganos, incluyendo el cerebro, por una enzima dependiente de calcio, la sintasa del óxido nítrico. Algunos investigadores han mostrado que la inhibición de esta enzima puede proteger a las neuronas de la toxicidad del glutamato y NMDA. Éstos sugieren que el óxido nítrico producido en algunas neuronas difundiría hacia otras neuronas vulnerables, matándolas. El panorama en este caso es más complicado, ya que recientemente se han descrito dos especies diferentes de óxido nítrico, una que contribuiría al daño neuronal, mientras que la otra tendría un papel protector al bloquear el receptor NMDA.

4) *Daño mitocondrial*. La entrada de calcio incrementa la actividad de algunas enzimas mitocondriales, incluyendo el complejo piruvato deshidrogenasa. Actualmente hay evidencias de que la exposición a concentraciones excesivamente altas de calcio colapsa el potencial de membrana mitocondrial, lo cual podría tener un papel en la muerte excitotóxica.

Las condiciones clínicas agudas asociadas más estrechamente con la excitotoxicidad son la isquemia/hipoxia y el ataque cerebral. En tales condiciones hay un fallo en la eliminación del glutamato extracelular, el cual se acumula de forma tóxica. La administración de fármacos antagonistas del glutamato puede atenuar los daños neuronales producidos tras el ataque, y así minimizar el daño, pero hay pocas oportunidades de intervenir de forma preventiva, ya que la utilización de tales antagonistas podría interferir de forma significativa con la neurotransmisión excitadora normal.

J.C. Dávila (Profesor Titular de Biología Celular).

PALEONTOLOGÍA

EL MEDITERRÁNEO EN EL PLIOCENO, ¿UN MAR TROPICAL?

El *Mare Nostrum* ha sido, desde tiempos históricos, una importante vía de comunicación y comercio de bienes e ideas entre los pueblos diseminados por su rivera. Por su tamaño, se puede considerar como un océano a escala humana, de aguas azules y raramente embravecidas. Desde un punto de vista oceanográfico, se trata de un mar oligotrófico, cuyo balance hídrico resulta negativo, pues las pérdidas por evapora-

ción rebasan ampliamente las ganancias por precipitaciones y aportes fluviales, de forma tal que sin la compensación que supone la entrada de aguas atlánticas por el estrecho de Gibraltar se ha calculado que esta cuenca se desecaría en tan sólo 1.500 años. Las aguas del Mediterráneo están bien oxigenadas, su salinidad oscila en torno al 38,5‰, la temperatura de sus capas profundas se encuentra relativamente constante en