

La base biológica de este proceso consiste en un control genético, siendo en muchos casos determinado por un locus simple (denominado locus S) con un gran número de alelos [de Nettancourt, *íbd.*]. Aunque existen sistemas más complejos determinados por varios loci. Si bien existen diversos tipos de sistemas de autoincompatibilidad, algunos de ellos aún no bien definidos, los casos estudiados en mayor detalle hasta la fecha son el Sistema de Autoincompatibilidad Gametofítica (SI gametofítico) en miembros de la familia Solanaceae y el Sistema de Autoincompatibilidad Esporofítica (SI esporofítica) en la familia de las crucíferas (Brassicaceae). La diferencia entre ambos radica en que mientras que en el primero el fenotipo SI del polen es determinado por su propio genotipo S haploide, en el segundo las características de autoincompatibilidad del polen viene determinada por el genotipo S diploide de la planta productora del mismo. En consecuencia un grano de polen con genotipo haploide  $S_2$  producido por una planta con genotipo  $S_1S_2$  será compatible con el pistilo de una planta con genotipo  $S_1S_3$  en el sistema gametofítico, pero no en el esporofítico. Cada uno de los números representa un alelo diferente del locus S.

En angiospermas la fecundación se inicia con la llegada del polen al pistilo, depositándose sobre la superficie de la estructura receptora, denominada estigma. Una vez allí se producen una serie de sucesos que conllevan la hidratación del grano de polen y su germinación, desembocando en la formación y crecimiento del tubo polínico que atraviesa el estigma y progresa en el estilo a través de filas longitudinales de células hasta alcanzar el ovario. En la mayor parte de los SI gametofíticos el grano de polen incompatible germina normalmente sobre el estigma, el tubo polínico se desarrolla hasta que en algún punto del estilo su crecimiento es inhibido y termina muriendo. En cambio, en el sistema esporofítico el fenómeno de incompatibilidad es más drástico quedando detenido el proceso sobre la superficie del estigma.

Todo esto nos lleva a pensar que el problema de la autoincompatibilidad se basa en un proceso de reconocimiento y respuesta entre la estructura masculina (grano de polen) y femenina (pistilo) que intervienen en el apareamiento.

En la actualidad se está empezando a conocer los factores y mecanismos moleculares implicados en estos procesos que determinan la posibilidad de cruzamiento en plantas con flores. Al igual que en otros muchos aspectos de la

Biología Vegetal la aplicación combinada de técnicas Bioquímicas, Citológicas, Genéticas y de Biología Molecular son especialmente fructíferas. Como es de suponer, los estudios en ambos tipos de SI se han centrado en dilucidar la naturaleza y función de los productos codificados por el locus S.

En el SI gametofítico se inició con la observación de que extractos de pistilos contenían ciertas glicoproteínas, las cuales se asociaban a un genotipo S concreto. La purificación y secuenciación parcial de una de ellas a partir de extractos de *Nicotiana glauca* [Anderson et al., *Nature* **321**, 38 (1986)] permitió el diseño de sondas de ácidos nucleicos, con las cuales se aislaron cDNAs que codificaban distintas especies de la glicoproteína de *N. glauca*, así como de otras solanáceas. La comparación de todas las estructuras primarias deducidas reveló que a pesar de la gran variabilidad que mostraban existían unas pequeñas regiones, incluyendo dos residuos de histidina y ocho de cisteína, idénticos en todas ellas.

Los análisis conjuntos empleando la hibridación de DNA genómico, estudios de polimorfismo en los patrones de restricción (RFLP) y experimentos de cruce convencionales han permitido determinar que cada uno de los cDNAs clonados corresponden a un alelo diferente del locus S [Anderson et al., *Plant Cell*, **1**, 483 (1989)]. Es por ello, por lo que actualmente se habla de glicoproteínas-S.

Un grupo interesado en las ribonucleasas de hongos [Kawata et al., *Eur. J. Biochem.*, **198**, 1 (1990)] señaló que la glicoproteína-S<sub>2</sub> compartía dos cortas regiones de homología con la secuencia correspondiente a la RNasa

fúngica. Esta similitud no pasó inadvertida para los investigadores interesados en los sistemas SI, especialmente cuando se comprobó que dichas regiones se correspondían con las secuencias que rodean los dominios catalíticos de la ribonucleasa e incluía los residuos de histidina conservados que son esenciales para la actividad enzimática, así como cinco de los ocho residuos de cisteína conservados. Este hallazgo fue extendido a otras glicoproteínas-S de *N. glauca* y estudios bioquímicos confirmaron dicha actividad RNasa [McClure et al., *Nature*, **342**, 955 (1989)].

Análisis inmunocitoquímicos y de hibridación "in situ" han demostrado que los productos del locus S se acumulan principalmente en la superficie del estigma y en la matriz extracelular de las líneas de células que constituyen la parte interna del estilo. De esta forma, el tubo polínico en su avance hacia el ovario no puede evitar entrar en contacto con las glicoproteínas-S con actividad RNasa. Diversos estudios realizados apoyan fuertemente la idea de que las glicoproteínas-S actuarían degradando el RNA del tubo polínico incompatible [McClure et al., *Nature*, **347**, 757 (1990)], el cual no podría responder a este ataque dado que los genes para los rRNA no son transcritos en el polen [Mascarenhas, *Plant Cell*, **5**, 1303 (1993)], causando así la muerte del mismo. Sin embargo, se desconocen los procesos que conducen a que la degradación ocurra sólo en tubos polínicos con fenotipos incompatibles y no en los compatibles.

F. R. Cantón (Becario de Investigación)

## BIOLOGÍA ANIMAL

### FIBROSIS QUÍSTICA Y CÓLERA. LAS VENTAJAS DE UNA MUTACIÓN LETAL

En el número 2 de *Encuentros en la Biología* (noviembre, 1992), comentábamos las investigaciones genéticas sobre la fibrosis quística, la enfermedad hereditaria fatal más común en poblaciones blancas de entre las autosómicas y recesivas. Uno de cada 2.500 nacidos sufre la enfermedad, que se manifiesta por mucosidades espesas, obstrucción intestinal y pancreática, y problemas respiratorios que suelen acortar mucho la esperanza de vida.

En aquel artículo se describía la lar-

ga marcha hasta la identificación del gen implicado en la fibrosis quística. Se trataba de un gen codificante para un canal iónico transmembranario, responsable del transporte extracelular de cloro (el canal CFTR, por Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator). La mayor parte de los enfermos de fibrosis quística presentan una delección de tres bases que origina la pérdida de un aminoácido y el mal funcionamiento del canal del cloro. Como consecuencia, las secreciones epiteliales están poco

hidratadas y provocan los graves efectos antes citados.

El cólera es producido por la invasión del intestino delgado por la bacteria *Vibrio cholerae*. La toxina de este microorganismo provoca un flujo masivo de agua e iones cloro y sodio desde el epitelio intestinal hasta la luz del tubo digestivo, lo que se manifiesta en una grave diarrea que puede ser fatal si no es controlada. Es curioso como cólera y fibrosis quística están relacionados de forma opuesta por la función del canal iónico CFTR. En el caso de la fibrosis quística el problema estriba en su falta de función y en el del cólera en su actividad excesiva.

¿Qué pasa en los individuos heterocigotos que llevan una copia normal y una copia mutada del gen? Se pensaba que quizá tuvieran una menor cantidad de canales CFTR y que esto podría proteger contra los efectos del cólera, al estar más limitado el flujo extracelular de cloro. ¿Cómo puede ponerse a prueba esta hipótesis?

En nuestro artículo mencionábamos el desarrollo de un modelo animal para el estudio de la fibrosis quística. Se trataba de una cepa de ratones cuyo gen *CFTR* había sido alterado mediante ingeniería genética. Los ratones *CFTR*(-/-) morían hacia los treinta días del nacimiento a causa de un cuadro similar a la fibrosis quística en humanos. Los heterocigotos eran aparentemente normales. Pues bien, el mismo equipo que desarrolló este

modelo animal en la Universidad de Carolina del Norte lo ha utilizado para comprobar la hipótesis descrita antes [Gabriel et al., *Science*, **266**, 107 (1994)]. Los resultados mostraron que los ratones heterocigotos *CFTR* (+/-) produjeron la mitad de secreción intestinal que los ratones control a iguales dosis de toxina colérica. Dicho de otra forma, los ratones con una copia mutada del gen *CFTR* resistían mejor los efectos de una infección colérica que los ratones normales.

¿Qué consecuencia tiene esto? Probablemente estén aquí las razones de la relativamente alta frecuencia de la fibrosis quística en nuestras poblaciones. La resistencia de los heterocigotos a las infecciones intestinales puede haberles proporcionado una ventaja reproductiva respecto a los no portadores de la mutación, incrementando así la frecuencia de los alelos defectuosos en la población. No es el único caso conocido en que un defecto genético humano es, a la vez, beneficioso y perjudicial. Algo muy similar ocurre con la alta frecuencia de la anemia falciforme en poblaciones de raza negra. La mutación responsable de la enfermedad, y que se produce en el gen de la hemoglobina, origina una grave enfermedad en homocigosis, pero en heterocigosis protege contra la malaria.

**R. Muñoz-Chápuli (Profesor Titular de Biología Animal).**

con amonio por la actividad del enzima glutamina sintetasa da lugar a glutamina. La glutamina es transportada hasta las neuronas donde éstas volverán a sintetizar GABA o glutamato. Si bien hasta ahora sólo se ha probado la existencia de este metabolismo parcial para el glutamato y el GABA, se conoce la existencia en los astrocitos de receptores para muchos otros neurotransmisores, indicando que los astrocitos son capaces de entender el lenguaje químico producido por las neuronas.

Otra función que realizan estas células gliales es el mantenimiento del equilibrio iónico en el ambiente extracelular que rodea a las neuronas. Los astrocitos responden a los elevados niveles transitorios de  $K^+$  o  $Cl^-$ , liberados al espacio extracelular como consecuencia de la actividad nerviosa, retirando dichos iones y restableciendo el medio externo de las neuronas.

Por otro lado, los astrocitos están implicados en el desarrollo cerebral: forman un red estructural a modo de andamio por el cual las neuronas se desplazan durante el desarrollo. Se ha comprobado que los astrocitos sintetizan y liberan factores neurotróficos (sustancias necesarias para la supervivencia y mantenimiento neuronal) tales como el factor de crecimiento nervioso (NGF) y el factor neuronal derivado de la glia (GDNF). Esta capacidad de estimular el crecimiento de las neuronas podría estar relacionado con el restablecimiento de conexiones interrumpidas tras una lesión cerebral no demasiado drástica. Los astrocitos responden a una lesión dividiéndose y formando una cicatriz.

Una actividad adicional llevada a cabo por los astrocitos es la de inducir la formación de la barrera hematoencefálica, barrera que 'filtra' selectivamente las sustancias que pasan desde la circulación sanguínea al sistema nervioso o viceversa. En un principio, se creía que dicha barrera estaba constituida por los pies terminales de los propios astrocitos, los cuales rodean a las células endoteliales de los vasos sanguíneos. Se ha demostrado que este concepto es erróneo. La barrera está formada por las propias células endoteliales que actúan seleccionando las sustancias que deben entrar o salir del tejido nervioso. La implicación de los astrocitos radica en inducir la formación de las uniones estrechas que 'sellan' los espacios intercelulares, impidiendo de esta forma el paso de moléculas entre células endoteliales adyacentes, lo que constituye la base estructural de la barrera hematoencefálica.

Se sabe que las células gliales son

## BIOLOGÍA CELULAR

### OTROS "TRABAJADORES" DEL CEREBRO

En un número anterior de *Encuentros en la Biología* (véase E.B nº 17, Octubre 1994) se trataba un tipo celular perteneciente a la glia: la microglia o células de Hortega, y su papel al actuar como 'basureros' del cerebro. En esta ocasión, abordaremos otro tipo de célula glial, los astrocitos, y la importancia que tienen como participantes activos en la fisiología del cerebro.

Los astrocitos, como su propio nombre indica, son células de aspecto estrellado. Entre sus características citológicas destacan las expansiones citoplasmáticas que en los extremos se dilatan formando los denominados pies terminales, y la naturaleza exclusiva de su citoesqueleto, formado especialmente por una proteína conocida como proteína glial fibrilar ácida (GFAP). Lo más llamativo, sin embargo, ha sido el descubri-

miento, en la pasada década, de que los astrocitos son íntimos compañeros de sus vecinas las neuronas, suministrando nutrientes esenciales para la actividad neuronal y colaborando en la transmisión de las señales neuronales mediante la captación de iones y neurotransmisores.

Se ha demostrado que los astrocitos intervienen en el metabolismo de, al menos, dos neurotransmisores: el glutamato y el ácido g-aminobutírico (GABA). Cuando hay una liberación de estos neurotransmisores en las sinapsis (estructuras especializadas en la transmisión de señales entre neuronas), y tras su acción sobre la célula postsináptica, deben ser retirados para que no interfieran en la actividad neuronal subsiguiente. Pues bien, en este 'reciclaje' intervienen los astrocitos, que captan estos neurotransmisores transformando el