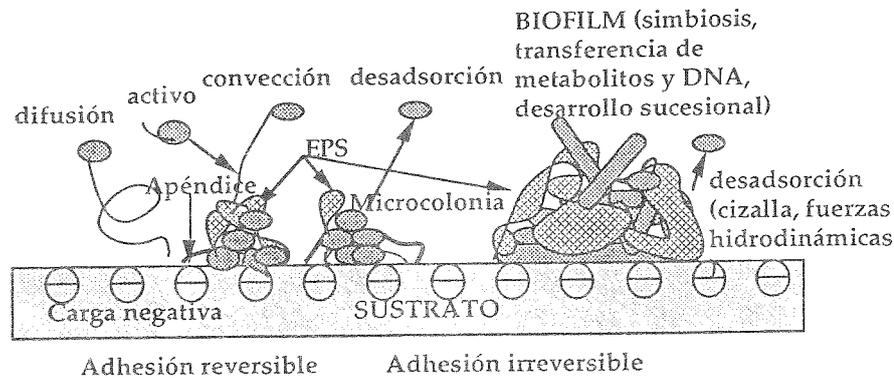


célula es mayor que la del líquido.

La adhesión reversible implica un continuo intercambio de células libres y fijadas, dificultando la distinción entre actividad de células adheridas y libres. La tasa de intercambio disminuye con el aumento de la fuerza de la adhesión



(adhesión irreversible). El proceso fundamental que permite a las bacterias la formación del biofilm es la adhesión bacteriana a las superficies de los soportes. Porque su pequeño tamaño, su baja densidad, su carga neta negativa, y diferentes grados de hidrofobicidad de su superficie, proponen a las bacterias como partículas coloidales vivas. De acuerdo con la teoría coloidal las bacterias pueden ser repelidas electrostáticamente de las superficies a muy bajas concentraciones de electrolitos. A altas concentraciones o valencias, sin embargo, fuerzas de largo alcance de van der Waals pueden superar las fuerzas de repulsión a distancias de 10-20 nm desde la superficie, atrayendo a la bacteria hacia la superficie. El contacto a nivel molecular entre superficie-bacteria puede establecerse por sustancias poliméricas extracelulares (EPS) producidas por la bacteria. Los EPS no están sujetos al mismo grado de repulsión, pudiendo formar puentes entre bacteria y superficie (puentes poliméricos) mediante diversas interacciones: electrostáticas, covalentes, puentes de hidrógeno, interacciones dipolo-dipolo, dipolo-dipolo inducido, ión dipolo e interacciones hidrofóbicas. De esta forma la misma cepa bacteriana, puede adherirse con diferente grado de fuerza adhesiva al sustrato con diferentes propiedades superficiales, porque diferentes tipos de fuerzas de corto alcance están involucradas.

La formación de los biofilms

bacterianos ha sido estudiada desde hace 65 años. La adhesión bacteriana está extendida de manera universal en sistemas naturales e ingenieriles [Hsieh et al., *Biotechnol. and Bioengn.*, 44: 219, (1994)]. Los biofilms pueden crear problemas en sistemas de ingeniería, al

superficie del soporte; 2) transporte de las bacterias hacia la superficie; 3) adhesión al material inerte de las bacterias o a otras células (adhesión reversible, seguida de adhesión irreversible, debido a la acción de expolímeros, o desadsorción debido a las fuerzas de cizalla); 4) elaboración de estructuras de EPS que aseguran la integridad del biofilm (adhesión irreversible); 5) desarrollo del biofilm resultado del crecimiento microbiano; 6) desadsorción de partículas del biofilm producidas por las fuerzas de estrés de cizalla del fluido. El crecimiento neto del biofilm es resultado de un balance entre la colonización microbiana y la multiplicación. Unas condiciones adecuadas de crecimiento son esenciales para un óptimo desarrollo del biofilm [Characklis, W.G. y Marshall, K.C., Eds., *Biofilms*, (1990)]. Los biofilms multiespecíficos están formados por una mezcla de poblaciones bacterianas dentro de una matriz extracelular unida al sustrato. Esta mezcla de poblaciones adherentes están sujetas a interacciones tales como simbiosis o competición por el espacio o un sustrato común; tales interacciones están directamente influenciadas por diversas variables asociadas con el ambiente que las rodea. La distribución espacial microbiana está seleccionada por procesos tales como: intercambio de especies con la fase líquida; eficiencia en la transformación metabólica de sustratos limitantes a biomasa celular viable y polímeros extracelulares; transporte de sustratos limitantes y nutrientes esenciales por mecanismos de transferencia molecular y convectivos; procesos de desadsorción del biofilm a través de mecanismos fisiológicos o como resultado de fuerzas hidrodinámicas. [Bryers, J.D., *Biofouling*, 6: 363, (1993)].

J. M. Sánchez García (Becario de Investigación) y R. Pérez Recuerda (E.M.A.S.A., Málaga).

PALEONTOLOGÍA

SELECCIÓN DE PRESAS EN EL REGISTRO FÓSIL

Los depósitos lacustres del Pliocuaternario de la región de Orce (Granada) se cuentan entre los más importantes de Eurasia por la abundancia, diversidad y excelente estado de conservación de su fauna fósil de grandes mamíferos, así como por el hallazgo en los mismos de las primeras evidencias de ocupación humana en Europa, en edades compren-

didas entre 1,9 y 0,8 millones de años [INVESTIGACIÓN Y CIENCIA, diciembre de 1994]. El yacimiento de Venta Micena, el más importante excavado sistemáticamente hasta la fecha, se formó hace aproximadamente 1,65 m.a. en una zona de charcas de agua dulce, situadas en torno al lago que por aquel entonces existía en Orce. En él se han

recuperado más de 15.000 restos fósiles, dentales y no dentales, pertenecientes a 21 especies de macromamíferos.

Desde un punto de vista tafonómico, el análisis de la relación tamaño/abundancia en los ungulados de Venta Micena ha permitido poner de manifiesto que la estructura original de la paleocomunidad se conservó en gran parte durante la fosilización y que las principales pérdidas de información se produjeron debido a los procesos de meteorización en superficie de los huesos, en la etapa previa a su enterramiento, afectando más a las especies con dimensiones corporales reducidas. Por otra parte, el estudio de las proporciones en las que se hallan representados los diferentes elementos esqueléticos en este yacimiento, frente a las encontradas en diversos tipos de acumulaciones óseas, indica que Venta Micena se formó como consecuencia de la acumulación por las hienas de los huesos en un contexto próximo a sus cubiles de cría.

Uno de los aspectos más interesantes de los estudios paleoecológicos y paleoetológicos que se vienen desarrollando durante los últimos años sobre el material fósil extraído de este yacimiento lo constituye el análisis de las relaciones interespecíficas que se dieron en el seno de la paleocomunidad, como es el caso de las motivadas por los fenómenos de predación. Así, se han encontrado una serie de indicios que indican que los carnívoros ejercían un fuerte control sobre las poblaciones de ungulados presa, en función de la edad, tamaño, sexo y condiciones físicas de los ejemplares abatidos.

El más importante de tales indicios se ha obtenido a partir del estudio de los porcentajes de individuos infantiles en los que se encuentran representadas las especies de ungulados en la asociación fósil. La proporción de ejemplares jóvenes en una población depende de la tasa de natalidad (T_n), que se relaciona de manera inversa con el peso (P) de los individuos adultos de la especie ($T_n \propto P^{-0.25}$), y de la duración de la infancia (D_i), que se relaciona directamente ($D_i \propto P^{0.25}$); ambos factores se compensan entre sí, de forma que dicha proporción es constante e independiente del tamaño corporal. Por el contrario, en Venta Micena el porcentaje de individuos infantiles de las diferentes especies de ungulados, calculado a partir del análisis de la dentición decidual, muestra una tendencia muy significativa a aumentar conforme a las dimensiones estimadas en cada especie para los ejemplares adultos, lo que indica que la predación se centraba fundamentalmente sobre los individuos jóve-

nes, más vulnerables, en el caso de aquellas especies de mayor tamaño, como el hipopótamo (*Hippopotamus major*) y el elefante (*Mammuthus meridionalis*). Así, esta última se encuentra representada en la asociación por un número mínimo de 5 individuos, de los cuales 4 (el 80%) eran infantiles y el restante sería un adulto senil, con los molares desgastados, que probablemente pereció de inanición, siendo posteriormente carroñado por las hienas y los homínidos; el peso corporal de este ejemplar, estimado en 9,5-10 toneladas a partir del perímetro de la sección de las diáfisis del húmero y el fémur, garantizaría que en vida fuese inaccesible a los predadores, por lo que éstos debían actuar exclusivamente sobre los individuos más jóvenes. En el caso del hipopótamo, con un peso calculado en torno a 3000 kg, 3 de los 5 individuos (el 60%) son infantiles y 2 adultos. En cambio, las especies de menor tamaño, como la cabra (*Capra alba*) y el ciervo pequeño (*Cervidae*, gen et sp. indet.), con pesos estimados de 75 y 95 kg, respectivamente, tienen los menores porcentajes de infantiles (aproximadamente el 15% en ambos casos: 2/12 y 3/17), mientras que las especies de dimensiones medias, como el caballo (*Equus cf. altidens*; 350 kg) o el ciervo grande [*Megaloceros (Megaceroides) solihacus*; 380 kg], muestran proporciones de ejemplares jóvenes igualmente intermedias: el 46% (32/70) y el 42% (15/36), respectivamente.

Así, estos datos permiten deducir que la acumulación original de los huesos en Venta Micena se produjo, exclusivamente, como consecuencia de la mortalidad ocasionada gradualmente por los carnívoros sobre las poblaciones de ungulados presa, pudiéndose descartar entonces que los restos proviniesen de los posibles episodios de mortandad catastrófica que se producirían durante los períodos recurrentes de sequía, ya que bajo ese último supuesto la proporción de individuos infantiles no se incrementaría conforme al tamaño corporal de las especies, sino que permanecería relativamente constante.

Esta hipótesis se encuentra, además, avalada por el hallazgo de abundantes huesos de caballo, ciervo y búfalo (*Bovini cf. Bubalus*), que muestran indicios de osteopatologías severas, las cuales afectarían a la capacidad de locomoción de los animales, disminuyendo notablemente sus posibilidades de escapar frente a los predadores. Entre ellas, destacan varios casos espectaculares de artrosis en las epífisis distales de los metapodios, sobrecrecimientos óseos

importantes en las diáfisis y diversos tipos de anomalías en las facetas articulares de las epífisis proximales. El porcentaje de individuos afectados se ha estimado en aproximadamente un 30%, proporción que resulta muy alta si se la compara con la escasa incidencia de estas patologías en las poblaciones salvajes de ungulados modernos, lo que indica claramente que estos ejemplares con condiciones físicas disminuidas eran seleccionados de forma activa por los carnívoros.

Una tercera evidencia la constituye el análisis de la proporción en la que se encuentran representados ambos sexos en el búfalo de Venta Micena. Estos grandes rumiantes, con un peso estimado de 370-750 kg, mostraban un marcado dimorfismo sexual en el tamaño de los metacarpianos, lo que ha permitido estimar las proporciones de machos y hembras en la asociación fósil: 26% y 74%, respectivamente (esto es, aproximadamente 1:3). Tal diferencia sugiere que los predadores seleccionaban a las hembras por su menor tamaño, así como debido a la ausencia de cuernos en los ejemplares de este sexo, carácter que resulta muy primitivo en los bóvidos.

Finalmente, un aspecto de difícil resolución por el momento lo constituye el establecer cuál sería el principal predador de esta paleocomunidad. Así, en la asociación fósil se han preservado cuatro especies de grandes carnívoros: un tigre con dientes en forma de sable de considerables dimensiones (*Homotherium latidens*), con un peso medio calculado en 250 kg, un félido con caninos en forma de puñal de tamaño similar al leopardo (*Megantereon whitei*; 55 kg), una gran hiena (*Pachycrocuta brevirostris*; 70-120 kg) y un cánido semejante al moderno licaón [*Canis (Xenocyon) falconeri*; 30 kg]. De ellas se puede descartar, en principio, al machairodontino de menor tamaño, pues si se considera que sus hábitos de caza serían similares a los del leopardo, no debía entonces capturar presas de tamaño significativamente superior al propio. Respecto a los ungulados de mayor peso (≥ 1000 kg), como el rinoceronte (*Stephanorhinus etruscus*; 1500 kg), el hipopótamo y el elefante, los únicos predadores capaces de abatirlos serían las hienas y, sobre todo, los grandes félidos con dientes de sable, ya que actualmente sólo los leones y las hienas manchadas pueden predear ejemplares jóvenes o gravemente enfermos de especies con tales dimensiones corporales. Para los restantes ungulados, los candidatos idóneos parecen ser los cánidos, en función de la alta frecuencia de osteopatologías detecta-

da, pues presumiblemente debían perseguir sus presas a la carrera durante largas distancias, hasta conducir las al agotamiento, tal y como hacen hoy en día los perros salvajes africanos, efectuando entonces una alta selección so-

bre los ejemplares que presentasen deficiencias locomotrices.

P. Palmqvist (Profesor Titular de Paleontología)

BIOQUÍMICA

¿CÓMO MODULAN IN VIVO LAS POLIAMINAS LA DINÁMICA DE LAS MACROMOLÉCULAS?

Es bien conocido que las poliaminas: putrescina, espermidina y espermina, son metabolitos catiónicos sintetizados por descarboxilación de aminoácidos precursores (ornitina o arginina, y metionina) que modulan la dinámica de las macromoléculas. Debido a su carácter básico y a la naturaleza hidrofóbica de su esqueleto carbonado, interactúan con los grupos ácidos e hidrofóbicos de los ácidos nucleicos, y proteínas (y componentes de membrana) modificando su configuración. Esta circunstancia explica que moléculas de 90-200 g/mol influyan de forma determinante en la función biológica de macromoléculas de varios miles o millones de masa molecular, puesto que sólo en presencia de las concentraciones adecuadas de estos iones las macromoléculas adquieren su configuración activa (Figura 1). Concentraciones inferiores a las óptimas bloquean la viabilidad celular y, por el contrario, un exceso intracelular de poliaminas resulta también tóxico para la célula puesto que pueden, por exceso, favorecer una nueva conformación inactiva de las macromoléculas. El carácter esencial de las poliaminas para la viabilidad, proliferación, y diferenciación celular se mantiene a lo largo de toda la escala filogenética.

La concentración óptima de poliaminas es función específica de cada tipo celular. Así las células en fases de crecimiento activo presentan unos óptimos de poliaminas elevados, en consonancia con la alta actividad de la biosíntesis de macromoléculas. Así por ejemplo, las células cancerosas suelen presentar una alta concentración de poliaminas en comparación con las concentraciones de células quiescentes; recíprocamente, cuando se activan las vías de producción de poliaminas en células normales, ocurre a medio plazo una transformación del fenotipo celular, de manera que los cultivos adquieren características de células transformadas (cambio de la morfología, pérdida de inhibición

por contacto, capacidad de crecimiento en colonias aisladas, etc). En el caso de las poliaminas derivadas directamente de ornitina y metionina (ver figura), todos estos efectos han sido estudiados a nivel molecular en los últimos años [Wallace, H.N. *Biochem. Soc. Trans.*, **22**, 845 (1994)], y pueden resumirse en los siguientes puntos:

- Favorecen la transición B-DNA a Z-DNA de secuencias alternantes de purinas y pirimidinas, lo que tiene una particular importancia en la transcripción de algunos genes dependientes de un cambio conformacional de este tipo en las secuencias reguladoras de su expresión.

- Estabilizan la carga negativa de dos grupos fosfóricos de los surcos mayor y menor consecutivos, aproximándolos más de lo normal (3A). Favorecen la condensación del DNA y, por tanto, la formación del nucleosoma, la condensación cromosómica y la organización de partículas virales.

- Estabilizan las estructuras bicatenarias de los RNAs tanto transferentes, como ribosomales o mensajeros. Participan en la traducción de proteínas aumentando la tasa de fidelidad en la traducción y promoviendo la agregación de subunidades ribosomales protegiéndolas frente a la disociación durante la traducción de mensajeros. De hecho, los preparados comerciales para la síntesis *in vitro* de proteínas contienen espermidina, catión esencial para reproducir en un tubo de ensayo este proceso biosintético. En procariontes, la espermidina favorece la unión de la fMet-tRNA^{fMet} al ribosoma. Además, la espermidina es el precursor metabólico de la hipusina, poliamina presente en el factor de iniciación eucariota eIF-4D. En definitiva, las poliaminas son esenciales para la iniciación y elongación de la biosíntesis de proteínas, tanto en procariontes como eucariotes.

- Las poliaminas asociadas a membranas reducen las fuerzas de repulsión entre las cargas negativas de los compo-

nentes de membrana, estabilizando su estructura. Así se ha observado que protegen los protoplastos bacterianos frente a lisis, previenen la hemólisis de eritrocitos y reticulocitos y promueven la agregación y fusión de membranas lisosomales. Estas interacciones con las membranas biológicas tienen una trascendencia directa sobre los mecanismos de transporte de metabolitos a los distintos compartimentos y la energética celular.

- Finalmente, se ha detectado un sitio de unión específico al complejo receptor del N-metil-D-aspartato (NMDA) de cerebro de rata. Las poliaminas se comportan como agonistas modulando la transmisión sináptica. Lo cual implica a las poliaminas también en patologías neurodegenerativas, como la enfermedad de Alzheimer, la epilepsia y la isquemia cerebral.

¿Cuál es la actividad enzimática limitante de la biosíntesis de putrescina, espermidina y espermina? La ornitina descarboxilasa (ODC, EC 4.1.1.17, nº 1 en la figura adjunta) suele ser la proteína cuya actividad limita en un mayor número de circunstancias la biosíntesis de poliaminas; y por tanto, es considerada como el blanco de acción de muchas líneas de I+D de fármacos antiproliferativos, cuyo objetivo es bloquear la biosíntesis de estas pequeñas biomoléculas, y en consecuencia, la proliferación de una amplia gama de organismos y tipos celulares que provocan daños económicos y sociales de importancia: malaria, enfermedades graves en enfermos inmunodeficientes, disminución de los rendimientos de las cosechas vegetales, cáncer, etc.) [McCann, P.P. y Pegg, A.E. *Pharmac. Ther.*, **54**, 195 (1992)]. Los tratamientos con inhibidores de ODC se están utilizando contra:

- Infecciones víricas y bacterianas.

- Hongos patógenos de plantas y animales: *Pneumocystis carinii*, *Cryptococcus neoformans*, *Botrytis cinerea*, etc.

- Protozoos patógenos, especialmente de los géneros *Trypanosoma*, *Leishmania*, *Plasmodium*, *Cryptosporidium*, etc.

- Células tumorales: en quimioterapia y quimioprevención, normalmente en combinación con otros agentes antitumorales.

¿Cuáles son las características moleculares de la ODC que podrían ser utilizadas en el desarrollo de fármacos inhibidores? En primer lugar, dado su mecanismo de reacción (descarboxilación de ornitina) dependiente de PLP, los residuos directamente implicados en la unión del aminoácido, del coenzima y