

ENCUENTROS EN LA
BIOLOGÍA es editado por:

Editor ejecutivo
Salvador Guirado

Comité editorial
Ramón Muñoz-Chápuli
Antonio de Vicente
José Carlos Dávila
Francisco Cánovas
Francisca Sánchez Jiménez
Luis Javier Palomo

**Colaboradores en este
número**
Juan Jiménez

2 Aspectos celulares y
moleculares de la muco-
viscidosis
Noticias breves

3 Evolución molecular de
los félidos
Muerte celular progra-
mada
Noticias breves

4 Noticias breves
Calendario

ENCUENTROS EN LA BIOLOGÍA

AÑO 1, NÚMERO 2, NOVIEMBRE 1992.

LOS GENES QUE NO TIENEN TIEMPO

Uno de los problemas biológicos que ha tenido ocupado durante décadas a los investigadores es conocer el mecanismo por el que de una sola célula se puede desarrollar todo un organismo con células y tejidos tan diferentes. Un óvulo fecundado inicia un programa genético perfectamente diseñado para que esto ocurra y para que, en una secuencia ordenada de divisiones y diferenciación, las células vayan dando forma a un nuevo ser.

Para estudiar cómo está organizado ese programa genético, conocer cuáles son esos genes, cómo se regulan, y qué función codifican, la mosca del vinagre, *Drosophila melanogaster*, es el organismo modelo que los investigadores eligieron hace tiempo. Hoy día, esta mosca es la gran estrella del desarrollo.

En un óvulo fecundado de *Drosophila* se producen inicialmente diez divisiones celulares muy rápidas, una cada ocho minutos, y posteriormente las divisiones se ralentizan y ya la división número catorce (y posteriores) llega a durar más de sesenta y cinco minutos. Algo después de estas divisiones, en el embrión ya se distinguen unos patrones, unos grupos de células, que ya están predeterminadas y tienen el potencial de formar tejidos y órganos diferentes.

A nivel molecular, se sabe que ese patrón que se origina en el desarrollo temprano de *Drosophila* está originado, entre otros factores, por una expresión diferencial de genes regulados a nivel de transcripción a lo largo del tiempo y del espacio. Es decir, en un momento determinado del desarrollo se expresan algunos genes diferentes a los que se expresan en otro estado anterior o posterior del desarrollo.

En un número reciente de la revista *Nature*, Rothe et al. [Rothe et al., *Nature*, **359**, 156 (1992)] han postulado una idea, tremendamente sencilla y efectiva, para poder explicar cómo unas células que se dividen durante el desarrollo puedan expresar unos genes y no otros. Estos autores opinan que existen genes tan grandes que sencillamente no tienen tiempo de expresarse cuando la célula se divide muy rápidamente. La RNA polimerasa, enzima responsable de la transcripción, puede copiar moléculas de RNA a una velocidad

de 1.5 kb/minuto en *Drosophila* a 27°C. En estas condiciones se tardaría nada menos que veintidós horas en transcribir una molécula de un gen tan enorme como el responsable de la distrofia muscular, de 2000 kb.

Las células se dividen alternando mitosis e interfases. La transcripción sólo puede ocurrir en interfase, porque en mitosis el DNA está tan compactado, en forma de cromosoma mitótico, que no puede ser transcrito. Es razonable pensar que durante las primeras divisiones del desarrollo sólo los genes pequeños tienen tiempo de completar con éxito su transcripción. Genes de tamaño muy grande pueden iniciar la transcripción, pero la mitosis llega prematuramente para ellos e impide que se complete y que se produzca un RNA funcional.

Los autores del trabajo antes mencionado han demostrado esta observación para dos genes muy parecidos: uno conocido como *knirps*, de 3kb, y otro relacionado, de origen evolutivo común, pero que la aparición de intrones hace que tenga 23 kb. El gen de 3 kb tiene tiempo de transcribirse durante la corta interfase y se expresa desde la primera división embrionaria. El gen de 23 kb sólo se expresa funcionalmente a partir de la división 14, donde la RNA polimerasa dispone ya de más de 16 minutos, tiempo mínimo necesario para completar la transcripción. Lo sorprendente es que cuando ellos, por ingeniería genética, eliminan los intrones del gen largo, y pasa a tener apenas 3 kb, este gen también se transcribe ahora funcionalmente desde la primera división del embrión.

La idea propuesta por los autores es pues realmente sorprendente, porque proponen que una manera de regular en el tiempo la expresión de determinados genes en el desarrollo, consiste, en términos evolutivos, en aprovechar los intrones para hacerlos más largos. Otro aspecto no menos sorprendente de esta propuesta es que los intrones, considerados mayormente como parásitos de los genes, pueden realmente ser útiles de una forma antes insospechada: alargando el tamaño de los genes para retrasar su expresión. **J.J.**

Noticias breves

Premios Nobel.

El premio Nobel de Medicina o Fisiología de este año ha sido concedido a dos bioquímicos estadounidenses por el descubrimiento de un mecanismo fundamental que regula el metabolismo celular. Edwin Krebs (por cierto sin ninguna relación con otro premio Nobel, Hans Krebs, quien describió el ciclo que lleva su nombre) y Edmon Fischer empezaron los experimentos que les han llevado a conseguir el premio en la década de los 50, ambos en la Universidad de Washington. Trabajando en tejido muscular demostraron que las proteína quinasas catalizan una reacción en la que un grupo fosfato se transfiere desde el ATP a una proteína (fosforilación), y que este cambio activa la proteína y contrae el músculo. Desde entonces se han encontrado cientos de nuevas proteína quinasas. Más recientemente los dos científicos han identificado algunas de las enzimas que catalizan reacciones en la dirección contraria, es decir, eliminando grupos fosfato de las proteínas (a esas enzimas se les llama fosfatasa). Combinando ambos mecanismos de transferencia de grupos fosfato, una proteína puede quedar activa o inactiva, y este es un mecanismo regulador fundamental en el metabolismo de la célula.

ASPECTOS CELULARES Y MOLECULARES DE LA MUCOVISCIDOSIS

La mucoviscidosis o fibrosis quística (CF de "cystic fibrosis") es una grave enfermedad hereditaria que se manifiesta, entre otros síntomas, por la producción de un mucus espeso en determinados epitelios. Aunque existen diversas presentaciones y un grado de severidad variable en las manifestaciones clínicas, el mucus anormal dificulta generalmente la respiración y la absorción intestinal y bloquea los conductos pancreáticos y deferentes, causando insuficiencia pancreática y esterilidad. La esperanza de vida es reducida, debido a las repetidas infecciones pulmonares. Se trata de la enfermedad hereditaria autosómica y recesiva más frecuente en poblaciones de raza blanca, afectando a unas 50.000 personas en todo el mundo.

A lo largo de los años ochenta, varios grupos de investigación han realizado una auténtica caza del gen CF en el genoma de las familias afectadas. En 1985 se logró por fin localizar el gen CF en el brazo largo del cromosoma 7 [Knowlton et al., *Nature*, **318**, 380 (1985)] entre dos marcadores distantes entre sí aproximadamente 1,5 megabases [White et al., *Nature*, **318**, 382 (1985)]. A partir de este momento continuó la búsqueda a lo largo de esta parte del cromosoma. Tras una primera identificación errónea, se logró localizar una región que debía corresponder al gen implicado en la enfermedad. Se trataba de una región muy extensa (unas 250 kb) que incluía 26 exones. El RNAm correspondiente tenía una longitud de 6,4 kb y la proteína codificada un peso molecular de 170 Kd [Rommens et al., *Science*, **245**, 1059 (1989) y Riordan et al., *Science*, **245**, 1066 (1989)].

El estudio de la secuencia de la proteína codificada por el gen CF mostró que poseía las características de un canal iónico transmembranario, por lo que esta proteína fue bautizada como CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator). De hecho, ya se había sospechado que la CF podría estar relacionada con una alteración en el transporte de cloro. El desequilibrio del flujo extracelular de agua e iones cloro sería responsable del bajo nivel de hidratación de las secreciones mucosas.

La secuenciación del gen CF en individuos afectados permitió localizar la

anomalía a nivel molecular. Casi el 70% de los enfermos mostraban una delección de tres bases que originaba la pérdida de un residuo fenilalanina en la posición 508 (la mutación $\Delta F508$), en un dominio intracitoplasmático relacionado con la fijación de nucleótidos [Kerem et al., *Science*, **245**, 1073 (1989)]. Posteriormente se han localizado otras 170 mutaciones más raras en el gen CF [Collins, *Science*, **256**, 774 (1992)].

¿Qué estrategia seguir a partir de este momento? El estudio del desarrollo y la terapia de cualquier enfermedad se ven muy beneficiados por la disponibilidad de un modelo animal que la reproduzca. Un grupo de la Universidad de Carolina del Norte logró introducir en el gen CF de células embrionarias de ratón una secuencia que contenía un codón de parada en el exón 10 [Snouwaert et al., *Science*, **257**, 1083 (1992)]. Los ratones homocigóticos obtenidos morían hacia los 30 días del nacimiento debido a obstrucción intestinal, un síndrome similar al que sufren algunos bebés homocigóticos afectados por la CF. El problema estaba en la falta de síntomas característicos en pulmones, páncreas y conductos deferentes, lo que hacían este modelo poco práctico. Un modelo más ajustado a la CF humana ha sido obtenido en Edimburgo mediante un vector de inserción, duplicando una secuencia comprendida entre el intrón 9 y el exón 10 [Dorin et al., *Nature*, **359**, 211 (1992)]. Los ratones homocigóticos sobrevivían al destete y, al igual que en los humanos, desplegaban un conjunto variado de síntomas, incluyendo afectación intestinal, respiratoria y reproductiva.

Junto a los avances en los modelos de la enfermedad, era preciso examinar las consecuencias de la mutación $\Delta F508$ en la funcionalidad de la proteína CFTR. Aunque en un primer momento se pensó que la delección interferiría con la fijación de ATP o AMP cíclico, se puso luego de manifiesto que la mutación $\Delta F508$ provocaba la retención de la proteína en el retículo endoplasmático de células en cultivo, sin poder alcanzar la membrana celular donde debe ejercer su función [Cheng et al., *Cell*, **63**, 827 (1990)]. Sorprendentemente, cuando el gen defectuoso se expresaba en oocitos de rana, el CFTR sí alcanzaba la superficie celular,

Noticias breves

Tras la pista del oso pardo

¿Cómo puede hacerse un análisis genético de una población animal amenazada de extinción? En determinados casos, la conservación de especies animales exige conocer las relaciones genéticas entre poblaciones aisladas, cuyos individuos deben ser interferidos lo menos posible. De esta forma pueden revelarse relaciones familiares, problemas de endogamia o éxito en la reproducción de animales introducidos. Es lo que ha sucedido con dos estudios realizados en pequeñas poblaciones de oso pardo (*Ursus arctos*) de los Pirineos franceses y norte de Italia. Los riesgos de una anestesia son elevados por lo que se decidió intentar extraer DNA mitocondrial de residuos orgánicos dejados por los osos, y amplificar secuencias determinadas por PCR (polymerase chain reaction). Un grupo francés de Grenoble ha utilizado las raíces de los pelos dejados por los osos en cercas de alambre o en los troncos donde se rascan [Taberlet y Bouvet, *Nature*, **358**, 197 (1992)]. Otro grupo de zoólogos alemanes ha recurrido a los excrementos recientes de los osos italianos [Höss et al., *Nature*, **359**, 199 (1992)]. En ambos casos se logró amplificar un segmento de la región de control del DNA mitocondrial en cantidad suficiente para su secuenciación directa. Los primeros resultados parecen mostrar que la población italiana está genéti-

pero no era correctamente regulado por el AMP cíclico [Drumm et al., *Science*, **254**, 1797 (1991)]. Uno de los dos mecanismos debe ser el que causa la anomalía *in vivo*, pero ¿cuál de ellos? Un reciente estudio aparentemente ha resuelto el problema [Denning et al., *Nature*, **358**, 761 (1992)]. Al parecer el transporte del CFTR defectuoso sí es bloqueado a 37°C (células en cultivo), pero alcanza la superficie celular cuando la temperatura es inferior (lo que sucede en la incubación de oocitos de rana). En este segundo caso la proteína en su destino definitivo no funciona correctamente, pero retiene la suficiente funcionalidad para hacer suponer que el problema, en humanos afectados de CF, es el bloqueo de transporte de-

pendiente de la temperatura. ¿Bastaría enfriar al paciente (digamos hasta 35°C) para facilitar el acceso del CFTR a la superficie epitelial y paliar el problema?. Los autores del estudio señalan que esto sería demasiado drástico, pero que tal vez la inhalación de aire frío podría reducir la temperatura del epitelio respiratorio en grado suficiente para un correcto procesamiento del CFTR defectuoso. Es preciso recordar que el mayor problema en la CF son las infecciones pulmonares repetidas. En cualquier caso, también queda abierta la posibilidad de interferir con la función del retículo endoplásmico para permitir el escape del CFTR atrapado hacia la superficie celular. **R.M.**

EVOLUCIÓN MOLECULAR DE LOS FÉLIDOS

Un nuevo intento de resolver las relaciones taxonómicas y evolutivas de los Félidos ha surgido recientemente [O'Brien, *Molecular Evolution of Cats* (1991)]; se basa en los principios de la evolución molecular: cuanto antes haya sido la separación de dos especies, mayor será la divergencia en la secuencia de DNA en genes homólogos. Utilizando simultáneamente cinco métodos diferentes (isoenzimas, electroforesis bidimensional, distancia inmunológica, hibridación de DNA y análisis de secuencia de DNA) se obtuvieron unos resultados bastante concordantes entre sí. Los Félidos actuales surgen de tres líneas principales. La primera se separó hace 12 millones de años (m.a.) y originó al grupo de los félidos suramericanos (ocelote, gato de las pampas, etc); la segunda aconteció hace 8 -

10 m.a. e incluye a los gatos de pequeño tamaño (incluido el gato doméstico) que abundan sobre todo por la región Oriental. A partir de los 4 - 6 m.a., se produce la diversificación que da lugar a la más numerosa de las líneas, la de los Panterinos. Primero surgen los pumas y gatos dorados, y tan sólo hace 2 m.a. aparecen los grandes gatos (leones, tigres, leopardos y lince). La mayor sorpresa es la situación de los guepardos, un carnívoro superespecializado y de situación taxonómica confusa (grupo *Incertae sedis*) y que la mayor parte de los autores consideran que se había separado muy rápidamente de las líneas que dan lugar a los otros félidos. Los datos moleculares sitúan al guepardo junto a los pumas, en una línea central de la radiación de los panterinos. **L.J.P.**

MUERTE CELULAR PROGRAMADA

A lo largo del reino animal existe una muerte celular que ocurre de forma natural tanto durante el desarrollo como en el mantenimiento de la homeostasis. A esta forma de muerte celular no patológica se le ha denominado muerte celular programada y ha sido estudiada ampliamente en el sistema nervioso en desarrollo y en el sistema inmunitario de vertebrados así como en muchos tejidos diferentes durante el desarrollo de invertebrados.

La función precisa de esta muerte celular programada, cómo se regula y cómo ocurre, está siendo objeto de una intensa

investigación. ¿Por qué ocurre la muerte celular programada? Basados en sus estudios en el nematodo *Caenorhabditis elegans*, Horvitz y sus colaboradores [Ellis et al., *Ann. Rev. Cell Biol.*, **7**, 663 (1991)] sugieren que las células que mueren de forma natural pueden dividirse en cinco categorías: (a) células que parecen no tener función (quizá porque son vestigios evolutivos) y que, por tanto, pueden ser eliminadas, (b) células que han sido generadas en exceso (de tal forma que algunas pueden desaparecer), (c) células que no se desarrollan de una forma correcta, (d)

Noticias breves

camente depauperada comparada con otras poblaciones europeas de osos.

Calendario

San Alberto 92.

Como todos los años, junto con la celebración lúdica del patrón de la Facultad de Ciencias, se celebrará un acto académico que constituye la parte "oficial" de las celebraciones. En este acto, que tendrá lugar el viernes 20 de noviembre a las 12,30 horas, se hará entrega de los premios extraordinarios de licenciatura correspondientes al curso 1991-92. La conferencia en esta ocasión será impartida por el Dr. Juan Jiménez (Profesor Titular de Genética) y versará sobre "Generación espontánea". A la hora del cierre de esta edición no se conoce aún el nombre de la autoridad invitada como todos los años a compartir nuestra ceremonia en honor de San Alberto. El acto estará presidido por el Rector de la Universidad.

células que ya han cumplido su misión, y (e) células que son peligrosas y que deben ser eliminadas para proteger al animal. Se pueden encontrar distintos ejemplos de cada una de las cinco categorías.

Tanto en *C. elegans* como en mamíferos muchas células mueren antes de llegar a diferenciarse y por tanto de adquirir una función. Estas células pueden considerarse vestigios evolutivos que funcionaron en una especie ancestral pero que después han sido programadas para morir, de tal forma que podrían facilitar cambios evolutivos. Por ejemplo, las células que mueren pueden alterar la forma de una estructura y hacerla más adaptativa; o pueden modificar una estructura que haya sido duplicada durante la evolución y hacerla así nueva y distinta. Incluso la muerte celular en uno de los sexos puede crear dimorfismo sexual.

El ejemplo más notable de células que se generan en exceso lo tenemos en el sistema nervioso, de tal forma que en el curso normal del desarrollo llegan a morir hasta el 85% de determinados grupos de neuronas que se han formado previamente. Los estudios realizados sugieren que la amplitud de esta muerte celular está inversamente relacionada con el tamaño de las regiones que son inervadas por una determinada población neuronal, es decir, de esta forma se adecua el número de neuronas con el tamaño de sus áreas de proyección.

También el sistema nervioso sirve de ejemplo de muerte de células que se desarrollan incorrectamente: aquellas neuronas que forman conexiones erróneas son eliminadas.

Ejemplos de células que ya han cumplido su misión los podemos encontrar en la metamorfosis de muchos invertebrados (la regresión de la cola de los renacuajos ocurre por una muerte celular masiva, y así muchos más) y también en mamíferos (por ejemplo la muerte cíclica de las células del endometrio durante la fase menstrual).

El proceso de muerte celular programada elimina asimismo células que pueden ser peligrosas para el individuo, como los timocitos que posean receptores T que puedan reconocer y atacar a los tejidos del propio organismo (el 95% de los timocitos mueren antes de abandonar el timo).

La muerte celular programada es un proceso activo que, al menos en algunos casos, requiere la activación de determinados genes y síntesis de proteínas, por tanto debe estar regulada por mecanismos que controlen la actividad de los genes implicados (en *C. elegans* se han identificado hasta 14 de estos genes). Esta regulación puede estar mediada por factores que determinen qué células son las que van a morir o por señales que disparen el proceso de muerte en aquellas células susceptibles. También deben existir mecanismos que protejan a las células que no van a morir de la actividad de esos determinados genes.

Ahora bien, aunque la muerte celular puede ser inducida por una amplia variedad de señales, es posible que existan sólo unos cuantos mecanismos que realmente sean los que causen la muerte. Uno de ellos se ha denominado apoptosis y conlleva unos procesos comunes que se pueden reconocer morfológicamente: las células que mueren por apoptosis se contraen y su cromatina se condensa alrededor de la membrana nuclear; en principio los orgánulos celulares permanecen intactos, es decir, no hay rotura de membranas internas; y, por último, las células muertas son eliminadas por fagocitosis llevada a cabo por macrófagos o por células vecinas. A veces las células fagocíticas empiezan a envolver a las células que van a morir antes incluso de que haya señales visibles de que está ocurriendo el proceso de degeneración, lo que parece indicar que determinadas células están programadas para morir (por factores que heredan de sus células progenitoras) y, de alguna manera, lo expresan en su superficie (de nuevo un proceso activo) para ser reconocidas por otras células que las fagocitan y previenen así que una eventual lisis de las células en degeneración libere al medio extracelular factores que pudieran ocasionar daños en células vecinas.

Un hecho constatado es que en mutantes de *C. elegans* que son defectivos en los genes responsables de la muerte celular, aquellas células que hubieran muerto y que ahora sobreviven se desarrollan de una manera normal y también funcionan normalmente. Lo cual no ayuda precisamente a explicar por qué algunas células entran en un proceso que podríamos llamar de suicidio celular en el transcurso normal del desarrollo. **S.G.**