



# ENCUENTROS EN LA BIOLOGÍA

AÑO 2, NÚMERO 11, DICIEMBRE 1993

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

**Colabora en este número**  
Félix L. Figueroa

2

Lesiones inducidas por isquemia y reperfusión

3

Noticias

4

Nueva proteína para el coco

Editado con la colaboración del I.C.E. de la Universidad de Málaga

## RITMOS CIRCADIANOS Y CIRCANUALES EN ALGAS

La existencia de ritmos endógenos circanuales de crecimiento en muchas especies animales es conocida desde hace muchos años. Los ritmos circanuales se sincronizan al año natural a través de la medida de la longitud del día que actúa como "zeitgeber" o factor de sincronización ambiental. La demostración de estos ritmos en algas es muy reciente. El grupo del Prof. Lüning en la "Biologische Anstalt Helgoland" (Hamburgo) ha observado que las macroalgas pardas *Pterigofora californica* y *Laminaria setchelli* forman nuevos frondes cada 7-8 meses bajo condiciones constantes (iluminación continua). Las plantas que se exponían a ciclos anuales de 12 meses, 6 meses o 3 meses desarrollaron 1, 2 o 4 ciclos de crecimiento respectivamente en un calendario anual. Las plantas de un ciclo producían un solo fronde, las de dos ciclos dos frondes más pequeños y las de cuatro ciclos cuatro más pequeños todavía; manipulando la longitud del día se fabricaban auténticos "rosarios algales". Los días cortos son una señal persistente de estimulación del crecimiento mientras que los días largos parecen bloquear la expansión del talo. La longitud del día sería una señal ambiental que funcionaría a modo de interruptor.

Además de los ritmos circanuales, recientemente se ha demostrado la existencia de ritmos de crecimiento circadianos en algunas macroalgas [Lüning, *J. Phycol.* 28, 794 (1992)], éstos se han determinado empleando la técnica de análisis de imagen mediante cámaras de vídeo CCD y digitalización de la imagen cada 10-20 minutos. Esta técnica permitirá en los próximos años estudiar la fotomodulación rápida del crecimiento en algas como se hace en plantas terrestres con otra técnica basada en la conversión de señales mecánicas produ-

cidas por el movimiento de filamentos fijados al tallo de la planta en señales eléctricas amplificadas.

El crecimiento de las algas no se produce de un modo continuo sino siguiendo ciclos de período diferente. Así, por ejemplo, en el alga roja *Porphyra* en ciclos de 12h de luz / 12h de oscuridad, el crecimiento se produce sólo durante las 4 primeras horas del día, manteniéndose constante el resto del día y durante la noche. En luz blanca continua, en cambio, se presentan ritmos circadianos durante 4-5 días rompiéndose paulatinamente después de ese período. Algas pardas como *Laminaria* crecen en ciclos de 12h luz / 12h oscuridad durante el período de luz completo.

El factor de sincronización ambiental diario es objeto de controversia. Algunos autores creen que la señal ambiental sincronizadora de algunos procesos bioquímicos y fisiológicos es el cambio drástico de intensidad de luz azul al principio y al final de día. La luz azul estimula en el laboratorio, por ejemplo, la síntesis de clorofila, el transporte y la reducción de nitrato y la síntesis de enzimas fotosintéticos como Ribulosa bifosfato carboxilasa / oxigenasa; éstas y otras enzimas del ciclo de Calvin siguen un ritmo de síntesis circadiano. Así, los ritmos circadianos fotosintéticos detectados en algunas algas podrían estar modulados por luz azul. Otros autores proponen como señal moduladora diaria de procesos fisiológicos a la proporción de luz roja/roja lejana; ésta cambia bruscamente en las horas cercanas al amanecer y atardecer, y también presenta cambios en ambientes de sombra (doses vegetales y aguas profundas en sistemas acuáticos). El fotorreceptor fitocromo, que se activa con luz roja e inactiva con luz roja lejana, detectaría estas señales ambientales y modularía la tasa de crecimiento o producción de determinadas enzimas. En el laboratorio se ha demostrado la acción de este fotorreceptor en multitud de respuestas fisiológicas que van desde respuestas rápidas como movilización de calcio hasta respuestas lentas fotomorfogénicas como floración o germinación de semillas. Tras la detección

### Efectos de la música

Siempre se ha dicho que la música estimula las funciones cerebrales, pero hasta ahora no se había intentado demostrar esto de forma experimental. Tres neurobiólogos de la Universidad de California han realizado un estudio con resultados sorprendentes [Rauscher et al., *Nature*, 365, 611 (1993)]. 36 estudiantes se enfrentaron a tres pruebas de razonamiento espacial de las usadas en la evaluación del coeficiente de inteligencia. Antes de cada prueba los estudiantes, divididos en tres grupos, fueron sometidos durante 10 minutos a la audición de la sonata para dos pianos de Mozart (K488), o técnicas de relajación o a silencio absoluto. Pues bien, el resultado de las pruebas realizadas después de escuchar a Mozart fue significativamente mejor (un 8-9%) que el de las pruebas realizadas tras la relajación o el silencio. Este resultado fue independiente del orden en que se efectuaron las audiciones. También se comprobó que el efecto beneficioso de la música se extingue más allá de 10 ó 15 minutos después de acabar la audición. Los autores se preguntan acerca de los mecanismos cerebrales que explican el fenómeno, si otras funciones cognitivas son igualmente facilitadas por la música y si diferentes estilos musicales tendrían diferentes efectos. Tal vez sea conveniente escuchar a Mozart antes de los exámenes...

de la señal ambiental (proporción de luz roja/roja lejana o cambios en luz azul) por los fotorreceptores, ésta se amplifica y transforma en señal química como paso previo al desencadenamiento de la respuesta; se ha propuesto al calcio como amplificador químico o mensajero secundario que conduce, en la cadena proteína  $G - Ca^{+2}$ - Calmodulina, a la fosforilación y por lo tanto activación de ciertas proteasas implicadas en el control de determinadas respuestas como movimiento de plastos en el alga verde *Mougeotia*, germinación de esporas de musgos, crecimiento de protoplastos de trigo, etc.

El fotorreceptor fitocromo se caracterizó hace unos 15 años en plantas etioladas (angiospermas); ahora se tiene evidencia bioquímica de otros fitocromos tanto en angiospermas como briófitos y algas. En los últimos años se han aislado diversos genes del fitocromo y se intenta explicar la gran diversidad de respuestas por la acción de estos distintos fitocromos [Furuya, *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 44, 617 (1993)]. La evidencia molecular del fotorreceptor azul en plantas en cambio es sumamente reciente [Ahmad y Cashmore, *Nature*, 366, 162 (1993)]. A pesar de atribuirse gran número de respuestas a la luz azul a flavinas y pterinas, aún no se ha aislado el fotorreceptor. El aislamiento de un gen (HY 4) en *Arabidopsis*, ausente en mutantes insensibles a la luz azul, y que codifica para una proteína similar a ciertas fotoliasas microbianas con regiones de unión para cromóforos azules (FADH<sub>2</sub>, pterinas y deazaflavinas) abre un futuro prometedor para el aislamiento del fotorreceptor azul y para determinar su mecanismo de acción.

La cuestión primordial en relación con la fotomodulación de los ritmos sería ¿cómo actuarían los fotorreceptores propuestos: fitocromo y fotorreceptor azul, en la modulación de los ritmos? o ¿cuál es el mecanismo molecular usado por las células para generar ritmos de crecimiento o fotosíntesis circadianos? Se ha demostrado que la síntesis de proteínas afecta la expresión del reloj y que es necesario el mantenimiento de ciertas propiedades de la membrana citoplasmática. Ciertamente en muchos de los procesos fotorregulados, los fotorreceptores parecen actuar como in-

terruptores relacionados con la membrana celular: al afectarse ésta se alteraría el mecanismo interruptor. La fotoestimulación rápida de la capacidad fotosintética y del transporte de nitrato y nitrito en algas por luz azul se explica por la acción de un fotorreceptor de luz azul que interacciona con algún sistema de transporte en la membrana. El sistema  $Ca^{+2}$ -Calmodulina, indicado antes como sistema de amplificación en muchas respuestas fotomorfogénicas, es necesario para el mantenimiento de ritmos circadianos fotosintéticos [Lonergan, *Plant Physiol.* 93, 110 (1990)]. Así, el mecanismo molecular del reloj biológico sería común al de otras respuestas fisiológicas donde determinados fotones (por ejemplo azules) o proporciones de fotones (rojos/rojos lejanos) actuarían como señales moduladoras. Este mecanismo podría ser todavía más general pues no sólo lo iniciaría luz de una determinada composición espectral sino también podría iniciarse con señales químicas como por ejemplo hormonas. F.L.F.

## LESIONES INDUCIDAS POR ISQUEMIA Y REPERFUSION

El sistema circulatorio de los vertebrados suministra a las células del organismo el oxígeno y los nutrientes necesarios para la vida. Es un hecho conocido que la falta temporal de aporte de sangre a un tejido, la isquemia, causa graves perjuicios que pueden acarrear incluso la muerte celular. Lo que quizás sea menos conocido es que, en ocasiones, los daños sufridos por un órgano tras un episodio de isquemia se deben no sólo a la falta de oxígeno sino al restablecimiento de su suministro. En ocasiones, el perjuicio producido por el nuevo aporte de oxígeno supera incluso al debido a la anoxia temporal. Es lo que se conoce como "la paradoja del oxígeno" o la lesión inducida por reperfusión (LIR). Existen muchos casos en los que se produce LIR. Uno de los más conocidos es el que ocurre en el corazón después de un infarto de miocardio, pero también se produce LIR

# 3

## Ahorrar energía

Ahora que grandes multinacionales imponen la "moda" de los dinosaurios, no estaría de más recordar unos animales coetáneos de aquellos grandes reptiles que fueron abundantísimos en los mares y que desaparecieron también al final de la era Secundaria. Nos referimos a los ammonites, moluscos cefalópodos con un caparazón generalmente enrollado en espiral. Aunque ningún ammonite sobrevivió a la gran extinción finicretácica, existe un representante actual de su grupo, el de los cefalópodos con cuatro branquias. Se trata del conocido *Nautilus* del Pacífico ecuatorial. Los Nautiloideos son antiquísimos; aparecen en el Devónico, hace 400 millones de años, y prácticamente permanecen sin grandes cambios hasta la actualidad. ¿Que estrategia han adoptado los nautiloideos para sobrevivir tanto tiempo? Esta pregunta se ha planteado un grupo de biólogos marinos canadienses, ingleses y estadounidenses [O'Dor et al., *Nature*, 362, 626 (1993)]. Tras un estudio de campo en Papua-Nueva Guinea, han mostrado que *Nautilus* es extraordinariamente conservador en el uso de sus recursos. Los estudios realizados han permitido rastrear cuidadosamente por satélite los desplazamientos de individuos liberados y provistos de un emisor de radio y un medidor de la presión de agua en el manto. Esta presión había sido previamente correlacionada con el consumo de oxígeno. Sus

en los casos de congelación, después de una pérdida masiva de sangre (la hipovolemia) o durante el trasplante de órganos. En todos estos casos, la irrigación sanguínea disminuye o desaparece temporalmente y su restablecimiento puede causar muerte celular y necrosis. De ahí la gran importancia de conocer las causas y evitar en lo posible la LIR.

Existe un acuerdo generalizado en que la producción de radicales libres derivados del oxígeno está relacionada con este fenómeno. Un radical libre es un átomo o molécula con un electrón desapareado. Esto hace que los radicales libres sean muy reactivos y tiendan a combinarse con otras moléculas creando a veces nuevos radicales libres. En determinadas reacciones metabólicas catalizadas por oxidasas se producen radicales libres superóxido cuando una molécula de oxígeno capta un electrón. La dismutación del anión superóxido, sea espontánea o catalizada por la superóxido-dismutasa, produce agua oxigenada, una sustancia tóxica que es descompuesta por catalasas y peroxidasas para evitar problemas a las células. Pues bien, lo que sucede en los fenómenos de isquemia-reperfusion es que la falta transitoria de oxígeno, el aceptor final de los electrones en la respiración, provoca la parada de la cadena mitocondrial de transporte de electrones. Cuando el oxígeno reaparece, en lugar de combinarse normalmente al final de la cadena con protones y electrones para formar agua, los recibe al principio, directamente de la ubiquinona, produciendo aniones superóxido.

La brusca "llamarada" de radicales libres que se produce en los primeros minutos de reperfusion de un órgano isquémico puede detectarse y seguirse en tiempo real por resonancia de espín electrónico, debido a su especial comportamiento magnético. El efecto de los radicales libres es devastador para la célula: oxidan y desorganizan de los lípidos de membrana, provocan cambios en el DNA, oxidan los grupos tiol (-SH) de muchas enzimas creando puentes disulfuro y perjudicando de esta forma su actividad. La alteración en los canales iónicos causa desequilibrios en el medio celular. Todos estos cambios pueden producir la muerte de la célula en poco tiempo. Para evitar estas consecuencias se han ensayado diversas posibilidades, como el suministro

de superóxido dismutasa y catalasa o agentes antioxidantes.

La cuestión parece clara, pero hay algunos hechos que señalan otros factores como responsables o coadyuvantes de la LIR. Concretamente se ha señalado la infiltración de leucocitos polimorfonucleares neutrófilos (PMN), como un posible agravante del daño celular. Esta infiltración es característica en tejidos afectados por LIR. Algunas experiencias apuntan en este sentido. Por ejemplo, si se eliminan de la circulación los PMN mediante filtrado de la sangre, las reperfusiones celulares de un episodio experimental de isquemia-reperfusion son menores [Korthuis et al., *Am.J.Physiol.*, 254, 823 (1988)]. Por otra parte, la presencia de PMN en el tejido afectado podría no ser ajena a la producción de radicales libres. De hecho, estas células, cuando son activadas, producen y liberan aniones superóxido y agua oxigenada para atacar a las bacterias. Por último, los PMN, por su capacidad de adherirse al endotelio, podrían taponar los capilares prolongando y agravando las consecuencias de la isquemia.

En resumen, los daños por reperfusion pueden ser explicados por la producción anómala y masiva de radicales libres del oxígeno, por infiltración de PMN o por una combinación de ambos fenómenos. Una muy reciente aportación al tema viene de unos investigadores japoneses que han mostrado que la LIR puede ser paliada mediante anticuerpos contra la interleucina-8 (IL-8) [Sekido et al., *Nature*, 365, 654 (1993)]. Esta sustancia pertenece a una familia recientemente descubierta de citoquinas quimiotácticas. La IL-8 producida por el endotelio activa los PMN y promueve su adhesión y migración a través de la barrera endotelial, provocando la invasión tisular [Huber et al., *Science*, 254, 99 (1991)]. Los científicos japoneses han demostrado que un episodio de isquemia y reperfusion en el pulmón del conejo causa producción y secreción de IL-8, posiblemente en respuesta al aumento de radicales libres. La IL-8 causa a su vez la infiltración de PMN y éstos, al parecer, producen la destrucción de la arquitectura alveolar. Lo que es más importante, la administración de un anticuerpo monoclonal contra la IL-8, que neutraliza su actividad, evita la infiltración de PMN

Conclusiones indican que *Nautilus* es un carroñero migrador vertical, que rastrea las pendientes arrecifales aprovechando las corrientes laterales. Gracias a su control de la flotabilidad, el consumo de oxígeno es el mismo cuando asciende que cuando desciende por el talud, alrededor de 1100 ml O<sub>2</sub> por kilogramo y día. Cuando obtiene su alimento en áreas litorales cálidas vuelve a zonas profundas, donde la temperatura es más fría y sus requerimientos energéticos son menores. Se ha calculado que allí, con un consumo de oxígeno cercano a los 450 ml O<sub>2</sub> por kilogramo y día, es capaz de permanecer durante dos meses tras una comida de tan sólo 50 gramos.

#### Colaboración del I.C.E.

Con este número iniciamos una colaboración con el Instituto de Ciencias de la Educación de la Universidad de Málaga con el fin de que "Encuentros en la Biología" llegue también a todos los Seminarios de Ciencias Naturales de los Institutos de Enseñanza Secundaria de la provincia. Esperamos que estas revisiones de artículos científicos de actualidad sirvan para ayudar a mantener el vínculo imprescindible entre la universidad y la enseñanza secundaria. Desde aquí volvemos a señalar que estamos abiertos a la colaboración de cuantos profesores y becarios de investigación quieran participar en este proyecto con sus artículos.

y la destrucción tisular. Este experimento muestra la importancia de los PMN en la LIR y abre nuevas perspectivas en su tratamiento. R.M.

## NUEVA PROTEÍNA PARA EL COCO

Hace casi setenta años (concretamente en 1924) unos investigadores alemanes, Hans Spemann y Hilde Mangold, publicaron sus investigaciones sobre el desarrollo embrionario del sistema nervioso central. Describieron cómo parte del ectodermo dorsal se diferencia del resto y forma la llamada placa neural, y que esta diferenciación es inducida por el mesodermo subyacente. El papel del mesodermo en la inducción del tejido nervioso embrionario fue demostrado por Spemann y Mangold transplantando tejidos hacia nuevas localizaciones no naturales en embriones de anfibios y viendo cómo era en esos casos la diferenciación del sistema nervioso en el animal resultante. No todas las regiones transplantadas tenían la capacidad de inducir al ectodermo vecino y por tanto de producir un sistema nervioso virtualmente completo en zonas extrañas (normalmente en la parte ventral), así que a la región especial que en el desarrollo normal ordenaba la formación del sistema nervioso, Spemann la llamó *el organizador*.

Sin embargo, la señal molecular responsable del inicio de la diferenciación no se conoce a pesar de intensas búsquedas de un factor producido en el organizador de Spemann y que fuera capaz de producir inducción neural. Ahora Richard Harland y sus colaboradores han descrito que una proteína embrionaria (que ellos habían descubierto el año pasado) actúa como una señal de inducción neural en embriones de rana [Harland et al., *Science*, 262, 713 (1993)]. Llamaron a la proteína "noggin", que en jerga inglesa viene a significar "coco" como sinónimo de cabeza, ya que a grandes dosis la proteína producía embriones con la cabeza excepcionalmente grande. No es fácil demostrar que una sustancia en particular

es la causante directa de una inducción neural: en la compleja serie de acontecimientos que tiene lugar en el desarrollo normal de los tejidos y órganos, esa sustancia tiene que tener la actividad biológica adecuada y ser producida en el sitio oportuno y el momento necesario. La proteína "noggin" ha pasado todos las pruebas necesarias para considerarla un inductor neural directo. Inyectando el mRNA que codifica para la proteína en ectodermo puro que había sido separado del embrión antes de que pudiera recibir alguna señal del mesodermo, se produce tejido nervioso.

Todo esto no quiere decir que se pueda explicar la primera etapa de la formación del sistema nervioso central con la simple expresión de esta proteína por parte del organizador de Spemann. El grupo de Harland encuentra que las características del tejido nervioso inducido por "noggin" sugiere que llegaría a convertirse en la parte más anterior del cerebro, lo que implicaría que se necesitan otras moléculas para disparar la formación de la parte posterior del encéfalo y la médula espinal. La secuencia de aminoácidos de la proteína sugiere que es secretada al espacio extracelular, con lo que podría ejercer su efecto uniéndose a receptores de membrana de las células diana. De nuevo un aspecto espinoso de la cuestión es que "noggin" posee muy poca semejanza con otras proteínas, por lo que de momento es difícil establecer cuáles podrían ser sus funciones; ciertamente se podría convertir en el primer miembro de una nueva familia de moléculas señal.

Por supuesto ya hay laboratorios farmacéuticos interesados en seguir las investigaciones sobre esta molécula por si acaso se descubren aplicaciones terapéuticas de la proteína en el sistema nervioso maduro. En cuanto a la ciencia básica "noggin" puede ser la solución a más de cincuenta años de búsqueda de una molécula con estas características. Si Spemann y Mangold pusieron la primera piedra con sus experimentos de trasplante de tejido embrionario para demostrar que el desarrollo del sistema nervioso es inducido por el mesodermo, Harland y sus colaboradores han dejado de "comerse el coco" para demostrar cuál es la molécula responsable del inicio de la inducción. S.G.