

Temas de actualidad

Terapia génica: problemas del pasado, presente y esperanzas de futuro

Juan Ruiz Echeverría

División de Terapia Génica y Hepatología. Departamento de Medicina Interna.
Universidad de Navarra. Irunlarrea, 1 - 31007 Pamplona.
E-mail: jruiz@unav.es

La terapia génica nace como consecuencia natural del enorme progreso que en los últimos 25 años se ha experimentado en áreas como la biología molecular (en especial lo que se conoce como técnicas del DNA recombinante), la biología celular y la virología. La posibilidad de tratar las enfermedades tanto en su raíz etiológica como de forma sintomática, empleando la transferencia de ácidos nucleicos, constituye la mayor esperanza de la medicina del siglo XXI. Sin embargo, este concepto teórico universalmente aceptado y que levantó enormes expectativas hace 10 años, no ha producido hasta ahora más que escepticismo en el mejor de los casos, decepción la mayoría de las veces y recientemente cierta alarma social. ¿Es justa esta evolución de la visión acerca de la terapia génica? ¿Estaba bien fundada la esperanza inicialmente despertada o hemos de creer a sus críticos y pasar página, abandonar este área de investigación y buscar otras alternativas?

Un símil histórico

Hace ya dos siglos, a finales del XIX, los hermanos Wright sentaron (tras los diseños revolucionarios de Leonardo da Vinci y el desarrollo de los globos aerostáticos) las bases de la aeronáutica moderna con sus primeros modelos de aeroplano. Aunque sus intentos iniciales no puedan considerarse un éxito de acuerdo con los estándares actuales (apenas un centenar de metros de recorrido), sí sirvieron para demostrar que esas máquinas podían volar. Buena parte de lo que sucedió después lo conocemos gracias a divertidos documentales de los inicios del cine: máquinas voladoras de todos los tipos y tamaños, que en su mayoría constituyeron estrepitosos fracasos. Afortunadamente, los arriesgados pioneros de los comienzos de la aviación no se dejaron desmoralizar (dejando su vida en el empeño alguno de ellos), perseveraron y junto con la ayuda de ingenieros y mecánicos y otras gentes que trabajaban en áreas no relacionadas en un principio con la aeronáutica, llevaron a la aviación a ser la realidad que ha llegado a nuestros días. ¿Qué relación

tienen los inicios de la aviación con el tema que nos ocupa? Creo que es evidente. Actualmente nadie discute que la idea en la que se basa la terapia génica está bien fundamentada y afortunadamente hemos pasado ya la fase inicial de los hermanos Wright y se ha demostrado la prueba de concepto de que la transferencia genética con efecto biológico *in vivo* (volar) es posible. Aceptado este punto, la identificación y el reconocimiento de las limitaciones y deficiencias de lo realizado hasta ahora (tanto desde el punto de vista de la eficacia como de la seguridad), deben constituir la base sobre la que continuar invirtiendo tiempo, esfuerzo, dinero e imaginación para desarrollar el enorme potencial de la terapia génica en el tratamiento de los enfermos y sus enfermedades.

Situación actual de la terapia génica

Si hace solo unos meses hubiésemos tenido que hacer un balance global de los resultados obtenidos diez años después de la primera aplicación clínica de la terapia génica, la palabra que mejor podría describir la sensación general hubiese sido decepción. Ni siquiera los prometedores resultados de la inyección intratisular de un plásmido que produce VEGF (*vascular endothelial growth factor*) e induce neovascularización y mejora los síntomas de pacientes con enfermedad crónica vascular o isquemia miocárdica eran suficientes para mejorar esa impresión. Sin embargo, los recientes resultados en dos ensayos clínicos en pacientes con hemofilia B, e inmunodeficiencia grave combinada pueden hacer cambiar pronto esa negativa percepción hacia el optimismo. En el primero de estos estudios, se ha inyectado en el músculo de pacientes con hemofilia B, un virus adeno-asociado portador del factor IX de la coagulación, no detectándose toxicidad alguna, al tiempo que se ha observado un pequeño aunque significativo efecto biológico. En el segundo, más reciente, se ha demostrado la eficacia de un retrovirus para transducir células madre (*stem cells*) hematopoyéticas y corregir el defecto responsable de un tipo de inmunodeficiencia grave combinada

(el déficit de la cadena γ -c del receptor de varias citoquinas) en dos niños con esta enfermedad. Estos ensayos demuestran claramente la versatilidad de la terapia génica, capaz de corregir enfermedades de causa bien distinta (congénitas dos de ellas, adquirida la tercera) con vectores también distintos (virales y no virales).

Sin embargo, hace sólo unos meses el panorama era como digo bien distinto. Desde que se trataron los primeros pacientes en 1990 con inmunodeficiencia grave combinada por déficit de ADA (adenosina deaminasa) hasta la fecha, el número de ensayos clínicos, pacientes enrolados y patologías tratadas ha crecido de manera continua hasta situarse a finales del año pasado en cerca de 400 ensayos con más de 4000 pacientes tratados en todo el mundo. Si en un principio, la terapia génica fue concebida fundamentalmente para el tratamiento de enfermedades congénitas monogénicas, su elevado número y el escaso número de pacientes potenciales en cada una de ellas (y por tanto también su escaso interés económico) hizo que pronto estas patologías fueran superadas por el tratamiento del cáncer y el SIDA. En este sentido, el cáncer supone algo más del 60% de los ensayos y el 70% de los pacientes,

seguido por las enfermedades genéticas monogénicas, con un 13.5% y 9%, y por el SIDA, con un 8% y un 12.6% respectivamente. Hacer un resumen de lo que han aportado estos ensayos hasta ahora es complicado: la mayor parte incluyen un pequeño número de pacientes y han buscado fundamentalmente establecer la seguridad de las estrategias estudiadas, como corresponde a ensayos en fase I o fase I/II. Además, bajo el epígrafe de cáncer o de enfermedades monogénicas se engloban una gran variedad de patologías en las que se han utilizado distintos genes en distintos vectores; por otra parte los datos de los que se dispone no son del todo fiables ya que con demasiada frecuencia se han limitado a datos parciales presentados en reuniones científicas o en ruedas de prensa marcadas por el objetivo comercial, en lugar de detallados informes aparecidos en publicaciones sometidas a la mirada crítica de revisores entendidos en el tema. Este tipo de problemas llevaron en 1995 al entonces director del Instituto Nacional de la Salud de Estados Unidos (NIH), Harold Varmus, a encargar a un comité de expertos la redacción de un informe donde se estableciese el estado actual de la terapia génica, así como que se indicasen recomendaciones sobre la actitud a tomar desde esa institución. Las conclusiones fundamentales fueron las de que la idea sobre la que se basa la terapia génica (la transferencia de material genético con fines terapéuticos) estaba perfectamente fundamentada y su utilidad y potencial eficacia demostradas, pero que la forma en que se habían hecho las cosas hasta entonces dejaba mucho que desear. Sus principales recomendaciones eran las de poner más énfasis en la investigación básica sobre las distintas enfermedades para identificar las dianas terapéuticas más adecuadas, desarrollar vectores de transferencia génica más eficaces y mejorar la investigación preclínica en modelos animales relevantes desde el punto de vista de la eficacia y la toxicidad de las estrategias ensayada. Se criticaba además la carrera en la que muchos centros asistenciales parecían haber entrado, para iniciar ensayos clínicos demasiado repetitivos, poco fundamentados y de los que se extraía escasa información útil. Este informe supuso un importante toque de atención a la comunidad científica, así como una toma de realidad por parte de la sociedad, a la que hasta entonces había llegado un mensaje demasiado optimista de la terapia génica. Cinco años después podemos decir que parte de estos objetivos se han conseguido, habiéndose desarrollado nuevos vectores con propiedades que los hacen especialmente indicados para algunas patologías y se han logrado ya resultados clínicos

Juan Ruiz Echeverría es

Licenciado y Doctor en Medicina por la Universidad de Navarra (1993) y realizó su formación como especialista en Medicina Interna en la Clínica Universitaria de Navarra. Tanto su formación clínica como su actividad investigadora han estado vinculadas al estudio y tratamiento de las enfermedades hepáticas y en especial las causadas por los virus de la hepatitis B y C. Comenzó su formación en Biología Molecular en el Departamento de Patología Tumoral del Instituto Karolinska de Estocolmo y durante su estancia post-doctoral en la Universidad de Connecticut trabajó en el diseño de ribozimas para la inhibición de la replicación del virus de la hepatitis B. Actualmente lleva a cabo su labor de investigación en la Unidad de Terapia Génica del Departamento de Medicina Interna de la Universidad de Navarra dedicado al diseño y aplicación de estrategias dirigidas a la prevención y tratamiento de la hepatitis B y C basadas en la transferencia de ácidos nucleicos, utilizando para ello vectores virales (adenovirus) y no virales (DNA desnudo o pistola génica). Es responsable del control de calidad de los vectores adenovirales que van a utilizarse en ensayos clínicos en la Universidad de Navarra y socio fundador y actual vicepresidente de la recientemente creada Sociedad Española de Terapia Génica.



esperanzadores.

No obstante, cuando el panorama estaba mejorando, la muerte el año pasado de un joven con una enfermedad congénita bien controlada (déficit de ornitina transcarbamilasa) que participaba como voluntario en un ensayo clínico ha llenado las páginas de los periódicos, ha puesto brusca y manifiestamente el peligro de estas técnicas cuando no se emplean de forma adecuada y ha sacado a la luz numerosas irregularidades por parte de los investigadores que participaban en el mismo. A ello se han sumado otras noticias que hablan de problemas en otros ensayos en los que podrían haberse producido efectos secundarios importantes que no se notificaron a las autoridades pertinentes como estaba previsto. ¿Qué es lo que suponen estas noticias para el desarrollo de la terapia génica? ¿Ha de detenerse la investigación clínica en terapia génica por su especial peligrosidad? Creo que no. Lo que estas noticias significan es una llamada a la reflexión y un toque de atención a las autoridades y los investigadores que trabajan en este campo. La terapia génica incluye un conjunto de herramientas terapéuticas muy poderosas que estamos aprendiendo a utilizar y en el que hay que establecer unas estrictas normas de utilización y unas precauciones que han de definirse de lo que se observe en los ensayos clínicos, único vehículo que puede proporcionarnos esa información. Lógicamente, los ensayos clínicos han de diseñarse desde la seguridad y deben ser capaces de proporcionar esa información. Otra cosa es que, inevitablemente, se produzcan problemas que lleven al fallecimiento de algunos pacientes. Por poner un ejemplo, en el año 1997 fallecieron en Estados Unidos 16.500 pacientes en relación con el uso de antiinflamatorios no esteroideos (que incluyen fármacos tan comunes como el ácido acetil salicílico, la Aspirina, o el diclofenaco sódico, el Voltarén). Sin embargo nadie ha planteado por ello su prohibición.

Problemas de la Terapia Génica: herramientas y ensayos clínicos

Siendo la terapia génica el sistema que busca tratar enfermedades mediante la transferencia de genes a las células para conseguir un efecto biológico, es evidente que el éxito de la misma depende tanto de que los genes terapéuticos sean capaces de expresarse en las células diana al nivel y durante el tiempo que sea necesario, como de que el proceso de transferencia de los genes a esas células sea eficaz y asegure que se mantiene su integridad. Los vectores de terapia génica son los responsables de llevar a cabo esta función y su

mejora en cuanto a seguridad, eficacia y adaptación a la patología que se quiera tratar, junto a la mejora de la expresión génica una vez que el gen ha alcanzado el núcleo de las células, constituyen los factores limitantes que hasta ahora han impedido a la terapia génica responder a las expectativas creadas.

Expresión génica: el denominado cassette de expresión está constituido generalmente por un promotor más o menos potente, una señal de poliadenilación y entre ellas el cDNA (DNA complementario) del gen terapéutico, obtenido mediante transcripción reversa de RNA mensajero de un tejido donde se exprese, seguido de una PCR con cebadores específicos. Este esquema tan sencillo presenta sin embargo importantes limitaciones, que poco a poco han ido identificándose y mejorándose. Así, en lo que respecta al transgen, es importante introducir la secuencia de un intrón cuyo procesamiento mejora la estabilidad del RNA mensajero y por tanto su capacidad de ser traducido. En cuanto a los promotores, los de tipo viral como los del citomegalovirus (CMV), el virus del sarcoma de Rous (RSV) o los derivados de las LTR retrovirales son muy potentes y capaces de dirigir la transcripción de forma universal en cualquier tipo celular. Sin embargo, a medio-largo plazo se produce un progresivo silenciamiento de los mismos, que lleva a la pérdida total de su actividad y que se ha relacionado con la metilación específica de secuencias reguladoras. Por este motivo, aunque menos potentes, los promotores de genes eucariotas ofrecen mejores resultados a largo plazo. Por otro lado, se está avanzando enormemente en el desarrollo y caracterización de promotores selectivos de tejido o regulables mediante la administración de fármacos (tetraciclina, rapamicina, RU 480), lo que ofrece la posibilidad de controlar la expresión a un determinado tipo celular activándola o desactivándola a voluntad.

Vectores: la escasa eficacia de los vectores de transferencia génica constituye el auténtico talón de Aquiles de la terapia génica. Partiendo de la base de que no existe un único vector que reúna las condiciones que lo hagan útil en todas las posibles aplicaciones, los vectores basados en virus (retrovirus, adenovirus, virus adeno-asociados y herpesvirus) representan en este momento la alternativa más eficaz a la hora de conseguir una elevada expresión del transgen. Sin embargo, existen ventajas e inconvenientes en cada uno de ellos que hacen que la elección de uno u otro dependa de la patología a tratar. Los retrovirus, por su ciclo biológico, son capaces de integrar el transgén del

que son portadores, lo que permite en teoría alcanzar una expresión continuada del mismo y los hacen especialmente indicados para el tratamiento de enfermedades congénitas o todas aquellas en las que sea necesario alcanzar una expresión a largo plazo. Sin embargo, tienen como inconveniente que no son capaces de infectar células quiescentes (aquellas que no se encuentran en división) y solamente pueden albergar genes de hasta 8 Kb. Los adenovirus constituyen hasta el momento los sistemas de transferencia génica disponibles más eficaces y con mayor espectro celular, actuando tanto sobre células en división como en reposo, pero tienen el inconveniente de que son altamente inmunogénicos, lo que hace que la expresión del transgen sea transitoria (las células transducidas son eliminadas por el sistema inmune) y que se desarrollen anticuerpos neutralizantes que impiden una segunda administración del vector. Los virus adeno-asociados, a pesar de ser muy escasamente inmunogénicos y de infectar tanto células en división como en reposo, disponen de una limitada capacidad de transportar genes (por debajo de 5 Kb) y son difíciles de producir en cantidades suficientes. Finalmente, los herpesvirus se encuentran todavía en una fase menos avanzada y su utilidad está demasiado enfocada en la transducción de células del sistema nervioso. Frente a los virus, los vectores no virales ofrecen como mayor ventaja la sencillez de su producción, su seguridad y su capacidad para transferir genes sin límite de tamaño, aunque como contrapartida su eficacia sea en general muy escasa, lo que ha limitado su utilización a determinadas indicaciones terapéuticas en las que no se precisa una elevada producción del transgen, como son las de inducir respuesta inmune (vacunación génica) o la producción local de un factor angiogénico, por ejemplo.

Por último, otro de los problemas con que se ha encontrado la terapia génica es el de que la mayor parte de los ensayos clínicos llevados a cabo hasta la fecha no sólo han sido poco eficaces desde el punto de vista terapéutico, sino que además han proporcionado poca información desde el punto de vista científico y tampoco han servido para estudiar expresión génica, por lo que no han sido de utilidad en el diseño de otros ensayos.

Nuevas vías de desarrollo y expectativas de la terapia génica

Afortunadamente, la terapia génica es un área extremadamente viva y se trabaja intensamente en la resolución de buena parte de los problemas antes mencionados. Éste es el caso de los

vectores de transferencia, donde se están desarrollando nuevos vectores virales y no virales más eficaces y específicos, menos inmunogénicos, que permitan una expresión más prolongada del transgen y que sean más sencillos de manufacturar. Así, en el campo de los vectores virales, se han desarrollado los adenovirus "gutless", de los que se ha eliminado cualquier resto del genoma del adenovirus excepto las secuencias necesarias para su empaquetamiento, lo que les permite albergar genes de mayor tamaño (hasta 35 kb) y los hace mucho menos inmunogénicos, permitiendo una expresión prolongada del transgen. También se ha descrito un nuevo tipo de vectores retrovirales, los lentivirus, derivados del virus del HIV o el SIV, que manteniendo a semejanza de los retrovirus la capacidad de integrar el transgen, son además capaces de infectar células en reposo. En cuanto a los virus adeno-asociados, se ha descubierto su gran eficacia para transducir el músculo esquelético, lo que permite alcanzar niveles terapéuticos sistémicos del transgen que transportan y se ha mejorado también sustancialmente el rendimiento que se obtiene en su preparación. Además, se han diseñado virus híbridos adenovirus/virus adeno-asociados que permiten aprovechar las ventajas de ambos vectores. Finalmente, se están desarrollando nuevos vectores derivados de los alfavirus (Semliki forest virus) o del SV40, que ofrecen interesantes características.

En cuanto a los vectores no virales, se han realizado también importantes avances dirigidos a conseguir un vector artificial que, alcanzando la eficacia de los virus, tenga las indudables ventajas de los vectores sintéticos. En este sentido, las características ideales que debe incorporar el vector son las de poder ser dirigido de forma específica a un tipo celular, proteger al transgen y no ser inactivado en suero cuando es administrado por vía sistémica; finalmente, conseguir hacer llegar el transgen hasta el núcleo de la célula, salvando la degradación asociada con el proceso de endocitosis y permitiendo la translocación al núcleo del material genético. En este sentido, además del importante avance experimentado por los nuevos liposomas catiónicos o el sistema de bombardeo de partículas mediante la pistola génica (*gene gun*), los vectores más prometedores son los sistemas basados en moléculas policatiónicas como la polietilenimina (PEI), capaces de condensar el DNA en pequeñas partículas que lo protegen de su degradación y mejoran su captación mediante endocitosis, poseyendo además actividad endosomolítica (lo que permite su escape de la degradación en este compartimento) y pudiendo ser modi-

ficados químicamente para añadir ligandos que faciliten su direccionabilidad.

Otra vía importante de expansión de la terapia génica es su combinación con otro tipo de estrategias con las que puede complementarse de forma natural como es la terapia celular. Éste es el caso de la modificación de células madre (como en el caso del ensayo clínico antes comentado para la inmunodeficiencia grave combinada) o el uso de células de gran potencial terapéutico, como son las células dendríticas, fundamentales en la inducción de respuesta inmunitaria antitumoral o antiviral y que pueden ser modificadas genéticamente para aumentar su efecto biológico con genes como los de la interleuquina 12.

Finalmente, se ha descrito recientemente una nueva estrategia con enorme potencial en el tratamiento de las enfermedades genéticas monogénicas causadas por mutaciones puntuales. Se trata del uso de los quimeroplastos, que son moléculas de pequeño tamaño, mezcla de DNA y RNA, que tienen la capacidad de reconocer e hibridar con zonas específicas de un gen (determinadas en función de la secuencia del quimeroplasto) e introducir mutaciones en nucleótidos predeterminados con una altísima eficacia. Esta técnica, que permitiría tratar un gran número de enfermedades genéticas sin posible cura actualmente, se ha ensayado ya con éxito en distintos modelos animales, lo que abre definitivamente la esperanza a esos grupos de pacientes que sufren enfermedades devastadoras.

Como colofón, quiero mencionar las que (sin exclusión de otras posibles) parecen ser las estrategias más prometedoras de terapia génica en un futuro inmediato: (1) la vacunación génica frente a enfermedades infecciosas o el cáncer mediante DNA desnudo u otros sistemas no virales; (2) la utilización de DNA desnudo u otro sistema no viral para producir una proteína necesaria durante un corto espacio de tiempo en una localización concreta (por ejemplo factores angiogénicos en enfermedades cardiovasculares o factores inductores de la formación de hueso o la reparación de heridas en traumatología); (3) la aplicación de los virus adeno-asociados por vía intramuscular al tratamiento de enfermedades donde sea necesario producir niveles sistémicos de un determinado factor; (4) la utilización de lentivirus en la corrección de enfermedades congénitas donde la corrección del defecto ha de ser intracelular, (5) la potenciación de la terapia celular con células dendríticas en el tratamiento del cáncer mediante la transferencia genética de citoquinas inmunomoduladoras; y (6) el uso de quimeroplastos en enfermedades genéticas causadas por mutaciones puntuales.

BIBLIOGRAFIA

- Boussif O, Lezoualc'h F, Zanta MA, Mergny MD, Scherman D, Demeneix B, Behr JP (1995) A versatile vector for gene and oligonucleotide transfer into cells in culture and in vivo: polyethylenimine. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92:7297-301.
- Cavazzana-Calvo M, Hacein-Bey S, Saint basile G, y cols (2000) Gene therapy of human severe combined immunodeficiency (SCID)-X1 disease. *Science* 288:669-672.
- Clakson T (2000) Regulated gene expression systems. *Gene Therapy* 7:120-125.
- Donnelly JJ, Ulmer JB, Shiver JW, Liu MA: DNA vaccines. *Ann Rev Immunol* 1997; 15:617-648.
- Gomez-Navarro J, Curiel DT, Douglas JT (1999) Gene therapy for cancer. *Eur J Cancer* 35:2039-2057.
- Isner JM, Asahara T (1999) Angiogenesis and vasculogenesis as therapeutic strategies for postnatal neovascularization. *J Clin Invest* 103:1231-1236.
- Kay MA, Manno CS, Ragni MV, y cols. (2000) Evidence for gene transfer and expression of factor IX in haemophilia B patients treated with an AAV vector. *Nature Genet.* 24:257-261.
- Kren BT, Bandyopadhyay P, Steer CJ (1998) In vivo site-directed mutagenesis of the factor IX gene by chimeric RNA/DNA oligonucleotides. *Nature Med.* 1998 4:285-290.
- Lieber A, Steinwaerder DS, Carlson CA, Kay MA (1999) Integrating adenovirus-adenovirus hybrid vectors devoid of all viral genes. *J Virol.* 73:9314-9324.
- Melero I, Duarte M, Ruiz J, Sangro B, Galofre JC, Mazzolini G, Bustos M, Qian C, Prieto J (1999) Intraosseous injection of bone-marrow derived dendritic cells engineered to produce interleukin-12 induces complete remissions of established murine transplantable colon adenocarcinomas. *Gene Therapy* 6:1779-1784.
- Mountain A (2000) Gene therapy: the first decade. *Trend Biotechnol* 18:119-128.
- Naldini L, Blomer U, Gallay P, Ory D, Mulligan R, Gage FH, Verma IM, Trono D (1996) In vivo gene delivery and stable transduction of nondividing cells by a lentiviral vector. *Science* 272:263-267.
- Orkin SH, Motulsky AG (1995) Report and recommendations of the panel to assess the NIH investment in research on gene therapy. Bethesda, MD: Accesible en <http://www4.od.nih.gov/oba/documents.htm>. Oficina de Productos Biotecnológicos (OBA) del Instituto Nacional de la Salud Norteamericano (NIH).
- Schiedner G, Morral N, Parks RJ, Wu Y, Koopmans SC, Langston C, Graham FL, Beaudet AL, Kochanek S (1998) Genomic DNA transfer with a high-capacity adenovirus vector results in improved in vivo gene expression and decreased toxicity. *Nature Genet.* 18:180-183.

Bacterias magnetotácticas, hoy y hace 3800 millones de años

Ricardo Guerrero y Mercedes Berlanga

Departamento de Microbiología, Universidad de Barcelona, Av. Diagonal, 645, 08028 Barcelona.
E-mail: guerrero@retemail.es

Elección, discriminación, memoria, aprendizaje, instinto, juicio y adaptación son palabras que normalmente identificamos con procesos neuronales "superiores". Pero, en cierto sentido, se puede decir que una bacteria posee todas estas propiedades. Sería imprudente concluir que las analogías son sólo semánticas, ya que parece haber relaciones subyacentes en mecanismos moleculares y funciones biológicas.

Las bacterias flageladas se encuentran normalmente en estado de continuo movimiento errático. Sin embargo, algunas de ellas pueden responder a diversas sustancias que provocan la respuesta de un movimiento orientado. Algunas de estas sustancias pueden actuar como atrayentes y otras como repelentes, y este comportamiento se conoce como quimiotaxia. Muchas bacterias fotosintéticas (cianobacterias, bacterias rojas y verdes del azufre y no del azufre) pueden responder a un gradiente de intensidad de luz, fenómeno conocido como fototaxia. Esta respuesta induce un movimiento que realizan mediante deslizamiento, movimiento flagelar, variación del volumen de las vesículas de gas, etc. Algunas bacterias no fotosintéticas, incluso, son también sensibles a la luz y se concentran en un punto iluminado del portaobjetos (5). Un grupo particular de bacterias tiene estructuras compuestas por minerales de hierro denominadas magnetosomas. Estos magnetosomas permite a las células interactuar con las líneas del campo geomagnético y orientarse en la columna de agua, buscando las condiciones que favorecen su metabolismo. Este comportamiento recibe el nombre de magnetotaxia.

La primera indicación de que algunas bacterias eran sensibles al campo geomagnético la tuvo en 1975 Dick Blakemore, estudiante de doctorado entonces del Departamento de Microbiología de la Universidad de Massachusetts, en Amherst. Se hallaba observando las bacterias que colonizan el cieno de las lagunas salobres de Woods Hole (en Cape Cod, al sureste del estado de Massachusetts), cuando vio que algunos microorganismos nadaban persistentemente en un mismo sentido, moviéndose a través del campo visual del microscopio para concentrarse en el borde de una gota de agua fangosa. Que no se trataba de una respuesta fototáctica lo ponían de manifiesto las propias bacterias, que avanzaban hacia el mismo borde sin tener en cuenta la distribución de la luz

que llegaba a la preparación microscópica. Que no se trataba únicamente de una respuesta oxitáctica lo indicaba el hecho de que una sección del borde de la gota era preferida a las demás. Todo indicaba que las bacterias estaban dirigidas, posiblemente, por el campo magnético de la Tierra. Para demostrarlo, Blakemore examinó una gota de agua y barro con microscopía de campo oscuro. Las bacterias en movimiento refractaban la luz, y aparecían como puntos luminosos. En ausencia de otro campo magnético que no fuera el geomagnético, algunas bacterias nadaban persistentemente en dirección norte y se acumulaban en el borde norte de la gota. Si se aproximaba una barra magnética de laboratorio, las bacterias nadaban hacia el polo que atraía el extremo de una aguja imantada que señalaba el norte. Y a la inversa, nadaban apartándose del polo que atraía el extremo de la aguja que buscaba el sur (2).

Ecología de las bacterias magnetotácticas

Las bacterias magnetotácticas son ubicuas en los hábitats acuáticos. Se han encontrado en marismas y agua salobres, pantanos y ciénagas, estanques de oxidación de aguas residuales, y en aguas termales; sin embargo, no existen pruebas de su presencia en aguas bien aireadas o ácidas. Se encuentran en elevada densidad poblacional justo en la zona de transición óxico-anóxica (ZTOA) (Fig. 1).

Las bacterias magnetotácticas constituyen un

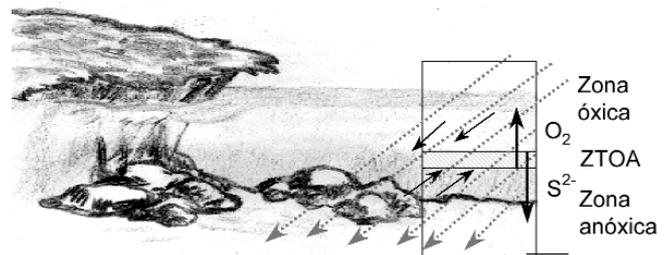


Fig. 1. Zona de transición oxi-anóxica (ZTOA) en una columna de agua. El campo geomagnético está representado por las flechas discontinuas. Las bacterias magnetotácticas se alinearían con el campo magnético y nadarían hacia arriba o hacia abajo para alcanzar la concentración óptima de oxígeno próxima a la zona ZTOA (flechas inclinadas).

grupo heterogéneo de procariotas -pertenecientes al reino Bacteria (Manual de Bergey, 2ª ed.)-, con morfologías muy diferentes, pudiendo presentarse como cocos, bacilos, vibrios o espirilos. Además, pueden vivir como células aisladas o bien formar agregados celulares. A pesar de esta diversidad morfológica, las bacterias magnetotácticas comparten algunas características comunes: (i) son gramnegativas, (ii) presentan movimiento flagelar, (iii) exhiben una respuesta táctica negativa frente a concentraciones atmosféricas de oxígeno, y (iv) poseen magnetosomas (1).

Las bacterias magnetotácticas se establecen en zonas con baja tensión de oxígeno, lo que sugiere que este grupo de microorganismos se desarrolló durante la historia geológica temprana de la Tierra -en el Arqueano antiguo, entre 3900 y 3500 millones de años-, cuando el contenido atmosférico de oxígeno era significativamente inferior al actual (6).

Las bacterias que buscan tensiones bajas de oxígeno se denominan microaerófilas, y este metabolismo es frecuente en muchos habitantes de sistemas acuáticos poco profundos. Los espirilos son organismos frecuentemente microaerófilos y su veloz movimiento les permite buscar la concentración de oxígeno adecuada. Un ejemplo reciente observado presenta células muy grandes (longitud: 20-30 mm, anchura: 3-5 mm), un gran número de glóbulos de azufre, numerosos flagelos (60-100), en cada polo e indicios de tener un movimiento no sólo flagelar sino también por flexión de su pared (7).

Las bacterias magnetotácticas resultan difíciles

de mantener en cultivo axénico. Aún así, en algunos casos se ha conseguido, pero sólo las que tienen magnetita (Tabla 1). Aquéllas que tienen greigita como mineral magnético no han podido ser mantenidas en cultivo axénico; no obstante, sobre su ecofisiología se sabe que se sitúan por debajo de la ZTOA, que son anaerobias y que utilizan el sulfhídrico (1).

Origen evolutivo de la magnetotaxia en bacterias

Los magnetosomas son estructuras intracelulares compuestas por cristales de un mineral magnético, y que se encuentran rodeados por una membrana lipoproteica o estructura similar. Generalmente, el mineral es magnetita (óxido de hierro, Fe₃O₄) o greigita (sulfuro de hierro, Fe₃S₄).

El análisis filogenético de la secuencia genética de la subunidad pequeña del RNA ribosómico de las bacterias magnetotácticas indica que el tipo de mineral del magnetosoma refleja una relación filogenética. Las bacterias magnetotácticas con magnetosomas de óxido de hierro (magnetita) se agrupan en la subdivisión α de las proteobacterias, mientras que los que están formados por sulfuro de hierro (greigita) se relacionan con las bacterias sulfatorreductoras, que se incluyen en la subdivisión δ de las proteobacterias. De este modo, la magnetotaxia basada en magnetita o en greigita tendría un origen evolutivo separado. Además, el proceso bioquímico de biomineralización y formación de los magnetosomas probablemente son también diferentes. La ventaja conferida por la

Tabla 1. Bacterias magnetotácticas aisladas y cultivadas.

Cepa	Morfología	Hábitat	Morfología y tipo del mineral magnético	Fisiología / Autor *
<i>Magnetospirillum magnetotacticum</i> MS-1	Espirilo	Agua dulce	Cristales cubo-octahédricos de magnetita	Quimioorganoheterotrofo, microaerófilo estricto / Balakemore
<i>Magnetospirillum</i> AMB-1	Espirilo	Agua dulce	Cristales cubo-octahédricos de magnetita	Quimioorganoheterotrofo, en condiciones anaeróbicas utiliza NO ₃ -como aceptor de
<i>Magnetospirillum gryphiswaldense</i> MV-1 y MV-2	Espirilo	Agua dulce	Cristales cubo-octahédricos de magnetita	(Desconocida) / Schleifer
RS-1	Vibrio	Agua salada	Cristales hexahédricos de magnetita	Quimioorganoheterotrofo, utilizando los ácidos orgánicos como fuente de C y E ; o quimiolitotrofo con tiosulfato o sulfhídrico / Bazylnski
MC-1	Bacilo		Partículas de magnetita en punta de flecah	Quimioorganoheterotrofo, no pueden utilizar los nitratos como aceptor final de electrones / Sakaguchi
	Coco	Agua	Cristales hexahédricos salada	Quimiolitoautotrofo con tiosulfato de magnetita / Frankel

*Primer autor del artículo correspondiente. Para mayor información bibliográfica, escribir a guerreo@retemail.es

magnetotaxia presumiblemente aumenta la eficiencia para encontrar y mantener una posición óptima respecto a los gradientes de concentración química o de potencial redox. Es remarcable el hecho de que ambos tipos de bacterias magnetotácticas converjan hacia soluciones similares del problema de la magnetotaxia: la construcción de un momento dipolar magnético suficiente para orientar la célula en la columna de agua mediante la interacción con las líneas del campo geomagnético (3).

Magnetosomas: composición y estructura

Los magnetosomas están dispuestos en una o más cadenas paralelas al eje mayor de la célula (se ha observado que el número de magnetosomas presentes en una cadena depende del tipo de bacteria; en el caso particular de la cepa MC-1, se han contado aproximadamente 10, mientras que para *Magnetospirillum magnetotacticum* son más de 20 (véase Tabla 1). Se han observado tres tipos de morfología de las partículas de mineral magné-

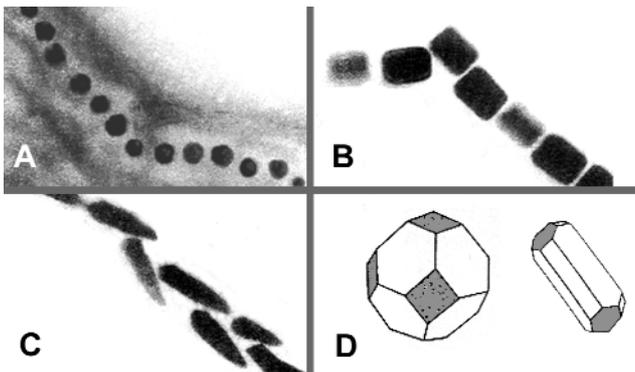


Fig. 2. Micrografías electrónicas de la morfología cristalina de los magnetosomas encontrados en varias bacterias magnetotácticas (9). (A) forma cubo-octahédrica, (B) morfología hexagonal prismática alargada, (C) morfología en forma de punta de flecha y (D) morfologías cristalinas de magnetita idealizadas derivadas del estudio de los magnetosomas de las bacterias magnetotácticas por microscopía electrónica de transmisión.

tico: cubo-octahédrica, prismas alargados hexagonales y en forma de punta de flecha (1, 10) (Fig. 2).

El tamaño de una partícula de magnetita determina su momento magnético efectivo. Las partículas inferiores a 40 nm tienen un dominio magnético único, ya a temperatura ambiente son superparamagnéticas. En otras palabras, el momento magnético invierte rápidamente su orientación. Las que tienen tamaños mucho mayores presentan una estructura magnética de dominios; es decir, en el material existen zonas

con un momento magnético neto, pero con orientaciones diferentes. Los magnetosomas observados hasta el momento presentan un tamaño comprendido entre 40 y 120 nm (Tejada y Duran, Universidad de Barcelona, comunicación personal).

Como en todos los materiales magnéticos, la fuente última del magnetismo es el momento magnético asociado al momento angular del espín de cada átomo de hierro. Las interacciones entre átomos originan la alineación paralela de los espines en una región del material. El tamaño de una partícula de magnetita determina su momento magnético efectivo. Las interacciones magnéticas entre partículas hacen que éstas se orienten paralelamente entre sí, de tal manera que aparece un único momento magnético que es el resultado de la suma de los momentos de las partículas individuales. El tamaño y morfología prefijados en cada especie bacteriana para sus magnetosomas indican la existencia de un mecanismo de "mineralización controlado biológicamente" (MCB).

Éste fenómeno es equiparable al de otros procesos MCB, que originan diversos minerales, muchas veces en forma cristalina. Algunos ejemplos bien conocidos son la calcita (CO_3Ca) -producida por muchos organismos marinos, desde los cocolitoforales a los moluscos-, o el dióxido de silicio (SiO_2) -presente en las espículas de los radiolarios y de algunas esponjas. El organismo ejerce un control cristalográfico sobre la nucleación y crecimiento de las partículas minerales. En la actualidad se conocen más de cincuenta minerales cuya producción está controlada por las células vivas.

En otros muchos casos, los organismos producen minerales de forma indirecta, como resultado de sus actividades metabólicas y de las subsiguientes reacciones químicas en el ambiente. A este proceso se le ha denominado "mineralización inducida biológicamente" (MIB). Los microorganismos secretan o producen compuestos metabólicos que reaccionan con iones específicos o con otros compuestos del ambiente, que dan lugar a una mineralización extracelular. Las partículas del tipo MIB se forman extracelularmente, están mal cristalizadas, no tienen una morfología definida y suelen presentar impurezas por inclusión de otras sustancias. La magnetita y greigita también se pueden formar por este segundo mecanismo, que no está controlado por el microorganismo, y tiene lugar de forma indirecta (1).

En la Tabla 2 se indica la composición y estructura de diversos minerales de hierro. De entre ellos, solamente algunos presentan propiedades magnéticas. Y para acabar este apartado debemos

Tabla 2. Minerales con hierro

Grupo	Nombre	
Azufre	Mackinamita	FeS (tetragonal)
	Pirita	FeS ₂ (cúbica)
	Mareasita	FeS ₂ (ortorrómbica)
	Greigita *	Fe ₃ S ₄
	Pirrotita*	Fe ₇ S ₈
Oxígeno	Magnetita*	Fe ₃ O ₄
	Goethita	FeO(OH)
	Hematita	Fe ₂ O ₃
	Maghemita*	Fe ₂ O ₃
Carbonato	Siderita	FeCO ₃
Fosfato	Vivianita	Fe ₃ PO ₄ ·8H ₂ O

*Magnéticos

recordar que, a diferencia de la atracción gravitatoria, la fuerza magnética no es una propiedad universal de todos los cuerpos del espacio. Dentro de nuestro sistema solar, la Tierra presenta magnetismo debido al movimiento diferencial de las distintas partes que componen la litosfera, que funciona como una dinamo gigante. La Luna -al estar constituida sólo por una parte del manto de la Tierra- no tiene magnetismo. Pero es muy posible que existan campos magnéticos en algunos de nuestros compañeros en el espacio, los distintos planetas y satélites que danzan parsimoniosamente alrededor del Sol desde hace unos 4500 millones de años.

Función de la magnetotaxia en las bacterias

El desplazamiento de una bacteria puede ser o bien aleatorio o bien "dirigido" hacia algo; esto último se denomina taxia. Si disminuye el movimiento al azar se consigue una mayor direccionalidad del movimiento. Hay que destacar que las bacterias magnéticas ni son atraídas ni repelidas por el polo geomagnético solamente son orientadas. Las células muertas también se sitúan en las líneas de campo magnético como las células vivas, pero no se mueven (Fig. 3A).

El movimiento en una dirección u otra viene determinado por la rotación de los flagelos en un mismo sentido, como demostraron los experimentos ya clásicos de Julius Adler. El aparato flagelar está constituido por tres regiones distintas. La región más externa es el filamento helicoidal, rígido y de anchura constante, formado por una única proteína, la flagelina. Cerca de la superficie celular, el filamento está unido a un gancho de diámetro algo mayor, que a su vez se halla unido a un cuerpo basal rotatorio compuesto por discos alojado por completo dentro de la envoltura celular. Los flagelos son rotores helicoidales semirrígidos que giran en sentido horario o antihorario

alrededor de su eje longitudinal. El movimiento es comunicado al orgánulo en su base por un "motor" flagelar. Se ha sugerido que este motor funciona haciendo que los anillos giren unos contra otros.

Las bacterias magnetotácticas se alinean pasivamente con el campo geomagnético; se mueven bidireccionalmente, hacia arriba o hacia abajo, y no cambian de dirección dando giros como otras bacterias quimiotácticas (p.ej. *Escherichia coli*). Las bacterias magnetotácticas son microaerófilas o anaerobias, de tal manera que evitan las concentraciones de oxígeno elevadas; la navegación a lo largo de las líneas del campo magnético facilita la migración hacia una posición favorable de concentración de oxígeno, más arriba o más abajo de donde se encuentran, es decir, buscan la zona

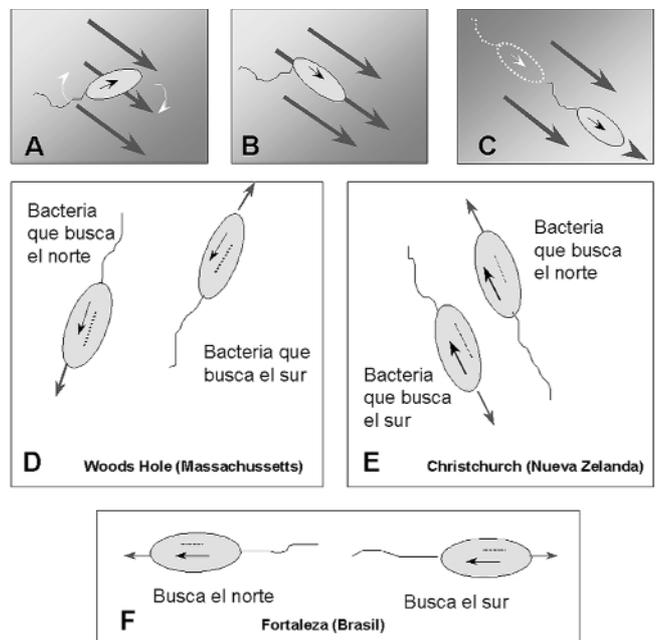


Fig. 3. Orientación geomagnética de las bacterias que presentan magnetosomas. (A) Una bacteria magnetotáctica con un momento magnético intrínseco, tenderá "tozudamente" a alinearse con las líneas del campo geomagnético. (B) Una bacteria magnetotáctica muerta o inmóvil con magnetosomas también se alinea con la dirección del campo magnético; pero no se desplaza. (C) Las células magnéticas móviles nadan preferentemente a lo largo de las líneas del campo magnético, buscando la concentración adecuada de oxígeno. (D) En el hemisferio septentrional, una bacteria buscadora del norte se dirige hacia abajo, hacia la zona microóxica. (E) En el meridional, las bacterias buscadoras del sur también tienden a nadar hacia abajo. (F) Cerca del ecuador se dan ambos tipos, y uno u otro se desplazan más o menos horizontalmente.

donde la concentración de oxígeno disuelto sea la óptima para su metabolismo. Las bacterias magnetotácticas del hemisferio norte se orientan buscando el norte geomagnético, mientras que las del hemisferio sur predominan las que buscan el sur. Debido a la inclinación del campo magnético terrestre, las bacterias magnetotácticas de cada hemisferio se dirigirán preferentemente hacia abajo, lejos de la superficie del agua, donde la concentración de oxígeno es tóxica. No se excluye que algunas bacterias de un determinado hemisferio aparezcan con una polaridad opuesta. En estas circunstancias, las bacterias con magnetización invertida sufren una discriminación continua, ya que se dirigen hacia arriba, a zonas óxicas menos adecuadas para su crecimiento (Fig. 3B).

La magnetotaxia es particularmente ventajosa para los microorganismos porque aumenta la eficacia de encontrar y mantener la posición óptima relativa al gradiente de concentración vertical (oxígeno, sulfhídrico o potencial redox), reduciendo la búsqueda de las condiciones óptimas en un espacio tridimensional a uno bidimensional. En las bacterias magnetotácticas se han observado dos tipos de señales aerotácticas: magnetotaxia axial y magnetotaxia polar. El primer caso lo exhibe *Magnetospirillum magnetotacticum*, el cual invierte el sentido del movimiento cuando el microorganismo se encuentra en una zona donde la concentración de oxígeno está por debajo o por encima de su nivel adecuado. El campo magnético en este caso actuaría como una carretera de doble sentido. El segundo, se ha observado en el coco MC-1 (véase Tabla 1), que consiste en un mecanismo sensorial con dos estados. A concentraciones de oxígeno superiores a las preferidas (estado 1) los flagelos giran en sentido antihorario y las células nadan de forma persistentemente paralela al campo magnético (mismo sentido); a concentraciones de oxígeno por debajo de la óptima (estado 2), los flagelos rotan en sentido horario y las células nadan de forma antiparalela al campo magnético. Las bacterias persisten en uno de los dos estados hasta que "encuentran" la concentración de oxígeno umbral, que determina el cambio al otro estado, modificando el sentido del movimiento. En este caso, el campo magnético proporciona tanto la dirección como el sentido del movimiento (4).

Minerales magnéticos biogénicos en Marte

Las bacterias magnetotácticas podrían utilizarse como "biomarcadores" para el estudio del paleomagnetismo, cambios temporales de las condiciones ambientales que se reflejarían por variaciones en la proporción de "magnetofósiles" en

diferentes fracciones de un sedimento; así como para la búsqueda de vida en otros planetas.

Recientemente, el estudio mineralógico, así como de otras características, del meteorito marciano ALH84001, ha sugerido que diversas estructuras o compuestos del meteorito podrían ser explicados por un proceso biológico, y que, por tanto, representan unas posibles pruebas de la existencia de vida pasada en Marte (9).

Hace de 3900 a 3800 millones de años, los tres planetas vecinos (Venus, la Tierra y Marte, por orden de proximidad al Sol), tenían probablemente en su superficie características compatibles con las condiciones necesarias para la aparición y mantenimiento de la vida, tal como la conocemos hoy. Estas condiciones eran, principalmente, la existencia de agua líquida en abundancia y de fuentes adecuadas de donadores y de aceptores de electrones. Pudo darse entonces -en los tres planetas- la biopoyesis, u origen de la vida. La aparición posterior de los ecosistemas, o ecopoyesis, dio lugar en la Tierra a ciclos biogeoquímicos, de tal manera que no se agotaran los materiales biogénicos de la superficie de nuestro planeta, lo cual habría pasado en un máximo de 200 a 300 millones de años de la primera historia de la vida (6). No es arriesgado pensar que Marte y Venus también pudieron experimentar en algún momento la biopoyesis, sin desarrollar sin embargo una ecopoyesis. El agotamiento de los elementos biogénicos no debió permitir que la vida se mantuviera, si es que alguna vez llegó a originarse. La aparición, y mantenimiento, de los ecosistemas marcó el destino que distinguió la evolución posterior de nuestro planeta y nos diferenció claramente de nuestros dos vecinos en el espacio.

El debate de la presencia de vida en Marte se remite -si prescindimos de las novelas de ciencia ficción- a los experimentos realizados en 1976 por la sonda espacial *Viking*. Aunque los resultados fueron negativos para la vida en muestras de la superficie, sí se observaron canales excavados por antiguos ríos, lo que alimentó la esperanza de que a pesar de todo pudiera encontrarse alguna prueba de vida pasada en el planeta rojo. Tampoco se descartó la posibilidad de que se encontrara vida en otras localizaciones. Los resultados del *Viking* no contenían información de posibles fósiles, ni tampoco era el objetivo de la sonda *Pathfinder*, de julio de 1998. Puede añadirse, como colofón demostrador de nuestras limitaciones tecnológicas, que una sonda similar analizó muestras en la Antártida, siendo incapaz de detectar vida (!). Observaciones microscópicas y análisis de ATP y LPS, por el contrario, han podido demostrar la presencia de vida microbiana abundante hasta en

muestras tomadas cerca de la superficie del lago Vostoc (una masa de agua de extensión casi doble que la Comunidad Autónoma de Madrid, situada bajo 4 km de hielo antártico) (8).

Otra fuente de información acerca de la posibilidad de vida pasada en Marte son los meteoritos del tipo SNC (Shergotty, India, 1865; Najla, Egipto, 1911; y Chassing, Francia, 1815; tres localidades donde se han encontrado meteoritos de ese tipo, que impactaron sobre la Tierra en distintos momentos y lugares). En los meteoritos SNC se buscan biomarcadores marcianos basándose en los conocidos en la Tierra. Si existiera un biomarcador exclusivo de Marte, seríamos, por el momento, incapaces de reconocerlo. Se ha examinado el meteorito ALH84001 ("Allan Hills, primera muestra de 1984"), que es del tipo SNC y se encontró en 1984 en la Antártida. La roca del meteorito se formó en el planeta rojo hace 4000 millones de años; los glóbulos de carbonato hace 3600 millones de años; el meteorito debió desprenderse de Marte en el choque con un asteroide hace unos 16 millones de años. Desde entonces estuvo girando por el espacio cercano a nuestros dos planetas hasta que cayó en la superficie helada de la Antártida hace 13.000 años, centurias después de que la gente de Altamira decorara profusamente sus cuevas.

El examen del meteorito ALH84001 muestra los siguientes indicios que serían compatibles con la existencia de vida (pasada) en Marte: (i) La roca marciana es de origen ígneo y fue penetrada por un fluido a través de las fracturas y poros, los cuales constituyeron los sitios de formación mineralógica secundaria (glóbulos de carbonato), posiblemente debida a actividad biogénica. (ii) La edad de formación de los glóbulos de carbonato es menor que la edad de la roca ígnea. (iii) La selección de un glóbulo de 50 μm de diámetro para el estudio de microscopía electrónica de transmisión (TEM) y de barrido de alta resolución muestra la presencia de minerales de magnetita y de greigita, que son similares en tamaño y forma a los encontrados en sedimentos fósiles terrestres. (iv) Se encuentran hidrocarburos policíclicos aromáticos asociados con la superficie de los glóbulos de carbonato. No es aventurado pensar que uno de los primeros microorganismos de Marte fueran las bacterias magnetotácticas, como tal vez lo fueron en la Tierra, hace 3800 millones de años. Al igual que en la Tierra, las bacterias marcianas habrían dejado fósiles no solamente fácilmente conservables, sino también fácilmente identificables con la tecnología actual. Las bacterias magnetotácticas constituirían, por tanto, un testigo durmiente que esperaría pacientemente su descubrimiento gracias a la evolución de vida inteligente en el vecin-

dario de las profundidades cósmicas. (Dos investigadores en España, Carmen Ascaso, CSIC-Madrid, y Jacek Wyrzchos, Universidad de Lérida, están haciendo detallados estudios sobre la presencia de magnetita en ALH84001. Este extraordinario hallazgo quizá contribuya a esclarecer si existió vida en el planeta rojo.)

Es posible que las características descritas en ALH84001 puedan ser explicadas por procesos inorgánicos, pero éstos parecen requerir condiciones muy restringidas, difíciles de conseguir simultáneamente; mientras que la explicación de estas características por un origen biogénico parece más plausible.

Conclusiones y perspectivas

Las bacterias magnetotácticas se orientan y migran a lo largo de las líneas del campo geomagnético. Esta capacidad se basa en la presencia de estructuras magnéticas intracelulares, los magnetosomas, los cuales son de tamaño nanométrico, y contienen un mineral magnético magnetita o greigita rodeados de una membrana lipoproteica. La formación de los magnetosomas es un proceso controlado biológicamente, en el que la deposición de la partícula de magnética tiene un tamaño y una localización específica dentro de la célula. Las bacterias magnetotácticas son un interesante grupo heterogéneo de procariotas. Su ecofisiología y filogenia las emparenta con las bacterias que pudieron vivir en los ambientes microóxicos del Arqueano antiguo, en la Tierra. Es posible también que hayan existido en Marte, aunque este hecho no podrá ser verificado o falsado hasta dentro de algunos años. Los magnetosomas son una fuente insustituible de partículas magnéticas unidominio. La magnetita bacteriana podría tener múltiples aplicaciones biotecnológicas, en campos tan diversos como nuevos materiales para ingeniería o la biomedicina, aunque en la actualidad no se ha explotado a escala comercial, principalmente debido a problemas relacionados con el cultivo masivo de las bacterias magnetotácticas, así como al desconocimiento bioquímico y genético de la biomineralización de las partículas ferromagnéticas. Si se identificasen los genes implicados, éstos podrían ser expresados en un organismo huésped "cultivable", de tal manera que se eliminarían las dificultades asociadas con el cultivo de las bacterias magnetotácticas. El conocimiento de cómo una bacteria magnetotáctica es capaz de controlar el proceso de biomineralización podría ser empleado en la síntesis de partículas ferromagnéticas "a medida", con diferentes morfologías cristalinas y propiedades deseadas. Después de 10.000 años de domesticación,

nuevos microorganismos, hasta ahora impen-
sados, siguen teniendo -como diría Pasteur-
"la última palabra".

BIBLIOGRAFÍA

1. Bazylinski DA (1999) Synthesis of the bacterial mag-
netosome: the making of a magnetic personality.
Internatl. Microbiol. 2: 71-80.
2. Blakemore RP (1975) Magnetotactic bacteria. Science
190: 377-379.
3. Delong EF, Frankel RB, Bazylinski DA (1993)
Multiple evolutionary origins of magnetotaxis in bac-
teria. Science 259: 803-806.
4. Frankel RB, Bazylinski DA, Johnson MS, Taylor BL
(1997) Magneto-aerotaxis in marine coccoid bacteria.
Biophys. J. 73: 994-1000.
5. Guerrero R, Ashen A, Solé M, Margulis L (1993)
Spirosymplokos deltaeiberi nov. gen., nov. sp.: variable-
diameter composite spirochete from microbial mats.
Arch. Microbiol. 160: 451~470
6. Guerrero R (1998) Crucial crises in biology: life in the
deep biophere. Internatl. Microbiol. 1: 285~294.
7. Guerrero R, Haselton A, Solé M, Wier A, Margulis L
(1999) *Titanospirillum velox*: a huge, speedy, sulfur-
storing spirillum from Ebro Delta microbial mats.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 96: 11584-11588.
8. Karl DM, Bird DF, Björkman K, Houlihan T,
Shackelford R, Tupas L (1999) Microorganisms in the
accreted ice of Lake Vostok, Antarctica. Science
286:2144-2147.
9. McKay DS, Gibson EK, Thomas-Keprta KL, Vali H,
Romanek CS, Simon JC, Chillier XDF, Maechling CR,
Claude R, Zare RN (1996) Search for past life on Mars:
possible relic biogenic activity in martian meteorite
ALH84001. Science 273: 924-930.
10. Schüller D, Frankel RB (1999) Bacterial magnetoso-
mes: microbiology, biomineralization and biotechnologi-
cal applications. Appl. Microbiol. Biotechnol. 52: 464-473.

Salinibacter: De la secuencia al organismo. Un ejemplo reciente

Francisco Rodríguez-Valera

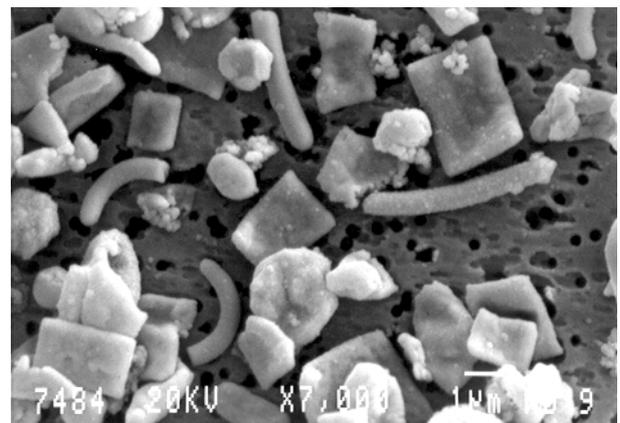
Catedrático de Microbiología, Universidad Miguel Hernández

E-mail: frvalera@umh.es

En los últimos diez años esta ocurriendo una revolución en la Microbiología. Y, por una vez, no me estoy refiriendo a los genomas. Estamos descubriendo que en los ambientes naturales existen grupos nuevos de procariotas de los cuales no sabemos prácticamente nada. Es como si botánicos y zoólogos descubrieran que existen familias, ordenes de animales y plantas que son invisibles y no han sido descritos. Quizas tendrían que pulverizar áreas de la sabana o del bosque tropical con pintura en espray para que de repente se materializaran multitud de animales y plantas desconocidos. Ojalá los microbiólogos lo tuviéramos tan fácil. Nuestra principal herramienta para visualizar estos nuevos grupos es la PCR, el secuenciador automático y la hibridación *in situ*. Por eso los resultados prácticos, en términos de nuevos microorganismos en las colecciones de cultivos, son extremadamente escasos. Sin embargo, de vez en cuando se produce algún éxito que mantiene la esperanza. Tengo la fortuna de haber participado (aunque de forma algo marginal) en uno de estos éxitos y creo que la historia puede interesar a los miembros de la SEM, al menos como anécdota.

Durante muchos años en mi laboratorio en Alicante hemos estudiado las bacterias (aunque ahora algunas se llaman archaea) de las salinas solares donde se cristaliza el cloruro sódico para producir sal común. Si alguno ha tenido la oportunidad de ver estos estanques (cristalizadores) recordará sin duda su notorio color rojo. Este color rojo se debe (o al menos así pensaba yo hasta hace un año) a densas poblaciones de halobacterias (ahora haloarchaea) que poseen carotenoides C50 de color rojizo. Este color, por cierto, es esencial para absorber la radiación infrarroja y permitir que la sal precipite, a pesar de que la tasa de evaporación de esta salmuera concentrada (casi el 50% son sales) es muy escasa (hay que pensar que el NaCl es muy higroscópico y retiene el agua). En verano, en esta agua, se alcanzan los 50°C gracias al efecto de trampa calórica de estos pigmentos. En los años 70 y primeros 80 aislamos muchas de estas haloarchaea, con sus características colonias rojas o rosadas, y describimos géneros como *Haloferax* y *Haloarcula*. Nos sentíamos bastante satisfechos con nuestro conocimiento de la biodiversidad en este ambiente tan extremo. Por allá por 1993 pusimos a punto en mi laboratorio

la metodología de PCR para describir la biodiversidad microbiana. Simplemente se extrae el DNA directamente de la biomasa, se amplifican los 16S rDNAs por PCR, y se secuencian algunos fragmentos clonados al azar. La sorpresa fue que no conseguíamos ni una sola secuencia correspondiente a las especies que habíamos aislado del mismo ambiente. Tampoco eran parecidas a las de otras especies descritas por otros autores en ambientes similares. La secuencia se correspondía con lo que tendría que ser un género desconocido y nunca aislado en cultivo puro. En si estos resultados no eran sorprendentes, la literatura en estos últimos años muestra repetidamente que muy raramente se cultivan los organismos que realmente predominan numéricamente o en biomasa en los ambientes naturales. Incluso en ambientes extremos que poseen intrínsecamente baja diversidad biológica. Mi colaboradora Josefa Antón intentó cultivar este organismo desconocido, al que nos referimos todavía como "el clon de Susana" (Susana Benlloch describió la secuencia durante los trabajos de su tesis doctoral), sin éxito. Llegamos a plantearnos si no sería un artefacto de amplificación de la PCR. Para comprobarlo había que aplicar FISH (*Fluorescent In Situ Hybridization*) y determinar si la secuencia característica del "clon de Susana" era realmente la que se correspondía con las 107 células por mililitro que se encuentran en el cristalizador. Ni corta ni perezosa, Pepa se fue a Bremen al *Max-Planck Institute for Marine Microbiology*, a trabajar con Rudi Amman y Ramón Rosselló-Mora para aclarar



Microfotografía de una muestra de un estanque de salinas, donde se aprecian arqueas cuadradas y bacilos cuya morfología corresponde a *Salinibacter*. Foto: Isabel Fernández Boán

el asunto. Y, justo en el blanco, el haloarchaea predominante, con su típica morfología de sello de correos correspondía en verdad a la secuencia del clon de Susana. Sin embargo, la otra morfología celular, bacilos grandes y muy visibles, ni siquiera hibridaba con la sonda universal de Archaea. Se trata de una bacteria auténtica (eubacteria) capaz de crecer en esta salmuera concentrada, lo que se consideraba hasta el momento atributo exclusivo de los haloarchaea, y cuya secuencia de 16S rDNA la relacionaba remotamente (85%) con *Rhodothermus*. El organismo fue denominado *Salinibacter Candidatus*. De vuelta en la Universidad de Alicante, y gracias a una segunda visita al grupo de Bremen, Pepa pudo comprobar que, de las colonias que crecen normalmente en

una placa estandar para cultivar haloarchaea, algunas son en realidad colonias de *Salinibacter*. La hibridación *in situ* fue de nuevo la herramienta imprescindible. La mayor sorpresa para mí fue que las colonias de *Salinibacter* son macroscópicamente indistinguibles de las de haloarchaea, y como estas, están pigmentadas fuertemente de rojo. En este caso sabemos que es un carotenoide C40, químicamente muy distinto de los C50 de los haloarchaea, pero de efecto pigmentante equivalente a nivel colonial. El organismo está actualmente en proceso de descripción taxonómica formal por un equipo liderado por Ramón Rosselló-Mora, ahora en la Universidad de las Islas Baleares. Pero para mí el color rojo de las salinas ya no será nunca el mismo.

D. Francisco de Castro y Pascual: primer Catedrático de Microbiología de la Universidad Española

M^a Ángeles Mosso Romeo

Profesora Titular. Departamento de Microbiología II
Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid

El Departamento de Microbiología II de la Universidad Complutense de Madrid celebra este curso su centenario: en Julio de 1900 se dotaba en la Facultad de Farmacia de Madrid la primera Cátedra de Microbiología de España. Para conmemorarlo este Departamento organiza dos reuniones científicas, el Seminario Internacional Complutense "Genomics, Proteomics and Biomedicine" (29-30 de junio) y la 3^a Reunión del Grupo de Microbiología Molecular (13-14 de julio), así como una sesión académica (12 de julio) en la que se presentará un vídeo y un libro que recoge la historia del Departamento. De este libro entresacamos unas líneas sobre D. Francisco de Castro y Pascual.

La dotación de la Cátedra

Durante el siglo pasado no existió en nuestro país ninguna Cátedra de Microbiología pero el espíritu renovador del nuevo siglo llegó a los estudios de Farmacia, ampliando los relacionados con las Ciencias de la Salud. Un Real Decreto del Ministerio de Instrucción Pública y Bellas Artes de 31 de Julio de 1900 modificaba las enseñanzas en la Facultad de Farmacia de la Universidad Central de España y establecía la dotación para las enseñanzas de doctorado de una Cátedra denominada "**Microbiología, técnica bacteriológica y preparación de sueros medicinales**". Era ésta la primera Cátedra que en España llevaba el nombre de Microbiología y suponía por tanto la incorporación de estas enseñanzas a nuestra Universidad.

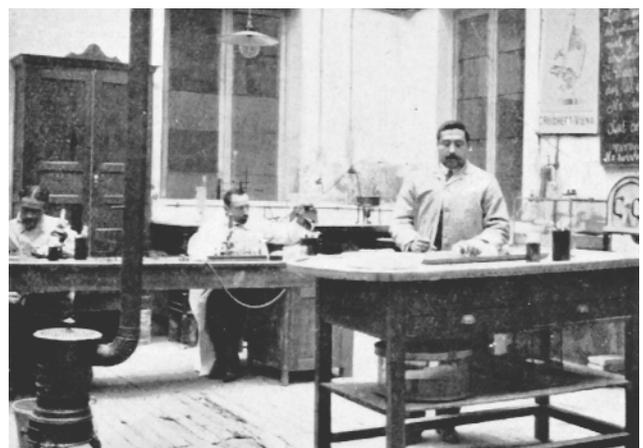
En el Real decreto se daban las razones para la reforma con estas palabras: "El espíritu de mayor cultura en que se inspiraron aquellas reformas las hace hoy aceptables, si bien la ampliación de funciones del Farmacéutico en los múltiples problemas de la salubridad pública (...). Para llenar dichos fines, es hoy suficiente la ampliación de algunas asignaturas y el aumento en el cuadro de las actuales de la de Microbiología, técnica bacteriológica y preparación de sueros medicinales (...)".

En el plan de 1900 se creó en la Facultad de Medicina la Cátedra de Higiene Pública, y la Bacteriología se estudiaba como un capítulo de la citada asignatura y a ésto se debe que en la carrera de Medicina, la Microbiología, no tuviera enti-

dad propia hasta mucho después. En 1912 se dota una Cátedra en la Escuela Superior de Veterinaria. En 1925 y 1931 se dotaron en España dos Cátedras más de Microbiología, una en la Escuela Superior de Ingenieros Agrónomos y otra en la Facultad de Medicina.

En Octubre de 1902, D. Francisco de Castro y Pascual, se encargó de la Cátedra de Microbiología de Farmacia como profesor Auxiliar Interino. Esta Cátedra no salió a oposición hasta 1905, y a ella sólo podían concursar los doctores en Medicina y Farmacia. Esto no respetaba la Ley de Instrucción Pública de 1857, por la cual solamente los doctores por la propia Facultad podían concursar a sus plazas. Los Catedráticos de Ciencias reclamaron igual derecho para los doctores en Ciencias (sección de Naturales), alegando que "la Bacteriología y la preparación de sueros medicinales es la Bacteriología que puede estudiar un naturalista como rama de la ciencia de los seres vivos". Un Real Decreto de 1908 anuló la anterior convocatoria de oposiciones y admitió para concursar a la plaza de la Facultad de Farmacia, además de los doctores en Medicina y Farmacia, a los de Ciencias.

La oposición se celebró en 1910, siendo Presidente del Tribunal D. Santiago Ramón y Cajal, y D. Francisco de Castro y Pascual obtuvo la plaza por unanimidad.



Laboratorio de la Cátedra. Profesor Castro y Pascual y sus colaboradores. *Reseña Histórica de la Facultad de Farmacia de Madrid. Joaquín Olmedilla y Puig, 1913.*

Formación en el extranjero

En 1901, llevado de su inquietud científica y de su vocación por la Microbiología, inició algo que hoy nos parece fundamental para la formación de un docente, como es realizar un trabajo de investigación en un laboratorio extranjero de reconocido prestigio internacional: Se trasladó a París y fue alumno particular del Instituto Pasteur. Años después, en 1904 y en 1906, regresó al mismo Instituto, en París y Lille.

De esta etapa dice el profesor Lázaro e Ibiza "No fue estéril su labor en el extranjero, basta ver la colección hecha por él de más de 1.800 preparaciones microscópicas (...), los diecisiete cuadernos de notas diarias de los trabajos de laboratorio, las distinciones con que le honraron los sabios maestros de los Institutos anteriormente citados, doctores Roux, Metchnikoff, Borrell, y especialmente el doctor Calmette, que en su magistral obra "*Les venins, les animaux venimeux et la sérotherapie antivenimeuse*", le dedica un afectuoso recuerdo (...)".

Entre los trabajos de investigación científica que realizó en el extranjero, destacamos el que hizo en colaboración con el doctor Segent sobre la existencia y origen de la fiebre de Malta en Castilla, hasta entonces desconocido. Durante su estancia como asistente en el laboratorio, dirigido por el doctor Sabouraud en el Hospital de San Luis de París, colaboró con el profesor Pinoy en el estudio microbiológico de las tiñas. En su deseo de ampliar sus conocimientos recorrió otros países europeos para visitar centros científicos de reconocido prestigio, como el Instituto Koch, de Berlín, donde escuchó las disertaciones del doctor Wasserman. Después en Dublín, se detuvo a estudiar la organización sanitaria y universitaria. Con todo este bagaje científico regresó a España en 1908.

Incorporación de la Microbiología a los estudios de Licenciatura

En diversas reuniones que se venían celebrando desde 1905, toda la clase farmacéutica, tanto la profesional como la docente, habían reclamado



El Profesor Francisco de Castro y Pascual con sus colaboradores de la Cátedra de Microbiología de la Facultad de Farmacia de Madrid, 1941.

Cedida por Dña. Mercedes Gomis Bardiza.

insistentemente que la enseñanza de la Bacteriología se integrara en los estudios propios de la Licenciatura de Farmacia. En aquellos momentos se hacían esta pregunta "¿Qué es hoy un farmacéutico actual, sin estos conocimientos?" Y contestaban "Casi nada". Se exponían múltiples razones que justificaban esta petición: "que la Sueroterapia y la Vacunoterapia (eran) recursos terapéuticos insustituibles en la mayoría de los casos". Por otra parte, los Inspectores Farmacéuticos Municipales o Farmacéuticos titulares tenían que efectuar análisis clínicos.

Estas viejas aspiraciones no se lograron hasta el Plan de Estudios de 1929. La prensa farmacéutica se hacía eco en 1930 del clamor unánime con frases como estas: "es preciso que no pase un año más sin que el farmacéutico salga de la Facultad con los conocimientos de Bacteriología indispensables en el ejercicio de su profesión."

D. Francisco de Castro y Pascual, tanto por su valía personal como por su trayectoria docente, científica y de gestión, fue un hombre especialmente adecuado para ser el primer Catedrático de Microbiología de la Universidad Española. Supo introducir estas enseñanzas con una visión notablemente actualizadas y, al mismo tiempo, comprensiva de todos los aspectos por los cuales el microorganismo interesa al profesional del medicamento, el Farmacéutico.