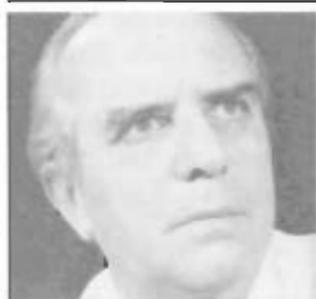


ENSAYO*

ECOLOGIA MOLECULAR Y ANTAGONISMO MICROBIANO

Por Carlos Asensio

Los grandes logros de la biología contemporánea se deben en su mayor parte a que se ha abordado el conocimiento de los procesos vitales a nivel molecular. Esta aproximación, básicamente reduccionista, no habría fructificado en gran medida de no mediar, de vez en cuando, una serie de síntesis unificadoras. Algunos resultados de este esfuerzo integrador han sido, por ejemplo, el principio de la unidad bioquímica de los seres vivos, la hipótesis un gen-un enzima, y los más modernos conceptos-marco de la bioinformática y de la «logi-



CARLOS ASENSIO es vicedirector del Instituto de Enzimología del CSIC y profesor de Bioquímica en la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid. Preside actualmente la Sociedad Española de Bioquímica.

* BAJO la rúbrica de «Ensayo» el Boletín Informativo de la Fundación Juan March publica cada mes una colaboración original y exclusiva de un especialista sobre un aspecto de un tema general. Anteriormente fueron objeto de estos ensayos temas relativos a la Ciencia, el Lenguaje, el Arte, la Historia y la Prensa. El tema desarrollado actualmente es la Biología.

En Boletines anteriores se han publicado: *Control electrónico del cerebro*, por José M. Rodríguez Delgado, Director del Departamento de Fisiología de la Universidad Autónoma de Madrid; *Bioquímica de la nutrición*, por Francisco Grande Covián, Director del Instituto de Investigación de Bioquímica y Nutrición «Don Juan Carlos I-Fundación Cuenca Villoro»; *Las fronteras de la Ecología*, por Ramón Margalef, Profesor de Ecología de la Universidad de Barcelona; *Alteraciones del desarrollo cerebral*, por Federico Mayor Zaragoza, Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad Autónoma de Madrid; *La bioconversión de la energía solar y la crisis energética y alimentaria*, por Manuel Losada, Catedrático de Bioquímica de la Universidad de Sevilla; *Aspectos biológicos del abuso de drogas*, por Josep Laporte, Catedrático de Terapéutica y Farmacología Clínica de la Universidad Autónoma de Barcelona; *Evolución y Darwinismo*, por Francisco J. Ayala, Profesor de Genética de la Universidad de California en Davis; *La genética del cáncer y los virus*, por María Luisa Durán-Reynals, Profesora de Patología del Albert Einstein College de Nueva York; *El origen de la vida*, por Juan Oró, Profesor de Bioquímica de la Universidad de Houston; *La genética de poblaciones*, por Antonio Prevosti, Catedrático de Genética de la Universidad de Barcelona; *Los enzimas, agentes de la vida*, por Alberto Sols, Catedrático de Bioquímica de la Universidad Autónoma de Madrid; y *Evolución de los conceptos biológicos*, por Antonio García-Bellido, Profesor de Investigación del C.S.I.C.

que du vivant». A su vez, todos ellos han enriquecido y afirmado, con gran belleza y coherencia intelectual, los postulados darwinianos de la evolución biológica.

En la última década se ha avanzado notablemente en la comprensión de los distintos niveles de organización de los seres vivos, particularmente en el conocimiento de su profusa interdependencia, por donde el flujo de información biológica nos revela la existencia de una trama o todo continuo. De entre estos niveles relacionados, el de jerarquía superior es el ecológico, que es precisamente el que peor conocemos.

Este desconocimiento, que ahora nos urge remediar, se debe a causas varias, unas enraizadas en seculares patrones culturales, otras más objetivables por el método científico. Entre las últimas destaquemos la evidencia de que la Ecología es una ciencia intrínsecamente compleja, en la que los modelos mínimos constituyen ya sistemas dinámicos difíciles de comprender y manipular. La mente humana tiene una notoria dificultad para dominar el flujo de posibilidades que caracteriza la interrelación de las variables de un sistema dinámico, que en el caso de los sistemas cerrados —los más sencillos— son como una partida de ajedrez en la que todas o casi todas las piezas se mueven al mismo tiempo, y en donde además no le es posible simplificar por aproximaciones muy reductivas, que, en el caso de los ecosistemas al menos, atentarian a su propia naturaleza. Es por ello que en general se cometen tantas torpezas cuando intervenimos sobre éstos animados de tan buena fe como ignorancia. Lo ocurrido en Borneo hace unos años constituye un ejemplo sencillo y revelador. Para reducir las enfermedades transmitidas por mosquitos se realizó una campaña de desinsectación con DDT. La operación fue un éxito aparente hasta que empezaron a complicarse las cosas. El insecticida acabó virtualmente con los mosquitos, pero también con una especie de avispa local que se ceba en las orugas. Estas florecieron así de forma masiva, devorando dramáticamente las hojas de los árboles y las típicas techumbres de hojarasca de las viviendas nativas, que empezaron pronto a desmoronarse. Otro efecto colateral fue la disminución ostensible de la mosca común y, en consecuencia, se afectó también la población de un pequeño lagarto de aquel entorno que se alimenta de ellas. De hecho, los lagartos intoxicados empezaron a ser presa fácil para sus depredadores habituales, los gatos domésticos, que también enfermaron y murieron.

El resultado final fue la aparición de una seria amenaza de pestes por el crecimiento incontrolado de las ratas. Y dadas las dificultades de comunicación entre aquellas comunidades tropicales, la única solución de emergencia consistió en importar un gran número de gatos, que tuvieron que transportarse a las zonas más afligidas por medio de paracaídas. Esta anécdota nos ilustra expresivamente tanto la dificultad de dominar las variables sistémicas, según apuntamos más arriba, como el delicado balance de los parámetros ecológicos.

Ecología Molecular: Teoría de sistemas con señales químicas

Con todo lo dicho y asumiendo la complejidad intrínseca de cualquier ecosistema, parece razonable anticipar que el abordaje molecular en este área promete ser tan fecundo quizás como lo ha sido en otras recientes incursiones biológicas. Para que así ocurra, sin embargo, será necesario un cambio de óptica en las actitudes y estilos del bioquímico convencional. Si éste pretende ahondar en el nuevo campo, deberá percibir bien la diferencia substancial que existe entre la estrategia reduccionista y la que plantea una bioquímica de sistemas, entre organismos heterogéneos separados generalmente por espacios físicos inanimados, pero que quizás están relacionados entre sí a través de una refinada trama de mensajes químicos que justo ahora comenzamos a captar y medir. Y éste es en esencia el terreno disciplinario que intentamos definir como Ecología Molecular (1). Se trata así, genéricamente, de explorar las señales moleculares que ejecutan y regulan las interacciones sistémicas típicamente ecológicas, si bien partiendo de la base de que tales mensajes específicos podrían haber evolucionado desde otros generados a nivel de inferior complejidad, según el planteamiento de la trama biológica continua apuntada anteriormente. El fisiólogo Gerard escribió hace tiempo que «la fisiología podría considerarse como la ecología de las células del cuerpo, mientras que la sociología podría ser la fisiología de la sociedad». La evolución funcional del AMP cíclico puede ser un buen ejemplo para ilustrar este concepto. El hábitat que envuelve a los organismos unicelulares es generalmente intemperante y poco organizado. En los organismos pluricelulares, sin embargo, las células interactúan en habitats homeostatizados y con mucha más información. ¿Cuándo se originó la involución hacia un medio interno? Po-

driamos imaginar una transición a través de varios pasos evolutivos, que nos cabe visualizar inicialmente en ciertos hongos mixomicetos que abundan en el suelo. Las bacterias son capaces de excretar AMP cíclico para alguna función que desconocemos. Sabemos, por otro lado, que este compuesto atrae las células ameboides del hongo, las cuales se ceban así sobre las bacterias que las producen. Cuando las células de aquél se agregan para formar el tallo diferenciado, adquieren la capacidad de producir ellas mismas AMPc, el cual actúa precisamente como agente principal en la agregación celular. Sabemos también que este compuesto se descubrió inicialmente por Sutherland como un agente hormonal intermediario en organismos superiores. De esta forma, un mismo compuesto es capaz de actuar a diferentes niveles de organización: como un agente químico externo, como una hormona primaria o, en los organismos más evolucionados, como un segundo mensajero. Así, la ecología, la biología del desarrollo y la fisiología se nos muestran como estrechamente relacionadas, y la diferencia está en donde tracemos la línea entre organismos y medio ambiente.

A la busca de un mundo invisible

El hombre puede sublimarse o enardecerse escuchando una sinfonía o inhalando un perfume. En ambos casos percibe un mensaje relacional —físico o químico— invisible y significativo. El primero afecta a sus estructuras corticales, el segundo más bien a las viscerales. El mundo de los quimiomensajes constituye un territorio de lo ecológico que no es precisamente privativo del hombre, como ya vimos en un claro ejemplo. Hoy sabemos que organismos tan simples como las bacterias y los hongos disponen de quimiosensores tan versátiles y refinados como las respuestas que facilitan. Conocemos desde hace tiempo la asombrosa sensibilidad de los insectos para captar los telemensajes sexuales vehiculizados en unas pocas moléculas emitidas a gran distancia del receptor. La exquisita especificidad de algunos perros para detectar desde muy lejos a su propio amo, o la de los salmónidos para rastrear de manera infalible a través de los mares el lecho fluvial de su infancia, constituyen otros pasmosos ejemplos de percepción sensorial mediada por agentes químicos, que en ambos casos, a diferencia de las feromonas de los insectos, ni siquiera son elaborados activamente como mensajeros para un reclamo específico.

Este mundo relacional parece que abarca virtualmente a todas las especies vivientes de la Biosfera, y constituye un campo de trabajo que justamente empezamos a explorar y conocer en cuanto a la comunicación química territorial entre plantas, y entre éstas y sus contornos inanimados, y en lo referente a la ecología de los terpenoides y esteroides que actúan como agentes no hormonales entre plantas e insectos. Nos referiremos brevemente a estas dos líneas de trabajo, actualmente muy activas y prometedoras en sus aspectos básicos y aplicados.

El término *alelopatía* se refiere a la interacción entre unas plantas y otras a cualquier nivel de complejidad, a través de efectores bioquímicos que pueden actuar como beneficiosos o perjudiciales (2). Existen ejemplos muy obvios y bien estudiados de inhibición del crecimiento vegetal alrededor de ciertas plantas y especies arbóreas, como el nogal, la artemisia o el guayule, debido a la secreción de sustancias potencial o directamente tóxicas para otros vegetales. El fenómeno, aunque sea menos aparente, sabemos hoy que es muy general, y en los últimos años se ha puesto en evidencia su gran importancia ecológica en las colonizaciones y sucesiones de distintas especies vegetales. El papel del proceso alelopático se ha demostrado claramente, por ejemplo, en la dominancia de los arbustos del chaparral sobre otras especies herbáceas, y en los patrones de distribución de la vegetación en función de otras especies botánicas o en la colonización de ciertos suelos baldíos. Asimismo, se ha puesto en evidencia que la resistencia de muchas plantas a las infecciones por virus, bacterias y hongos, puede estar asociada a la producción de sustancias inhibidoras para esos agentes patógenos. Se han identificado compuestos de este tipo directamente en las hojas, raíces, flores, frutos y semillas de muchas especies.

El fenómeno de la alelopatía comprende por extensión las interacciones bioquímicas que ocurren entre plantas y animales. Una razón importante para la supervivencia de muchas plantas se debe a la producción de sustancias que previenen el ataque de ciertos insectos. En ocasiones la concentración de esos productos determina distintas respuestas. Así, los terpenos de cierta variedad de abeto actúan como repelentes por encima del 1 por 100, y como atrayentes por debajo de 0,1 por 100, para las especies de insectos asociados con esa conífera.

Hormonas y Ecología

La ecología molecular del binomio planta-insecto se revolucionó de manera espectacular hace ahora diez años, cuando unos investigadores japoneses descubrieron que ciertas plantas sintetizan una enorme cantidad de compuestos con efectos similares y aun superiores a los de la potente ecdisona, la hormona de la metamorfosis de los insectos. Baste indicar que, a partir de unos 2 gramos de rizoma seco del helecho común, se pueden obtener 25 miligramos de β -ecdisona, que es la cantidad extraída originalmente por Butenandt a partir de una tonelada de gusanos de seda. Este sorprendente hallazgo fue pronto confirmado y extendido por otros laboratorios en Europa y en los Estados Unidos, donde detectaron nuevas especies productoras. Pero la expectación por estos descubrimientos fue quizás sobrepasada por los sorprendentes resultados obtenidos a partir de las observaciones de Karel Sláma en el laboratorio de Carrol Williams, de Harvard, en donde observó que el chinche de campo europeo que se desarrollaba sin problemas en su laboratorio de Praga, no era capaz de llegar a la fase adulta sexualmente madura. Por el contrario, sufría metamorfosis a larvas gigantes supernumerarias. Estos resultados sin precedentes sólo eran compatibles con la presencia de una fuente desconocida de hormona juvenil en las colonias. Esta hormona de insectos actúa a dosis normales como un moderador de la acción de la ecdisona, permitiendo así el desarrollo a término de los distintos estadios de la metamorfosis. El misterio fue al fin aclarado cuando se descubrió la presencia, a elevada concentración, de una sustancia con dicha acción hormonal, en el papel que servía de fondo a las cajas de vidrio que albergaban los insectos. Cuando se cambió este papel por el usado en Praga, desapareció el fenómeno. Más tarde pudo comprobarse que varias de las maderas americanas utilizadas en la industria papelera, a diferencia de las europeas, contienen una extraordinaria cantidad de fitohormonas juveniles que actúan selectivamente sobre las especies de la familia a la que pertenece el chinche europeo (3). En la actualidad se trabaja sobre estas fitohormonas para su posible uso como quimioesterilizantes de las hembras de los insectos por diseminación venérea a través de los machos, contando con la importante ventaja de que actúan de forma específica.

El conjunto de estas sorprendentes observaciones en el tema de las hormonas de los insectos nos lleva a una

nueva perspectiva darwiniana, si llegamos a asumir que las plantas fabrican fitoecdisonas y fitohormonas juveniles para alguna finalidad con valor de supervivencia, tal como un mecanismo defensivo contra la predación de los artrópodos. Si ello es así, representaría una evolución en paralelo entre especies filogenéticamente muy distantes, para la biosíntesis de compuestos análogos, los cuales tiene sin embargo como *raison d'être* la de antagonizarse entre sí. ¿Cabe mayor refinamiento? Este ejemplo no es ciertamente singular; bajo el nombre de coevolución se conocen otros casos similares de acoplamiento o complementación funcional entre especies dispares, del mismo o distinto reino, que puede ser incluso ventajosa para ambos organismos implicados (4).

Modelos para una disciplina incipiente

El avance de nuestro conocimiento en ecología molecular se verá favorecido por el estudio de modelos sistémicos relativamente sencillos. Esto en principio no parece difícil, ya que es posible observar en directo ecosistemas razonablemente diversificados de un peso menor de 1 milígramo.

He tenido el privilegio de participar en uno de los famosos cursos californianos del profesor Van Niel sobre microbiología. Esto ocurrió en 1960, y entre las muchas vivencias inolvidables que allí tuve, quiero recordar ahora un experimento del curso tan simple como fascinante. Consistió en depositar varias partículas de suelo sobre la superficie de una placa con agar sin nutrientes. Tras incubar por dos días a unos 28°, nos pusimos a observar con pequeño y mediano aumento lo que allí pasaba. Recuerdo que me pasé varias horas inmerso en la contemplación de un mundo inédito, un microcosmos de interacción y lucha biológica activísima, en donde los protozoos devoraban bacterias, pequeños arácnidos se cebaban sobre aquéllos, y los hongos omnipresentes entretejían una espesa trama por entre aquel mundo de partículas vivientes o inanimadas, detectando ocasionalmente minúsculos nematodos a los que abrazaban y succionaban de manera implacable.

El conjunto de estos microorganismos que habitan las tierras, ríos y mares constituye la biomasa más aparente de la Biosfera en términos de peso y actividad biológica; de relevancia ecológica, en suma. En el caso de los suelos, concretamente, la variedad y cantidad de información ecológica asequible es realmente inmensa. Baste señalar que

en un gramo de tierra fértil habitan unas 10^9 bacterias, aparte de hongos, protozoos y otros pequeños animales, cuyo peso por unidad de suelo es bastante mayor que el del colectivo bacteriano. En conjunto, por cada hectárea de estos suelos hay unas 2,5 toneladas de microorganismos, lo que confiere holgadamente al medio edafológico la primera posición de la industria química del planeta. Otro tanto podría decirse en cuanto a su riqueza bioinformática, particularmente si tenemos en cuenta que cada gramo de suelo biológicamente activo contiene unas 10^{13} partículas virales, es decir, de auténticos paquetes de mensajes cifrados en ácidos nucleicos.

Por otro lado, en los ecosistemas del suelo operan la mayoría de los factores ecológicos presentes en otras comunidades y hábitats más familiares. Destaquemos aquí los fenómenos de *comensalismo* (asociación para beneficio de unos sin perjuicio de otros), *protooperación* (ventaja mutua, pero sin dependencia obligada), *simbiosis* o mutualismo (con dependencia). Por otro lado, las asociaciones perjudiciales comprenden genéricamente los procesos de *antagonismo* o interferencia, que incluye varias categorías: *parasitismo*, *predación*, *competición* (rivalidad por factores limitantes, tal como un nutriente) y *amensalismo* (supresión de unos por medio de toxinas sintetizadas por otros, que sustituyen a aquellos) (5).

En realidad, ecosistemas de este tipo son todavía excesivamente complicados como objetos de estudio a nivel molecular, debido a su gran diversidad y heterogeneidad biológica. Existen otros hábitats aparentemente más homogéneos y cercanos a nosotros, que nos atraen con mayor interés, como son los ecosistemas microbianos de los mamíferos, particularmente los humanos. En este ensayo nos referiremos con mayor énfasis al ecosistema intestinal del hombre, en donde centramos actualmente nuestro propio trabajo, como veremos más adelante.

Con todo lo que sabemos sobre este hábitat, desconocemos, sin embargo, la mayor parte de los mecanismos moleculares operativos en los procesos de colonización y sucesión por las distintas comunidades que en él conviven, bien en circunstancias normales o patológicas. En rigor, la especie más características del sistema, el *Escherichia coli* o vulgar colibacilo, constituye el objeto más estudiado y mejor conocido de toda la escala biológica, y por ello resulta particularmente chocante lo poco que se ha investigado este microorganismo desde un punto de vista ecológico.

gico. La Microbiología floreció hasta ahora con el estudio de organismos aislados y en condiciones artificiales. ¿Cuánta de la información obtenida resulta válida para los ecosistemas naturales en los que las bacterias realmente conviven con otros organismos, proliferan y mueren? Así, sabemos mucho del colibacilo en singular, pero desconocemos casi todo sobre cómo interactúa con las otras bacterias del hábitat intestinal y con las células que circundan ese concreto sistema, cuyo interés es evidente por motivos obvios. Parece razonable anticipar que en un futuro próximo recibirá un gran impulso el estudio de modelos ecológicos simplificados, a nivel microbiano y molecular, en el que se aborden primero interacciones dualísticas bacteria-bacteria, y gradualmente otras de mayor complejidad. En realidad cabe preguntarse por qué no se empezó en esto bastante antes, al menos después del éxito obtenido por los biólogos moleculares con el binomio virus-bacteria.

Claroscuros de la ecología microbiana

En los ecosistemas microbianos las sucesiones poblacionales se caracterizan por cambios en la composición de las especies y en la abundancia relativa de éstas. Ciertos grupos son particularmente abundantes en un momento dado y relativamente infrecuentes o totalmente ausentes en otro, cuando son desplazados por nuevas especies o variantes de éstas. Disponemos de una vasta literatura en la que se describen las secuencias de microorganismos que colonizan ciertos hábitats, como la cavidad bucal y el intestino de los recién nacidos, heridas y quemaduras en animales y plantas, rumen, hojas y raíces, suelos naturales o tratados, aguas residuales, material vegetal en descomposición, etc. Cada uno de estos ambientes se coloniza inicialmente por un grupo limitado de microorganismos y luego por una diferente constelación de especies. Sin embargo, a pesar de esta masiva información, desconocemos los mecanismos de estas secuencias o los del predominio de una sucesión determinada.

Por otro lado, sabemos que muchas comunidades se caracterizan por el grado de estabilidad de las poblaciones indígenas. Ello se debe fundamentalmente a factores bióticos que permiten controlar el número de individuos en cada grupo constituyente. Aunque existe escasa evidencia experimental, se considera que el fenómeno del amensalismo juega en ello un importante papel ecológico, particularmente en las comunidades bacterianas de alta den-

sidad constituidas por poblaciones heterogéneas, y las toxinas o antibióticos implicados, junto con otros factores abióticos, podrían servir tanto para prevenir invasores extraños, como para regular la composición, distribución y sucesión de las poblaciones naturales. Así, los hábitos alimentarios del hombre y otros mamíferos les hace deglutir una gran proporción de microorganismos autótrofos. Sin embargo, las comunidades del tracto intestinal rara vez aceptan, salvo en caso de enfermedad, a las bacterias adventicias como habitantes funcionales, y en su mayoría pronto desaparecen. Lo mismo ocurre en el rumen, la piel y en otros ecosistemas. La situación es muy distinta con el uso de agentes antimicrobianos en medicina, veterinaria o agricultura, ya que estos producen perturbaciones ecológicas que destruyen los mecanismos homeostáticos originales, y generalmente establecen condiciones favorables para el desarrollo masivo de especies extrañas a la comunidad. Con el empleo de los antibióticos convencionales en el hombre, se perciben claramente los cambios de microflora y sus consecuencias en los ecosistemas bucal, respiratorio, intestinal, epidérmico y otros. Son bien conocidos y comunes, por ejemplo, los casos de moniliasis por el hongo *Candida albicans* por administración oral prolongada de esos agentes, o la proliferación desusada de cepas de *Stafilococcus*, *Proteus* y *Pseudomonas* cuando se inhiben por la misma causa las poblaciones originales del tracto intestinal. Estos efectos secundarios indeseables, a veces graves, plantean la necesidad de seleccionar los nuevos antibióticos sobre unas bases más racionales que las actuales. Volveremos sobre este tema.

Las microcinas, una nueva familia de antibióticos

En las líneas que siguen describimos nuestra propia experiencia en el campo de la ecología molecular, que nos ha llevado recientemente a la identificación de una nueva familia de agentes antibióticos, cuyas propiedades podrían tipificar un modelo de operación ecológica entre los microorganismos.

Las primeras observaciones relacionadas con este campo nos surgieron casualmente hace varios años, cuando identificamos una variante de *E. coli* K 12. El agente responsable resultó ser un compuesto de bajo peso molecular y fue finalmente identificado como el aminoácido I-valina. Este hallazgo habría sido en sí bastante decepcionante de no haber provocado ciertas ideas operativas. La pri-

mera fue la de postular la hipótesis de que las modulaciones enzimáticas de tipo alostérico (6), consideradas como típicos diseños de regulación *intracelular*, podían implicar efectos *intercelulares* con notoria incidencia ecológica, y eventualmente evolutiva (7).

La segunda idea fue la de sospechar la existencia de otros mecanismos análogos, al menos en el mundo microbiano, en base a su evidente coherencia y belleza intelectual. Esta fue así, obviamente, una provocación dialéctica de tipo teleonómico, es decir, una especie de salto en el vacío apoyado en la confianza de lo que Jacob llama la «lógica de lo viviente», que nos permite adivinar lo que no hemos visto ni evidenciado experimentalmente, pero que «podría o debería haber» si por un momento vulneramos el principio de la objetividad del método científico y asumimos una coherencia y finalidad en los mecanismos de operación biológica.

Este planteamiento nos llevó a entrar en contacto con el doctor Fernando Baquero, entonces microbiólogo de la Residencia Sanitaria La Paz, de la Seguridad Social, quien estaba interesado en un problema relacionado, concretamente la elucidación de los mecanismos de las sucesiones bacterianas en el ecosistema intestinal.

Se conoce bien este sistema en varios aspectos. Alberga una comunidad de microorganismos (cuyo número supera al de las células de nuestro propio cuerpo), los cuales están bastante bien definidos, si bien muestran una sucesión de cambios dinámicos tanto en la composición de especies como en la abundancia relativa de cada residente. Estos cambios son con frecuencia muy rápidos y específicos para algunos invasores, normales o patológicos, los cuales son capaces de desplazar a otras especies muy afines mediante mecanismos mal conocidos. En el caso de las Enterobacterias, por ejemplo, se ha invocado a las colicinas (proteínas de elevado peso molecular y de acción bactericida altamente específica) para explicar tales desplazamientos, pero la evidencia disponible no parece dar cuenta del proceso (8). Consecuentemente se podría postular la existencia de otros agentes de origen bacteriano dotados con la información necesaria para antagonizar el crecimiento de otros competidores de una manera específica.

El intercambio de ideas entre los dos grupos de trabajo se concretó en un plan de investigación compartido, que fructificó al poco tiempo con resultados tangibles en apoyo de la hipótesis. Para nuestra sorpresa, tanto como el 10

por 100 de los organismos entéricos aislados del contenido fecal humano mostraron ser capaces de producir y excretar potentes agentes antibióticos de bajo peso molecular, a los que hemos denominado *microcinas* (7, 8).

Hasta el presente hemos identificado y caracterizado unas 25 microcinas aparentemente diferentes entre sí. Cuatro de ellas han sido aisladas en estado cromatográficamente puro. Son en general termorresistentes, solubles en metanol-agua (5:1) e inatacables, salvo algunas excepciones, por proteasas. Varias de ellas son antagonizadas en su acción por el aminoácido I-metionina. Por lo que hasta ahora sabemos, esta subfamilia de microcinas actúa inhibiendo la síntesis de proteínas, mayormente por interferencia con un enzima alostérico de la ruta metabólica que conduce a la metionina. Otros datos obtenidos por técnicas de la química orgánica sugieren que estas microcinas tienen unas estructuras moleculares análogas a las de este aminoácido.

La mayoría de las microcinas identificadas son producidas por cepas de *E. coli* y el espectro de acción antibiótica de las estudiadas hasta ahora presenta un gran interés. Por un lado son activas sobre miembros de la misma especie o especies muy relacionadas, pero a menudo son capaces de actuar también sobre microorganismos muy lejanos filogenéticamente de la especie productora, incluso sobre hongos del tipo *Candida* y otros.

El grupo del doctor Baquero obtuvo pronto evidencia, confirmada seguidamente en el laboratorio del doctor Y. Chabbert, del Instituto Pasteur de Paris, de que la biosíntesis de microcinas está codificada en plásmidos, es decir, en partículas genéticas extracromosomales. Esta es una línea de trabajo del grupo que tiene un excepcional interés, entre otras razones porque la codificación plasmídica de las microcinas puede potenciar enormemente su incidencia ecológica al facilitar su diseminación. Todo indica, por añadidura, que en dichos plásmidos se asienta también la capacidad «inmunitaria» de las cepas microcinogénicas contra sus propios productos. Es más, en el caso de las microcinas antagonizables por I-metionina, esta resistencia parece basarse en una producción anormalmente alta de este aminoácido, el cual aparece de hecho en el medio de cultivo de aquellas cepas.

Por la experiencia acumulada en nuestro trabajo, se puede presumir la existencia de muchas más entidades microcínicas que las identificadas hasta el presente, al me-

nos entre las bacterias entéricas. Cabe asimismo suponer la ocurrencia de sustancias análogas en otros ecosistemas distintos del intestinal de mamíferos. En base a sus características, las microcinas parecen constituir una familia con propiedades aparentemente distinguibles de las de los grandes grupos en que pueden agruparse los antibióticos convencionales, los cuales, como es sabido, proceden casi todos de microorganismos aislados de suelos. Uno de estos grupos lo constituyen los producidos por Actinomicetos, mayormente del género *Streptomyces*; su estructura química es muy heterogénea, y en general muestran un amplio espectro de acción antibiótica. El segundo grupo lo producen bacterias esporogénicas del género *Bacillus*, como las bacitracinas, tirocidinas y polimixinas, compuestos oligopeptídicos de carácter cíclico que, a diferencia de las microcinas, no se excretan libremente al medio de cultivo. Son también activos sobre muchos tipos de bacterias. En contraste con las microcinas, producidas por bacterias gram-negativas no esporogénicas, los antibióticos usuales no son activos sobre especies estrechamente relacionadas con las productoras.

En cuanto al posible papel fisiológico de las microcinas, disponemos de una información razonablemente convincente para sospechar en ellas una misión ecológica relacionada con los mecanismos de desplazamientos poblacionales del ecosistema intestinal, normales o patológicos, señalados más arriba. Abonan esta hipótesis los siguientes datos: a) abundancia de cepas productoras; b) producción en medios de cultivo mínimos, en situación paralela al hábitat intestinal; c) carácter plasmídico de la síntesis de microcinas; d) especificidad de acción antibiótica muy coherente con la previsible y observable en las fluctuaciones de población del sistema; y e) notorio paralelismo de las propiedades físico-químicas y biológicas de la actividad antibiótica detectada en extractos de algunas heces infantiles (en sujetos no tratados por antibióticos) y la de las microcinas producidas *in vitro* por aislados entéricos de esas mismas heces.

De confirmarse esta hipótesis, el estudio de las microcinas y de sus mecanismos de acción molecular adquirirá una nueva dimensión, relacionada con un mejor conocimiento del ecosistema intestinal del hombre y demás mamíferos, incluyendo sus alteraciones por la flora microbiana enteropatógena. También parece predecible que la disponibilidad de distintos tipos de microcinas purificadas podría

eventualmente significar su aplicabilidad como fármacos de utilidad terapéutica. En relación con esto, cabe señalar el hecho de que ninguna de las cepas de *E. coli* microcinógenicas serotipificadas hasta el presente pertenece a la clase enteropatogénica. Adicionalmente, debe recordarse que la gran variedad de microcinas, su bajo peso molecular y la versatilidad de sus espectros de acción antibiótica, suponen en principio unas propiedades muy deseables para fármacos potenciales útiles en el tratamiento de distintos procesos infecciosos.

Un futuro pendiente de recrear

Cuando se exploran y elucidan en profundidad los mecanismos de acción biológica, percibimos que la consigna de «inventar el futuro» de Dennis Gabor está en cierto modo superada. Mucho de ese futuro ya fue inventado por la evolución biológica y tan sólo nos queda recrearlo. Esta recreación nos ofrece dos vertientes. Una es la que nutre de contenido a la llamada ciencia Biónica, o ingeniería de inspiración biológica; es la que, por ejemplo, nos trajo el radar tras el estudio de la comunicación ultrasónica de los murciélagos. O la que nos puede traer sistemas de transferencia energética o informática mucho más eficaces y refinados que los actuales en uso. La otra vertiente atañe al propio biólogo, y promete darle sustanciosos dividendos en el conocimiento básico y aplicado.

El hallazgo de nuevos antibióticos de utilidad terapéutica podría constituir aquí buen ejemplo de programa diseñable según la lógica que preside inexorablemente el mundo biológico. Es bien sabido que los programas de búsqueda de nuevos agentes antimicrobianos se basan mayormente en sistemas de *screening* en los que se ensaya al azar innumerables muestras de suelos con la esperanza estadística de hallar algo útil en medio de mucho inútil. Sólo ocasionalmente los farmacólogos y los químicos orgánicos programan y conciben diseños más racionales para lograr moléculas que «podrían» tener esas mismas acciones. Cabe preguntarse, sin embargo, si no sería aconsejable aprovecharse de la propia lógica de la ecología molecular para facilitar dicha búsqueda. En el caso de nuestro trabajo, el planteamiento inicial se centró en esclarecer el enigma de los mecanismos moleculares responsables de las sucesiones bacterianas en un ecosistema dado. Pero, ¿no es ésta precisamente la estrategia de fondo en un tratamiento por antibióticos? ¿No será por tanto aconsejable

explorar los nuevos agentes con una óptica ecológica? Pensemos que si en un ecosistema microbiano no colonizan normalmente ciertos organismos patógenos como las salmonelas y shigelas, los estafilococos y estreptococos, o la levadura *Candida*, que sólo ocasionalmente prosperan en este hábitat, quizá se deba a la presencia de antibióticos producidos por los colonizadores habituales que actúan específicamente sobre aquéllos, como parece ser el caso del ecosistema intestinal. Asumamos por ello que la evolución biológica se ha anticipado con gran imaginación y eficacia al quehacer de farmacólogos y químicos, y descifremos sus diseños moleculares explorando racionalmente los hábitats que más nos interesan, como son los ecosistemas intestinal, bucal y nasal, epitelial y genital, entre otros, en el caso del hombre y animales superiores. O en las raíces, hojas, semillas y frutos, como ejemplo en el caso de las plantas. De paso, además, descubriremos nuevos mensajeros ecológicos, y desvelaremos quizás mecanismos inéditos y hasta fenómenos insospechados dentro de un territorio casi virgen, circundado de promisorias fronteras, como es el caso de la Ecología Molecular (9).

Referencias bibliográficas

1. C. Asensio, «Molecular Ecology», en *Reflections on Biochemistry*. (A. Kornberg y col., editores), p. 235-240, Pergamon, Oxford-Nueva York, 1976. Una versión en castellano de este ensayo ha aparecido recientemente en el libro *Avances de la Bioquímica* (L. Cornudella y col., editores), P. 413-421, Salvat, Barcelona, 1977.
2. Véase la monografía *Alleopathy*, por E. L. Rice, Academic Press, Nueva York, 1974.
3. Esta extraordinaria historia, con más detalle, puede leerse narrada por uno de los propios autores en el artículo «Hormonal Interaction between Plants and Insects», por C. M. Williams, en *Chemical Ecology* (J. T. Bonner, editor), Academic Press, Nueva York, 1970.
4. Véase, por ejemplo, R. Margalef, «Ecología», en *Fronteras de la Ciencia*, p. 85-186, serie Aula Abierta de la U.N.E.D., Madrid, 1977.
5. Una excelente monografía en este campo es *Microbial Ecology* por M. Alexander, John Wiley, Nueva York, 1971.
6. Ver el ensayo de esta serie (*Boletín Informativo*, Fundación Juan March, n.º 66) «Los enzimas, agentes de la vida», por A. Sols.
7. C. Asensio, J. C. Pérez-Díaz, M. C. Martínez y F. Baquero «A new family of low molecular weight antibiotic», *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 69:7-14 (1976).
8. F. Baquero y C. Asensio, «Microcinas», en *Aspectos actuales de las relaciones huésped-parásito e intermicrobianas*, p. 169-196, Monografías básicas de la Soc. Esp. de Microbiología, n.º 2, Madrid, 1977.
9. En el trabajo sobre microcinas descrito en este ensayo, en sus aspectos bioquímicos colaboraron con el autor: José Claudio Pérez-Díaz, Alfredo Aguilar, Antonio F. Duro, Paloma Larios y Amalia Montes. Dicho trabajo fue apoyado en buena parte por la Comisión Asesora de la Investigación Científica y Técnica, de la Presidencia de Gobierno, y por los Laboratorios Normon y Antibióticos, S. A. Finalmente, el autor desea agradecer a los doctores Alberto Sols y Pedro Sánchez sus comentarios críticos al manuscrito previo de este ensayo.