

Maravillas del infierno

Se ha descubierto que la vida es posible en ambientes de la Tierra que sobrepasan las condiciones de normalidad aceptable y corriente; más aún, pueden alcanzar límites inimaginables: aguas surgentes, conductos oceánicos hidrotermales y líquidos de descarga de los reactores nucleares. En un número reciente de esta revista se trató sobre los biofilms y su inquietante crecimiento en todo tipo de superficies y conductos¹. Ahora es el turno de microorganismos que se desarrollan en suelos o aguas calientes geotermales conteniendo sulfuro y azufre. Son procariotas, uno de los dos grandes grupos en que se dividen a los seres vivos, microorganismos que pertenecen a las divisiones bacterias y arqueobacterias, sin núcleo ni mitosis. El otro grupo, los eucariotas, células con núcleo y división mitótica, incluyen las plantas y animales, estos últimos una minúscula fracción del total de seres vivos. Pocos eucariotas, hongos y algas en su mayoría, viven a temperaturas cercanas a 60 °C en tanto que un número considerable de procariotas se sienten cómodos a temperaturas de más de 110 °C. Con esos valores veríamos las proteínas convertidas en jalea, los ácidos nucleicos desintegrados, y descartamos la vida en Venus o en los primeros años de la Tierra por estas mismas razones; pero no, no es así, esos procariotas no sólo sobreviven sino que prosperan y de ahí el nombre que les han dado, termófilos o hipertermófilos, amantes o apasionados por el calor.

Las bacterias y arqueobacterias utilizan la quimiosíntesis para generar masa corporal y así como los herbívoros transforman el pasto en carne, estos microorganismos convierten las pocas sustancias que encuentran en material biológico. Desde el lecho oceánico se liberan gases, y el agua, rica en minerales y calentada por el magma subyacente, es expulsada desde las profundidades de la corteza terrestre hacia la superficie². No agua caliente o vapor a presión como en un autoclave sino agua a 350 °C y a cientos de atmósferas de presión. Al entrar en contacto con la masa de agua fría (2° C) el azufre y otros elementos que son despididos por el magma, se oxidan y sus sales se cristalizan formando concreciones botroidales, chimeneas en el lecho marino que admiramos en las páginas del *National Geographic Magazine*, fuentes de vida para los termófilos, y además el alimento de los camarones. Pero la adaptación al medio va más allá. Si no hay oxígeno, no importa, para la síntesis de ATP utilizan al sulfato (o sulfito) y si no hay, al nitrato (o nitrito) como aceptor de electrones en lugar de oxígeno en la respiración anaerobia; a falta de carbono orgánico tienen el del CO₂, si el medio es muy alcalino o muy ácido, se las arreglan con modificaciones específicas en la permeabilidad de la membrana celular. La vida sigue casi a partir de las rocas. En los géisers y fumarolas del Parque Nacional de Yellowstone en los EE.UU. o en nuestra Puna jujeña, el agua de lluvia o de los ríos penetra en la tierra, es calentada por la actividad volcánica subyacente y emerge en forma líquida o de vapor al entrar en contacto con la atmósfera. No es nuestra intención agotar este tema, así que sugerimos al amigo lector la lectura del estupendo libro de Brock sobre biología de los microorganismos³.

Ahora bien ¿qué tienen de raro estos seres? Poco o nada en particular, al menos al ser observados con ayuda del microscopio, aunque una singular composición lipídica de sus membranas con mayor contenido de uniones éteres y permeabilidad controlada de su membrana, entre otros factores, permiten la vida en esas aguas que no sólo pueden ser hirvientes sino cáusticas. Los fosfolípidos con uniones éter son difíciles de degradar y en algunas arqueobacterias sus cadenas hidrofóbicas se unen entre sí formando una capa monolipídica en lugar de la bicapa que encontramos en el resto de los tipos celular-

res. Por otro lado, los ácidos nucleicos tienen una gran cantidad de bases G-C con tres puentes de hidrógeno en lugar de dos, y son uniones más fuertes que las de A-T o A-U. Además, la mayor cantidad de puentes salinos y puentes de hidrógeno adicionales de las proteínas contribuyen a su mayor estabilidad al calor^{3, 4, 5}.

A todo esto, ¿cuál es nuestro interés en los termófilos e hipertermófilos? Debido a su permanencia en la Tierra y su preferencia por el calor, se los considera una de las primeras formas vivas en nuestro planeta y por lo tanto guardan muchos secretos sobre la vida temprana en la Tierra. Más aún, al igual que con otros extremófilos, tienen un interés económico extraordinario porque sus enzimas son activas cuando las habituales dejan de serlo y son utilizadas en la conversión rápida de toneladas de maíz en endulzantes para las gaseosas, síntesis de detergentes y otras aplicaciones industriales como el refinamiento del petróleo. No es que el dinero nos sea indiferente, pero nuestro interés es porque estas bacterias y arqueobacterias constituyen la fuente de proteínas estables empleadas en investigación y diagnóstico. Dos de ellas nos interesan: *Thermus aquaticus* y *Aeropyrum pernix*, utilizadas por sus enzimas y canales iónicos y traídas a la luz no por serendipia sino por la sagacidad de los investigadores.

En 1969 Thomas Brock and Hudson Freeze⁶ describieron una nueva especie de bacteria Gram negativa, *Thermus aquaticus*, aislada de los géisers del Parque Nacional de Yellowstone en los EE.UU. Son bacterias anaeróbicas y utilizan al nitrato en lugar del oxígeno como aceptor de electrones. Si las bacterias sobrevivían en esa temperatura, sus enzimas podrían resultar útiles para otras aplicaciones. Años después *T. aquaticus* sería famosa por ser la fuente de la *Taq* ADN polimerasa (*Taq* por *T. aquaticus*), una de las enzimas más populares en los laboratorios de biología molecular.

La *Taq* ADN polimerasa se une a una región de la doble hélice de ADN y posibilita la síntesis de una nueva cadena de ADN a partir de otra existente. Fue aislada en 1976 y por su termoestabilidad se la puede extraer con muy pocos contaminantes en comparación con otras fuentes⁷. Poco tiempo después hizo su aparición la PCR y la *Taq* ADN polimerasa, ahora clonada en *E. coli*, convertida en oro en polvo. La enzima permanece inalterada luego de los repetidos ciclos de alta temperatura a la que se somete la muestra para separar las dos cadenas de ADN, permitiendo que la ADN polimerasa sintetice una secuencia determinada del ADN, amplificándola millones de veces. Además, la *Taq* ADN polimerasa vino como anillo al dedo para la automatización de la PCR, la electrónica hizo el resto y esta irrupción de información genética en nuestra vida diaria sigue transformando gran parte de la medicina, el diagnóstico filial y hasta la resolución de los crímenes. Aunque qué cosa es en verdad la vida no lo sabemos, comenzamos a entenderla un poco más.

Ahora el segundo de los temas y la importancia del *Aeropyrum pernix* para entender el funcionamiento de los canales iónicos. La información que obtenemos de ellos proviene de la investigación química-biofísica y de la clínica, como el síndrome del canal de K⁺ atribuido a los efectos adversos de drogas activadoras de estos canales⁸. Por otro lado, los canales son proteínas y sabemos que su función depende de la estructura tridimensional, crucial entonces es descubrirla en forma experimental. Para eso se estudian los cristales de proteínas con la difracción de rayos X, una radiación electromagnética con una longitud de onda de 0.1 nm (igual al diámetro del hidrógeno). Cuando el haz es dirigido hacia un cristal, los rayos se difractan por el choque con los átomos que lo forman y estas difracciones son analizadas para determinar la longitud de onda de los rayos X incidentes, o la distancia entre los átomos del cristal, y de este modo construir las hermosas imágenes que conocemos de las proteínas. No es una técnica nueva, más bien casi centenaria, descubierta por Friedrich, Knipping y von Laue en 1910 y desarrollada por los Bragg, padre e hijo, ganadores del Nobel de Física de 1915. Todo bien, pero con los canales iónicos este estudio es muy difícil ya que sus proteínas están embebidas en los lípidos de la membrana y son refractarias a la formación de cristales; además, se necesitan grandes cantidades de proteínas purificadas. Ahí están las bacterias, crecen rápido y tienen canales iónicos y aquí hace su

Fig. A la izquierda se observa una fotografía de la arqueobacteria *Aeropyrum pernix* y a la derecha un esquema de la arquitectura de una subunidad de su canal de K^+ voltaje dependiente revelada con la difracción por rayos X. Cuatro subunidades distribuidas en forma simétrica forman el canal de K^+ ; cada una de ellas es formada por seis segmentos (S1 a S6). S4 es el principal componente del sensor del voltaje o potencial que abre o cierra el canal. Una cadena de aminoácidos, la hélice del poro (P), une los segmentos S5 y S6 que se disponen alineados a lo largo del poro conductivo y le confieren la selectividad a los iones. C y N son los extremos carboxilo y amino de la secuencia de aminoácidos que componen esta subunidad. Las líneas de puntos se refieren a los límites extra e intracelular de la membrana celular. Modificado de la referencia 10.

entrada la *A. pernix* aislada en una fuente térmica en la costa del extremo sur de Japón⁹ (Figura). Es hipertermófila –de allí su nombre: *ágil en el aire de fuego*– aerobia, uno de los pocos casos en este tipo de arqueobacterias heterótrofas que requieren compuestos orgánicos como fuente de carbono. La arqueobacteria viene con un bono, una ventaja adicional que no fue pasada por alto por los investigadores. Las proteínas extraídas de ella son más rígidas a temperaturas de laboratorio y brindan imágenes de difracción más uniformes que las de los eucariotas. Resulta que cuando el cristal de la proteína es irradiada en el sincrotrón con rayos X de alta intensidad, la imagen es distorsionada si la estructura no es firme, algo parecido a una foto movida. Esto no pasa con los cristales de un canal de K^+ voltaje dependiente aislado de esta arqueobacteria por Mackinnon¹⁰. Así se pudo demostrar el funcionamiento mecánico de este canal y conocer su estructura tridimensional, avance trascendente en la fisiología, reconocido y premiado con la mitad del Premio Nobel de Química del 2003¹¹. Ahora sabemos que las cuatro subunidades que forman el canal poseen aminoácidos que se disponen con los oxígenos carbonílicos hacia el poro formando un conducto “simil-agua”. La interacción del ion K^+ con estos grupos polares permite su deshidratación y pasaje por el poro del canal, y esta interacción con los grupos carbonilos es transitoria porque los iones K^+ pasan en “fila india”, es decir uno detrás de otro, y la repulsión eléctrica por tener la misma carga hace avanzar al ion. La paradoja, ahora resuelta, es que el ion Na^+ , siendo más pequeño que el K^+ no alcanza a los grupos carbonilo, no se deshidrata y es la razón por la cual el canal de K^+ resulta una muralla para ellos. Conocemos cómo es el sensor al voltaje del canal, su ubicación y por qué los anestésicos y otras drogas actúan con facilidad sobre estos canales.

¿Qué significa entonces esa imagen de difracción de rayos X, una cinta de aminoácidos plegados que van y vienen en el espacio y que insertados en las membranas permiten una de las funciones básicas de las células? Mucho, porque esos estudios, además de su importancia biológica serán valiosos a la hora

de entender la fisiopatología de las canalopatías debidas a mutaciones en los canales o ataques de drogas y autoanticuerpos, como el síndrome de QT prolongado y otras arritmias, neuromiotonías, epilepsia y ataxia episódicas, entre otras¹². Una razón importante para pensar esto es que el canal de la arqueobacteria es muy similar en su función al de las células eucariotas, un hecho que al final es lógico. La evolución es un proceso creativo de la naturaleza, oportunista e imperfecto, mediado por la selección natural y las mutaciones, y parece que utiliza siempre los mismos elementos aunque los ordena en forma diferente, como el juego del *Meccano* (lector joven: como el *Lego*). Pero, detrás de la diversidad y formas de comportamiento de las millones de especies, se oculta una extraordinaria unidad de estructuras y funciones. Al final y al cabo y aunque modificadas, las llevamos en cada una de las células, son nuestras mitocondrias.

Basilio A. Kotsias

Instituto de Investigaciones Médicas A. Lanari
Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires
kotsias@mail.retina.ar

1. Barcat JA. Biofilms. *Medicina (Buenos Aires)* 2005; 65: 369-72
2. Lutz R A. Dawn in the deep. *National Geographic Magazine* 2003; 203: 92-103.
3. Brock. *Biología de los microorganismos*. Madigan MT, Martinko JM, Parker J. eds. Octava edición. Madrid: Prentice Hall, 1998, pp 757-68.
4. Albers SV, van de Vossenberg JL, Driessen AJ, Konings WN. Adaptations of the archaeal cell membrane to heat stress. *Front Biosci* 2000; 5: D813-20.
5. Kreil DP, Ouzounis CA. Identification of thermophilic species by the amino acid compositions deduced from their genomes. *Nucleic Acids Res* 2001; 29: 1608-15.
6. Brock TD, Freeze H. *Thermus aquaticus* gen. n. and sp. n., a nonsporulating extreme thermophile. *J Bacteriol* 1969; 98: 289-97.
7. Chien A, Edgar DB, Trela JM. Deoxyribonucleic acid polymerase from the extreme thermophile *Thermus aquaticus*. *J Bacteriol* 1976; 127: 1550-7.
8. Singer M, Coluzzi F, O'Brien A, Clapp LH. Reversal of life-threatening, drug-related potassium channel syndrome by glibenclamide. *Lancet* 2005; 365: 1873-5.
9. Sako Y, Nomura N, Uchida A, et al. *Aeropyrum pernix* gen. nov., sp. nov., a novel aerobic hyperthermophilic archaeon growing at temperatures up to 100 degrees C. *Int J Syst Bacteriol* 1996; 46: 1070-7.
10. Jiang Y, Lee A, Chen J et al. X-ray structure of a voltage-dependent K⁺ channel. *Nature* 2003; 423: 33-41.
11. Jaim Etcheverry G. De agua y sal somos. Premios Nobel de Fisiología y Medicina y de Química 2003. *Medicina (Buenos Aires)* 2004; 64: 170-4.
12. Ahscroft FM. Ion channels and disease. San Diego: Prentice Hall, 2000, pp 97-123.

Prestigio de la oscuridad

[. . .]

Lo profundo es a menudo oscuro. Así, a causa de su profundidad, son oscuros problemas como el de Dios, la cuarta dimensión, el pecado, la esencia de la belleza. Por la misma causa suelen ser oscuros Platón, Aristóteles, Einstein o Heidegger. Pero la gente, con esa facultad que tiene de convertir un silogismo en un paralogismo, invierte la proposición y sale creyendo que todo lo oscuro es profundo. Que es una tontería, se prueba exhibiendo el examen de matemáticas de un mal alumno.

[. . .]

De una vez por todas, pues, distingamos entre la expresión de la oscuridad y la oscuridad de expresión. Es cierto que hay problemas oscuros, como el de la existencia de Dios; mayor razón para expresar nítidamente en qué son oscuros.

Ernesto Sábato