

REAL ACADEMIA DE CIENCIAS
EXACTAS, FÍSICAS Y NATURALES

EL ROSTRO HUMANO
DE LA CIENCIA

REFLEXIONES EN TORNO A LA REGULACIÓN
BIOLÓGICA

DISCURSO LEÍDO EN EL ACTO DE SU
RECEPCIÓN COMO ACADÉMICO DE NÚMERO
POR EL

EXCMO. SR. D. LUIS FRANCO VERA

Y CONTESTACIÓN DEL
EXCMO. SR. D. PEDRO GARCÍA BARRENO
EL DÍA 12 DE NOVIEMBRE DE 2003



MADRID
Domicilio de la Academia
Valverde, 22

Depósito legal: M. 47.001-2003

Realigraf, S. A. • Pedro Tezano, 26 • 28039 Madrid

ÍNDICE

	<u>Págs.</u>
Introducción	5
BASES MOLECULARES DE LA REGULACIÓN BIOLÓGICA	
Regulación y control	15
Primeros datos sobre regulación y control de enzimas	16
Regulación y control de la expresión génica	18
La primera gran integración en el estudio de la regulación biológica	22
El desarrollo del concepto de alosterismo. Desde 1963 hasta nuestros días	24
Creatividad y optimismo	27
La colaboración: una enriquecedora realidad en la investigación.	31
LA CRECIENTE COMPLEJIDAD DE LA REGULACIÓN ENZIMÁTICA	
Otros mecanismos de modulación de la actividad enzimática	35
¿Cabe la categoría de finalidad en el estudio de la Biología?	38
Las funciones de la regulación por modificación covalente	40
La activación de la glucógeno fosforilasa	44
¿Un proceso complejo o, más bien, un proceso bello?	49
LA REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA EN EUCARIOTAS	
La estructura de la cromatina	57
Una nueva revolución en el estudio de la regulación génica	59

	Págs.
¿Puede tener rostro humano la competitividad en la investigación?	74
Remodelación y modificación de la cromatina	81
 UNA VISIÓN UNIFICADA DE LA REGULACIÓN BIOLÓGICA	
Factores de crecimiento	89
¿Es compatible el buen humor con la seriedad científica?	93
Regulación de la modificación de la cromatina	97
Cascadas de señalización: de un receptor de membrana al núcleo.	105
Una nueva integración: hacia la visión global de la regulación	109
La ciencia al servicio del hombre	113
 Conclusión	 123
 Bibliografía	 125
 Contestación del Excmo. Sr. D. Pedro García Barreno	 143

INTRODUCCIÓN

Excmo Sr. Presidente de la Real Academia,
Excmos. Srs. Académicos,
Señoras y Señores,
Amigos todos,

Hojeando los discursos de quienes, con ocasión similar a la de hoy, me han precedido en el uso de esta tribuna, se observa en el comienzo de casi todos ellos un cierto tono agridulce. A la alegría que produce el nombramiento como Académico, se suele unir la tristeza de que el entrar a formar parte de esta Corporación haya sido consecuencia del fallecimiento de otro miembro de la misma. Doy gracias a Dios de que, en mi caso, me vea libre de ese componente triste. Me habéis honrado con la medalla número 3 de esta Academia y, afortunadamente, las dos personas que la ostentaron anteriormente siguen —y ojalá sigan muchos años más— prestando valiosos servicios a la ciencia. Sucedo en la medalla número 3 al Prof. Salvador Rivas, quien, a petición propia y debido a su dificultad para participar en la vida de la Academia por la intensa labor de investigación que desarrolla en diversos países, pasó a la situación de Supernumerario en junio de 2000. Había ostentado la medalla número 3 con anterioridad el Prof. Manuel Losada, a quien circunstancias parecidas obligaron a pasar a la condición de Supernumerario en 1980.

Tenemos, pues, que remontarnos hasta 1966 para encontrar noticia del fallecimiento de un Académico que haya ostentado la medalla que a partir de hoy me honraré en llevar. En ese año fallecía D. José María Albareda, figura señera de la ciencia y uno de los artífices del resurgir científico espa-

ñol de la postguerra. Pero, si bien todo óbito causa pesar a quienes han conocido a la persona difunta, hay casos en que al pesar pronto sucede una segura sensación de dicha y de paz. No me refiero, por supuesto, a los casos en que el olvido borra los recuerdos, sino a aquellos en que quien se ha ido ha dejado un rastro luminoso imborrable. Como en una ocasión dijo D. Manuel Lora-Tamayo, Albareda fue «ejemplo vivo de hombre sabio y hombre bueno», de modo que el rastro que dejó no deriva sólo del buen hacer científico, sino, ante todo, de su calidad humana o, por mejor decir, de su calidad espiritual que es la realidad más radicalmente humana. Por eso, recordar ahora su fallecimiento no es motivo de tristeza, sino de estímulo y ejemplo para todos nosotros y, por tanto, de alegría. El también Académico de esta Corporación, D. Enrique Gutiérrez Ríos glosó tan acertadamente la vida de D. José María (1) que es innecesario detenerse ahora en ello.

Tuve el honor de coincidir en la Universidad Complutense, siquiera fuera fugazmente, con mi ilustre predecesor en la medalla número 3 de esta Real Academia, el Prof. Salvador Rivas, Doctor en Farmacia y en Ciencias Biológicas. Su traslado desde la Cátedra de Botánica de la Universidad Central de Barcelona a la de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Complutense se produjo pocos meses antes de mi acceso a la Cátedra de la Universidad de Valencia, pero pude coincidir con él en varias ocasiones y tuve tiempo de apreciar su buen hacer científico y humano. Recuerdo especialmente el tribunal de una tesis doctoral, del que él era Presidente y yo Secretario, en el que supo poner de manifiesto esas dos facetas de su actuación. Tengo el convencimiento de que la verdadera sabiduría no se apoya solamente en los cimientos del conocimiento profundo de la propia área de especialización, sino que ha de anclarse también en la categoría humana. De los primeros es casi ocioso que hable. La calidad de un científico queda reflejada en unos cuantos hechos objetivos, que son fáciles de captar por cualquiera. Basta, por ejemplo, bucear en cualquier base de datos para encontrar el nombre de Rivas asociado a numerosas publicaciones en el ámbito de la Fitosociología. También es fácil encontrar el papel pionero de Rivas en el desarrollo de la Bioclimatología, de modo que se puede hablar de un antes y un después en esta rama, en la que el punto de inflexión lo constituye precisamente su interés en ella, originado durante su estancia de dos años en el Smithsonian Institute. O bien, si se consultan los Anales de las Reales Academias del Instituto de España se puede constatar que, desde 1975, fecha en que leyó el discurso de ingreso titulado «Perspectivas sobre taxonomía vegetal», es miembro de número de la Real Academia de Farmacia y que, diez años más tarde, ingresó en esta Real Academia de Ciencias.

Si seguimos buscando datos con diferentes registros, encontraremos también inequívocas muestras de la solidez de esos cimientos científicos sobre los que se apoya la personalidad del Prof. Rivas. Ser, por ejemplo, Director del Jardín Botánico de Madrid no es un simple cargo honorífico, sino un exponente de la valía científica y dinamismo de quien, como Salvador Rivas, lo ha ostentado. Si se quieren mencionar otros datos, a formar parte de comisiones de expertos del Consejo de Europa no se llega por influencias extracientíficas, sino por el bien ganado prestigio de años de brillante ejercicio profesional. Llegar a ser doctor *honoris causa* por dos universidades españolas, por una italiana y por otra portuguesa, es también claro indicio de valía científica y del prestigio alcanzado por todo el mundo por quien lo ha recorrido estudiando *in situ* las relaciones entre vegetación y condiciones climáticas. Y si continuamos explorando la faceta académica del Prof. Rivas, pronto descubriremos que su compromiso con la Universidad no se ha limitado al desempeño de las labores docentes e investigadoras —eje en el que se vertebra la vida universitaria— sino que ha ido más allá, con la dedicación a cargos que, como el de dirección del Departamento de Botánica de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense o el de Vicerrector de Investigación de la misma Universidad, ponen de manifiesto una voluntad de sacrificarse por el bien de la institución universitaria.

Ya veis cómo, aún limitándonos a recorrer su currículum se van desprendiendo de la atenta consideración de sus méritos tantos aspectos de esa faceta humana que debe mostrar un buen científico si de verdad quiere serlo. Si, además, recogemos los testimonios de quienes han convivido con él en la cátedra, en las Academias, en tantos afanes científicos en España y fuera de España, acabaremos por hacernos una cabal idea del valor del Prof. Rivas. Testimonios que, por ejemplo, nos hablan de la honestidad mostrada al rehacer todo el aparato metodológico necesario para elaborar la tercera versión del mapa de vegetación de España. O de su afán por transmitir a discípulos y colaboradores su saber y a compartirlo con ellos. O bien, si escuchamos a Michael Barbour, de la Universidad de Stanford, nos daremos cuenta de lo que los botánicos norteamericanos deben a los estudios de Salvador Rivas sobre la vegetación de su propio país. Así, podemos ir haciéndonos idea del perfil científico y humano de la persona de quien hoy recojo el testigo de esta medalla número 3. Una medalla que, como el mismo Prof. Rivas decía en su discurso de ingreso en esta Real Academia «llevaron Colmeiro, Albareda y Losada», por lo que ha tenido una «tradición botánica, vegetal» (2).

Hoy se rompe esta tradición, pues la Biología Molecular de plantas ha constituido sólo una parte minoritaria de mi vida científica. Pero me honro

en ser sucesor de todos los académicos que han ostentado previamente esta medalla y, de otra manera, de la herencia recibida del trato con otros académicos. Para mí es un motivo de legítimo orgullo declarar que tal herencia ha sido extraordinariamente valiosa y que el patrimonio científico recibido de quienes eran o serían algo más tarde miembros de esta Corporación comenzó a formarse justamente con mi acceso a la Universidad Complutense. En mi primer año universitario, un curso en el que los estudiantes de bachillerato llegábamos con una mezcla de respeto y temor ante ese nuevo periodo que se abría en nuestras vidas, tuve la inmensa fortuna de contar con un espléndido grupo de profesores que contribuyeron a disipar mis temores y a fortalecer mi incipiente vocación científica. Entre ellos estaban D. Salustio Alvarado, D. Armando Durán, D. José María Fúster, D. Francisco Hernández Pacheco y D. Manuel Lora-Tamayo. En los años siguientes de mi licenciatura en Ciencias Químicas, además de recibir dos cursos más el magisterio del Profesor Lora-Tamayo, mi formación creció con las enseñanzas y ejemplo de D. José Baltá, D. Enrique Costa Novella, D. Enrique Gutiérrez Ríos, D. Jesús Morcillo y D. Francisco Navarro Borrás. Por razones obvias, he de mencionar aparte a D. Ángel Martín Municio. Baste, por ahora, decir que fue él quien me introdujo en un campo apasionante, la Bioquímica, que me cautivó desde las primeras lecciones de aquel curso 1962-63 hasta constituirse en el escenario de mi actividad profesional.

Con la licenciatura recién terminada inicié lo que se ha dado en llamar la carrera universitaria, también bajo la directa supervisión de dos Académicos ya mencionados: fui Ayudante de clases prácticas de Química Orgánica, en la Cátedra de D. Manuel Lora-Tamayo, a la par que iniciaba mi tesis doctoral bajo la dirección del Prof. Martín Municio. Y durante los primeros 15 años de esa carrera, en la Universidad Complutense, tuve la oportunidad de conocer a otros Académicos, profesores de la Universidad, de quienes no había recibido sus enseñanzas durante la licenciatura, pero que me transmitieron el magisterio de su vida y de su dedicación a la ciencia. Entre ellos estaban, además de D. Salvador Rivas, D. Emiliano Aguirre, D. Florencio Bustinza, D. Felipe Calvo, D. Luis Gutiérrez Jodra, D. Bermudo Meléndez, D. Maximino Rodríguez Vidal y D. Carlos Sánchez del Río. Y de esa época data también el inicio de mi trato, siempre fructífero, con científicos que ingresarían más tarde en esta Academia: D. Miguel Angel Alario, D. Pedro García Barreno, D. Antonio García Bellido, D. Ramón Llamas, D. José María Montesinos, D^a Margarita Salas y D. David Vázquez. Finalmente, mi traslado a Valencia me permitió conocer y tratar a otros dos miembros de esta Corporación, los profesores López Pellicer y Valdivia.

Así pues, a lo largo de un ya dilatado periodo de tiempo, mi vida se ha visto jalonada por el conocimiento y trato con muchos Académicos. Algunos de ellos ya fallecieron; otros siguen entre nosotros. Y, como decía hace un momento, la herencia científica y humana recibida de todos ellos es extraordinariamente valiosa. Ojalá sepa hacerla fructificar de un modo que no desdiga la memoria de los que nos dejaron ni sea motivo de vergüenza para quienes siguen en esta Casa.

De una manera o de otra, las anteriores reflexiones pasaron por mi mente cuando supe que habíais decidido admitirme a esta Academia. A ellas se unió desde el primer momento un profundo agradecimiento, que sigo sintiendo desde lo más hondo y que me gustaría que no se amortiguara nunca. En este sentido, pienso que el mejor modo de manifestar ese agradecimiento es prestar la más leal colaboración a las tareas de la Academia. Desde este momento, acepto gustoso esta responsabilidad.

Pero la primera tarea que formalmente se espera de un nuevo académico es, precisamente, la que ahora he de hacer. El ingreso requiere un discurso, cuyo tema elige el recipiendario. A mi modo de ver, la cuestión no es trivial. Tiene que versar —es ocioso decirlo— sobre una materia de la competencia de esta Academia: las Ciencias. El campo es de una amplitud impresionante y sus fronteras se van dilatando cada vez más. Es obvio que el investigador, y todos lo somos, ha de esforzarse por ocupar una posición de vanguardia en su especialidad. Pero es también evidente que, aunque la experiencia investigadora que cada uno tenga necesariamente se manifieste en su modo de ver la ciencia, y aún lo condicione en cierta medida, la actividad de la Academia trasciende los intereses particulares de cada uno de sus miembros, en búsqueda de una síntesis superadora y enriquecedora. La dedicación de cada uno a su campo concreto le lleva a encariñarse con él, pero también a comprender que los demás no tienen por qué compartir de la misma manera ese cariño. Lo que, sin duda, compartimos todos es la ilusión porque nuestro esfuerzo no quede aislado, sino que redunde en beneficio de la ciencia. «No bastan los esfuerzos aislados (...) para recoger todos los óptimos frutos de un campo tan vasto, que en él se pierde la inteligencia humana», exponía D. Mariano Roca de Togores, a la sazón Ministro de Comercio, Instrucción y Obras Públicas a la Reina Isabel II al proponerle la creación de esta Real Academia. Y si esas razones eran válidas en 1847, con muchísimo más motivo lo son ahora.

Todas estas razones me han inclinado a elegir para esta ocasión un tema que pueda ser de interés general. Sería vana presunción pretender en esta mi primera comparecencia dar solución a esa síntesis superadora a la que antes me refería. Me limitaré, pues, a plantear un tema de reflexión,

con el título: «El rostro humano de la Ciencia». De todos modos, espero me disculpen si, por eso que algunos llaman deformación profesional —que yo prefiero denominar ilusión profesional—, mis raíces bioquímicas, y aún mi propia línea de investigación, aparecen reflejadas en el discurso.

A simple vista, la pregunta: ¿tiene la ciencia un rostro humano?, parece exigir una respuesta afirmativa incuestionable. ¿Acaso no han sido siempre hombres y mujeres quienes han hecho y hacen la ciencia? ¿No constituye el progreso de la ciencia uno de los logros humanos más admirados? Es cierto que la ciencia goza de un bien ganado prestigio; que cuando se quiere ponderar algo se le adjudica el adjetivo de científico, que muchas veces basta para desbaratar, por oposición, un argumento o postura contraria. Es innegable que, en muchos ambientes, incluso se tributa un culto casi mítico a la ciencia o a las ideas científicas y que se desprecia cualquier tipo de conocimiento que se base en otros planteamientos epistemológicos. Pero también es cierto que la admiración que el hombre de la calle siente por la ciencia o por el científico va muchas veces de la mano de la incompreensión. Son, desgraciadamente, pocas las personas capaces, no ya de comprender, sino aún de valorar en su justa medida el significado de los avances científicos. Y, como una inevitable consecuencia, es también cierto que se da un temor larvado a la ciencia, que se ponen bajo sospecha los descubrimientos, y aún los mismos científicos que los realizan.

No son antitéticas las posturas que se acaban de mencionar. El mito, como pseudoexplicación de una realidad no comprendida, genera miedo ante lo que, por desconocido, se nos presenta con facetas tiránicas imposibles de dominar. No cabe duda de que el desarrollo científico contribuyó a arrinconar los mitos que en edades antiguas atemorizaban a los hombres pero, paradójicamente, ha sido en muchos casos a costa de mitificar a la propia ciencia, que puede ser ahora para muchas personas el tirano incapaz de ser dominado salvo por unos pocos iniciados.

Seguramente, todas estas consideraciones son innecesarias entre las paredes de esta Casa. Quienes pertenecéis a ella habéis hecho de la ciencia no sólo un modo de vida, sino un ideal. Cada uno domina a la perfección su ámbito científico y no se os presenta, por tanto, el riesgo de sentirnos atemorizados ante unos progresos que, en buena medida, son fruto de vuestro trabajo. Pero, al igual que el resto de los que se dedican al cultivo de las ciencias, quienes aquí estamos, y hoy puedo comenzar a hablar en primera persona, somos una minoría en la sociedad. Además, todos somos conscientes de que nuestra tarea científica no sólo no se realiza de espaldas a la humanidad, sino que se desarrolla precisamente en favor de ella y, por

tanto, vale la pena reflexionar sobre cómo se presenta la ciencia ante el hombre. En el hombre, el rostro es la parte de su corporeidad que inmediatamente se hace patente ante los demás. Es, con palabras de Julián Marías, «donde sorprendemos a la persona, donde la descubrimos y hallamos por primera vez, donde asistimos a su trayectoria» (3). Por eso me parece conveniente que en esa reflexión contemplemos lo que se puede denominar el *rostro* de la ciencia. Pido de antemano disculpas por el atrevimiento que supone tratar de llamar vuestra atención sobre un tema que, de seguro, habéis considerado todos de una forma u otra. D. Santiago Ramón y Cajal, en su discurso de ingreso en esta Academia, se disculpaba diciendo «no voy a ofender vuestra ilustración ponderando las excelencias de la observación y de la experiencia como fuentes de conocimiento» (4), y si esto lo decía quien por sus dotes de observación y por la calidad de su experimentación levantó a tan gran altura el pabellón de la ciencia española, ¿qué disculpas tendré que presentar yo al exponeros estas reflexiones? Con todo, estoy seguro de que si aquéllas no son suficientemente cabales, sí lo será vuestra paciencia.

Reza el dicho popular que la cara es el espejo del alma, como queriendo indicar que el rostro refleja, manifiesta de alguna manera a los demás lo que se lleva en el interior. Si queremos, pues, afirmar que el rostro de la ciencia es humano, será preciso mostrar que en ella —en sí misma, o en su desarrollo— se pueden manifestar todas esas características que constituyen lo realmente humano. O, por volver la oración por pasiva, se puede reflexionar sobre las condiciones en que la ciencia en general o la actividad científica concreta son realmente *humanizadoras*, capaces de desarrollar, de hacer patentes las más nobles cualidades humanas.

Evidentemente, aquí se topa con una primera dificultad. A simple vista, uno puede decir que las cualidades humanas son aquellas acordes con la naturaleza del hombre. O las que contribuyen a descubrir esa naturaleza abstracta en una persona concreta. Pero en ambos casos, sería necesario definir qué se entiende por naturaleza humana y ésta es una tarea realmente ardua, en la que resulta difícil evitar una visión dualista (5). Pero el problema se puede abordar si se intenta primero definir lo propio del ser humano. Con palabras de Yepes:

«*Lo natural y propio del hombre es alcanzar su fin y el fin del hombre es perfeccionar al máximo sus capacidades, en especial las superiores: la inteligencia y la voluntad. Lo que corresponde a ambas es la verdad (por la razón), y el bien (por la voluntad)*» (5).

Así pues, toda actividad del hombre que tienda a alcanzar esos fines, la verdad y el bien, será realmente una actividad *humanizadora*; se verá en ella un *rostro humano*. Pero hay que concretar. Es necesario disponer de unos criterios que permitan decidir cuándo una acción está realmente encaminada a tales fines y esos criterios son los que llamamos *valores humanos*. De una forma u otra, todos actuamos apoyándonos en una serie de valores que no discutimos. Es cierto que la jerarquización que cada uno haga de los valores, e incluso el repertorio que utilice de ellos, pueden variar; es cierto que no todos admiten que existan unos valores objetivos —de ahí que se hable con frecuencia de la *crisis de los valores*—, pero eso no impide que se pueda manejar una lista de valores que unánimemente reconocemos todos, La solidaridad, la belleza, la sabiduría, la laboriosidad, la lealtad... son valores que nadie discute y que, de alguna manera, todos tenemos en cuenta al actuar.

Los párrafos anteriores pueden ayudar a concretar el propósito de este discurso. Se trata de ver cómo y en qué condiciones el ejercicio de la actividad científica refleja los valores humanos o permite su desarrollo. Y, para que la reflexión adquiera un matiz práctico, se hará al hilo de las enseñanzas derivadas de la investigación en un campo concreto de la Bioquímica: el estudio de la regulación biológica. La elección de este tema obedece a criterios ciertamente subjetivos; estoy seguro de que cualquier otro campo de otra ciencia cualquiera puede ofrecer ejemplos igualmente apasionantes. Pero, antes de empezar, son precisas dos consideraciones previas. En algunos pasajes de este estudio, me detendré en aspectos históricos. En otros momentos, los datos concretos vendrán de la mano de consideraciones epistemológicas. En otros, por fin, me referiré sólo al estado actual de una cuestión. El método cambiante sólo se justifica por el fin pretendido: encontrar aquellos hechos que mejor pongan de relieve el reflejo de los valores humanos en o por la investigación científica.

La segunda consideración es más bien una advertencia. A lo largo de la exposición aparecerá la labor ingente de hombres y mujeres de ciencia que ha permitido que la comprensión de la regulación biológica haya alcanzado las cotas más elevadas. Omitir una referencia a esa labor habría sido la más profunda de las injusticias. Su misma realización es ya una muestra del valor humano de su tarea o, por emplear las palabras del título de este discurso, muestra de modo ostensible el rostro humano de la ciencia. Quizá esas personas tuvieran algunos defectos patentes —es obvio que no se trata de juzgarlos— pero en su obra brilla ese reflejo maravilloso de lo auténticamente humano. Y ese reflejo luce también en tantos y tantos

científicos que, sin aparecer expresamente mencionados en este relato, han contribuido con su trabajo constante y abnegado. El rostro humano de la ciencia no se ve sólo en el trabajo de los grandes genios, sino en el de todos los hombres y mujeres de bien que se dedican a esta noble actividad de la producción y transmisión de la ciencia.

BASES MOLECULARES DE LA REGULACIÓN BIOLÓGICA

Regulación y control

El estudio de las bases moleculares de los procesos de regulación y control biológicos —que, como se ha apuntado, van a constituir el cañamazo sobre el que se ensartarán estas consideraciones sobre *el rostro humano de la ciencia*— se inicia históricamente a finales de la década de 1950. Lo hace, casi simultáneamente, en dos frentes: el de la regulación metabólica y el de la regulación de la expresión génica. Dos frentes que, aunque muchas veces hayan seguido caminos distintos y aún divergentes, han confluído, ya desde el principio, en numerosas ocasiones, y actualmente permiten dar, en muchos de sus aspectos, una visión unificada. El estudio de la regulación metabólica comienza como una continuación lógica de la investigación en Enzimología. El del control de la expresión génica, como una exigencia obvia del postulado del «dogma central» de la Biología Molecular.

Pero antes de seguir adelante, es preciso clarificar una cuestión terminológica. Se están empleando los términos *regulación* y *control* que, a menudo, se utilizan como si fueran sinónimos, aplicables a conceptos de significado intercambiable. Sin embargo, como ha advertido Fell (6), es importante distinguir adecuadamente entre ambos conceptos, cosa que, si bien puede ser fácil en el mundo de la tecnología, no lo es tanto en los sistemas biológicos.

Siguiendo a ese autor, se dice que existe *regulación* cuando un sistema mantiene una cierta variable, por ejemplo, la concentración de un metabolito o la velocidad de una reacción, constante a lo largo de un cierto

periodo de tiempo, a pesar de las fluctuaciones que puedan darse en las condiciones externas. Así, la regulación está íntimamente relacionada con la *homeostasis*, es decir, con el mantenimiento de un estado interno relativamente estable. En este sentido, Hofmeyr y Cornish-Bowden (7) comentan que la eficacia de la regulación metabólica debería establecerse según la forma en que un sistema metabólico responda a los cambios ambientales. En algunos casos, la regulación puede tener como consecuencia una respuesta muy sensible que ajusta la velocidad de una ruta metabólica a las condiciones externas manteniendo prácticamente constantes las concentraciones de los metabolitos. Pero en otros casos, será necesario mantener constante la velocidad de una reacción metabólica, aunque se den fluctuaciones ambientales.

Por el contrario, *control* implica la capacidad de un sistema para cambiar una determinada variable. Por ejemplo, el nivel del control metabólico se puede medir en términos de la influencia que tiene un factor externo sobre el estado del sistema (7). La diferencia entre regulación y control es evidente, pero también lo es el que ambos conceptos estén relacionados y, en cierta medida, haya una subordinación entre ellos. En el ejemplo que se ha puesto antes de la ruta metabólica en la que el flujo varía manteniéndose constante la concentración de los metabolitos intermediarios, se puede decir que el flujo está sujeto a un control, mientras que se mantiene la homeostasis de las concentraciones. Es evidente que la definición de lo que se entienda por sistema es decisiva para aplicar correctamente el concepto de regulación. Puede ocurrir que en un sistema complejo se pueda decir legítimamente que existe regulación de una variable, mientras que en los subsistemas componentes se dan diversos mecanismos de control, cuyo resultado es la homeostasis sistémica de esa variable. En este sentido, control es un concepto más simple, subordinado al de regulación.

Primeros datos sobre regulación y control de enzimas

La década de 1940 fue una etapa dorada en la Enzimología. La mayoría de las rutas metabólicas se conocían, centenares de las enzimas que catalizan sus etapas se habían caracterizado, muchas de ellas estaban ya purificadas e incluso cristalizadas... La cinética de Michaelis-Menten, incluidas sus clásicas extensiones sobre inhibidores, había demostrado su capacidad de explicar cuantitativamente el comportamiento de las enzimas. Pero en la década siguiente comienzan a obtenerse algunos datos que no encajaban en ese marco clásico de la enzimología. Se referían a algunas enzimas, cuya

actividad se controlaba por metabolitos que actuaban más como una señal que como componentes —sustratos o productos— de la reacción. Mediada esa década de los años 50, Arthur Pardee, en Berkeley, y Edwin Umbarger, en la Universidad de Harvard, trabajando con ese gran aliado de los bioquímicos que es *Escherichia coli*, encontraron dos enzimas que se inhibían por el producto final de la ruta de biosíntesis que se iniciaba con sus reacciones. En el primer caso, el investigado por Pardee, la enzima era la aspartato transcarbamoilasa, la ruta, la que conduce a las pirimidinas y el inhibidor, el CTP. En el caso de Umbarger, la ruta estudiada era la de biosíntesis del aminoácido isoleucina, que resultó ser inhibidor de la treonina desaminasa, la enzima que cataliza la primera de las cinco etapas que conducen a ese aminoácido partiendo de treonina. El descubrimiento de Pardee tuvo lugar en 1954, pero retrasó hasta finales de 1955 el envío de un largo artículo que, finalmente, vería la luz en 1956 (8). Por su parte, Umbarger descubrió la regulación de la biosíntesis de isoleucina en 1955; redactó sus resultados en forma de una breve nota que envió a *Science* casi al mismo tiempo que Pardee hiciera lo propio. No obstante, la publicación de la nota de Umbarger (9) se adelantó un mes¹.

En ambos casos, los resultados se referían a un efecto de *retroinhibición*, cuya existencia en los sistemas metabólicos había sido puesta de manifiesto dos años antes por Novick y Szilard (11). Pero se incorporaba un dato importante: los inhibidores que actuaban sobre la aspartato transcarbamoilasa o sobre la treonina desaminasa no tenían semejanza estructural ni con los sustratos ni con los productos de las reacciones catalizadas por esas enzimas. Es decir, su efecto inhibidor no podía deberse a interferencia directa con el sustrato, un mecanismo que, por aquella época, parecía el modo exclusivo de inhibición enzimática². Con todo, el interés de los investigadores se centró inicialmente más sobre el posible significado funcional de la retroinhibición que sobre el mecanismo molecular por el que actuaba. La misión de la retroinhibición se interpretó en términos de lo que se puede llamar *economía metabólica*. Si la función de los intermediarios

¹ Se pueden encontrar detalles históricos sobre los descubrimientos de Pardee y Umbarger en la obra de Judson (10).

² Se solía hablar en aquellos años de dos tipos de interferencia directa. En uno de ellos, el sitio de unión del inhibidor a la enzima solapa —al menos parcialmente— con el centro activo, de forma que la unión del inhibidor impide la del sustrato y viceversa. En este caso, se tiene la clásica inhibición competitiva. La segunda posibilidad consiste en la existencia de una interacción física directa entre el sustrato y el inhibidor, que dificulta la unión del primero, debido a que los sitios de unión de ambas moléculas están muy próximos en el espacio.

de una ruta metabólica es simplemente la de hacer posible la obtención del producto final, cuando hay suficiente cantidad de éste, no sólo deja de ser necesaria su producción, sino que la existencia misma de los intermediarios también pierde su razón de ser. Parece evidente, desde un punto de vista lógico, que sea la primera enzima de una ruta metabólica la que resulte inhibida por un exceso del producto final. Aunque esta idea fue extraordinariamente fructífera, es preciso perfilarla bastante, como se ha hecho tras la aplicación del análisis del control metabólico, ya que la función de la retroinhibición, más que controlar el flujo de una ruta metabólica, es la de mantener más o menos constante la concentración de producto final (6).

Regulación y control de la expresión génica

Mientras en el campo de la regulación enzimática se producían los acontecimientos que se acaban de señalar, se estaba gestando una gran revolución en la naciente Biología Molecular. Se sabía, como consecuencia del trabajo de Avery y su grupo (12), que el DNA era el portador de la información genética y se conocía la estructura de la doble hélice, gracias a la trascendental aportación de Watson y Crick (13). Pero, como decía Max Delbrück a Gunther Stent en el verano de 1955, la Biología estaba aún «en la etapa en que se hallaba la Física en 1920»³. En efecto, al comienzo de los años 20 se insinuaba la Física cuántica, pero aún no se había abierto camino. En 1955, se insinuaba el papel decisivo que las investigaciones sobre los ácidos nucleicos iban a tener, no sólo en la Bioquímica, sino en la totalidad de la Biología. Hito fundamental para que abriera el camino que propició la gran revolución biológica de la segunda mitad del siglo XX fue el establecimiento del llamado *dogma central* (14), según el cual, la información genética fluye del DNA a las proteínas a través del RNA. Pero estas investigaciones habían transcurrido bien separadas de las anteriormente referidas sobre enzimología. No obstante, estaban llamadas a encontrarse en un primer intento de elaborar una visión unificada de la Biología molecular.

El encuentro tuvo lugar en el Instituto Pasteur de París. Allí trabajaba, en el laboratorio de Lwoff, Jacques Monod. Se había doctorado en 1941, pero los avatares de la segunda guerra mundial mantuvieron a Monod, demasiado comprometido con la resistencia como para trabajar tranquila-

³ Citado por Judson (10).

mente, alejado de la investigación por algún tiempo. Cuando en 1945 se reincorporó a su actividad científica, se ocupó del estudio del metabolismo de la lactosa en *Escherichia coli*. Dedicó particular atención a la β -galactosidasa, la enzima que hidroliza la lactosa, cuya presencia en la bacteria se induce en presencia del disacárido o de otros galactósidos. Como el propio Monod hizo notar en su Nobel Lecture (15), en aquellos años se aceptaba la idea de que las enzimas, y las demás proteínas, se encuentran en las células en un estado dinámico, de modo que podían estar ensamblándose y desensamblándose continuamente. Estas ideas no se correspondían con el proceso de recambio actualmente conocido, sino que se basaban en la creencia de que las macromoléculas biológicas eran inestables y de organización variable. Monod, tras una serie de elegantes experimentos, encontró que la inducción de la β -galactosidasa no se debía a la activación de un posible precursor, sino a un incremento en la síntesis *de novo* de la enzima. Poco después comprobó que la permeasa se inducía simultáneamente a la β -galactosidasa, aunque estaba codificada por un gen diferente (16), lo que implicaba que los genes z , que codifica la β -galactosidasa, e y , el de la permeasa, formaban una unidad funcional. A la misma unidad pertenecía un tercer gen, A , que codificaba una transacetilasa. Pero al estudiar diferentes mutantes de *E. coli*, se encontró uno en el que las tres proteínas, β -galactosidasa, permeasa y transacetilasa se expresaban de modo constitutivo, es decir, en ausencia de galactósidos inductores (16). La mutación tenía que ocurrir en un gen distinto de los tres, pero íntimamente relacionado con ellos, que se designó como gen i .

Durante todo este tiempo, Monod había planteado el problema en términos de una teoría que llamaba inducción generalizada. Había llegado a ella preocupado por la existencia de enzimas constitutivas, que se sintetizaban en ausencia de inductores exógenos. Tal es el caso, por ejemplo, de la inmensa mayoría de las enzimas del metabolismo intermediario. A la vista de esas consideraciones, parecía plausible pensar que la síntesis de esas enzimas estaba controlada por su propio sustrato endógeno, lo que haría de la inducción un fenómeno generalizado. Según esa hipótesis, un gen que no se expresa constitutivamente tendrá su inducción bloqueada por un anti-inductor. Si los genes y , z y A no se expresaban de ordinario, sería porque estaba actuando un anti-inductor, que sería reprimido por los galactósidos.

En 1950 François Jacob, que conoció a Monod un año antes, se había incorporado al laboratorio de Lwoff, en el que, trabajando con fagos, había adquirido una excelente formación genética. Pero, aunque mantuvieron una estrecha relación humana, no trabajaron juntos hasta que se percatara-

ron de que cada uno de ellos tenía posiblemente la experiencia necesaria para resolver los problemas que se le habían planteado al otro. Y es que Jacob había encontrado que los genes contenidos en el profago λ , que de ordinario no se expresan en la célula de *E. coli* hospedadora⁴, se inducían de un modo coordinado en respuesta, por ejemplo, a la irradiación con luz ultravioleta (17). Había, pues, un cierto paralelismo entre el sistema del profago y el de los genes z , A e y . Así comenzaron a colaborar Monod y Jacob en 1957.

El primer trabajo conjunto de ambos autores hacía uso del sistema de conjugación bacteriana, en el que Jacob tenía amplia experiencia, para estudiar la expresión de los genes i y z en cepas diploides. La lógica subyacente a estos experimentos se entiende perfectamente siguiendo los relatos de los autores (15, 18). Si una mutación del gen i conducía a la expresión constitutiva de y , z y A , se podía formular la hipótesis de que el gen i fuera un regulador y su producto un represor, inhibidor específico de la síntesis de permeasa, β -galactosidasa y transacetilasa. Si esto era así, el represor podía considerarse como una señal química producida por el regulador y debería existir un receptor, un sitio en el que el represor actuara para bloquear la síntesis de las proteínas. Ese presunto receptor habría de ser específico o, lo que es lo mismo, determinado genéticamente y, por tanto, susceptible de mutación. Pero, con palabras de Jacob,

«En un sistema que permite la biosíntesis inducida de una enzima, cualquier mutación que dañe un elemento del sistema emisor-receptor que inhibe la síntesis daría lugar a la producción constitutiva de la enzima. En consecuencia, parecía difícil distinguir las mutaciones que afectarían al emisor de las que afectarían al receptor, hasta que nos dimos cuenta de que la distinción podía ser relativamente fácil usando un diploide. Esta cuestión se puede ilustrar con una simple analogía. Supongamos una casa en la que la apertura de cada una de sus dos puertas se controla por un pequeño receptor de radio. Supongamos, más aún, que en algún lugar próximo existen dos transmisores, cada uno de los cuales envía una señal que impide la apertura de las puertas. Si uno de esos transmisores se daña, el otro sigue emitiendo la señal y las puertas continúan cerradas: el transmisor dañado puede considerarse 'recesivo' con respecto al normal. Por

⁴ Cuando el fago λ se introduce en *Escherichia coli*, su DNA se integra en el de la bacteria, pero no se expresa. Este estado latente recibe el nombre de profago.

otro lado, si uno de los receptores se daña, deja de recibir la señal inhibitoria, y la puerta que controla (pero solamente ésa) se abre. El receptor dañado es, pues, 'dominante' sobre el normal, pero la lesión se manifiesta sólo por la puerta que controla: el efecto es *cis* y no *trans* con la terminología genética» (18).

Iniciaron, pues, experimentos con diploides, en los que jugaron con las posibles combinaciones de los genes *i* y *z* normales y mutantes. Poco más o menos en los momentos en que obtenían los primeros resultados, Szilard —el que, como se ha comentado antes, describió la retroinhibición en la biosíntesis del triptófano (11)— dio un seminario en París del que surgió en la mente de Monod una idea alternativa: «¿Por qué no suponer que, puesto que la existencia de los sistemas reprimibles y su extensión generalizada están ya demostradas, la inducción puede llevarse a cabo por un anti-represor, más que por la represión de un anti-inductor?» (15).

Desde un punto de vista funcional, en cuanto a los resultados globales, parece que la cuestión no tiene demasiada importancia. Al fin y al cabo, como advertía Monod (15), dos expresiones negativas equivalen a una afirmativa. Pero desde el punto de vista del mecanismo implicado, la diferencia es enorme. No podemos olvidar que lo que en último término persigue la Bioquímica, la Biología Molecular, es dar una explicación a los fenómenos biológicos desde una perspectiva que implica una toma de decisión en cuanto a su mecanismo molecular. Pues bien, los resultados de los experimentos con diploides pusieron de manifiesto que el gen *z* se expresaba muy rápidamente tras la inducción. Pero, además, el alelo inducible del gen *i* es dominante respecto al constitutivo. Todo parecía indicar que ese gen codifica un producto que inhibe la biosíntesis de la β -galactosidasa, o sea, la expresión del gen (19, 20). Los inductores —los galactósidos— no actuarían primariamente activando la biosíntesis de la enzima, sino inhibiendo al inhibidor de esa síntesis.

Estaban sentadas las bases para dar el gran paso hacia la comprensión de los mecanismos de regulación genética. Algunos experimentos más permitieron perfilar la relación cartográfica de los genes que formaban lo que se comenzó a denominar el operón *lac* y localizar el operador, la región del DNA a la que se unía el represor producto del gen *i*. Con todo ello, Jacob y Monod publicaron un trascendental artículo (21) describiendo el conjunto de las investigaciones que valdrían a ambos autores, junto con Lwoff, el premio Nobel de Fisiología y Medicina en 1965.

La primera gran integración en el estudio de la regulación biológica

Hasta aquí, se han mencionado dos corrientes de la investigación bioquímica, la regulación enzimática y la regulación de la expresión génica, que habían alcanzado un importante desarrollo en la transición de la década de 1950 a la de los años 60. Habían discurrido en paralelo, pero no totalmente ajenas la una a la otra. Vale la pena recordar que la luz definitiva para el enfoque mecanístico correcto de la represión la recibió Monod escuchando a un enzimólogo que había trabajado en problemas de regulación. Y fue precisamente Monod el que llevó a buen puerto la integración de esas dos corrientes de investigación sobre regulación.

En 1961, cuando Jacob y Monod publicaron el artículo citado sobre la regulación de la transcripción, aún no tenían idea clara de la naturaleza molecular del represor. Inicialmente se inclinaban por un RNA, dada su capacidad de interaccionar específicamente con el operador. Pero de esa forma no se podía explicar su interacción específica con las moléculas inductoras. Teniendo en cuenta que sólo las proteínas parecían adecuadas para formar complejos específicos con ligandos pequeños, Monod supuso después que el producto final del gen *i* sería una proteína. Aunque la hipótesis no se demostró experimentalmente hasta 1965 por otros autores (22), Monod continuó el hilo de sus razonamientos apoyándose en ella. Por entonces, Képès, estudiando la cinética de la inducción, acababa de demostrar que la acción del inductor era muy rápida y reversible (23, 24). Eso significaba que la interacción del inductor con la proteína represora había de ser reversible. El inductor sería, pues, una «señal química, reconocida por el represor, pero sin participar directamente en ninguna de las reacciones que inicia» (15). Pero, ¿eso era precisamente lo que se estaba observando en el comportamiento de las enzimas reguladas! En efecto, los retroinhibidores alteran reversiblemente la actividad de las enzimas sin participar en la reacción.

Que Monod y Jacob se sintieran ya atraídos por la regulación enzimática lo demuestra el hecho de que en 1959 propusieran al alimón a Jean Pierre Changeux iniciar una tesis sobre la retroinhibición de la treonina desaminasa por isoleucina. Muy pronto obtuvo Changeux unos interesantes datos. En primer lugar, la treonina desaminasa no seguía una cinética michaeliana: al representar su velocidad frente a la concentración de sustrato, en vez de la típica curva hiperbólica, se obtenía una sigmoide, lo que sugería que la unión del sustrato, treonina, era cooperativa. La enzima, además, poseía varias subunidades. Por otro lado, el calentamiento ligero de la enzima la hacía insensible a los efectos del inhibidor, isoleucina, pero

no modificaba su capacidad catalítica. Este fenómeno, que el propio Changeux comenzó a llamar desensibilización, parecía indicar que sustrato e inhibidor se unían a sitios diferentes en la enzima. Precisamente entonces, Monod acuñó el término *alosterismo*. Esta palabra de raíz griega significa precisamente eso: otro lugar.

Monod y Jacob (25) por un lado y Changeux (26) por otro, presentaron sus resultados en la edición de 1961 de los *Cold Spring Harbor Symposia*. Cuando el volumen que recogía sus intervenciones se publicó, la comunidad científica tuvo ocasión de leer por primera vez la palabra alosterismo, que Monod no había llegado a pronunciar en público. En realidad, la posibilidad de que inhibidores y sustratos interaccionaran con las enzimas por localizaciones diferentes había sido sugerida por otros investigadores. De hecho, la primera vez que aparece escrita esa idea es en 1954, en un artículo de Crane y Sols sobre la inhibición de la hexoquinasa de cerebro por su producto, glucosa-6-fosfato, en el que se lee textualmente:

«Los datos indican que la hexoquinasa de cerebro posee, además de los sitios de unión para los sustratos y el adenosintrifosfato, un tercer sitio de unión específico para la glucosa-6-fosfato». (27).

Y, por otro lado, otros autores habían formulado más tarde afirmaciones parecidas respecto a las enzimas que experimentan retroinhibición. Pero el mérito del grupo del Instituto Pasteur está en que llegaron al fondo de la cuestión. Monod, Changeux y Jacob (28) definen el mecanismo alostérico con una condición negativa y con otra positiva. La primera niega la existencia de interacciones directas de cualquier género entre el sustrato o sustratos de una proteína alostérica y el metabolito que controla su actividad. La segunda establece que el efecto alostérico se debe totalmente a una alteración conformacional reversible inducida en la proteína cuando se une el efector específico.

Cuando Monod, Changeux y Jacob establecieron estos conceptos, se conocían aún pocas enzimas cuyo comportamiento se pudiera definir como alostérico. En su artículo (28) se detienen expresamente en 6, y también mencionan la primera que, según el propio Monod (15), les había llamado la atención: la glucógeno fosforilasa *b* de músculo de conejo. De hecho, se había descrito ya en 1938 que esta enzima es virtualmente inactiva en ausencia de AMP, pero que la presencia de este nucleótido la activa instantánea y reversiblemente (29). Pero, además de las enzimas, añaden otra

proteína, la hemoglobina, cuyo comportamiento encaja también dentro del concepto de alosterismo. Es especialmente importante el caso de esta proteína —*enzima honoraria*, la llamarían más tarde— que tanto contribuyó al desarrollo futuro de los modelos alostéricos.

Sería injusto restar importancia a los comentarios que Monod, Changeux y Jacob hacen sobre las enzimas alostéricas, pero también lo sería no resaltar ahora una consideración que añaden al término de su artículo. Se refiere a la posible extensión del concepto de alosterismo al comportamiento de los represores genéticos. Había sido ésa, como se ha comentado, la causa inicial del interés de Monod por la regulación enzimática. Pues bien, en la última parte de la discusión de su artículo, titulada “The biological significance of allosteric control systems” aducen las razones lógicas por las que el represor debe ser una proteína y concluyen:

«Es evidente que todas estas propiedades se justifican inmediatamente si el represor es una proteína alostérica que posee dos sitios, uno de los cuales se une al operador y el otro al efector (positivo o negativo)» (28).

Acababa de darse la primera gran integración que, gracias al concepto de alosterismo, enlazaba conceptualmente esos dos procesos de regulación que corrían paralelos: la regulación enzimática y la regulación de la expresión génica. Cuando vislumbró el alcance de su propuesta, Monod exclamó entusiasmado: «¡He descubierto el segundo secreto de la vida!» (10).

El desarrollo del concepto de alosterismo. Desde 1963 hasta nuestros días

Es obvio que el tema que sugiere este epígrafe daría pie a extensísimos comentarios. Pero en el contexto de este discurso, bastan seguramente unas pocas consideraciones. Poco después de que Monod, Changeux y Jacob postularan la existencia del alosterismo aparecieron los primeros artículos que proponían mecanismos moleculares por los que esos cambios de conformación de las proteínas —la transición alostérica— podían modular la actividad enzimática. Surgieron así los *modelos alostéricos*, que tanto han ayudado a la comprensión de la regulación biológica. En Bioquímica, un modelo pretende, mediante una conveniente simplificación, explicar racionalmente un fenómeno —en el caso presente, el alosterismo— y hacerlo, por supuesto, en términos moleculares.

El primer modelo alostérico fue también fruto de la intuición de Monod, que siguió contando con la participación de Changeux e inició una colaboración con Jeffries Wyman. Era este investigador norteamericano, que trabajaba entonces en Roma, uno de los mejores conocedores de la hemoglobina, la *enzima alostérica honoraria*. Ya se ha comentado antes que en la treonina desaminasa el sustrato se une de modo cooperativo y otro tanto ocurre en la mayoría de las proteínas alostéricas. Este comportamiento incluye a la hemoglobina, precisamente la primera proteína para la que se demostró la unión cooperativa de un ligando, en este caso el oxígeno. El resultado del esfuerzo coordinado de los tres investigadores, fue una publicación en la que se proponía “un modelo plausible” para explicar la naturaleza de las transiciones alostéricas (30). Con frecuencia se ha identificado ese modelo con las iniciales de sus tres autores: MWC.

A la vista de las consideraciones anteriores, no resulta extraño comprobar cómo gran parte del artículo está dedicada a explicar la cooperatividad. En efecto, cooperatividad y alosterismo, aunque conceptualmente diversos, no son fenómenos independientes. En el caso concreto de la hemoglobina, ya se sabía que los grupos hemo de las cuatro subunidades estaban distantes unos de otros, de modo que la cooperatividad en la unión de moléculas de dioxígeno a cada uno de ellos implicaba una interrelación a distancia. De hecho, la causa última molecular que Monod y sus colaboradores dan para la cooperatividad, vale también para explicar el alosterismo en los sistemas que presentan simultáneamente ambos fenómenos.

Postulan la existencia, en esas proteínas, de dos estados conformacionales, T y R, que difieren en cuanto a afinidad por el ligando, y que pueden interconvertirse libremente. No admiten la existencia de estados intermedios, que posean propiedades estructurales híbridas entre T y R. Los n sitios de unión de ligando a las formas R son equivalentes e independientes entre sí, y otro tanto ocurre con los sitios de las formas T. Es obvio que, si no fuera por la coexistencia de T y R, la unión de ligando transcurriría sin cooperatividad. Pero cuando se tienen en cuenta los presupuestos anteriores, es evidente que, al añadir ligando, éste se unirá *preferentemente* a las formas R, las de afinidad mayor. Una simple consideración de las leyes del equilibrio químico nos indica que la presencia de ligando conlleva un desplazamiento del equilibrio T-R hacia estas últimas formas, lo que da lugar a un incremento global de la afinidad. Naturalmente, si se postula que los inhibidores alostéricos tienen preferencia para unirse a las formas T y que los activadores lo hacen predominantemente a las formas R, las mismas consideraciones sobre el equilibrio químico explican el mecanismo de actuación de los efectores. Hay que señalar, no obstante, que esta mis-

ma sencillez ha pasado inadvertida a más de un autor, que se ha limitado a constatar que las ecuaciones derivadas de ese planteamiento conceptual se ajustan bien, desde un punto de vista cuantitativo al comportamiento experimental de la hemoglobina.

En cierto modo, esta actitud es reflejo de la que se gestó tras la publicación del modelo MWC. A muchos miembros de la comunidad científica les costó trabajo aceptarlo, posiblemente porque estaban aferrados a la idea, inicialmente latente en una propuesta de Pauling, de que la cooperatividad en la unión de oxígeno a la hemoglobina se debía a un fenómeno explicable por causas microscópicas. En otras palabras, la unión de un ligando a un sitio de *una* molécula dada de proteína, debería favorecer la unión ulterior de otras moléculas de ligando a los sitios restantes de *la misma* molécula de proteína. Por eso algunos ni siquiera advirtieron la necesidad lógica de admitir el postulado de la conservación de simetría, es decir, la imposibilidad de encontrar formas híbridas entre T y R. La reacción no se hizo esperar y, poco después de la aparición del artículo de Monod, Wyman y Changeux, se publicó otro con el germen de lo que sería el segundo gran modelo alostérico, concretamente el modelo KNF, de Koshland, Némethy y Filmer (31). En ese primer artículo, Koshland y sus colaboradores sólo trataban de la cooperatividad, que explicaban con un modelo microscópico, según el cual la unión de ligando a una proteína alteraba exclusivamente la conformación de la subunidad ocupada. Esto puede afectar a la estabilidad de la estructura cuaternaria, si cambia el modo de interacción de esa subunidad con las contiguas. Y como la estabilidad puede aumentar o disminuir, puede resultar cooperatividad positiva o negativa.

Los años siguientes fueron fecundos, ya que la publicación del modelo KNF inició lo que Changeux (32) llamó una «controversia creativa» entre las dos concepciones —macroscópica y microscópica— de cooperatividad y alosterismo. Al ser simples y generalizadores, como ha de ocurrir con todos los modelos, es ocioso decir que prácticamente ninguna proteína alostérica se puede definir al 100% por uno u otro de los modelos. Como consecuencia, han surgido modelos alternativos, modelos integradores..., pero en definitiva, cuando han transcurrido 40 años desde la propuesta del alosterismo como un modo de regulación, todos los modelos se reducen de una forma u otra al MWC o al KNF. Algunas proteínas se adaptan más a uno o a otro, pero es forzoso reconocer que son más los sistemas cuyo mecanismo permite una explicación satisfactoria basándose en el modelo MWC, que los que pueden describirse por el modelo KNF.

Es preciso insistir en que el modelo MWC tiene el encanto especial de las ideas geniales, que en su aparente sencillez encierran un profundo significado. Tan es así, que el modelo se ha aplicado con éxito no sólo a la hemoglobina y a muchas enzimas alostéricas, sino que también ha servido para explicar el comportamiento de represores genéticos o de receptores (32-34), el plegamiento de las proteínas (35, 36), la contracción muscular (37), la regulación de la coagulación sanguínea (38), etc. Por supuesto, es necesario introducir precisiones matemáticas en las ecuaciones simples del tratamiento inicial, pero el rasgo fundamental del modelo, es decir, el que la transición entre dos estados conformacionales sea concertada, parece resistir los embates del tiempo. Al menos, eso ocurre en el caso de la hemoglobina. En un reciente estudio exhaustivo, se han analizado datos cinéticos muy precisos sobre la disociación de complejos hemoglobina-monóxido de carbono para concluir que el modelo de dos estados sirve para explicar satisfactoriamente la cooperatividad en la unión de ligandos a la hemoglobina (39). Es necesario, eso sí, un sistema de 85 ecuaciones diferenciales acopladas para describir adecuadamente los resultados desde un punto de vista cuantitativo, pero el rasgo fundamental del modelo MWC ha persistido.

Creatividad y optimismo

El panorama histórico que acabamos de trazar sobre el inicio de la investigación en la regulación biológica permite ya observar numerosas manifestaciones del rostro humano de la ciencia. Por supuesto —como, por otro lado, ocurre en cualquier otra investigación o actividad mental—, se ven en la historia precedente claras improntas del poder de la inteligencia humana. No sólo se consiguieron dilucidar los mecanismos por los que operaban diversos circuitos de regulación, sino que se logró una primera integración de varios de ellos a la luz de un concepto, el alosterismo, cuya validez sigue siendo plenamente actual. Quisiera detenerme ahora en una propiedad de la inteligencia humana que, si bien presente en mayor o menor medida en toda actividad intelectual, se pone de manifiesto claramente en las líneas precedentes. Me refiero a la creatividad.

La palabra *creación*, así como sus formas verbales o adjetivadas, al utilizarse con profusión, ha perdido en gran parte su significado originario de algo que sale de la nada. El verbo crear, algo reservado originalmente a Dios, se extiende con frecuencia al hombre: a un artista, que *crea* una obra; a un diseñador de alta costura, que presenta sus *creaciones* para la tempo-

rada; a un futbolista, que *crea* situaciones de riesgo en el área contraria... Pero en muchos casos es legítima esa extensión. El hombre no crea en el sentido absolutamente estricto del término, pero tampoco se puede decir que solamente hace o fabrica. La actividad humana se mueve entre un extremo en el que el hombre se limita a realizar una función rutinaria, y otro en el que la obra humana presenta una novedad, una armonía, una belleza que no se habían visto antes. En este segundo sentido, el hombre *crea*. Los creyentes sabemos que el hombre es imagen y semejanza de Dios —por emplear la conocida expresión bíblica— y, como tal, poseedor de un cierto chispazo de su inteligencia y su poder creadores. Y pienso que los no creyentes fácilmente reconocerán que su trabajo puede llegar a adquirir un cierto hálito divino, aunque a este adjetivo no le adjudiquen más significado que el de algo excelso.

Esa aspiración a la creatividad se encuentra, de una manera o de otra, en todo hombre. Es algo que nace de su núcleo personal (5). Pero algunas actividades parecen más proclives a su desarrollo y entre ellas está, sin duda, la actividad investigadora. ¿Qué son sino creación el echar los cimientos del estudio de la regulación génica, o el hacer posible el nacimiento del concepto de alosterismo? Creación, sí, y creación fecunda que ha permitido, como tendremos ocasión de ver al retomar el hilo de la regulación y el control biológicos, que la Bioquímica haya avanzado y siga avanzando exponencialmente.

Estamos, quizá, demasiado acostumbrados a contemplar ese avance exponencial del conocimiento científico. Hace tiempo ya que se dejó de hablar de *los misterios de la Naturaleza* como de algo inescrutable, porque se piensa, y con razón, que no hay nada en el mundo natural que esté vedado a la comprensión humana; el llegar a comprenderlo es sólo cuestión de tiempo. Pero todas estas realidades no deben hacernos perder la capacidad de asombro que, como se comentará luego, es esencial para la actividad científica. Asombro, que es compatible con el optimismo que produce el contemplar cómo la mente humana es capaz de desentrañar tantas verdades. Se ofrece así a nuestra consideración el optimismo, ese valor que ayuda a superar las dificultades confiando en nuestra propia capacidad y en la ayuda que podamos recibir de los demás. La actitud opuesta, el pesimismo, es estéril, tanto en el desarrollo de la ciencia, como en cualquier otro ámbito de la actividad humana. No es optimista el que no ve los obstáculos, sino el que ve juntamente con ellos los medios para superarlos.

El científico puede y debe ser optimista. Pero tiene un importante deber cara a la sociedad en relación a este valor humano. El hombre de la

calle, se ha comentado antes, siente una profunda, aunque muchas veces poco fundamentada, admiración por la ciencia. Esa admiración puede llevarle a una confianza sin límites en su poder, a un optimismo extremo que esperaría del desarrollo de las ciencias experimentales una respuesta cabal a todos los problemas que la humanidad tiene planteados.

El científico tiene la responsabilidad de hablar con conocimiento de causa y cuando se plantea el interrogante de si el optimismo tiene límites, no puede responder a la ligera. Por supuesto, las respuestas que dan los hombres de ciencia varían con su ideología. Porque, como advierte Yepes,

«..cualquier científico es un hombre que tiene, no sólo una vida real y concreta en la que come, duerme y va a trabajar, sino además *una determinada visión del mundo y de la vida humana*, unos valores que persigue y que toma como criterio de sus decisiones libres, y de cuya influencia no puede prescindir, y de hecho no prescinde, a la hora de hacer ciencia. *La ciencia no es aséptica*, como el racionalismo tendía a pensar» (5).

En definitiva, la libertad humana hace posible que haya científicos que piensen que llegará un momento en el futuro en que la ciencia podrá dar respuestas últimas a todos interrogantes que el hombre se plantea. Una respuesta última es aquélla que satisface plenamente todos los órdenes del conocimiento y que no da lugar al planteamiento de una nueva cuestión. Los que así opinan son conscientes de que el desarrollo actual de las ciencias experimentales, que ha aportado numerosas respuestas concretas a problemas singulares, no es capaz de dar esas respuestas últimas, pero confían en que todo es cuestión de tiempo. Y es también la libertad humana la que hace posible que otros científicos piensen que las leyes de las ciencias experimentales son contingentes y, por tanto, sus respuestas no pueden ser últimas. A cada respuesta se seguirá otra pregunta, hasta llegar a una pregunta última, un ¿por qué? definitivo, que la ciencia no puede responder. Personalmente, me situó en este segundo grupo.

No es pesimista ni carente de confianza en la creatividad humana esta postura. Al contrario, cuando no se admiten las limitaciones de las ciencias, es fácil caer en ese pesimismo que Ilya Prigogine, Nobel de Química en 1977 por sus trabajos de Termodinámica de procesos irreversibles, denominaba «materialismo desesperanzado» (40). Monod, que había lanzado el grito «¡He descubierto el segundo secreto de la vida!», no consiguió llevar ese optimismo al plano vital y filosófico y comentaba:

«el hombre sabe al fin que está solo en la inmensidad indiferente del Universo, de donde ha emergido por azar. Igual que su destino, su deber no está escrito en ninguna parte» (41).

Por el contrario, si uno se da cuenta de que las ciencias experimentales son limitadas, pero que el límite, lejos de venir impuesto desde fuera, procede de su misma naturaleza, se puede progresar sin traumas en el conocimiento científico. Cuando se admite, por ejemplo, que existe una complementariedad entre ciencia y filosofía, se reconoce su mutua interdependencia y se respetan sus respectivos ámbitos, se está en camino de superar ese falso abismo, que algunos se empeñan en ahondar, entre saber científico y saber humanista y se puede llegar a construir un humanismo global que incluya, ¿por qué no?, la cultura científica.

Volviendo a la idea inicial de estas consideraciones sobre la creatividad, es pertinente hacer algunas consideraciones sobre el papel de la imaginación en la creación científica. Esa creación original, esa especie de salto de lo desconocido a lo conocido que todo progreso exige, resulta imposible sin una buena dosis de imaginación. En este sentido, advierte el Profesor Primo Yúfera que:

«los científicos con ‘imaginación creadora’ o ‘creativos’ se caracterizan por su capacidad para encontrar ideas que conducen a soluciones originales e innovadoras, y, al mismo tiempo, realistas y útiles» (42).

Y es que la imaginación que necesita el científico no le lleva a desentenderse de la realidad sino, al contrario, a plantearse todas las posibles respuestas —por improbables que parezcan— que puedan lógicamente explicar las causas de un hallazgo, fortuito o no, de su trabajo investigador. La imaginación es necesaria para elaborar nuevas hipótesis o para diseñar experimentos que permitan contrastarlas. Un investigador original es siempre un investigador imaginativo. Afortunadamente, la imaginación, aunque sea en muchos un don innato, puede desarrollarse y el cultivo del razonamiento inductivo juega un papel esencial en ello. Vale la pena constatarlo, porque casi toda la metodología educativa se apoya sobre el razonamiento deductivo y raras veces se enseña a los futuros científicos a razonar a la inversa, es decir, de los efectos a las posibles causas.

Muy relacionada con la imaginación está también otra facultad, la intuición, esa capacidad de «comprender las cosas instantáneamente sin

necesidad de razonamiento»⁵. Intuir no es captar a fondo, pero es más que entrever una cosa o sospecharla vagamente. Monod no se tenía a sí mismo por una persona intuitiva (10). Valoraba más su capacidad deductiva. Pero, sin duda, también poseía intuición, sin la cual habría sido imposible imaginar los postulados del alosterismo.

Tiene esa intuición algo de arte, y la sabiduría popular advierte que el arte nace, no se hace. Hay científicos geniales, que han intuido cosas donde otros no veían nada. Pero eso es algo común en todas las obras creativas. Cuentan de Miguel Ángel que ante un bloque de mármol se quedaba absorto contemplándolo hasta que *veía* la escultura en él. «Lo que queda por hacer —solía añadir— es ya fácil: es sólo quitar lo que sobra». Es cierto que algunas personas están dotadas de cualidades excepcionales, de las que *no se hacen*. No se hace el genio singular, único, pero es indudable que sí puede ir creciendo esa especie de instinto que hace posible la intuición. Crece con el estudio y la dedicación; crece fomentando en nosotros esas cualidades que dan lugar a un afán incansable por buscar la verdad. Si el científico aprovecha todos los medios a su alcance, su trabajo se hará cada vez más creativo e irá, poco a poco, dejando de ser rutinario hasta convertirse en una maravillosa aventura.

La colaboración: una enriquecedora realidad en la investigación

Hace un momento se acaba de comentar que el optimismo ayuda a superar las dificultades confiando en nuestra propia capacidad y en la ayuda de los demás. El decisivo papel de la ayuda de los demás, de la colaboración, es una constante en el avance de la ciencia y se ejemplifica de modo admirable en la historia de la regulación biológica que se acaba de exponer. Se ha visto cómo Monod y Jacob comenzaron a colaborar cuando comprendieron que cada uno tenía la experiencia que le faltaba al otro para abordar un problema, cómo buscaron después la colaboración con Pardee, etc.

La colaboración es algo habitual en la investigación científica. Si uno hojea cualquier revista científica, verá que es sumamente infrecuente encontrar un artículo original de investigación firmado por un sólo autor. El número medio de autores por artículo entre los más citados en ciencias de la vida se sitúa en torno a 6. Esta autoría múltiple obedece a varias razones. La más invocada —la interdisciplinariedad— no es siempre la más frecuen-

⁵ La definición es la del diccionario de la Lengua Española, en su 22ª edición.

te. En el caso de la Bioquímica es, por supuesto, importante y en muchas ocasiones, como la de Jacob y Monod que ha dado origen a esta consideración, han de colaborar en una investigación científica con base diferente para abordar con éxito un problema. Si en esos casos la colaboración es necesaria, en todos los demás es muy conveniente. En efecto, el trabajo en equipo crea una atmósfera científica que estimula a pensar en común. Se da como una cierta *colegialidad* en la que a veces resulta difícil decidir de quién proceden las ideas, porque se funde y compenetra la contribución de todos los miembros del equipo. Con palabras de Garfield:

«*Sinergismo* es la palabra clave en la colaboración; indica que el esfuerzo conjunto es mayor que la suma de las diversas aportaciones» (43).

Quizá el comentario sobre la conveniencia de la colaboración se ha centrado hasta aquí en un punto de vista exclusivamente pragmático. La eficacia, la utilidad, es, sin duda, un valor, aunque sea de modo instrumental (5), pero parece evidente que en la colaboración se pueden encontrar otros valores más profundos. La colaboración hace que varios investigadores se unan para perseguir una meta común. Y las consecuencias de la unión trascienden a la propia utilidad, ya que la unidad tiene un valor trascendental. En el fondo, este aserto se apoya en el hecho de que el hombre no es un ser aislado, vive en relación con otros. Y esta dimensión relacional no es algo accidental o yuxtapuesto, sino que, de algún modo, se puede decir que «el que vive egoístamente, herméticamente encerrado en sí mismo es menos hombre» (44).

Esta idea constituye un tema recurrente en la filosofía moderna y, en algunas corrientes de pensamiento, el carácter relacional adquiere una entidad basilar y fundamental de la personalidad. La "Filosofía del Diálogo", que surge en Centroeuropa en el primer tercio del siglo XX y que entronca de alguna manera con las filosofías personalistas, sirve de contrapeso a las filosofías materialistas que se habían desarrollado en el siglo XIX, por cuanto se centra en el espíritu humano precisamente desde su perspectiva de relacionarse con los demás. Ebner, que pasa por ser el primer filósofo del diálogo llegó, por ejemplo, a afirmar:

«La vida del hombre está conformada en su último fundamento de tal modo que sólo tiene sentido el estar en relación con los hombres, con lo espiritual de los hombres (...). ¿No es la carencia-de-tú en el yo del hombre la enfermedad espiritual

por antonomasia que subyace en todas las formas de enfermedades del espíritu?»⁶

De alguna forma, la solidaridad, ese indiscutible valor humano que tan a las claras pone de manifiesto la dimensión relacional del hombre, será una idea implícitamente presente a lo largo de este discurso. Baste por ahora dejar constancia de que cuando los científicos colaboramos con otros —y lo hacemos a diario— estamos desarrollando una importante faceta humana, si no buscamos en la colaboración sólo el provecho propio o la simple eficacia. Más aún, si la relación humana se construye sobre una base, no sólo de respeto mutuo, sino de amistad, se puede crear un clima que facilite el desarrollo científico. ¡Cuántas veces observamos que la diferencia entre un grupo de trabajo y otro se debe, en el fondo, a la existencia o no de ese ambiente humano grato que favorece la relación y redundante en favor de la producción científica! Por eso, con acierto, señalaba Juan Pablo II:

«No se ha de olvidar que también la razón necesita ser sostenida en su búsqueda por un diálogo confiado y una amistad sincera. El clima de sospecha y de desconfianza, que a veces rodea la investigación especulativa, olvida la enseñanza de los filósofos antiguos, quienes consideraban la amistad como uno de los contextos más adecuados para el buen filosofar» (46).

Un último ejemplo, también tomado de la historia precedente, sirve finalmente para ilustrar esta idea. Cuando Monod y Changeux elaboraban el modelo de los dos estados para dar una posible explicación mecanística al alosterismo, buscaron la colaboración de Jeffries Wyman. Su ayuda era conveniente, ya que no sólo era experto en la hemoglobina, sino que también tenía una buena formación fisicoquímica y matemática, necesaria para desarrollar los aspectos más cuantitativos del modelo. Pues bien, sería difícil encontrar dos personalidades más opuestas que las de Monod y Wyman desde muchos puntos de vista. Monod había militado en el partido comunista francés y eran bien conocida su radicalidad izquierdista. Wyman, por el contrario, era de una ideología claramente derechista. No obstante, supieron fijarse en lo que les unía, el interés por resolver un problema, el interés por la ciencia en definitiva, más que en lo que les separaba, sus legítimas opciones políticas o ideológicas personales.

⁶ FERDINAND EBNER (1882-1931). Citado por A. López Quintás (45).

LA CRECIENTE COMPLEJIDAD DE LA REGULACIÓN ENZIMÁTICA

Otros mecanismos de modulación de la actividad enzimática

El alosterismo no es el único proceso del que se valen las células para modular su actividad enzimática. Hay también enzimas cuyos cambios de actividad dependen de otras reacciones químicas —catalizadas, por supuesto, por otras enzimas auxiliares—, que modifican su estructura covalente. Esta modificación suele ser pequeña —por ejemplo, una fosforilación, introducción de un grupo fosfato—, pero basta para producir el cambio de actividad. Y existen, además, otros mecanismos moleculares de modulación menos extendidos.

Si se ha mencionado expresamente la modificación por fosforilación es por dos motivos: por un lado fue el primer caso de regulación por modificación covalente descubierto; por otro, sesenta años después de ese descubrimiento, sigue siendo el mejor estudiado y el más extendido en la naturaleza. Fue, en efecto, en 1943 cuando Cori y Green descubrieron que la glucógeno fosforilasa existía en dos formas. Además de la forma desfosforilada, denominada fosforilasa *b*, que, como se ha comentado antes es inactiva pero puede activarse alostéricamente por AMP (29), encontraron otra forma fosforilada, catalíticamente activa, que denominaron fosforilasa *a* (47).

Pero, para el propósito que nos ocupa, no es necesario detenerse ahora en la historia del descubrimiento de la regulación por modificación covalente. Tampoco es preciso entrar a detallar todos los posibles tipos de modificación —ADP-ribosilación, nucleotidilación, metilación, nitrosilación, acetilación, etc.— que, además de la fosforilación, pueden afectar

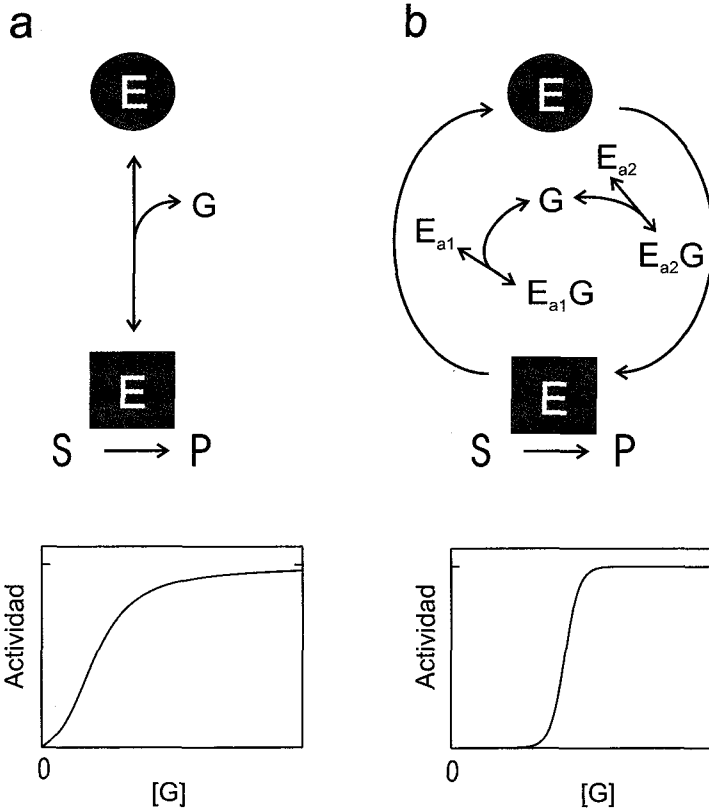


FIGURA 1. **Comparación entre la regulación alostérica y la regulación por modificación covalente.** En la columna (a) se presenta esquemáticamente el caso más simple de regulación alostérica, en la que la enzima, E, posee un único efector, G, un activador en este caso. La forma activa, capaz de catalizar la reacción de conversión del sustrato S en el producto P, se representa como un cuadrado, mientras que la forma inactiva aparece como un círculo. La curva inferior recoge la variación de actividad de la enzima en función de la concentración del efector. Para simplificar, se supone que la forma «inactiva» lo es completamente, por lo que la curva arranca del origen de coordenadas. Se supone también que, como ocurre con frecuencia, la unión del efector es cooperativa, de modo que resulta una curva sigmoide. En la columna (b) se esquematiza un caso sencillo de regulación por modificación covalente. Las formas activa e inactiva de la enzima se siguen representando con la misma convención (cuadrados y círculos, respectivamente), pero al diferir en estructura covalente, la transición de una forma a otra requiere la participación de enzimas auxiliares: E_{a1} y E_{a2} . En el caso simplificado que se presenta, se supone que tienen un único efector, G, inhibidor de E_{a1} y activador de E_{a2} . La curva de variación de actividad de la enzima en función de la concentración del efector puede presentar diferencias con la obtenida en la regulación alostérica. Por ejemplo, puede ser necesario sobrepasar un umbral de [G] para que se empiecen a notar sus efectos y puede darse ultrasensibilidad.

a la actividad de las enzimas. Bastarán, sin duda, unas consideraciones generales para centrar el contenido de este apartado. En primer lugar, si se observa la figura 1, en la que, de una forma esquemática, se compara la regulación alostérica y la regulación por modificación covalente, se nos antoja que la última es *innecesariamente* complicada y que presenta, además, inconvenientes con respecto a la primera. En efecto, la interconversión de la forma activa y la inactiva en una enzima alostérica se lleva a cabo simplemente por interacción con los efectores. En la figura 1a se representa tan sólo una visión simplificada en la que la enzima, E, posee un único efector, G, que es, en este caso, un activador. En virtud de las leyes del equilibrio químico, la transición de la forma inactiva y la activa está simplemente gobernada por la concentración de G. Si, como ocurre de ordinario, la unión del efector es cooperativa, la actividad de la enzima crece siguiendo una curva sigmoide cuando la concentración de G aumenta.

Pero si la enzima se modula por modificación covalente, el panorama se complica. Las formas activa e inactiva difieren ahora químicamente. En una de las formas, existe un grupo de átomos que no está presente en la otra. Naturalmente, la interconversión ya no es un simple cambio de conformación, aunque pueda implicarlo, sino que requiere reacciones químicas. Y, por tanto, es precisa la presencia de enzimas auxiliares que catalicen esas reacciones. En el esquema de la figura 1b se incluyen dos enzimas auxiliares, E_{a1} y E_{a2} . La primera de ellas cataliza la conversión de forma activa de la enzima E en inactiva y la segunda, cataliza la reacción contraria. Así pues, para que la enzima E se encuentre mayoritariamente en su forma activa y se produzca la reacción que cataliza, es decir, $S \rightarrow P$, se requiere que la enzima auxiliar E_{a2} sea más activa que E_{a1} . Por así decirlo, la decisión sobre la actividad de la enzima E *se ha trasladado* ahora al estado de actividad de las enzimas auxiliares. Ha aparecido una *cascada* de regulación en la que la actividad de una enzima depende de la actividad de otras. La figura 1b recoge la situación más sencilla, en la que ambas enzimas auxiliares, E_{a1} y E_{a2} , son alostéricas y comparten un mismo efector, G, activador de E_{a2} e inhibidor de E_{a1} . Evidentemente, el efecto de G sobre la conversión de S en P es también, como en el caso de la simple enzima alostérica, un efecto activador.

La situación se puede complicar, como ocurre habitualmente en la naturaleza, por varios motivos. Por ejemplo, las dos enzimas auxiliares no tienen por qué compartir el mismo efector. O puede ocurrir que la actividad de una o de las dos enzimas auxiliares dependa, a su vez, de otras reacciones de modificación covalente. En este caso, se habla con propiedad

de la existencia de cascadas multicíclicas. Naturalmente, cuanto mayor sea el número de ciclos de una cascada, mayor es el número de enzimas auxiliares requeridas. En última instancia, siempre aparecerá una enzima auxiliar que inicia la cascada y que, de un modo u otro, responde a un efector alostérico. Pero un examen detenido de la situación nos hace ver la existencia de otros *inconvenientes* en la regulación por modificación covalente. Uno de ellos es que, mientras que la regulación alostérica es virtualmente inmediata, la modificación covalente requiere un tiempo para surtir efecto. Por limitarnos al ejemplo sencillo de la figura 1b, una elevación de la concentración de G conlleva un inmediato incremento en la forma inactiva de E_{ai} y un aumento del estado activo de E_{az} . Pero la elevación de la forma activa de E no es inmediata: implica una reacción química que requiere algún tiempo. Si la cascada es multicíclica, es obvio que el tiempo de latencia en la respuesta al efector es mayor. Finalmente, la existencia de las cascadas supone un aparente *desperdicio* de energía. Las interacciones alostéricas, dependen exclusivamente de procesos reversibles; por ello un proceso en el que una enzima pase de un estado a otro y retorne al primero, como consecuencia de cambios de distinto signo en la concentración de efectores, no supone un consumo neto de energía. Pero si la enzima se modifica, por ejemplo por fosforilación, la introducción de un grupo fosfato se lleva a cabo por acción de una quinasa, mientras que la eliminación la cataliza una fosfatasa. Una fosforilación transitoria de la enzima equivale, pues, a la hidrólisis de ATP para dar ADP y P_i , es decir, a un consumo de energía. A simple vista, pues, explicar el porqué de la existencia de la regulación por modificación covalente está lleno de dificultades.

¿Cabe la categoría de finalidad en el estudio de la Biología?

En este momento cabe introducir un inciso. Se acaba de hablar del porqué de la existencia de un fenómeno bioquímico. ¿Es correcto plantear una cuestión en estos términos? ¿Podemos, legítimamente, preguntarnos *para qué* sirve una determinada función? No es, ni mucho menos una cuestión baladí. Cuando el *para qué* se plantea partiendo de la base de que esa función existe en la naturaleza, y nos preguntamos qué consecuencias se derivan de ello, estamos simplemente extrayendo los efectos a partir de una causa constatada. Cuando, por el contrario, el *para qué* se refiere a las propias causas de la existencia de esa función, se atribuye a la finalidad una categoría causal. No cabe duda de que mantenerse en el primer tipo de planteamiento es más aséptico, menos comprometido. Durante mucho

tiempo, ha sido ésta una cuestión ampliamente debatida por científicos y filósofos. Ciertamente, en las ciencias empírico-formales, dentro de las cuales la Física se alza como paradigma indiscutible, no se incluye la finalidad como uno de sus postulados de partida. Incluso, Monod añadía a esos postulados clásicos el que llamaba *de objetividad*, «es decir, la negativa sistemática de considerar capaz de conducir a un conocimiento “verdadero” toda interpretación de los fenómenos dada en términos de causas finales, es decir, de “proyecto”» (41). Y entre muchos biólogos se observa un temor larvado a que vuelvan a emerger misteriosas *fuerzas vitales* en sus planteamientos epistemológicos, temor que ha llevado, por ejemplo, a Kornberg a proponer como la primera orientación general que ha de presidir la investigación «la eterna vigilancia para evitar el vitalismo» (48).

En definitiva, con palabras de Gilson, «la noción de finalidad no ha tenido éxito. Una de las principales causas de la hostilidad de que ha sido objeto es su larga asociación con la noción de un Dios creador y providencial» (49). No obstante, en el caso concreto de la Biología, cabe la posibilidad de hacer sitio a lo que Núñez de Castro ha llamado acertadamente una «racionalidad teleológica evolutiva», una de cuyas características es que «la emergencia, progreso evolutivo y finalidad son categorías epistémicas necesarias para la construcción de todas las ramas de la Biología» (50). En este sentido, puede apuntarse que el principio de selección natural, presente en la base de muchos razonamientos biológicos, incluye ya la categoría de finalidad. Así pues, eludir la categoría de finalidad en el mundo biológico y admitir, al mismo tiempo, la selección natural de una determinada función lleva a la «contradicción epistemológica» que ya advirtió Monod. Y no queriendo renunciar este autor a su postulado de objetividad, «postulado puro, por siempre indemostrable, porque evidentemente es imposible imaginar una experiencia que pudiera probar la no existencia de un proyecto, de un fin perseguido, en cualquier parte de la naturaleza» acuñó el término *teleonomía* (41), tratando de evitar «por pudor metafísico» (51) el de teleología, por más que *teleonomía* haga también referencia etimológicamente a finalidad. Hay que perder ese *pudor*, de modo que, con palabras de Jacob se puede decir:

«Ya hace tiempo que el biólogo se ve enfrentado a la teleología como una mujer de la que no puede prescindir, pero con la que no quiere ser visto en público» (52).

Quizá sea necesaria una última concreción para cerrar este ya largo, pero fundamental inciso. La aceptación de la categoría de finalidad en el

razonamiento biológico no implica renunciar al enfoque propio de cada área de la Biología. Cuando el bioquímico se encuentra ante un complejo proceso de regulación enzimática, por citar el caso que ha dado origen a esta disgresión, es lícito que se pregunte para qué sirve, qué finalidad tiene. Pero no puede olvidar que ha de dar una interpretación molecular del mismo —eso es lo que caracteriza su modo de estudiar la Biología— y, por tanto, ha de comprender las causas moleculares que permiten que ese mecanismo, una vez adquirido, funcione automáticamente. No basta con comprender qué función desempeña un determinado proceso; es menester explicarla satisfactoriamente en términos moleculares. En esta explicación encontrará muchas veces razones de conveniencia por las que ese proceso, una vez aparecido, se ha conservado a lo largo de la evolución. Sólo razones de conveniencia, para no caer en el antropomorfismo que fustigaba Descartes:

«Nunca deberemos sacar argumentos, acerca de las cosas naturales, del fin que Dios o la Naturaleza se propuso al hacerlas, porque no debemos tener tal arrogancia como para considerar que participamos de sus designios».⁷

Las funciones de la regulación por modificación covalente

Con todos estos antecedentes, puede retomarse el estudio de la modulación de la actividad enzimática por modificación covalente, con el ánimo de ver si su comprensión molecular ofrece razones de conveniencia para su existencia, que permitan desvelar algo su *finalidad*.

Como se ha apuntado antes, la modulación por modificación covalente se descubrió en la glucógeno fosforilasa. Los años que siguieron a ese descubrimiento fueron fructíferos, de modo que en la década de 1980 ya se tenía un mapa prácticamente completo de los procesos implicados en la activación de esa enzima. A modo de ejemplo, se muestra en la figura 2 un resumen de la cascada de activación de la enzima muscular, en la que aparecen varios procesos de fosforilación. Por ejemplo, la glucógeno fosforilasa es activa cuando se fosforila, pero la glucógeno fosforilasa quinasa, enzima que cataliza esa fosforilación, se activa también por fosforilación. La quinasa correspondiente es, ahora, la proteína quinasa A (PKA), que se

⁷ R. DESCARTES (1596-1650) *Principia Philosophiae*. Se cita según la traducción castellana (*Los principios de la Filosofía*) de Ed. Losada, Buenos Aires, 1951.

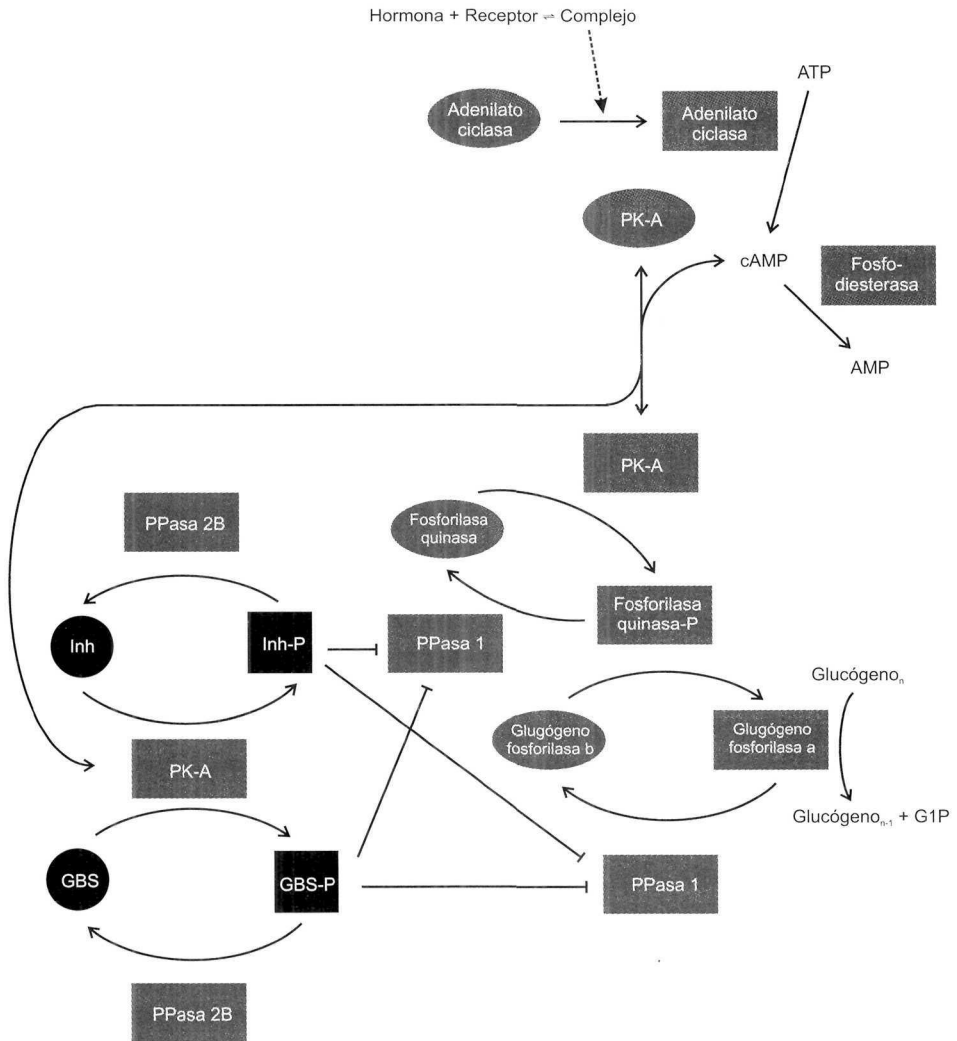


FIGURA 2. *Cascadas de regulación de la actividad de la glucógeno fosforilasa.* Se recogen las etapas esenciales de la regulación de la actividad de la glucógeno fosforilasa muscular en respuesta a la descarga de adrenalina. Para mayor sencillez, se han omitido algunos pasos, como la participación de las proteínas G. Las enzimas se representan en gris, mientras que aparecen en negro las proteínas reguladoras no enzimáticas. Se mantiene la convención de la figura 1, en la que las formas activas se representan como rectángulos y las inactivas como elipses. En el caso de enzimas, la forma activa se representa junto a la flecha que indica la reacción catalizada.

activa alostéricamente por el AMP cíclico. Este efector, a su vez, se sintetiza a partir de ATP en una reacción catalizada por la adenilato ciclasa, enzima que, por su parte, requiere la interacción con un complejo hormona-receptor para activarse. Así, una hormona, la adrenalina, al interactuar con su receptor en la cara externa de la membrana plasmática, dispara la degradación del glucógeno muscular. Se trata, pues, de un proceso en el que una señal hormonal se convierte, en último término, en una señal catalítica. Con toda propiedad, se puede, por tanto hablar de una *transducción*⁸ mediante la cual un tipo de señal se convierte en otro distinto. A pesar de la complejidad del esquema de la figura 2, conviene advertir que se trata sólo de un resumen simplificado. Algunas de las complejidades adicionales se comentarán más adelante y, por otro lado, no aparece la influencia de la cascada de señalización en la simultánea inhibición de la glucógeno sintasa, con lo cual la descarga hormonal activa la movilización de glucógeno al tiempo que bloquea su síntesis.

Pero este esquema es suficiente para el propósito actual de discurrir sobre la posible finalidad de este tipo de modulación de la actividad enzimática. Como ya se ha comentado, una primera propiedad que se observa en la modulación por modificación covalente es que la conversión de la enzima inactiva en la activa y viceversa requiere la participación de enzimas auxiliares. Enzimas auxiliares cuyo sustrato es otra enzima y que, por tanto, pueden encontrarse en la célula a una concentración muy inferior a la de la enzima principal. Como la velocidad máxima a la que puede llegar a actuar una enzima depende de su concentración, resulta obvio que el valor de ese parámetro en la enzima principal puede ser mucho mayor que en las enzimas auxiliares. Si se trata de una cascada policíclica, la primera de las enzimas auxiliares o, en general, el primer elemento de la cascada, puede encontrarse en las células en una concentración realmente pequeña lo que, a su vez, implica que su efector —que, en último término, dispara toda la cascada que conduce a la conversión de S en P— será activo a una concentración absolutamente ineficaz si la enzima que cataliza la reacción diana se modulara simplemente por un mecanismo alostérico como el de la figura 1a. Esta propiedad de la modulación por modificación covalente suele denominarse *amplificación catalítica* (6) y permite, por ejemplo, que la glucógeno fosforilasa quinasa, que se activa en hígado como consecuencia

⁸ El Diccionario de la Lengua Española, en su 22ª edición, recoge el término *transducción* precisamente con este significado: transformación de un tipo de señal en otro distinto.

de la descarga de glucagón por una cascada similar a la de la figura 2, sea capaz de responder a concentraciones de la hormona del orden de $5 \cdot 10^{-11}$ M y que baste un número relativamente pequeño de receptores de glucagón en las membranas plasmáticas de los hepatocitos.

Pero hay otra propiedad, que también puede contemplarse como amplificación, que confiere otra ventaja a la modulación por modificación covalente. Se trata de que el grado de activación de una enzima auxiliar por su efector no se corresponde directamente con la cantidad de enzima diana que se modifica. Stadtman y Chock, que han estudiado con detenimiento esta cuestión, propusieron ya en 1978 un modelo que ilustra esta aseveración. En un ejemplo teórico de cascada monocíclica derivado de ese modelo, encontraron unas condiciones en las que se lograba una activación del 50% de la enzima diana con una concentración de efector de la enzima auxiliar 100 veces menor que la requerida para activar el 50% de esta última (53). Por supuesto, cuando la cascada es policíclica, el factor de amplificación puede llegar a ser mucho mayor. No hay que confundir este aspecto de la amplificación, que Fell ha llamado “amplificación de la señal” (6) con la amplificación catalítica descrita anteriormente. La amplificación de la señal en la modulación por modificación covalente es consecuencia del carácter catalítico del proceso, de modo que una pequeña cantidad de enzima auxiliar puede causar la activación de una cantidad mayor de la enzima diana. Esta amplificación conduce, por ejemplo, a que se manifieste un determinado efecto en la enzima diana con una concentración de efector muy inferior al valor de la constante de disociación de su proceso de unión a la enzima auxiliar.

Además de la amplificación en sus dos vertientes, la modulación de la actividad por modificación covalente puede presentar otra propiedad, que es la ultrasensibilidad. En los procesos de regulación se suele denominar índice de sensibilidad al cociente entre la concentración de efector con la que se logra un 90% de su efecto máximo y aquélla con la que se consigue un 10%. Es evidente que, para una determinada enzima, una curva de respuesta al efector de forma sigmoide implica un índice de sensibilidad menor —es decir, una mayor sensibilidad— que si la curva fuera hiperbólica. Así pues, la cooperatividad en la unión de efectores dota a las enzimas alostéricas de una sensibilidad de la que carecerían si los activadores o inhibidores se unieran de modo no cooperativo. Pero, con todo, el índice de sensibilidad raras veces desciende de un valor de 5 o 6, propio de las enzimas con gran cooperatividad. La modificación covalente permite la existencia de ultrasensibilidad, caracterizada por índices de sensibilidad próximos a la unidad, de modo que la enzima diana puede variar de acti-

vidad en función de la concentración del efector inicial mediante una respuesta que se puede llamar “todo o nada”: para valores inferiores a una determinada concentración de efector, la actividad de la enzima es nula. Pero al sobrepasar, aunque sea mínimamente ese umbral, se alcanza la máxima actividad (54). Es obvio que muchas veces, incluso la mayoría de ellas, no será conveniente para la homeostasis celular que las enzimas respondan de ese modo, pero el que pueda darse la ultrasensibilidad proporciona una posibilidad que puede *justificar*, en muchos casos, la conveniencia de cascadas de regulación en las que intervenga la modulación por modificación covalente.

Las consideraciones anteriores son seguramente suficientes para explicar, siquiera sea en primera aproximación, por qué, una vez aparecido el fenómeno de la modulación enzimática por modificación covalente, ha conseguido *hacerse un hueco* en el entramado de la regulación biológica, coexistiendo con el alosterismo y soportando junto con él la presión selectiva de la evolución. Pero son más amplias las consideraciones generales que se pueden hacer en torno a este mecanismo de modulación. Una de ellas, a la que ya se ha aludido de pasada, es la complejidad que subyace a casi todos estos procesos. Complejidad que, por una parte, lleva a contemplar el intrincado panorama de las cascadas de transducción que, como se verá oportunamente, no se limitan a la regulación enzimática. Y, por otra, desemboca en el concepto de multimodulación enzimática, referido a aquellas enzimas en las que se acumulan varios mecanismos reguladores, bien de la misma, bien de diferente naturaleza (55).

La activación de la glucógeno fosforilasa

Por sólo tratar de la activación de la glucógeno fosforilasa, que se ha utilizado antes como ejemplo, es menester volver ahora al hecho, ya apuntado, de que el esquema de la figura 2 no pasa de ser un resumen simplificado. Por lo pronto, hay que resaltar que la glucógeno fosforilasa, la enzima diana de la cascada de regulación, es una enzima multimodulada, cuya velocidad se controla también por efectores alostéricos. La mayoría de los datos en este sentido se recogieron entre los años 1975 y 1995 y constituyen uno de tantos ejemplos en los que el conocimiento de la estructura de una macromolécula ayuda a comprender su función y viceversa. De hecho, ese binomio estructura-función se ha constituido en uno de los principios insoslayables que configuran la mentalidad de la Bioquímica y Biología Molecular.

La enzima de músculo de conejo —la mejor estudiada— está formada por dos subunidades idénticas de 842 aminoácidos cada una. La forma *b* de la enzima es muy compacta, con la excepción de los primeros residuos que interaccionan con otros aminoácidos de la propia subunidad. Entre ellos se encuentra una secuencia que contiene 4 aminoácidos básicos próximos al residuo fosforilable, la serina 14. Cuando este aminoácido se fosforila por acción de la fosforilasa quinasa, la adquisición de carga negativa altera la estructura de esa cola N-terminal de la enzima: se desenrolla media vuelta del primer tramo de hélice α , gira 120° el conjunto de los veinte primeros aminoácidos y los primeros 10 adquieren una estructura de hélice 3_{10} . Los contactos establecidos por la región N-terminal pasan de ser intrasubunidad a intersubunidad y, en consecuencia, provocan un cambio de estructura cuaternaria, que se puede describir como un giro relativo de 10° de una de las subunidades respecto a la otra, lo que conlleva un ligero cambio estructural en la zona central de las subunidades, donde se encuentra el centro activo (56). Las alteraciones estructurales ocurren de modo concertado en las dos subunidades, de modo que la fosforilación provoca un cambio *todo o nada* que, por analogía con el modelo alostérico de Monod, se puede describir como una transición T-R. La estructura de la conformación T se conoce desde hace tiempo con una resolución de 2,1 Å (57) y, recientemente, se ha conseguido mejorar hasta 1,8 Å (58), pero es más difícil preparar cristales de la forma R, por lo que sólo se conoce la estructura de la enzima de hígado humano con resolución de 2,4 Å (59).

Pero la transición T-R no sólo se puede conseguir mediante fosforilación. Hay efectores, como la glucosa, que pueden convertir la forma R fosforilada en T, con la consiguiente inactivación. La glucosa-6-fosfato desempeña un papel similar, pero sólo cuando la enzima está desfosforilada. Por el contrario, el AMP es capaz de inducir el cambio conformacional de T a R aun cuando la enzima esté desfosforilada y, desde hace tiempo, se conoce también la existencia de otros efectores que, como ocurre con el sulfato amónico, no tienen trascendencia fisiológica, pero han abierto importantes posibilidades a los estudios estructurales. La unión del AMP se ha estudiado con detalle. El sitio alostérico se encuentra situado cerca de la interfase entre las subunidades y el mecanismo de la transducción de los efectos heterotrópicos se conoce desde hace más de diez años (56).

También son conocidos desde hace tiempo otros mecanismos reguladores de la glucógeno fosforilasa. Por ejemplo, existe un sitio para la unión de nucleósidos (56) distinto del sitio alostérico del AMP, aunque su papel fisiológico en la regulación de la actividad enzimática es incierto. Por otro lado, una parte importante de la enzima está asociada a gránulos del glu-

cógeno que utiliza como sustrato. La unión tiene lugar a través de uno de los dos dominios que componen cada una de las subunidades y esta asociación parece jugar un importante papel en el control coordinado de la degradación del glucógeno, ya que otras enzimas implicadas en el proceso forman también parte de esos complejos. Pero investigaciones más recientes han permitido encontrar otros sitios alostéricos en la glucógeno fosforilasa. Por ejemplo, las indol-2-carboxamidas se unen en una localización situada a unos 15 Å del sitio alostérico del AMP y a 33 Å del centro activo y estabilizan la conformación T de la enzima (60, 61). Más adelante tendremos ocasión de considerar la importancia aplicada de este fenómeno.

Siguiendo la cascada de activación *aguas arriba*, la siguiente enzima que se encuentra es la glucógeno fosforilasa quinasa, frecuentemente denominada simplemente fosforilasa quinasa, que fue la primera proteína quinasa purificada y caracterizada. A pesar del tiempo transcurrido desde que se conoce, aún es objeto de estudio activo y continúa atrayendo el interés de los investigadores. Buena prueba de ello es que se haya publicado recientemente una extensa revisión (62). La holoenzima de músculo, la mejor estudiada, tiene un peso molecular de $1,3 \cdot 10^6$ y consta de tres tipos de subunidades reguladoras, α , β y δ , y de una subunidad catalítica, γ . Las subunidades α y β actúan inhibiendo la actividad catalítica de γ , de modo que la activación de la enzima se lleva a cabo por la supresión de esa inhibición. Este efecto se consigue mediante la progresiva modificación por fosforilación de las subunidades reguladoras mencionadas. La proteína quinasa A, dependiente de cAMP, es la encargada de catalizar esa fosforilación (Fig. 2). Puesto que la holoenzima contiene 4 subunidades α y otras tantas β , son posibles 25 grados distintos de fosforilación en la fosforilasa quinasa, que van desde el estado en el que las 4 subunidades α y las 4 β están desfosforiladas hasta aquél en el que todas las subunidades están modificadas, pasando por los diferentes intermediarios. Aunque existen 23 posibles, es evidente que sólo se requieren 7 de ellos, pero éstos pueden usarse por cualquier ruta secuencial, dando lugar a un total de 70 vías posibles de activación, que implican hasta 40 reacciones diferentes (63). Como la actividad de la enzima depende del grado global de fosforilación, este complejo proceso proporciona una posibilidad de ajuste muy fino de la eficacia catalítica de la fosforilasa quinasa. A ello contribuye también el hecho de que se dé un comportamiento diferencial en la activación en función del tipo de subunidad, α o β , modificada (62).

Hace algo más de 10 años que se descubrió que la causa molecular de la activación provocada por esta modificación de la enzima no es un cambio de afinidad por su sustrato, la glucógeno fosforilasa, sino un incremento

de la constante catalítica (64). La glucógeno fosforilasa quinasa es, pues, una enzima tipo V en vez de pertenecer al grupo más frecuente de las enzimas tipo K⁹. Se trata de un detalle sumamente importante: la concentración de la glucógeno fosforilasa muscular es muy superior al valor de la K_m de la fosforilasa quinasa, de modo que sería ineficaz un mecanismo regulador que actuara sobre ese parámetro cinético. Por el contrario, al modificarse la V_{max} , no sólo se consigue una apreciable variación de la velocidad, sino que, de acuerdo con las predicciones de Cárdenas (54), se da el fenómeno de ultrasensibilidad

Las posibilidades de lograr una modulación extraordinariamente delicada no terminan con la graduación de la fosforilación. La subunidad δ de la enzima es idéntica a la calmodulina, proteína reguladora dependiente de Ca^{2+} . El papel regulador de esta subunidad está, en consecuencia, mediado por la concentración de ese catión. Se trata de un fenómeno complejo, ya que en la región C-terminal de la subunidad γ existe un dominio autoinhibidor que, en ausencia de Ca^{2+} , impide el acceso de la glucógeno fosforilasa al centro activo. Por el contrario, en presencia de Ca^{2+} , la subunidad δ se une a la región C-terminal de la subunidad catalítica, impidiendo que el dominio autoinhibidor cierre el centro activo (65). Para mayor complicación, la calmodulina exógena o troponina C es también capaz de activar a la enzima (66). Como consecuencia de todos estos efectos, la modulación de la actividad de la fosforilasa quinasa por Ca^{2+} resulta ser extremadamente sensible de modo que, en torno a una concentración del ion de 10^{-6} M, basta una pequeña elevación de ella para lograr un considerable incremento en la velocidad de la reacción enzimática.

La glucógeno fosforilasa quinasa es, pues, un ejemplo de enzima multimodulada, ya que su actividad se ve afectada tanto por fosforilación-desfosforilación, como por la presencia de Ca^{2+} . Este doble circuito de modulación no es redundante y Fell ha advertido las ventajas fisiológicas que implica en el caso de la enzima de músculo (6). En efecto, gracias al efecto de los iones Ca^{2+} , la activación de la enzima muscular ocurre tan sólo después de un segundo de iniciar las contracciones musculares, debido a la liberación de Ca^{2+} desde el retículo sarcoplásmico. Pero un tiempo después, la fosforilación de la fosforilasa quinasa, en respuesta a la cascada iniciada por la liberación de adrenalina (Fig. 2), supone un nuevo incre-

⁹ La designación de una enzima regulada como «tipo K» o «tipo V» depende del parámetro cinético que resulte alterado. En el primer caso, el más frecuente, la activación o inhibición modifica la afinidad de la enzima por el sustrato (y, por tanto, la K_m si se tratara de una enzima *michaeliana*). En el segundo, aumenta o disminuye la k_{cat} y, en consecuencia, la V_{max} .

mento de la actividad enzimática, incremento que, esta vez, se mantiene en el tiempo debido a la inercia propia de la regulación por modificación covalente. La multimodulación permite, pues, tanto una respuesta inmediata como una mantenida. La ventaja fisiológica que supone ese doble control de la movilización de la reserva de glucógeno es evidente, por ejemplo, en un animal que, quizá, se juega la vida no sólo escapando inmediatamente del depredador, sino también manteniendo durante largo tiempo la posibilidad de seguir huyendo.

Se ha visto a grandes rasgos de qué manera se puede activar la glucógeno fosforilasa y, así, movilizar las reservas del polisacárido. Pero hay que tener en cuenta que la regulación por modificación covalente es reversible, esto es, existe un mecanismo para que la enzima encargada de la degradación del glucógeno vuelva a su estado inactivo cuando ya no es necesaria la movilización de reservas energéticas. Ya se ha prestado una cierta atención a la posibilidad de inactivación alostérica de la glucógeno fosforilasa pero, sin duda, el mecanismo de inactivación más importante es la conversión de la enzima en su forma *b* por desfosforilación (Fig. 2). La enzima auxiliar que cataliza ese proceso es la proteína fosfatasa 1, también conocida como fosforilasa fosfatasa, ya que, aunque puede desfosforilar otros sustratos, la enzima que nos ocupa, además de ser el primero conocido, es, con mucho, el más importante. Como en el caso de la otra enzima auxiliar, la fosforilasa quinasa, la fosfatasa 1 se descubrió hace bastante tiempo, pero sigue siendo objeto de numerosos estudios y también se ha publicado una reciente revisión (67).

No es necesario revisar con profundidad las propiedades reguladoras de la proteína fosfatasa 1. Para el propósito perseguido en este momento, bastará con mencionar una de ellas: se puede inhibir por la unión de unas pequeñas proteínas, el inhibidor 1 y el inhibidor 2, aunque la primera sólo es eficaz cuando está fosforilada por la proteína quinasa A en un residuo de treonina (68). Por otro lado, ya se ha mencionado que la especificidad de la proteína fosfatasa 1 es amplia y la glucógeno fosforilasa quinasa es otro de sus sustratos (Fig. 2). Este hecho encaja perfectamente con la observación anterior. En efecto, cuando en respuesta a una descarga hormonal actúa la proteína quinasa A, no sólo se activa por fosforilación la glucógeno fosforilasa, sino que se impide también que ésta revierta a la conformación *b* al inhibirse la proteína fosfatasa 1 por el inhibidor fosforilado. Y, de la misma manera, la fosforilasa quinasa se mantiene en su forma activa (Fig. 2). Con un lenguaje llano, se podría decir que el mecanismo asegura *con tuerca y contratuercas* que seguirá movilizándose el glucógeno muscular mientras no cese la liberación de la hormona.

A su vez, la proteína fosfatasa 2B, que desfosforila al inhibidor 1 (Fig. 2) presenta también un intrincado mecanismo de regulación, en el que los iones Ca^{2+} intervienen de un modo múltiple. Pueden interaccionar directamente con la subunidad B de la enzima, lo que conduce a su activación al permitir la unión de la proteína sustrato. Pero la calmodulina puede también unirse a la subunidad A, con el resultado de un incremento de hasta 10 veces en V_{max} (66). Otra vez aparece una enzima en la que se dan las condiciones idóneas para la aparición de ultrasensibilidad. A la vista de las consideraciones que se han hecho antes, parece, pues, que la existencia de este fenómeno es importante en la regulación de la degradación del glucógeno.

Se acaba de ver que la especificidad de la proteína fosfatasa 1 es amplia. A título de curiosidad, vale la pena comentar que la enzima que nos ocupa se ha relacionado recientemente con los procesos de aprendizaje y memoria. La proteína fosfatasa 1 limita la adquisición de datos y, al mismo tiempo, facilita la pérdida de la memoria. En efecto, el aprendizaje se mejora cuando la enzima está genéticamente inhibida. Por supuesto, la función de la proteína fosfatasa 1 no esté en este caso relacionada con el metabolismo energético, sino con el estado de fosforilación de un receptor y con la expresión de genes implicados en el aprendizaje y memorización (69).

¿Un proceso complejo o, más bien, un proceso bello?

Si se comparan los primeros comentarios dedicados en este discurso a la regulación por modificación covalente con el panorama que se acaba de trazar, se echará de ver cómo se ha pasado de un tratamiento simple, conceptualmente claro, a una realidad extremadamente compleja. Al fin y al cabo, ya se advertía esta graduación al comparar la figura 1, que contiene un esquema hipotético simplificado de ese mecanismo de modulación, con la 2, en la que se esquematiza un caso real. De todas formas, la complejidad del ejemplo real es aún mayor. Ya se ha anotado que faltan en él los mecanismos que —en paralelo a la activación de la degradación de glucógeno— conducen a la inhibición de su síntesis. Pero, además, los comentarios realizados sobre la regulación de la glucógeno fosforilasa se han reducido a algunos aspectos concretos. Si bien esos aspectos han sido suficientes para entrever las complicaciones de los mecanismos y para atisbar cuáles pueden ser sus ventajas fisiológicas, hay que reconocer ahora que se han limitado a una parte muy concreta del esquema de la figura 2. Y,

por otro lado, para hacer tolerables los límites de esta disertación, se ha pasado como de puntillas por la mayoría de las cuestiones tratadas.

Ante un panorama como éste caben dos opciones. O bien se considera todo el mecanismo como un insufrible enredo, como podría hacer un mal estudiante que pretendiera aprenderlo de memoria sólo para superar un examen a la antigua usanza, o bien se contempla como una muestra más de la belleza de la naturaleza. Quizá, a simple vista, pueda sorprender que apunte esta última posibilidad, pero comparto la opinión de García Lorca, cuando decía que un alma de poeta intenta descubrir el misterio que tienen todas las cosas. Así, el hombre enriquece su espíritu, no sólo cuando admira el cañón del Colorado, escucha una sonata de Beethoven o contempla un picasso, sino también cuando llega a comprender un complicado mecanismo como el que nos ha venido ocupando. Encontrar la belleza latente en las verdades científicas: he ahí un reto que puede añadir un apasionante ingrediente a la tarea cotidiana del investigador y que contribuirá a que su quehacer sea más humano. Y es que, de acuerdo con el filósofo Miguel Ángel Martí, es posible decir que la belleza puede encontrarse en casi todas las cosas, aunque el problema sea precisamente descubrirla, ya que para ello «hacen falta unos ojos en donde no esté presente la rutina, el acostumbramiento» (70).

El investigador no puede perder la capacidad de asombro. Decía Einstein que «el estudio y, en general, la búsqueda de la verdad y de la belleza, son los campos en los que podemos seguir siendo niños toda la vida»¹⁰. Y es que un niño tiene intacta su aptitud para el asombro. Su despertar a la vida es una sucesión de pequeños descubrimientos que hacen de cada día una auténtica aventura irreplicable. Por el contrario, el adulto autosuficiente, el que está *de vuelta de todo*, se ha de conformar con una existencia monótona, rutinaria. ¡Qué bien se entiende así que Millán Puelles cite a la humildad entre los hábitos *prepositivos* que ayudan al hombre en su búsqueda de la verdad! (72). Una humildad que no significa en absoluto encogimiento de espíritu —nada más ajeno a la actitud de un científico y aún de toda persona—, sino ausencia de esa autosuficiencia que, a la larga, lleva a cerrarse en sí mismo.

El científico ha de adoptar de continuo una actitud abierta ante la naturaleza, siempre pródiga en proporcionar sorpresas a los que sean capaces de observarlas. El mismo fenómeno no tiene idéntico sentido para un alma sensible —y tal debe tenerla el científico auténtico— que para una persona vulgar. Ser vulgar, decía Newman, es estar delante de lo sublime

¹⁰ Citado por T. Alfaro (71).

y no darse cuenta. La sensibilidad, por el contrario, permite descubrir lo que tienen de admirable los acontecimientos corrientes, que no dejan de ser prodigiosos porque sepamos explicarlos en mayor o menor medida. En otras palabras, se puede concluir que la capacidad de asombro no se puede perder porque la ciencia haya avanzado. Si, por ejemplo, todos los bioquímicos hubieran quedado totalmente satisfechos con la lúcida exposición que hizo Francis Crick del *dogma central* de la Biología Molecular (14), si todos hubieran perdido su capacidad de asombrarse ante hechos que parecían contradecirlo, no se habría podido descubrir la reacción de la transcriptasa inversa. Este descubrimiento no sólo sirvió para que su autor, Temin, obtuviera el premio Nobel, sino que ha permitido conocer el mecanismo de replicación de muchos virus —entre ellos el del SIDA— y ha supuesto una insustituible herramienta en los laboratorios de Biología Molecular. Se podrían resumir perfectamente las ideas anteriores con los versos de León Felipe: «Que no se acostumbre el pie/ a pisar el mismo suelo, (...) Que no hagan callo las cosas/ ni en el alma ni en el cuerpo»¹¹.

Se ha hablado en las líneas precedentes de que la creatividad es un valor inseparable de la producción científica y ahora estamos discutiendo sobre la semejanza que existe entre la tarea del investigador y la del artista. Entre otras muchas cosas comunes, ambos necesitan usar convenientemente la imaginación, de cuya importancia se ha trazado antes un esbozo. La creación original, esa especie de salto de lo desconocido a lo conocido que todo descubrimiento exige, resulta imposible sin una buena dosis de imaginación. En este sentido, dice el Profesor Primo Yúfera que: «los científicos con “imaginación creadora” o “creativos” se caracterizan por su capacidad para encontrar ideas que conducen a soluciones originales e innovadoras, y, al mismo tiempo, realistas y útiles» (42).

Parece, pues, legítima la conclusión de que el trabajo científico puede estar abierto a la contemplación de la belleza intrínseca que se puede encontrar en él. Una contemplación que implica *mirar con cariño* (70), que requiere una actitud anímica, una sensibilidad en absoluto extraña a los hábitos de un buen científico. No es realmente necesaria una dicotomía entre la actitud vital del científico y la del artista, aunque sociológica y educacionalmente se pueda dar. Es reconfortante observar cómo, muchas veces, se han hecho esfuerzos para superarla. Se puede citar el ejemplo de Frank Malina —un ingeniero aeronáutico que había ejercido su profesión durante 20 años antes de dedicarse de lleno a la pintura—, que fundó una

¹¹ LEÓN FELIPE (1884-1968) “Romero solo...”, en *Versos y oraciones del caminante*. Visor Libros, S. L., Madrid, 1983.

revista dedicada a las relaciones entre arte y ciencia. La revista fue bautizada con el nombre de "Leonardo", en una clara alusión al genio polifacético de Leonardo da Vinci. Precisamente en esa revista, decía Moravcsik en 1974 que los artistas y los científicos comparten ciertas motivaciones, incluida la capacidad de ser creativos. Según el mismo autor, científicos y artistas tienen en común una sensibilidad hacia la estética en su trabajo, aunque sus criterios de "belleza" puedan ser bastante distintos (73).

Pero no es ése el único testimonio que podría aducirse en el mismo sentido. Birchmore, por ejemplo, tratando de superar la separación del todo artificial que se da entre arte y ciencia, escribía:

«Los científicos son racionalistas, fríos e insensibles. Los ingenieros y tecnólogos son prácticos, prosaicos y, frecuentemente, semianalfabetos. Tal es el mito. Sin embargo, creo que los mejores científicos son poetas y que el auténtico ingeniero es un artista. No baso mi aseveración en el hecho de que Einstein tocara el violín, o en que Leonardo da Vinci diseñara paracaídas y helicópteros; mi argumento es que hay poesía y arte en la ciencia misma. Fijaos en el lenguaje de la ciencia (y de la tecnología): quarks (que pueden poseer 'encanto' o 'belleza') (...), el Big Bang (que puede o no ir seguido de un Big Crunch). Términos como éstos no han sido inventados por intelectuales carentes de humor. Los agujeros negros, el invierno nuclear, el viento solar... No son sólo los conceptos los que inspiran temor; las mismas palabras hacen sentir un escalofrío (...). El propósito del lenguaje científico es expresar los conceptos con claridad, precisión y economía; y en ese proceder, el lenguaje se hace algunas veces poesía» (74).

Los ejemplos empleados por Birchmore están tomados de la Física o de la Cosmología. Pero la actitud que denotan es común a todas las ramas de la Ciencia y se encuentran numerosos casos en Bioquímica y Biología Molecular. Por sólo citar palabras que han aparecido hasta ahora en este discurso, ¿se podrían encontrar unas otras más acertadas que *transcripción*, *cascada* de regulación, *ruta* metabólica, etc. para expresar metafóricamente los procesos que significan?

Se podrían multiplicar hasta el infinito los casos que muestran cómo el cultivo de la ciencia no sólo no está reñido con el de la sensibilidad artística, sino que ambos no son sino distintas facetas de una actitud profundamente humana. Hace poco, con ocasión de un premio otorgado a

Mary Osborn, pionera de la inmunofluorescencia, el profesor de Historia del Arte de Oxford Martin Kemp, se refería a una imagen obtenida por la galardonada en 1987 que muestra una mezcla de fibroblastos y células epiteliales teñida con anticuerpos frente a dos proteínas de los filamentos intermedios, queratina y vimentina, y comentaba:

«En paralelo con el avance técnico está el profundo amor a la contemplación de la continuamente cambiante topografía de las células teñidas. Como dice Osborn, 'Aún puedo estar absorta ante el microscopio durante horas. No sólo porque las imágenes son bellas, sino porque cada célula muestra sutiles diferencias en la organización y distribución de los tres sistemas de filamentos'» (75).

O, si se quiere, se puede recordar otra vez a Einstein, ahora de la mano de Bondi, uno de sus discípulos. Recuerda éste el aprecio que el autor de la teoría de la relatividad hacía de la belleza formal:

«Lo que recuerdo con más claridad es que, cuando yo formulaba una sugerencia que a mí me parecía coherente y razonable, él no la contradecía en absoluto, sino que decía únicamente "¡Oh, qué feo!" Cuando una ecuación le parecía fea, perdía realmente el interés en ella y no podía entender que alguien estuviera dispuesto a malgastar el tiempo en eso. Estaba convencido de que la belleza era un principio rector en la búsqueda de resultados importantes en física teórica»¹².

Pero aún es posible encontrar un ejemplo más cercano de esta actitud. Cercano, no tanto en el tiempo, como en el afecto de todos los pertenecientes a esta Academia, porque hace referencia a uno de sus ilustres miembros, distinguido con la Medalla Echegaray. Hablo del Prof. D. Obdulio Fernández y Rodríguez, que supo combinar el cultivo de la Química Orgánica —algo que podría parecer árido y poco poético— con una singular sensibilidad artística. Buena prueba de ello son algunos párrafos entresacados de uno de sus artículos, publicado en 1942, que llevaba el sugerente título de *El Arte y la Fantasía en la Química*. Hablaba D. Obdulio de la clorofila, después de recordar que fue precisamente Borodin, químico, aunque más conocido por su obra musical, el primero en cristalizarla. De

¹² H. BONDI, citado por Whithrow (76).

la estructura de este pigmento, que acababa de ser descifrada por Fischer en 1940, decía:

«Se necesita la fantasía de un hombre genial para coordinar todos los resultados obtenidos en los diversos laboratorios de Europa; hidrolizar la clorofila, separar sus constituyentes, descomponer sus núcleos nitrogenados, y luego reunirlos todos para darles forma viva en un plano, que constituye un prodigio de la arquitectura química. ¿No es artística hasta lo inverosímil la estructura molecular que se acepta hoy para representar la clorofila?; pero, ¡al Arte no le alumbró el destello del rayo creador que juntó pirroles por medio de metinos y que esterificó ácidos pirrolcarbónicos con alcoholes de tipo contrapuesto como el metílico y el fitólico? ¿Quién duda que el autor de esa construcción, que el soñador de esa eurytmia tan atrayente no es un artista cuya consciencia abarca los ápices de la belleza? Quien plasma en un conjunto armónico fitol, metanol, ácidos pirrolcarbónicos y los engarza a las valencias secundarias de un metal, también predestinado al Arte, el magnesio, es un artista en grado sumo, y la Química más alta, que encierra técnica delicada y primores de pensamiento, es materia de Arte, y de un arte que pretende, sin quererlo, descubrir al hombre los secretos más escondidos de la vida» (77).

Pero es significativo que D. Obdulio contemplaba la belleza bajo el prisma de la unicidad. No sólo hay belleza en la Química orgánica, sino también en la inorgánica y aún en toda ciencia, y esa belleza es la misma del arte. Y no me resisto a transcribir la conclusión de su artículo, cuando después de considerar el retraso que tenía la Química en España en aquellos años, proponía:

«No veo otro procedimiento para librarnos de esa servidumbre que exaltar la fantasía de los jóvenes estudiantes de Química (...) Quizá otro procedimiento liberador es enseñar la Química como Arte, o acaso con más arte (...) Convendría que esa enseñanza fuese más variada, orientada al Arte, a buscar inspiraciones que, probablemente, se generalizarían dentro de las aptitudes de cada alumno» (77).

¿Qué duda cabe de que la belleza, la armonía, constituye uno de los más claros valores humanos? Pues, si como se acaba de mostrar, el cientí-

fico puede descubrir la belleza de la naturaleza en su propio trabajo, no será posible poner en tela de juicio que, también en este aspecto, la actividad científica nos ayuda a ser más humanos, al tiempo que la fantasía y el arte nos pueden ayudar a ser mejores científicos. Sí, porque, al fin y al cabo, la ciencia y el arte no son sino dos facetas del espíritu humano que aletea en todas sus actividades. Cuando Bécquer escribía:

«Mientras la ciencia a descubrir no alcance
las fuentes de la vida,
y en el mar o en el cielo haya un abismo
que al cálculo resista;

mientras la humanidad, siempre avanzando,
no sepa a do camina;
mientras haya un misterio para el hombre,
¡habrá poesía!»¹³,

no estaba simplemente diciendo que desde la ciencia se pueda hacer poesía, ni que la poesía permita contemplar la ciencia de otra manera. Es que con su alma de poeta había descubierto esa ansia de belleza que vibra tras cualquier actividad humana.

¹³ GUSTAVO ADOLFO BÉCQUER (1836-1870) *Rima IV*. Rimas y Leyendas, Colección Austral. Espasa-Calpe, Madrid, 1958.

LA REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA EN EUCARIOTAS

La estructura de la cromatina

Es el momento de retomar la revisión de los mecanismos de regulación biológica, que están constituyendo la falsilla sobre la que se escriben estas reflexiones sobre *el rostro humano de la ciencia*. Se ha considerado, en la primera parte de este discurso, cómo el postulado del alosterismo permitió una primera integración conceptual de la regulación enzimática y la regulación de la expresión génica. Pero los antecedentes de que disponían Jacob y Monod sobre esa última procedían de estudios de Genética molecular bacteriana. ¿Son válidos esos datos para abordar la regulación de la expresión génica en eucariotas?

Durante mucho tiempo, la respuesta a esta pregunta se podría resumir con un coloquial: "sí, pero..." Se haría alusión con ello a que, según se admitía implícitamente, los mecanismos de regulación eran esencialmente similares, aunque las peculiaridades estructurales de la organización del material genético eucariótico imponían algunas particularidades. En el despertar de la Biología Molecular, a mediados del siglo XX, ya se sabía que el DNA se encontraba en los eucariotas formando un material complejo, denominado cromatina, en el que unas proteínas básicas, las histonas, eran sus principales acompañantes. La caracterización de las histonas, que había despertado un gran interés entre los investigadores al pensar que podrían actuar como represores específicos de la transcripción, culminó durante la década de 1960 y los primeros años de los 70. Fue el resultado de un brillante trabajo realizado fundamentalmente en los laboratorios de Bonner, en California, y Johns, en Londres. Estos estudios permitieron concluir

que las histonas presentan una limitada heterogeneidad, ya que hay sólo cinco clases de ellas, aunque dentro de cada una puedan existir diferentes variantes. Con la nomenclatura actual, esas clases se designan como H1 (o su equivalente, H5, en algunos tipos celulares), H2A, H2B, H3 y H4. Pero, además, poseen una gran conservatividad evolutiva, que se puso de manifiesto por primera vez al secuenciar las histonas H4 de timo de ternera y de embrión de guisante: las dos están formadas por 102 aminoácidos de los que sólo dos difieren y se trata, además, de variaciones conservativas (78, 79). La investigación posterior de la estructura primaria de otras histonas confirmó que la conservatividad se extiende a todas ellas, especialmente a H2A, H2B, H3 y H4. Por otra parte, puso de manifiesto que las regiones N-terminales de estas últimas, que abarcan aproximadamente un tercio de cada molécula de histona, están formadas casi exclusivamente por aminoácidos polares, entre los que abundan los básicos. Por ese motivo, se sospechó que esas regiones estarían desestructuradas en las histonas libres en disolución y que serían el principal punto de unión al DNA en la cromatina.

Los resultados que se han comentado en los párrafos precedentes dieron al traste con la idea inicial que contemplaba a las histonas como represores genéticos específicos, por lo que comenzaron a considerarse como proteínas estructurales de la cromatina. Naturalmente, si estaban tan conservadas sería porque su papel en la organización de la cromatina era crítico. Por ello, el interés de los investigadores se desplazó desde el estudio de las histonas hacia el de la estructura de la cromatina. Los éxitos conseguidos mediante difracción de rayos X en la dilucidación de la estructura del DNA durante la década de 1950 hizo que se aplicara la misma metodología a la investigación estructural de la cromatina. Los datos obtenidos por varios laboratorios se interpretaron en términos de una organización en la que la doble hélice del DNA describiría una estructura superhelicoidal continua, con un paso de rosca de 11 nm y un diámetro de 10 nm. El modelo, en el que el papel de las histonas nunca llegó a definirse con precisión, tuvo una aceptación general y rápida. Tan es así, que cuando algunos autores, al observar cromatina mediante microscopía electrónica, encontraron fibras de diámetro irregular, lo achacaron a artefactos en la preparación de las muestras.

Pero en 1973 las evidencias en favor de una organización discontinua de las fibras de cromatina comenzaron a consolidarse, de la mano de dos grupos: el de Woodcock y el de los esposos Olins. Ambos propusieron, en un congreso de Biología Celular celebrado ese año en Miami, que la cromatina estaba formada por una sucesión de partículas más o menos esféri-

cas, de diámetro cercano a 100 Å. Ese mismo año apareció un artículo en el que se presentaban argumentos bioquímicos, basados en la digestión con endonucleasas, a favor de una organización discontinua y repetitiva de la cromatina (80). Woodcock encontró serias dificultades para publicar sus resultados como se comentará más adelante, y el trabajo final de Ada y Donald Olins vio la luz el año siguiente (81). Acababa de producirse un cambio radical en la manera de contemplar la estructura de la cromatina, en la que el DNA se organiza en forma de nucleosomas. Un nucleosoma consta de una partícula núcleo y un DNA espaciador. Mientras que el DNA espaciador es de longitud variable, la partícula núcleo es idéntica en todas las células eucarióticas. Está constituida por un octámero formado por dos copias de cada una de las histonas H2A, H2B, H3 y H4 alrededor del cual se enrollan 147 pares de bases de DNA¹⁴ describiendo una superhélice.

Una vez aceptada la existencia del nucleosoma, las investigaciones sobre estructura de la cromatina continuaron progresando sin sobresaltos. Pero para nuestro propósito, es innecesario describir con detalle el progreso de esa línea de trabajo, que se encuentra muy bien descrito en un libro de van Holde (82) y en un reciente artículo escrito por dos de sus protagonistas (83). Baste señalar que relativamente pronto se consiguió determinar, gracias fundamentalmente a los trabajos del grupo de Klug, heredero de la tradición estructuralista del famoso laboratorio Cavendish de Cambridge, la estructura de la partícula núcleo cristalizada con una resolución de 22 Å (84); años más tarde se llegó a describir esa estructura con una resolución de 7 Å (85). Si bien este nivel de resolución permitió determinar las dimensiones de la partícula núcleo y trazar algunos detalles de su organización, era insuficiente para decidir la estructura terciaria exacta de las histonas y localizar en el espacio todos sus aminoácidos. Con todo, el conjunto de la investigación fue decisivo para que Klug recibiera el premio Nobel de Química en 1982.

En 1991 Moudrianakis, que había conseguido aislar y cristalizar octámeros de histonas a partir de partículas núcleo, logró determinar su estructura con una resolución de 3,1 Å (86). Evidentemente, al trabajar sólo con octámeros —desprovistos por tanto de DNA—, los resultados se restringían a las histonas y, además, no a la totalidad de sus moléculas: las colas

¹⁴ Inicialmente se estimó que el número de pares de bases de DNA en la partícula núcleo era de 140. Al afinar en las determinaciones se modificó esta cifra y se aceptó un tamaño mayor, 146 pb. Más recientemente se ha concluido que el número más probable es 147.

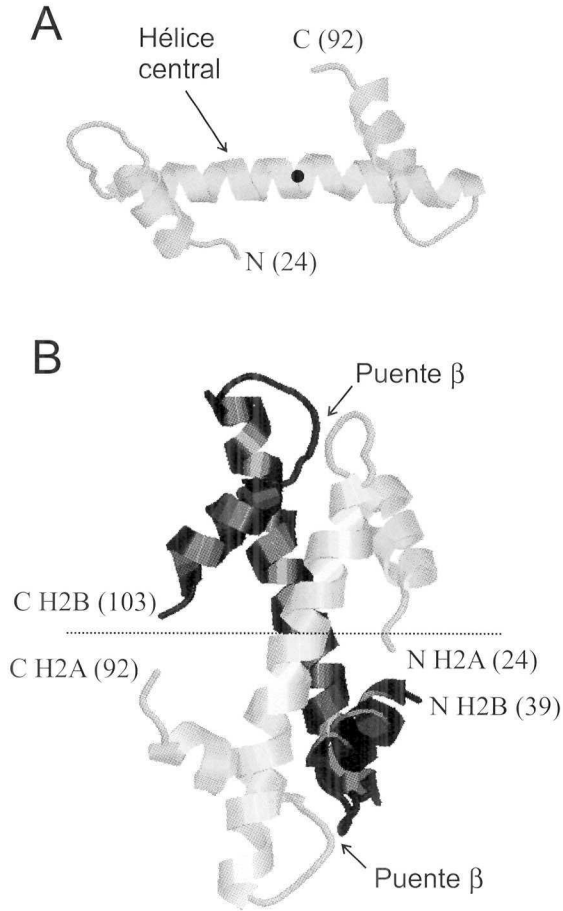


FIGURA 3. *Estructura del histone fold y del motivo del «apretón de manos»*. En la parte A se muestra un motivo *histone fold*, concretamente, el de la histona H2A. Puede verse que consta de una hélice α larga, flanqueada por otras dos hélices más cortas y que las hélices están separadas por lazos. El motivo tiene un eje pseudobinario de simetría, perpendicular al plano de la figura, que pasa por la posición señalada con un punto sobre la hélice central. Se marcan los extremos N- y C-terminales de la región representada, que no corresponden con los extremos de la proteína, sino con aminoácidos internos, cuya posición se indica entre paréntesis. En la parte B se aprecia cómo se unen dos histonas complementarias, en este caso H2A (gris) y H2B (negro), a través de sus respectivos *histone folds*, formando el motivo del «apretón de manos», por interdigitación de las hélices de ambas histonas. La unión se estabiliza además por la aparición de puentes de hidrógeno entre regiones en estructura β en los lazos inter-hélices de ambas histonas. La formación del motivo implica la aparición de un nuevo eje pseudobinario de simetría, indicado por la línea horizontal punteada. Las estructuras están dibujadas con el programa RasMol 2.6, a partir de los datos de Arents *et al.* (86), tomados del archivo 1HIO del Protein Data Bank.

N-terminales, como se había sospechado, no estaban estructuradas y, por tanto, no eran observables en la estructura cristalina. Con todo, el trabajo de Moudrianakis *rompió moldes*. En primer lugar, observó que el octámero muestra una distribución tripartita: en el centro se sitúa un tetrámero $(H3-H4)_2$, que está flanqueado por dos dímeros H2A-H2B. Pero el dato más inesperado fue que, en contra del modelo entonces vigente para la estructura de las histonas, sus regiones estructuradas —los dos tercios C-terminales de sus moléculas— no son, en propiedad, globulares. Se disponen con un motivo estructural, desconocido hasta entonces, que se denominó “*histone fold*” (Fig. 3A). Para que una histona adopte esta estructura, es preciso que, como ocurre en el octámero, interaccione con otra complementaria: H2A se puede acoplar con H2B y H3 con H4. Surge de este modo la organización del tetrámero $(H3-H4)_2$ o de los dímeros H2A-H2B por interdigitación de las hélices de cada *histone fold*, dando lugar a otro motivo estructural, que Moudrianakis, de una manera sumamente gráfica, denominó *apretón de manos* (Fig. 3B). Antes se comentaba que, muchas veces, en la denominación de un fenómeno o de cualquier otra realidad científica, los investigadores han elegido nombres que hacen entrar por los ojos lo que quieren significar, en ocasiones con metáforas de gran belleza, y aquí tenemos un buen ejemplo de ello.

Y la investigación sobre la estructura de los octámeros puede invocarse también para ejemplificar una de las actitudes que constituyen, como se ha comentado antes, un excelente aliado del investigador, a saber, la imaginación creadora. Moudrianakis se encontraba ante unas imágenes que mostraban la estructura de las histonas en el octámero con una precisión nunca vista hasta entonces. Plantearse la pregunta: ¿por dónde pasa el DNA?, parecía algo obligado. Pero el DNA no estaba presente en la muestra objeto de la investigación. Un investigador mediocre habría encontrado en esa circunstancia la disculpa para no aventurar ninguna solución. Pero Moudrianakis captó un detalle fundamental: en la superficie del octámero existe una especie de rampa helicoidal, que la recorre con unas dimensiones acordes con las predichas por las observaciones de la partícula núcleo a baja resolución. Más aún, la disposición de aminoácidos básicos en esa rampa parece una impronta de los fosfatos de las dos cadenas de una doble hélice, algo así como un negativo fotográfico en el que se aprecian las cargas de signo contrario a las que hay en el DNA. Moudrianakis se atrevió a predecir su recorrido; mejor, se puede decir que *intuyó* su recorrido, ya que la disposición de las cargas positivas de los aminoácidos básicos está *pidiendo a gritos* que el DNA se disponga de una manera concreta (Fig. 4).

La figura 4 es de una gran belleza intrínseca, no sólo por razones de índole estética, sino porque muestra una sorprendente y maravillosa organización, una organización que puede admirarse, ante la que vale la pena asombrarse, en consonancia con lo que se ha comentado antes. La admiración da paso a comprender el porqué de la conservatividad de las histonas. Parece claro que está en función de su papel estructural, que no es otro que el de servir de base a la estructura del nucleosoma. Para ello, se requiere por, una parte, que las propiedades de los aminoácidos que forman el *histone fold* permitan la adquisición de ese *apretón de manos* al que antes se aludía. Y, por otra, es preciso que los residuos básicos queden dispuestos en la superficie del octámero en los sitios concretos por donde *van a pasar* los fosfatos del DNA cuando éste se ensamble sobre las histonas. Pero, en

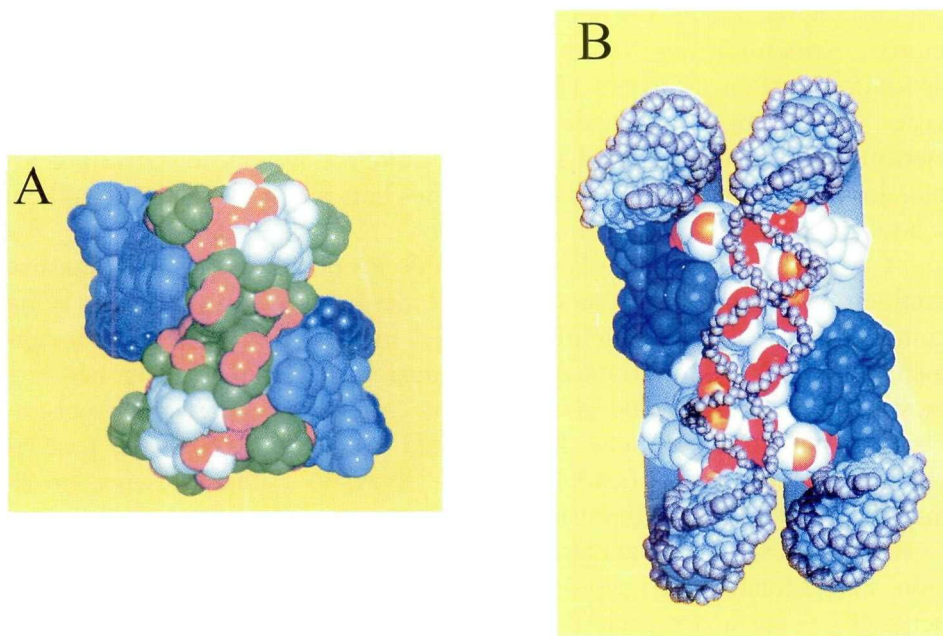


FIGURA 4. *Estructura del octámero de histonas con resolución de 3,1 Å.* En A se representa un octámero visto desde el eje binario. El tetrámero de H3 (verde) y H4 (blanco) ocupa una posición central y está flanqueado por los dos dímeros de H2A y H2B. Se representan en rojo los aminoácidos del tetrámero que poseen carga positiva en su cadena lateral. En B se propone un posible recorrido para el DNA, en cuya parte central se han representado sólo los trayectos de los esqueletos fosfodiéster, para poder ver su coincidencia con los aminoácidos básicos. Los dímeros siguen apareciendo en azul, pero las dos histonas del tetrámero se representan en blanco. La figura, construida a partir de los datos de Arents *et al.* (86), es un obsequio del Prof. Evangelos Moudrianakis.

cierto modo, la hipótesis de Moudrianakis era un tanto arriesgada, ya que implicaba que las zonas estructuradas de las histonas poseían información suficiente para organizar el DNA alrededor del octámero y que, por tanto, las colas N-terminales no eran para esa función tan importantes como se venía implícitamente suponiendo.

En 1997, el grupo de Richmond consiguió el objetivo esperado durante tanto tiempo: describir la estructura de la partícula núcleo por difracción de rayos X con una resolución a nivel atómico (87). Para lograrlo resultaron decisivos varios factores. En primer lugar, los nucleosomas utilizados para la cristalización no eran naturales, sino reconstituidos *in vitro*. Hay que advertir que los nucleosomas reconstituidos no difieren estructuralmente de los naturales, ya que la precisa organización del octámero obliga a las histonas, si se mezclan en condiciones adecuadas, a adoptar espontáneamente la estructura correcta. Por supuesto, al añadir el DNA éste se adapta a la trayectoria marcada por los aminoácidos básicos de la superficie del octámero. En los experimentos de Richmond, las histonas empleadas en la reconstitución eran recombinantes, sintetizadas en procariontes, con lo que se evitaba la heterogeneidad que muestran las histonas en los nucleosomas naturales. El DNA era también artificial, con una secuencia que se adapta especialmente bien a la estructura de la superhélice propia del nucleosoma. Finalmente, el grupo de Richmond utilizó rayos X generados por un sincrotrón en vez de una fuente convencional. La mayor energía de esta radiación X permitió obtener los datos suficientes para llegar a una resolución de 2.7 Å. Algo más tarde, los mismos autores refinaron las imágenes, llegando a una resolución de 2,0 Å (88).

La organización de las histonas en la partícula núcleo coincide con la presente en el octámero aislado (Fig. 5), pero sería injusto no destacar que los resultados obtenidos con la partícula núcleo añaden datos valiosos. La presencia de DNA permite que queden más residuos de las histonas en posiciones fijas que en el octámero aislado. Con ello, se llegó a localizar más del 80% de los átomos de las histonas. Las colas N-terminales sólo se pueden observar parcialmente. No obstante, en algunos casos se puede ver que se proyectan hacia fuera, a través de los surcos del DNA, pero no interaccionan apenas con éste y siguen hoy día planteándose numerosos interrogantes sobre su ordenación estructural en la cromatina. Algo se ha progresado en el estudio de la disposición de estas colas por medio de diversas aproximaciones experimentales físicas o enzimáticas, como el estudio de la accesibilidad de los residuos de glutamina presentes en las histonas a la reacción de la transglutaminasa (89). Una conclusión importante del trabajo del grupo de Richmond en relación con la disposición

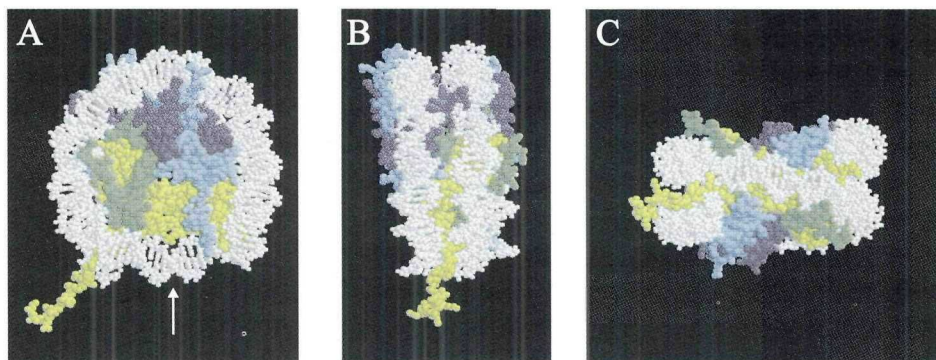


FIGURA 5. *Estructura de la partícula núcleo con resolución de 2,8 Å.* Se observan tres vistas de la partícula núcleo. En A, el eje de la superhélice del DNA es perpendicular al plano y el eje pseudobinario de simetría, cuya entrada se señala con una flecha, está contenido en él. La vista B está girada 90° a la derecha alrededor de este último eje. En C, la partícula núcleo se ve desde el eje pseudobinario, en la dirección de la flecha del panel A. El DNA se representa en blanco, la histona H2A en azul claro, H2B en azul oscuro, H3 en amarillo y H4 en verde. Las estructuras están dibujadas con el programa RasMol 2.6, a partir de los datos de Luger *et al.* (87), tomados del archivo 1AOI del Protein Data Bank.

de las colas de las histonas es que las de H4 interaccionan electrostáticamente con la superficie de la partícula núcleo vecina en el cristal. Está por ver si esa interacción tiene un significado estructural en la organización de los nucleosomas en la fibra de cromatina, aunque parece claro que, de una forma u otra, las colas de las histonas internas son esenciales para la estructura de la fibra de 30 nm, el primer nivel superestructural de la cromatina (90).

El recorrido del DNA alrededor del octámero de histonas quedó inicialmente esclarecido tras el trabajo del grupo de Richmond (87). Como se sospechaba desde que se obtuvieron los primeros datos a resoluciones más bajas, la superhélice no es regular. Por otro lado, una consideración detallada de la falta de simetría del DNA, que inicialmente se presentaba como algo enigmático (87), ha dado lugar a la conclusión de que son 147 pares de bases, en vez de los 146 que se venían suponiendo, los que se organizan en torno al octámero de histonas (88). Muy recientemente se ha determinado, con una resolución de 1,9 Å, la estructura de una partícula núcleo reconstituida con 147 pares de bases de DNA, y los resultados han mostrado una organización del recorrido del DNA en torno al octámero de histonas, que no tiene precedentes ni en polinucleótidos desnudos ni en complejos de DNA con otras proteínas (91).

Hemos terminado de hacer un recorrido por la estructura de la partícula núcleo que, como se ha podido comprobar, se conoce actualmente con bastante precisión. Pero, a medida que se van subiendo escalones en una escala de complejidad, nuestro conocimiento se va difuminando. Por ejemplo, para completar el nucleosoma, hay que añadir a la partícula núcleo el DNA espaciador y una molécula de la histona H1 o de H5, su homóloga en eritrocitos nucleados. En realidad, cabe hablar de una partícula intermedia, también muy conservada, que se denomina cromatosoma. Un cromatosoma sólo se diferencia de la partícula núcleo en que contiene, además, 20 pares de bases adicionales de DNA espaciador y la molécula de H1/H5. Pues bien, aún no se sabe con certeza cuál es la localización de esta histona y, aunque desde hace unos años hay dos propuestas alternativas, no hay datos concluyentes para inclinarse por una u otra (92, 93).

Más interrogantes se plantean para comprender, a nivel molecular, las estructuras de orden superior de la cromatina. Desde la década de 1970 se sabe que el filamento de nucleosomas se pliega para formar una fibra de unos 30 nm de diámetro, claramente observable con el microscopio electrónico, y que ésta, a su vez, debe empaquetarse mucho más para llegar al nivel de compactación que se da en un cromosoma metafásico. Hay una razón patente que justifica la necesidad de esa compactación y es que los 6 pg de DNA de una célula somática humana, que tienen una longitud cercana a 2 m, se disponen dentro de un núcleo cuyo diámetro no suele sobrepasar los 10 μm , y el empaquetamiento debe ser aún mayor para acomodar todo ese DNA en los compactos cromosomas metafásicos. Pues bien, la organización de una partícula núcleo permite que la longitud de sus 147 pb de DNA, que si estuvieran desnudos sería de 50 nm, se reduzca a sólo 6 nm. Es preciso, pues, que existan unos niveles de empaquetamiento muy superiores al del filamento de nucleosomas. En la actualidad, más que hablar de compactación lineal se prefiere contemplar el problema bajo el prisma de la concentración de DNA requerida en el núcleo o en los cromosomas metafásicos (94). Aunque esta vía de acceso presente claras ventajas, de las que se hará uso más adelante, en el momento actual basta con la consideración de la compactación lineal para comprender la necesidad de esos niveles superiores de organización de la cromatina.

En cualquier caso, la arquitectura molecular de la cromatina compacta sigue presentando numerosas incógnitas y ni siquiera la organización de la fibra de 30 nm está libre de interrogantes. Se han propuesto varios modelos estructurales para ella. El primero que se postuló fue el del solenoide (95), en el que los nucleosomas adquieren una disposición regular helicoidal, de modo que el DNA espaciador continúa la superhélice que existe en torno

a la partícula núcleo. Desde su formulación inicial, el modelo solenoidal ha experimentado varias modificaciones (96), pero se ha mantenido esa característica esencial que se acaba de mencionar. Por otro lado, se encuentran los modelos de *zigzag*, en los que los nucleosomas se disponen también en una organización helicoidal, pero los espaciadores cruzan alternativamente de un lado a otro de la fibra (97, 98). Se han propuesto también modelos irregulares, en los que el diámetro de la fibra —aunque se mantenga en torno a los 30 nm— no es constante (99).

Pero, recientemente, Daban (94) ha hecho unas interesantes observaciones. La concentración real de DNA en un núcleo eucariótico oscila entre 0,12 y 0,20 g/ml y la que se puede lograr con los modelos anteriores para la fibra de 30 nm es más pequeña. En un solenoide sería del orden de 0,15 g/ml, mientras que en los modelos en *zigzag* podría variar entre 0,04 y 0,20 g/ml, dependiendo de la longitud del DNA espaciador. El límite máximo sólo se alcanza si esa longitud es muy corta (98), por lo que se puede concluir que los modelos habituales son insuficientes para explicar la compactación real del DNA. Por ese motivo, este autor ha propuesto un nuevo modelo, el solenoide interdigitado (100), que permite una organización más compacta, en la que la densidad de DNA puede llegar a 0,27 g/ml (94). En este modelo, el contacto entre nucleosomas también se produce a través de sus caras planas.

Pero, sea cual fuere la estructura de la fibra de 30 nm y la de los órdenes superiores de compactación, está claro que la organización estructural de la cromatina, si bien resuelve el problema del empaquetamiento del DNA eucariótico, supone una traba para la funcionalidad nuclear. El DNA tiene que estar accesible para el desarrollo de múltiples procesos. Procesos que abarcan desde su propia reparación —de la que, en general, se puede decir que depende la propia vida de la célula y aún del organismo— hasta la replicación previa a la división celular, pasando por otras actividades no menos vitales: la transcripción —la función por excelencia del material genético—, la recombinación —de especial trascendencia en la meiosis y, por tanto, en la transmisión de caracteres en la reproducción sexual—, etc. Todos esos procesos requieren que la correspondiente maquinaria enzimática acceda a las regiones adecuadas del DNA, y la presencia de nucleosomas —y no digamos de las estructuras de orden superior de la cromatina— lo dificulta seriamente. Por sólo incidir en el caso de la transcripción, las RNA polimerasas eucarióticas no pueden acceder a las secuencias de iniciación si éstas se encuentran ocupadas por nucleosomas. Esta afirmación se puede documentar gracias a que la estructura tridimensional de la polimerasa II de levadura se ha descrito en 2001 con una

resolución de 2,8 Å (101). Esta enzima es una proteína compleja, formada por 10 subunidades, en la que el DNA que se emplea como molde para la transcripción se acomoda sobre una región cuya forma recuerda la de una silla de montar (Fig. 6). Las dimensiones de esa región son tales que el DNA encaja perfectamente para que se forme el complejo de preiniciación, como etapa previa a la transcripción. Evidentemente, la simple presencia de un nucleosoma asociado al DNA impediría la formación del complejo (Fig. 6), máxime si se tiene en cuenta que, para su correcto ensamblamiento, se precisa la concurrencia de una numerosa cohorte de

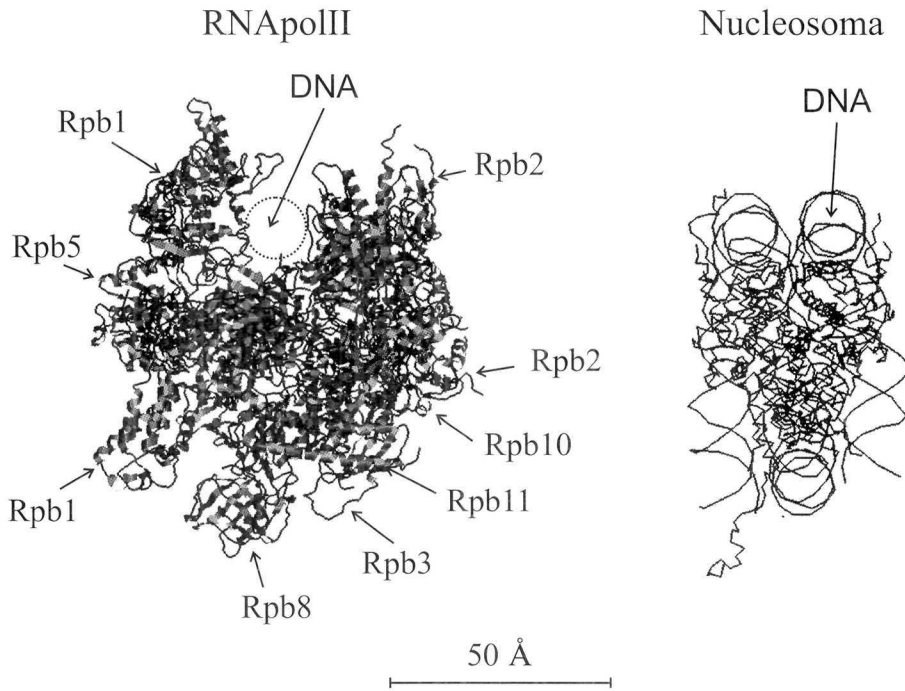


FIGURA 6. Estructura de la RNA polimerasa II de levadura comparada con la de un nucleosoma. Se representa la estructura de la enzima de *S. cerevisiae*, obtenida por difracción de rayos X con resolución de 2,8 Å por Cramer *et al.* (101). Se indica la posición que ocupan las subunidades visibles en esta proyección. Para formar el complejo de preiniciación, el DNA se aloja, con el eje de la doble hélice perpendicular al plano de la figura, en la cavidad indicada, en la que se ha representado una circunferencia de puntos con el diámetro de la estructura B del DNA. A la misma escala está representada una partícula núcleo (en la misma proyección que en la figura 5B), para comprender que es imposible ensamblar el complejo de preiniciación sobre un nucleosoma. La estructura de la polimerasa está dibujada con el programa RasMol 2.6, a partir de los datos de Cramer *et al.* (101) tomados del archivo 1I50 del Protein Data Bank.

factores transcripcionales. Entre otras razones, ésta es la causa de un hecho constatado ya en 1987: en un nucleosoma no se puede iniciar la transcripción (102). Y aún se puede decir más; aunque se llegara a formar el complejo de preiniciación, hay que tener en cuenta que, para sintetizar el RNA, la enzima debe recorrer el DNA separando sus dos hebras para copiar la cadena molde, una operación imposible si la doble hélice está enrollada en torno al octámero de histonas.

Es, pues, innegable que la estructura de la cromatina supone un obstáculo a la transcripción, y lo mismo se podría decir a propósito de cualquier otro de los procesos nucleares. Hasta hace poco más de diez años, casi siempre que se hablaba de la estructura de la cromatina se acentuaban precisamente las dificultades que impone para la actividad nuclear. Esa actitud, más atenta a los impedimentos que a su solución, justifica que se avanzara poco en el conocimiento de las causas que hacían posible la transcripción, o si se quiere, para usar una terminología muy al uso en el último cuarto del siglo pasado, del estudio de la *cromatina activa*. Parece como si los investigadores hubieran dejado de lado ese principio de no separar la estructura de la función, incontestable norte que orienta la investigación bioquímica. En definitiva, ahí pueden encontrarse las causas del estancamiento en la producción científica sobre cromatina, que se observó después de que el nucleosoma y sus características fundamentales se hubieran descubierto (Fig. 7).

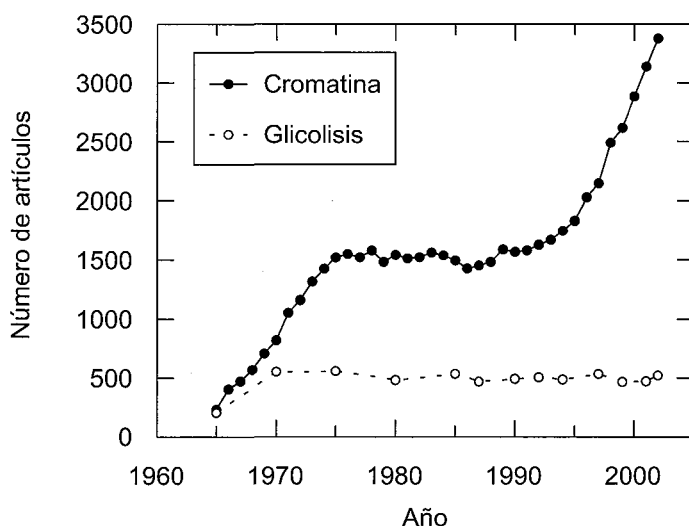


FIGURA 7. *Evolución temporal de las publicaciones sobre cromatina.* El número de publicaciones se ha calculado a partir de la base de datos PubMed del *National Center for Biotechnology Information*. Como control se presenta la variación anal en el número de publicaciones sobre un tema clásico de la Bioquímica: la glicolisis.

Una nueva revolución en el estudio de la regulación génica

El establecimiento del modelo del operón, que se ha comentado anteriormente, supuso la primera gran revolución en el estudio de la regulación de la expresión génica. En cierto modo, se puede decir que marcó la mayoría de edad de la investigación en ese campo. Pero de la investigación, se puede decir lo mismo que de las personas: la llegada a la mayoría no es más que el inicio de una nueva edad en la que se ha de seguir avanzando hacia la madurez. Cabalmente eso ocurrió en el tema que nos ocupa. La mayoría de edad había llegado de la mano de los procariotas y se preveía que la madurez sólo se alcanzaría cuando se consiguieran definir, con un grado semejante de precisión, los procesos que determinan la regulación génica en eucariotas. Las etapas iniciales, si bien estuvieron cuajadas de fruto en el terreno estructural, fueron un tanto decepcionantes en cuanto a su capacidad para dar una visión global de la regulación de la transcripción. Como apuntaba van Holde en el prólogo de su conocido libro sobre cromatina, que se publicó en 1989,

«Sería ingenuo suponer que el ritmo de la investigación en cromatina ha llegado a un punto final, o que no puedan aparecer pronto nuevos descubrimientos sorprendentes. Pero, sin embargo, sí que parece que hemos llegado a un momento en el que el panorama de la *estructura* de la cromatina, al menos en sus aspectos más elementales, se ha clarificado hasta un punto en el que es posible tener una visión coherente. Desgraciadamente, no puede decirse lo mismo acerca de la *función* de la cromatina, y en particular en lo que se refiere a los problemas de la transcripción. Aquí, parece que la situación está al borde de un importante acontecimiento, y me temo que mucho de lo que he escrito pronto se quedará anticuado» (82).

El pronóstico de van Holde se cumplió. Dos o tres años más tarde comenzó a remontar la producción en el campo de la cromatina (Fig. 7), gracias a un cambio de mentalidad. Las histonas dejaron de contemplarse como simples proteínas estructurales que, al organizar el DNA en nucleosomas, dificultaban su función y se fue, poco a poco, reconociendo que tenían un papel activo, dinámico.

Sería injusto pensar que hasta entonces no se había avanzado nada en el problema de la funcionalidad de la cromatina. Durante la década de 1980 se había comprobado que, en muchos casos, se encuentran nucleos-

somas posicionados —es decir, en localizaciones fijas con respecto a la secuencia del DNA— en regiones críticas para la expresión génica como, por ejemplo, la caja TATA u otros elementos del promotor. Los estudios llevados a cabo con la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, por su fácil manejo, la posibilidad de conectar y desconectar la expresión de muchos de sus genes y la amplia disponibilidad de mutantes, fueron decisivos (103). Las primeras investigaciones mostraron que la sensibilidad a la DNasa I de la cromatina aumenta considerablemente con la activación en genes de levadura que habitualmente permanecen reprimidos (104, 105), un hecho fácilmente explicable por la reorganización estructural asociada a la expresión. Pero quizá fueron los estudios relacionados con la variación del posicionamiento nucleosomal asociada a la transcripción los que mejor pusieron de manifiesto la potencialidad de la levadura como sistema modelo (106, 107). Incluso, la investigación con levadura permitió profundizar en las causas moleculares del posicionamiento nucleosomal (108, 109) y, en un caso, identificar un nuevo gen a partir de los cambios estructurales de la cromatina (110).

En otros organismos el progreso fue más lento, pero, de todas formas, un resultado constante fue que, en los genes en los que uno o varios nucleosomas cerraban el acceso a los factores necesarios para iniciar la transcripción, la activación del gen iba indefectiblemente acompañada de una redistribución de los nucleosomas, una *remodelación* de la estructura de la cromatina, como comenzó a denominarse este cambio estructural. Con estos estudios se iba preparando el terreno para uno de los aspectos de ese salto cualitativo que tuvo lugar en la investigación en los años 90.

Pero ese salto estuvo preparado también por otra línea de investigación, que si bien comenzó con mayor modestia, acabó siendo el verdadero motor del cambio. En 1964 Allfrey había descubierto que las histonas pueden modificarse reversiblemente por acetilación, una reacción que afecta a algunas cadenas laterales de lisina (111). En esa primera aparición en escena de la acetilación de histonas, sus descubridores postularon ya que el proceso podría facilitar la transcripción. La sospecha, que se mantuvo viva sin pruebas directas durante mucho tiempo, se basaba en una idea errónea. Como más adelante se verá con más detenimiento, las lisinas acetilables se encuentran invariablemente en las colas N-terminales de las histonas, que, por su elevado contenido de aminoácidos básicos, se presumía eran los puntos fundamentales de unión al DNA. Hoy sabemos que esto no es así, pero antes de que Moudrianakis obtuviera los resultados que se han mencionado, era totalmente razonable pensar que una modificación que disminuía la carga positiva de las colas de las histonas debería desestabilizar el

nucleosoma y, por tanto, aliviar los impedimentos que supone para la transcripción.

El estado de acetilación de las histonas de un nucleosoma depende de la actividad relativa de dos tipos de enzimas opuestas: las histona acetiltransferasas (HATs) y las histona desacetilasas (HDACs). Las primeras catalizan la conversión de los grupos ϵ -amino de algunas lisinas en acetamidas, por su reacción con acetil-coenzima A. Las segundas hacen posible el restablecimiento de la amina primaria original mediante la eliminación hidrolítica de acetato. Pronto se comprobó que había HATs citoplasmáticas además de las nucleares, lo que permitió clasificar estas enzimas en dos grupos. Las nucleares se comenzaron a designar como enzimas tipo A, mientras que las citoplasmáticas se denominaron HATs-B (112). Si inicialmente resultó sorprendente la existencia de éstas últimas, dada la localización nuclear de las histonas, se entrevió una solución al problema cuando se postuló que esas enzimas citoplasmáticas se encargarían de la acetilación de las histonas recién sintetizadas, como paso previo a su transporte al núcleo y posterior ensamblamiento en la cromatina (113, 114). Las investigaciones subsiguientes no han hecho sino confirmar fehacientemente esta función de las HATs-B. Naturalmente, el papel de acetilar las histonas en relación con la activación génica —ese papel ya sospechado por los descubridores de esta modificación covalente, pero de demostración huidiza— se adjudicó con toda lógica a las HAT-A.

En 1988, un investigador austriaco, Peter Loidl, llamó la atención sobre un hecho conocido, pero que acertó a contemplar desde una nueva perspectiva: la acetilación de histonas está relacionada con multitud de procesos biológicos. Se han mencionado el ensamblamiento de la cromatina y la activación transcripcional, pero también se observan cambios en la acetilación de histonas asociados a la replicación, antes de la sustitución de histonas por protaminas en la espermatogénesis, antes de reemplazar unas variantes de histonas por otras, etc. Cuando Loidl planteó su hipótesis no era aún posible establecer un nexo causal entre la acetilación de histonas y esos procesos, pero se constataba, al menos, una relación de precedencia temporal, que inducía a pensar que esa modificación de histonas podía desempeñar un papel fundamental en esos fenómenos. A la vista de esta multiplicidad de papeles atribuidos a la acetilación de histonas, el razonamiento de Loidl discurrió poco más o menos del siguiente modo: en un nucleosoma, distribuidos entre las ocho moléculas de histonas internas, hay 28 residuos de lisina potencialmente acetilables. Si se distingue de alguna manera entre la acetilación de un determinado residuo de lisina de una histona y otro de la misma o de diferente molécula, es obvio

que el número de posibilidades resultantes es enorme. Entonces, una determinada combinación de acetilaciones puede servir de señal para la realización de un proceso, mientras que otra combinación serviría para indicar que se ha de realizar otro. La hipótesis era atractiva. La acetilación, además de su presunta función como desestabilizadora de las interacciones iónicas entre las histonas y el DNA podría servir, con palabras del propio Loidl, como:

«una señal precisa para la inducción o mantenimiento de ciertos rasgos estructurales de la cromatina, aunque el mecanismo molecular por el que actúa la acetilación aún se desconozca» (115).

Naturalmente, la hipótesis de la señalización no implicaba que todas las posibles combinaciones de acetilación en un nucleosoma tuvieran un sentido funcional, pero, al exigir que algunas de ellas lo tuvieran, tenía una consecuencia inmediata: requería que la acetilación de histonas ocurriera con especificidad. Especificidad de histona, pero también especificidad de sitio. Teniendo en cuenta que, por ejemplo, la histona H4 puede acetilarse en cuatro residuos de lisina distintos, 5, 8, 12 y 16, no basta con acetilar uno o dos cualesquiera de ellos, si el significado funcional de la señal introducida puede ser muy diferente en función de los residuos concretos acetilados. Dicho de otra manera, la hipótesis de la señalización exigía que las enzimas responsables de mantener un determinado estado de acetilación, las HATs y las HDACs, presentaran especificidad de histona y de sitio. Y si había múltiples funciones para la acetilación de histonas, debían existir múltiples enzimas.

Las consideraciones anteriores justifican que se estableciera una carrera entre varios laboratorios para examinar esa cuestión. El nuestro fue el primero en demostrar la existencia de múltiples enzimas tipo A, con diferente especificidad de histona, en la levadura *Saccharomyces cerevisiae* (116, 117). La publicación de los resultados fue seguida pronto por la constatación de la presencia de varias actividades HAT en vegetales (118, 119) y en otros organismos. En paralelo, se desarrolló el estudio sobre las HDACs, cuya multiplicidad, que se demostró por vez primera en plantas, va también acompañada por una moderada especificidad de histona (120). Pero, como implícitamente contenía la hipótesis de Loidl, las enzimas que catalizan los procesos de acetilación y desacetilación, además de poseer especificidad de histona, presentan especificidad de sitio. Este extremo se demostró por primera vez por el grupo de Allis, trabajando con el protozoo

Tetrahymena thermophila. Las peculiaridades de este ciliado —en las que no es preciso incidir ahora— permitieron concluir que su HAT-B sólo acetila dos residuos de lisina en la histona H4 (121). Ésa es una propiedad de las HATs del tipo B, que son específicas de las lisinas 5 y 12 de H4 en todos los organismos (122)¹⁵, con excepción de las plantas, en las que también aceptan como sustrato la lisina 16 (123).

Sirvan los anteriores comentarios a modo de justificación de la advertencia que se ha hecho páginas más arriba acerca de cuál fue el verdadero motor del cambio de ritmo que experimentó la investigación sobre cromatina a mediados de los años 90, que se aprecia perfectamente en la figura 7. El convencimiento de que existían múltiples actividades HAT y HDAC, así como la creciente sospecha de la importancia de los procesos catalizados por dichas enzimas fue el detonante de otra frenética carrera en busca de un objetivo concreto: la clonación de los genes que codifican las HATs y las HDACs. Se presentía que de la caracterización de esos genes se iba a derivar un notable incremento en la comprensión, no sólo de las funciones de la acetilación de histonas, sino de todo el intrincado entramado de las relaciones estructura-función en el material genético eucariótico. Los resultados, una vez más, superaron con creces las expectativas. Tras numerosos avatares que sería demasiado prolijo detallar, el grupo de Allis consiguió la clonación del primer gen de una HAT tipo A en 1996 (124). Este destacado hecho había ido precedido por la identificación, por medio de métodos genéticos y bioquímicos, de Hat1p, la subunidad catalítica de la HAT-B de levadura (125, 126). Pero la innegable trascendencia funcional de las enzimas nucleares hizo que la atención de los científicos se centrara especialmente en el descubrimiento del grupo de Allis. Gracias a una original metodología, consiguieron clonar el gen de p55, una HAT nuclear de *Tetrahymena thermophila*; pero el verdadero interés del resultado se apreció cuando comprobaron la homología de esa proteína con Gcn5p, un conocido coactivador de levadura que actúa en la transcripción (124).

El mismo año en que se clonó el primer gen de una HAT-A, en el laboratorio de Schreiber se consiguió también la clonación del primer gen de una HDAC (127). En este caso, se trató de una enzima de mamíferos, pero también se comprobó que presentaba homología con una proteína de levadura, concretamente, el represor Rpd3p. De esta manera, los trabajos

¹⁵ Los dos residuos acetilados en *Tetrahymena* son el 4 y el 11, pero esto no es una excepción a la regla anterior, ya que la histona H4 de este ciliado carece del primer residuo habitual en H4 (Ser) y, por tanto, sus posiciones 4 y 11 son homólogas de las 5 y 12 del resto de los organismos.

de los grupos de Allis y Schreiber consiguieron, por primera vez, establecer una conexión causal entre acetilación-desacetilación de histonas y activación-represión de la transcripción, cerrando, del modo más concluyente, una ininterrumpida serie de sospechas y pruebas indirectas. Pero mayor importancia tuvo, quizá, el hecho de que la publicación de sus resultados actuó como un catalizador, que disparó la investigación en todo el ámbito de la regulación génica en eucariotas. La segunda revolución en su estudio había comenzado.

¿Puede tener rostro humano la competitividad en la investigación?

Las líneas precedentes están llenas de sugerencias para retomar el hilo del presente discurso, que pretende, no lo olvidemos, mostrar cómo y en qué condiciones el genuino rostro de la ciencia asoma entre el complejo entramado de los avances, modestos o trascendentales, del conocimiento científico. En varias ocasiones se ha hecho referencia a la dura competencia que se estableció entre diversos laboratorios para lograr el éxito en un reto planteado por el devenir de la investigación. La carrera para conseguir la caracterización de las histonas fue un ejemplo de competencia entre los laboratorios de Johns y Butler, y también hubo competencia en la verificación de la multiplicidad de HATs y HDACs. Y la competitividad alcanzó extremos insospechados cuando se abordó la clonación de sus genes. Pero en realidad, si se mencionan aquí estos hechos concretos, es porque el trasfondo de toda esta reflexión se está centrando en un campo concreto de la investigación. En todas las áreas de la ciencia se han escrito páginas que no desmerecerían de la más apasionante novela de aventuras, en la que los protagonistas se empeñan por hacer frente a obstáculos que parecían insuperables. O bien, se puede decir que ha habido en todas ellas momentos en que el modo de transcurrir los acontecimientos se podría comparar con el más reñido campeonato deportivo. Estamos acostumbrados a ver cómo empiezan muchos atletas una competición, cómo los más van cayendo eliminados en las rondas de clasificación, cómo en la final van quedando algunos descolgados y cómo, al terminar, sólo uno se ha alzado con la victoria. Y también estamos habituados a contemplar cómo numerosos grupos de investigación se embarcan en un determinado tema, cómo algunos sólo consiguen resultados triviales o poco significativos, cómo otros muchos, aún con buenos resultados, no llegan a dar un salto cualitativo en el avance científico y cómo, al final, suele ser un grupo sólo el que consigue resolver el problema planteado o, al menos, arrojar sobre él una luz decisiva.

Pero la analogía puede ir más allá de considerar la investigación como una excitante aventura o del simple afrontarla con ánimo deportivo. También las célebres palabras del barón de Coubertin valen para quienes se aplican al *deporte* de la investigación. Hay que tener en cuenta que, ciertamente, científicos que hayan protagonizado grandes revoluciones ha habido pocos, pero que los buenos científicos, los que realizan su trabajo con honestidad, preparación, dedicación y competencia, son muy numerosos. Y que, posiblemente, sin su esfuerzo y sin sus resultados, muchas veces pequeños, no se habrían podido dar los descubrimientos definitivos. Pretender que sólo los grandes genios sean capaces de hacer ciencia equivale a firmar la partida de defunción del desarrollo científico, cuyos grandes avances suelen ir precedidos por numerosos hallazgos más modestos que, además, contribuyen a crear una atmósfera adecuada para la aparición de los genios. D. José de Echegaray, en su discurso de ingreso en esta Real Academia, pronunciado en 1866, se lamentaba de que, buscando en la historia de la matemática española «algo grande que admirar», sólo encontrara «libros de cuentas y geometrías de sastres», lo que le llevaba a concluir que si en la España de entonces no había matemáticas era porque «no tenemos un Descartes, un Newton o un Leibniz» (128). Podemos coincidir con nuestro antiguo compañero de Academia en la apreciación de que en España no haya habido tantas grandes figuras de la ciencia como en otros países, pero, aparte de que las distancias se van acortando, parece indudable que, en cualquier área —geográfica o del saber— la ausencia de genios no puede ser disculpa para tratar de desarrollar la tarea científica con la mayor hondura posible. Así se prepara el caldo de cultivo en que pueden desarrollarse las grandes cabezas.

Pero, sigamos más allá con la analogía deportiva. Poner el acento en la participación más que en la victoria es compatible con el lema olímpico: *citius, altius, fortior*. Dicho de otro modo, hacer énfasis en la importancia de la participación no significa que haya que erradicar la competencia. Antes al contrario, sin una sana competitividad seguramente no sería posible llegar más arriba o hacerlo más rápidamente. Y en la investigación científica, el deseo de profundizar en el conocimiento, y aún el de quemar etapas en ese empeño, ha de presidir el afán del investigador.

Si se admiten las premisas anteriores, se pueden establecer varias conclusiones, pero dos parecen las fundamentales. En primer lugar, que no vencer en esa competencia no significa conformarse con la mediocridad. El investigador debe tender a que su trabajo sea siempre de excelencia. Naturalmente, este aserto no significa que haya que desdeñar toda investigación que no se pueda publicar en las revistas de mayor factor de impacto.

Aparte de las limitaciones que pueda tener ese criterio para juzgar sobre el valor de un trabajo de investigación¹⁶, es obvio que no se puede pretender que el valor de un trabajo se mida exclusivamente por los resultados que produce. Algunas veces, incluso, una buena investigación no llega a ver la luz en una revista prestigiosa debido a factores imponderables y dentro de un momento se apuntará un caso célebre de este tipo. Por otro lado, es evidente que esa competencia que favorece el desarrollo y avance de la investigación debe ser respetuosa con las normas éticas: no puede significar, de ninguna manera, un deseo de triunfar a costa de no se sabe qué concesiones. Es esta última la actitud que, por mantener la analogía que se viene empleando, bien podríamos llamar *deportividad*, que se resume en el empleo exclusivo de medios lícitos, en el *saber ganar* y también, ¿por qué no?, en el *saber perder*. Excelencia y deportividad son, pues, dos de los pilares en que se debería apoyar toda investigación y es el propósito de las líneas que siguen mostrar cómo a través de esos pilares se entrevé el *rostro humano de la ciencia*.

Excelencia no significa tanto que la investigación consiga resultados sobresalientes, como que se plantee con amplitud de miras, con grandeza de ideales. Algunas veces se ha dicho que existe una investigación *horizontal* y otra *vertical* (130). La primera amplía el conocimiento en un campo ya conocido y, con frecuencia, lo hace sin emplear métodos ni planteamientos nuevos. Por eso, raras veces conduce a auténticos avances. En la investigación *vertical*, por el contrario, el investigador se aplica a un problema realmente inédito, o bien estudia un problema más clásico desde una perspectiva nueva. No cabe duda de que los datos obtenidos, si el problema era realmente importante, permitirán un avance profundo del conocimiento científico. Por supuesto, la división entre investigación *vertical* y *horizontal* admite grados intermedios. El descubrimiento del nucleosoma, por ejemplo, supuso un paso *vertical* que revolucionó el conocimiento de la estructura de la cromatina. Comprobar, en la segunda mitad de la década de 1970, que los nucleosomas estaban presentes en el material genético de todos los eucariotas, fue un importante avance, que tenía rasgos *horizontales* y *verticales*. Pero si hoy un investigador se dedicara a confirmar sistemáticamente que existen nucleosomas en todos los tejidos de un mamífero, cuya originalidad estriba sólo en que nadie lo ha hecho previamente objeto de su investigación, su trabajo sería tan *horizontal*, que probablemente sólo supondría un despilfarro de tiempo y de dinero. La excelencia en la investigación va así, en cierto modo, ligada a la *vertica-*

¹⁶ Puede consultarse, a este respecto, el artículo de Seglen (129).

lidad del avance que supone. La originalidad parece una cualidad inseparable de la buena ciencia, aunque en tiempos pretéritos no lo fuera. «En la actualidad, tan normal nos parece elogiar la originalidad del dibujo hecho por un niño, o de la disposición de un ramo de flores, como la de un invento», advierte Bronowski, para concluir audazmente que «la ciencia ha hecho nacer el amor a la originalidad como signo de independencia» (131).

Parecen estas consideraciones como un eco de aquéllas que se hacían poco más arriba, cuando se comentaba que la búsqueda de la belleza no es ajena a la producción científica. Pero, sea como sea, la excelencia requiere originalidad de ideas y, además, exige que el investigador tenga siempre, como en carne viva, el afán de superación, de una superación, que no entienda tanto de cantidad, como de calidad. Este afán de superación es indudablemente un valor humano. Se podría definir como aquél que nos lleva a perfeccionarnos en todos los aspectos, allanando los obstáculos que se presenten, venciendo las dificultades, desarrollando esa innata capacidad que todos tenemos de hacer los esfuerzos precisos para lograr las metas que nos hemos propuesto. Es evidente que esa superación no se consigue tan sólo con el devenir del tiempo, aunque la paciencia sea necesaria, así como tampoco bastaría con unos simples deseos ineficaces. Conseguir una meta ardua requiere multitud de acciones planificadas, precisa esfuerzo y trabajo continuo. En otras palabras, para que las dificultades, que siempre las hay, curtan a las personas, es indispensable el esfuerzo serio por superarlas con tenacidad y perseverancia. Teniendo todo esto en cuenta, se puede decir que, en la medida en que la competitividad favorezca el afán de superación, no sólo permitirá que la ciencia muestre un rostro humano, sino que contribuirá decididamente a crearlo. Efectivamente, estará contribuyendo a poner en práctica todas esas actitudes profundamente humanas que, como la originalidad, el esfuerzo, la perseverancia, el estudio incansable, la esperanza de alcanzar la meta propuesta, etc., se han considerado explícitamente en las líneas precedentes, o se ha pasado implícitamente sobre ellas.

Excelencia y deportividad son, se decía hace un momento, dos pilares sobre los que se debe asentar la investigación, y es el momento de considerar, siquiera sea brevemente, el segundo. La deportividad hace posible cohonestar la competitividad con la colaboración —esa sinergia a la que se ha aludido extensamente antes— de modo que, cuando dos o más grupos de investigadores colaboren lo hagan, no tanto como fruto de una alianza de compromiso, sino con el noble afán de encontrar antes y mejor la solución a un problema planteado. Ese noble gesto que muestra el de-

portista ofreciendo la mano al rival, al que entonces contempla más como a un compañero, es el mismo que hace el científico cuando ofrece o acepta la colaboración de otro.

Pero la deportividad tiene otras muchas manifestaciones y quisiera detenerme en una de ellas. Me refiero a lo que se suele llamar *juego limpio*, una expresión que surge en el terreno deportivo, y cuyo sentido se ha extendido a otros ámbitos¹⁷. El *juego limpio* es un aspecto importante de la ética de la investigación, que tiene múltiples manifestaciones: el esfuerzo denodado por vivir la veracidad, evitando, no sólo toda forma de fraude, sino también lo que se podría llamar *imprudencia científica* y los prejuicios ideológicos; la honestidad cuando se trata de juzgar la labor de otros científicos (132), etc. Quizá sea éste el momento de anotar un hecho histórico realmente paradigmático en este sentido, que entronca con el *argumento bioquímico* del presente discurso. Se comentaba antes que Woodcock, que había presentado en un congreso en 1973 sus resultados sobre la organización discontinua y repetitiva de la cromatina, tuvo graves dificultades para publicarlos y fueron Ada y Donald Olins quienes finalmente consiguieron ver su investigación recogida en una revista de prestigio, concretamente en *Science* (81). Woodcock había enviado su manuscrito más o menos al mismo tiempo que el de los Olins, pero tuvo la mala suerte de tropezar con un árbitro que recomendó el rechazo del artículo por las siguientes "razones":

«Un cromosoma eucariótico construido de unidades autoensamblantes de 70 Å, que quizá se pudieran llegar a cristalizar, precisaría volver a escribir nuestros textos básicos de citología y genética. No he leído nunca un artículo tan inocente que pretenda tener un significado tan fundamental. Definitivamente, no debería publicarse en ninguna parte»¹⁸.

Sea por incompetencia, sea por la razón que fuera, la conducta de ese árbitro anónimo supuso un grave perjuicio para Woodcock. Pero el rostro humano de la ciencia, aunque a veces aparezca eclipsado, afortunadamente no se apaga por conductas como la indicada. Aunque, eso sí, los científicos

¹⁷ Algo parecido ha ocurrido en otros idiomas; pensemos, por ejemplo, en el *fair play* inglés, que también se ha exportado desde el lenguaje deportivo a otras actividades humanas.

¹⁸ Por razones obvias, el árbitro se mantiene en el anonimato. La anécdota está recogida por Van Holde en su clásico libro sobre cromatina (82).

tenemos la grave responsabilidad de comportarnos de forma que se eviten al máximo los modos de hacer que desdigan del *juego limpio*. La recompensa por hacerlo así no sólo consiste en la creación de un ambiente más grato en las relaciones interpersonales entre los hombres de ciencia —y eso ya sería bastante—, sino que con frecuencia, la honestidad en la actuación científica redundará en beneficio directo de quien pone en juego su esfuerzo por vivirla.

Se puede mencionar, en este sentido, otro dato histórico, que también entronca con el hilo bioquímico del presente discurso. Hace un momento teníamos oportunidad de considerar la dura competencia que se estableció entre varios laboratorios en la década de 1960 para conseguir la caracterización de las histonas y cómo en esa carrera el laboratorio de Ernst Johns, en Londres, desarrolló un papel fundamental. Uno de los pasos de esa carrera fue el descubrimiento de que la histona H1 se podía obtener por extracción de la cromatina con ácido perclórico (133). El hecho resultó un tanto sorprendente, puesto que, como bien saben todos los que alguna vez han tenido la oportunidad de estudiar en el laboratorio la cinética de una reacción enzimática, la adición de ácido perclórico es un recurso habitual para detener la reacción, por su capacidad de precipitar las enzimas. Que hubiera una proteína soluble en ese medio era una circunstancia extraña, pero muy afortunada en el caso de la histona H1, ya que permitía su aislamiento rápido, con un mínimo de operaciones. No obstante, Johns advirtió que la histona preparada de esa manera no era tan pura como la obtenida por los métodos cromatográficos que se habían descrito en su propio laboratorio y en el competidor de Bonner. Johns constató con toda honradez este hecho que, evidentemente, atribuyó a la presencia de algunas otras proteínas de la cromatina, también solubles en ácido perclórico, que contaminarían la preparación de H1 (134). No es usual que en un artículo científico se añadan detalles que *tiren piedras contra el propio tejado*, y es habitual que se busque el modo de decir las cosas de manera que, sin faltar a la verdad, se soslayen esos aspectos menos convenientes. Aprendí de Ernst Johns, con quien tuve la suerte de realizar mi estancia postdoctoral, que no se ha de arrepentir uno nunca de no ocultar datos en una publicación, aunque parezca que restan valor al trabajo, y que esa actitud, que siempre produce una honda satisfacción moral, no pocas veces compensa también de otros modos. Así le ocurrió a él. Cuando más tarde se descubrieron en su propio laboratorio las proteínas cromosomales no histonas HMG y se comprobó que eran solubles en ácido perclórico, Johns pudo *apuntarse el tanto* de haber descrito su existencia diez años antes, aunque sólo fuera como una impureza que acompañaba a la histona H1 (135).

Otra consideración viene aquí como anillo al dedo y es que el descubrimiento de la peculiar solubilidad de la histona H1 fue, en cierto modo, fruto del azar. De hecho, Johns se percató de esa propiedad cuando estudiaba la transcripción de moldes de cromatina *in vitro*. Para detener la reacción, usó la clásica precipitación con ácido perclórico y le llamó la atención el que, a diferencia de las demás histonas, la H1 no se encontrara presente en el precipitado. Buscó en el sobrenadante y... ¡ahí estaba! Pero es demasiado fácil decir que ese descubrimiento fue fruto del azar y, por eso, he matizado la expresión con un *en cierto modo*. Con frecuencia se hace mención al papel del azar en los descubrimientos científicos y es cierto que muchas veces los grandes hallazgos se han producido sin buscarlos directamente. Pero un espíritu no preparado es incapaz de detectar esa sorpresa de la naturaleza. En la literatura inglesa aparece, hablando de estos temas, la palabra *serendipity*, intraducible a otros idiomas. “Serendip” era el nombre que antiguamente se daba en inglés a Ceilán, hoy Sri Lanka. Pues bien, contaba Horace Walpole, un viajero del siglo XVIII, cómo los tres príncipes de Serendip siempre estaban haciendo inventos felices, debidos a su buena suerte. *Serendipity* pasó a significar eso: un descubrimiento no buscado, que se produce sólo por buena suerte (136). No cabe duda de que en la investigación existe la buena suerte —igual que la mala; recuérdese el desgraciado encuentro de Woodcock con un árbitro incompetente—, pero cientos de investigadores pueden toparse con una observación sensacional y no sacar ningún partido de ella, unas veces *porque no es acorde con lo que se esperaba*, otras porque falta imaginación, y siempre porque el observador ha perdido la capacidad de asombro, esa indispensable capacidad a la que antes se aludía.

En un descubrimiento *por azar* es cierto que la naturaleza reserva al científico una de esas sorpresas a las que se acaba de hacer referencia. Pero eso no representa en ningún modo un descrédito para el investigador, y vale la pena insistir en que sólo un espíritu preparado sabe aprovechar esas sorpresas. Está preparado quien tiene curiosidad científica, quien no ha perdido la capacidad de asombro, quien tiene imaginación, quien tiene el suficiente conocimiento de la literatura científica que le permita conocer a fondo el estado actual de su línea de investigación. Esta es la actitud que diferencia al genio del científico mediocre y su consideración nos debe de llevar a reflexionar humildemente: ¿cuántos posibles descubrimientos en mi labor de investigación han terminado en la pila o en el cesto de los papeles? Si Johns no hubiera tenido la curiosidad de comprobar si las histonas estaban presentes en el precipitado, si no hubiera analizado el imprevisible sobrenadante, si no se hubiera asombrado ante la posibilidad

de que una proteína pudiera ser soluble en ácido perclórico, el sobrenadante de la precipitación habría terminado en la pila, Johns no habría podido publicar su artículo y, lo que es peor, la comunidad científica se habría visto privada de un método excepcional para aislar la histona H1, y quién sabe con qué retraso se habría producido el fructífero descubrimiento de las proteínas HMG.

Remodelación y modificación de la cromatina

La clonación de los genes de HATs y HDACs inició una nueva revolución en el campo de la cromatina y, en realidad, en el de la regulación genética en general. Inició también una nueva carrera, tremendamente competitiva, para conseguir aclarar la funcionalidad de esas enzimas en la multiplicidad de funciones que se les habían asignado. Las ideas contenidas en el inciso que se acaba de hacer sobre la competitividad en la investigación se pueden aplicar, pues, perfectamente al desarrollo de la investigación a partir de 1996.

En primer lugar, hay que señalar que el modo habitual en que se presentan *in vivo* estas enzimas, tanto las HATs como las HDACs, es en forma de complejos de alto peso molecular, constituídos, aparte de las propias enzimas, por otros polipéptidos cuya función exacta se desconoce en la mayoría de los casos, aunque parece claro que están implicados en la modulación de la actividad enzimática y en la interacción de los complejos con factores transcripcionales, específicos o basales (137, 138). También está claro que, de alguna manera, la presencia de las subunidades no catalíticas en los complejos condiciona la especificidad de histona, ya que no es la misma en las enzimas aisladas —por ejemplo, las proteínas recombinantes— que en el complejo completo (139).

La variedad de HATs y HDACs es muy amplia y el número de enzimas diferentes que se identifican aumenta de día en día. Las HATs se agrupan actualmente en siete familias (140), que presentan diferentes especificidades de histona e incluso de sitio (141) y las HDACs en dos, aunque dentro de cada una de ellas se han descrito varias clases (142, 143). En el caso de algunas HATs se ha llegado a ese refinamiento que supone la cristalización de la enzima y el estudio de su estructura tridimensional mediante difracción de rayos X, o bien el análisis de la estructura en disolución mediante resonancia magnética nuclear bidimensional, lo que ha permitido descubrir la organización de sus dominios reguladores y catalíticos. El conocimiento de estos últimos ha hecho posible proponer mecanismos detallados para la

reacción enzimática (144-146). En cuanto al número de complejos la situación es igualmente cambiante. En la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, que por las razones apuntadas anteriormente constituye también un buen modelo para este tipo de estudios, se han identificado cuatro complejos: ADA, SAGA, NuA3 y NuA4, aunque se sabe que existen complejos adicionales (141) que, hasta ahora, han eludido los intentos de caracterización molecular. Los dos primeros son los mejor conocidos. El complejo ADA, que se descubrió en 1997 (147) y dos años más tarde se identificó como un complejo definido (148), se denomina así por poseer entre sus componentes las proteínas Ada2p y Ada3p, que se habían caracterizado anteriormente como adaptadores transcripcionales. La actividad HAT reside en Gcn5p, que también es constituyente del complejo SAGA. El nombre de este último complejo, cuya caracterización inicial también se produjo en 1997 (147), corresponde a un acrónimo que hace referencia a algunos de sus componentes más destacados: proteínas Spt, Ada, y Gcn5 como acetiltransferasa. Las proteínas Spt se habían caracterizado también anteriormente en levadura y están implicadas en la interacción con TBP (TATA-binding protein). Por otro lado, SAGA contiene también una serie de proteínas del grupo TAF_{II} (TATA-associated-factors), lo que implica que el complejo puede interactuar directamente con el complejo de preiniciación de la transcripción. La organización probable del complejo SAGA, a modo de ejemplo, se presenta en la figura 8.

Tanto ADA como SAGA son capaces de acetilar H3 en nucleosomas y, en menor medida, H2B. Los complejos NuA3 y NuA4, cuya arquitectura molecular se conoce más imperfectamente, son específicos de las histonas H3 y H4, respectivamente, en nucleosomas (141) y de este hecho deriva su nombre. La subunidad catalítica de NuA3 es Sas3p (149), mientras que Esa1p es la de NuA4 (150).

La organización de las HAT en forma de complejos es un rasgo común en todos los eucariotas. Además de la levadura, las células humanas y de *Drosophila* han constituido también materiales biológicos en los que se han estudiado razonablemente bien estos complejos. Por ejemplo, los complejos humanos PCAF/GCN5 son homólogos del SAGA de levadura. Contienen más de 20 subunidades, entre las que, además de la acetiltransferasa (PCAF o hGCN5, homólogas ambas de Gcn5p) hay otras proteínas homólogas de Ada, Spt y Taf (151). Es importante advertir que los métodos desarrollados por la moderna proteómica están siendo de inestimable ayuda a la hora de identificar los componentes de estos y otros complejos.

Aunque la investigación en ellos ha ido un poco más rezagada, los complejos HDAC se conocen también con cierta precisión. Entre los que

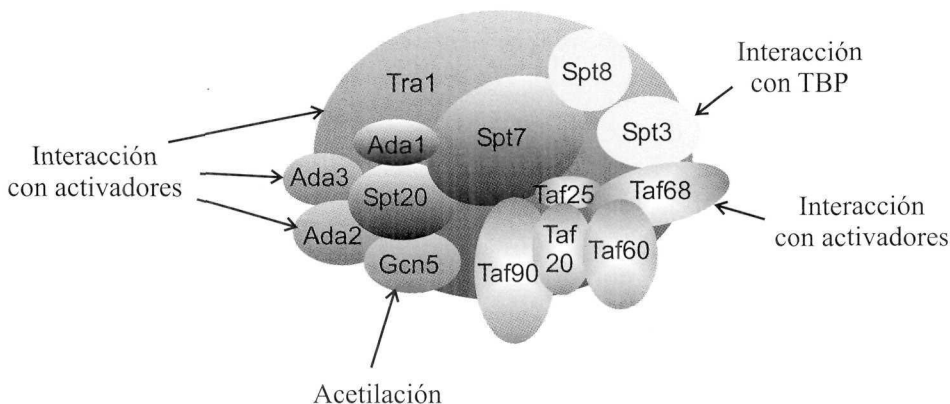


FIGURA 8. *Representación esquemática de la estructura del complejo SAGA de levadura.* En el esquema se indican las subunidades que componen el complejo, así como la función de algunas de ellas. La figura no pretende dar una imagen de la localización exacta de las subunidades, que no se conoce.

contienen desacetilasas de la clase I se encuentran Sin3, CoREST y Mi-2, cuyo nombre deriva del componente más característico de los complejos, un correpresor en los dos primeros casos y una ATPasa, cuya función se comentará más tarde, en el tercero. En los tres casos, hay dos subunidades catalíticas, HDAC1 y HDAC2. Estos complejos están muy conservados y se encuentran, con mayores o menores variaciones, desde la levadura hasta el hombre. Por ejemplo, hay algunos complejos propios de mamíferos, que se pueden encuadrar dentro del tipo Sin3. En efecto contienen, además de las correspondientes desacetilasas, mSin3A, homóloga a Sin3p de *Saccharomyces*, y un correpresor peculiar, cuya función se centra en la transcripción de genes regulados por receptores hormonales nucleares. Tras la unión de la hormona, un cambio conformacional libera el correpresor, lo que permite el reclutamiento de complejos HAT, de modo que el receptor nuclear se convierte en un potente activador (152). Las desacetilasas de la clase II también se encuentran en organizaciones supramoleculares y, aunque su caracterización no ha progresado tanto, se han identificado complejos que contienen HDAC4 y HDAC5 (153) y hay indicios de la participación de HDAC7 (154, 155) en estructuras supramoleculares.

También los complejos HDAC presentan especificidad de histona y aún de sitio, aunque este extremo es más difícil de estudiar que en el caso de las HATs. Se ha abordado mediante el uso de anticuerpos específicos de histonas acetiladas en lisinas concretas (156), por espectrometría de masas (157) o por una combinación de técnicas cromatográficas y de se-

cuenciación (158). Todos estos procedimientos presentan inconvenientes, que pueden solventarse, al menos en parte, por un método basado en el empleo de péptidos acetilados inmovilizados en membrana como sustrato de los complejos de desacetilasa (159).

La investigación realizada tras la clonación de sus genes y la caracterización de HATs y HDACs ha demostrado de modo fehaciente que la acetilación de histonas está funcionalmente relacionada con la actividad transcripcional. Pero, al contrario de lo que se supuso inicialmente, esta modificación de las histonas no introduce cambios importantes en la estructura del nucleosoma (160) y, a este nivel, parece afectar exclusivamente a la adquisición de un cierto grado de estructura secundaria en las colas N-terminales de las histonas (161). Pero se acepta actualmente, como plenamente comprobado, que la acetilación global de las histonas es incompatible con la adquisición de superestructura de la cromatina (162, 163). El conocimiento de la localización de las colas de histonas en el nucleosoma, especialmente en el caso de H4 que interacciona con uno de los dímeros H2A-H2B de un nucleosoma adyacente (87), ha proporcionado una posible explicación del mecanismo por el que la cromatina, al sufrir una acetilación global, pasa de una estructura compacta a la más abierta del filamento de nucleosomas.

Pero, si bien esta transición estructural es un requisito previo necesario, no es suficiente para que se dé la transcripción. Recientemente hemos descrito una situación ilustrativa en este sentido: el tratamiento con metil-tioadenosina, que inhibe la expresión del gen *MAT2A* inducida en un cultivo primario de hepatocitos por el factor de crecimiento de hepatocitos, conduce a la hiperacetilación de H4 en el promotor de dicho gen (164). La explicación parece obvia: si bien la acetilación general de la cromatina da lugar a la desaparición de las estructuras de orden superior, no hace lo mismo con los nucleosomas y éstos, como se ha visto antes (Fig. 6), obstaculizan el ensamblamiento del complejo de preiniciación y el avance de la RNA polimerasa. Es preciso, según se ha avanzado ya, *remodelar* la estructura de la cromatina.

Las investigaciones sobre remodelación comenzaron hace unos 10 años, cuando se descubrió que las mutaciones en el gen *SWI2/SNF2*¹⁹ de levadura afectaban la estructura de la cromatina y podían revertirse mutando

¹⁹ Se habían identificado, por una parte, el gen *SWI2*, implicado en el intercambio (*switching*) del tipo sexual de levadura y, por otra, el gen *SNF2* (*sucrose non fermenting*), cuya mutación inhibe la expresión del gen *SUC2*, que codifica la invertasa y es necesario para el catabolismo de la sacarosa. Tras su clonación, se comprobó que se trataba de un único gen, que comenzó a denominarse con ambos nombres, ya acuñados por el uso.

las histonas o disminuyendo genéticamente su cantidad (165). Por consiguiente, el producto del gen, Swi2p/Snf2p, debía actuar contrarrestando el obstáculo que representan las histonas para la transcripción. Algo después se demostró que tanto Swi2p/Snf2p como su homólogo humano poseían actividad de ATPasa y podían reorganizar *in vitro* la estructura de la cromatina (166, 167). La necesidad de ATP, el donador universal de energía, para cambiar la estructura nucleosomal, se comprendió de inmediato: esa estructura es tan estable, que su alteración ha de ser un proceso endergónico. Se había abierto una nueva puerta al estudio de las relaciones entre estructura y función de la cromatina, que, junto con la que se abriría poco después con el estudio de las HATs y HDACs, hizo posible el espectacular despegue de la investigación en cromatina al que ya se ha aludido (Fig. 7). Consecuencia de ello fue la rápida caracterización de otros sistemas de remodelación, además de SWI/SNF.

Un rasgo común de esos sistemas es que, como ocurre en las actividades implicadas en la acetilación-desacetilación de las histonas, se organizan en forma de complejos. Actualmente se clasifican, en función de la naturaleza de la ATPasa que contienen, en tres familias: SWI/SNF, ISWI (*imitation SWI*) y Mi-2. Las tres familias, con más o menos variaciones, se encuentran presentes en todos los organismos eucarióticos estudiados. El número de subunidades varía mucho de un complejo a otro. Los hay muy sencillos, como el RSF humano, de la familia ISWI, que, además de la ATPasa, sólo contiene otra subunidad. Pero también los hay muy complicados, como el RCS o el propio SWI/SNF de levadura. El estudio se inició precisamente por éste último, el primero en descubrirse. Las proteínas presentes en él se habían descubierto y caracterizado previamente como activadores transcripcionales pleiotrópicos, cosa que encaja perfectamente con la idea de que es necesario remodelar la estructura de la cromatina para que se pueda iniciar la transcripción en un promotor.

La naturaleza de los cambios que los complejos de remodelación pueden introducir en la cromatina *in vivo* continúa siendo objeto de discusión. *In vitro* se han detectado varias posibilidades (168): alteración de la estructura de nucleosomas, que da lugar a un característico patrón de digestión con DNasa I; aparición de *dinucleosomas*, partículas que constan de dos octámeros con un recorrido compartido de su DNA; transferencia del octámero de histonas a otro lugar del DNA, próximo (desplazamiento en *cis*) o distante (desplazamiento en *trans*). Recientemente, Becker y Hörz (169) han propuesto un mecanismo que da cuenta de la mayoría de estos cambios estructurales y podría ser el que fundamentalmente ocurriera *in vivo*. Ese mecanismo implica que el DNA se separe en algún punto del

octámero (170, 171), lo que constituye la etapa endergónica del proceso de remodelación, en la que se consumiría el ATP. Una vez producida esa separación, el DNA puede volver a unirse a otra localización del mismo octámero, lo que produciría un deslizamiento o desplazamiento en *cis*. Pero también se podría producir un desplazamiento en *trans*, si el DNA separado de un octámero volviera a unirse a un segmento de DNA desnudo lejano en la estructura primaria, o se podría originar un dinucleosoma en el supuesto de que el DNA separado interaccionara, no con el propio octámero, sino con el de un nucleosoma adyacente. La hipótesis es atractiva, sobre todo si se tiene en cuenta un trabajo reciente que ha demostrado que la proteína no histona HMGB1²⁰ acelera la remodelación mediada por el complejo ACF de *Drosophila* (172). Teniendo en cuenta la preferente interacción de las HMGB con el DNA distorsionado, los autores sugieren que esa proteína no histona facilita la etapa endergónica de separación del DNA del octámero. Sea como fuere, parece claro que se están asentando las bases para comprender el mecanismo de la remodelación de la cromatina.

Acetilación de histonas y remodelación de cromatina son, pues, dos procesos importantes y necesarios para que se produzca la activación génica. Pero, y se trata de una cuestión de la máxima importancia en el contexto de esta reflexión al hilo de la regulación biológica, es evidente que algo falta en el panorama que venimos trazando. Ni la acetilación ni la remodelación pueden ocurrir de una forma indiscriminada si el resultado que está en juego es algo tan trascendental como la expresión génica. Es evidente que ésta debe ocurrir de una forma perfectamente controlada. Por decirlo de un modo directo, un gen debe expresarse en un tejido concreto y en un momento preciso. En procariotas, organismos unicelulares, sólo se presenta el problema temporal: un gen debe transcribirse sólo cuando es preciso. Y ya hemos tenido ocasión de ver cómo, gracias a la intuición de Jacob y Monod, la cuestión se resolvió hace más de 40 años. A través de un mecanismo alostérico, unos efectores, sensores de la necesidad de la transcripción, modulan la interacción de los factores transcripcionales — sean activadores o represores— con el DNA del promotor del gen en cuestión, de forma que la transcripción se produce o no según la necesidad. Es evidente que en los eucariotas han de existir también sensores moleculares y que su información ha de afectar la modificación de la cromatina

²⁰ Las proteínas HMG, de cuyo descubrimiento por el grupo de Johns se ha hablado antes, se clasifican actualmente en tres familias: HMGB, HMGN y HMGA. La primera familia corresponde a las denominadas inicialmente HMG1 y HMG2.

de un gen concreto para hacer posible su transcripción. Dicho de otro modo, en todo lo que se ha relatado hasta el momento —que de un modo resumido corresponde al estado de la cuestión a finales del siglo XX— se echa en falta un mecanismo que dé cuenta de la regulación de la acetilación de histonas y de la remodelación de la cromatina. La investigación de estos mecanismos constituye el reto más actual en el estudio de la regulación de la expresión génica en eucariotas y, por lo que se va esclareciendo, se entrevé que se puede llegar a una síntesis equivalente, aunque más complicada, que la que supuso el alosterismo para integrar la regulación enzimática y la de la expresión génica en procariotas. Pero para acceder a esa información, es preciso retroceder en el tiempo y comentar, aunque sea brevemente, el descubrimiento y algunas funciones de los factores de crecimiento.

UNA VISIÓN UNIFICADA DE LA REGULACIÓN BIOLÓGICA

Factores de crecimiento

Entre las diversas funciones que desempeñan los péptidos, la de señalizadores químicos es importante en el contexto de la regulación biológica. Y especial interés revisten los denominados factores de crecimiento. Fue en 1954, cuando Rita Levi-Montalcini descubrió una sustancia de naturaleza polipeptídica, que estimulaba el crecimiento y desarrollo de ciertas neuronas. Llamó a esta sustancia *factor de crecimiento nervioso*, abreviadamente NGF (de Nerve Growth Factor). Los trabajos que esta investigadora realizó en Brasil, donde se había descubierto un tumor que producía NGF en grandes cantidades, fueron decisivos. Así lo narra ella misma en un párrafo no exento de buen humor:

«El tumor produjo su primera insinuación de existencia en San Luis, pero fue en Río de Janeiro cuando se reveló y lo hizo de una forma grandiosa y teatral, como arrastrado por la brillante atmósfera de esa manifestación exuberante y explosiva que es el Carnaval de Río» (173).

Al descubrimiento del NGF siguió, de una forma un tanto casual el del EGF, factor de crecimiento epidérmico, como consecuencia del trabajo de Stanley Cohen (174). El EGF es también un polipéptido, de 53 aminoácidos, que ha llegado a constituir un caso paradigmático de la larga serie de factores, todos ellos de naturaleza polipeptídica, que controlan el crecimiento y diferenciación de células animales, tanto en el desarrollo em-

brionario como en los organismos adultos (Tabla I). El papel crítico desempeñado por los factores de crecimiento en el control de la proliferación celular hace que las anomalías en su expresión o mecanismo de acción conduzca a diversas situaciones patológicas, entre otras, diversos tipos de cáncer. De hecho, como se ha comentado, el descubrimiento del primer factor de crecimiento, el NGF, fue posible debido a un tipo de cáncer en el que se sobreexpresaba el factor. Por ese motivo, es lógico que, desde su descubrimiento, los factores de crecimiento atrajeran el interés de los investigadores para dilucidar su modo de actuación.

Como ocurre con todos los péptidos, los factores de crecimiento son incapaces de atravesar las membranas plasmáticas. Para actuar en las células diana, tienen que interactuar con un receptor, que es una proteína integral de la membrana plasmática de esas células. El receptor del EGF fue el primero en ser estudiado con detalle y gran parte del conocimiento que se tiene sobre los receptores de factores de crecimiento se debe precisamente a los trabajos realizados con él, que se han revisado recientemente (175).

TABLA I. Ejemplos de factores de crecimiento

Factor de crecimiento	Número de aminoácidos	Efectos
Factor de crecimiento nervioso (NGF)	118	Diferenciación y supervivencia de neuronas
Factor de crecimiento epidérmico (EGF) ¹	53	Proliferación de muchos tipos celulares
Factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF)	125 (A) ² 109 (B)	Proliferación de fibroblastos y otros tipos celulares
Interleuquina-2	133	Proliferación de linfocitos T
Eritropoietina	166	Desarrollo de eritrocitos
Factor de crecimiento de hepatocitos (HGF)	463 (α) ³ 234 (β)	Proliferación de hepatocitos y otros tipos celulares
Factor de crecimiento transformante β (TGF β) ⁴	—	Múltiples

¹ El factor transformante α (TGF α) pertenece a la misma familia que el EGF; comparten el mismo receptor y tienen muchas funciones comunes.

² Se dan los tamaños de las dos cadenas del factor maduro

³ El profactor, de 728 aminoácidos, se procesa para dar un heterodímero, en el que las dos cadenas, α y β , quedan unidas mediante un puente disulfuro.

⁴ Se trata de una familia de factores, estructuralmente relacionados, por lo que no puede hablarse de un único número de aminoácidos y funciones

La mayoría de los receptores de factores de crecimiento poseen actividad enzimática de tirosina quinasa, es decir, catalizan la fosforilación de residuos de tirosina en sus proteínas sustrato. Esa actividad catalítica se encuentra en un dominio intracelular del receptor, mientras que, como es obvio, el sitio de unión del factor de crecimiento está situado en el dominio externo, que corresponde a su región N-terminal, y suele conocerse como *ectodominio*. Ambos dominios están conectados por un único segmento transmembrana de hélice α (Fig. 9). Las investigaciones iniciales revelaron dos acontecimientos que ocurren tras la unión del factor de crecimiento: la dimerización del receptor (176) y un notable incremento

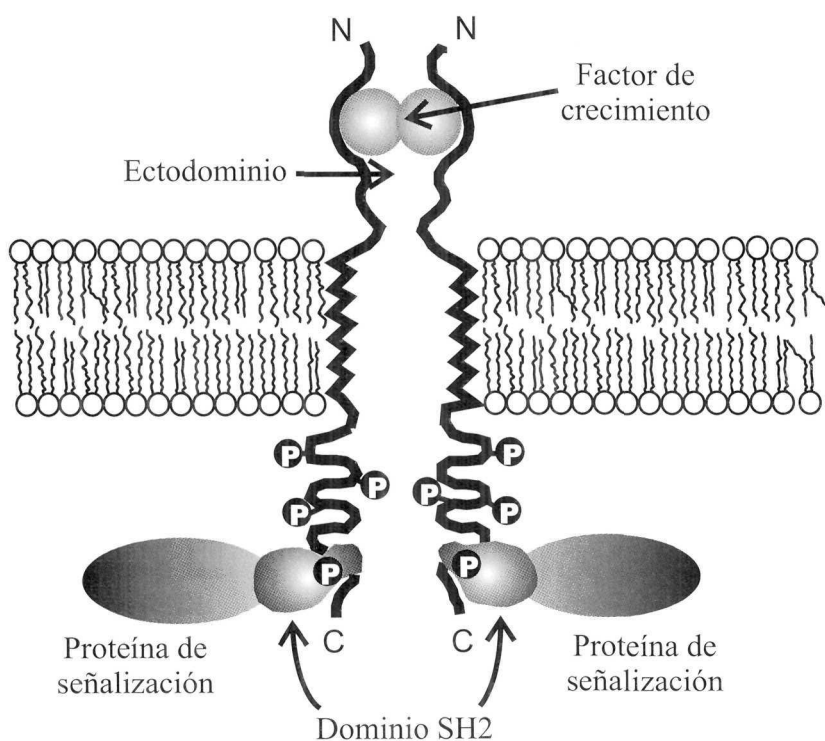


FIGURA 9. *Esquema de la estructura de un receptor de la familia EGF.* El receptor, que atraviesa la membrana plasmática desde el exterior de la célula (parte superior) hasta el citoplasma (inferior), se representa ya dimerizado. Las hélices transmembrana se esquematizan como líneas en zigzag. El dominio extracelular (ectodominio), cerca del extremo N-terminal, incluye el sitio de unión del factor de crecimiento, que también se representa en su forma de dímero. En la región intracelular, que corresponde al extremo C-terminal, se aprecian el dominio que se autofosforila y el dominio globular (SH2) por el que se produce la unión de las proteínas que inician la cascada de señalización.

de su actividad tirosina quinasa (177). No obstante, posteriormente se comprobó que, a diferencia del resto de los receptores con actividad de tirosina quinasa, el de EGF y algunos otros de su familia se encuentran parcialmente en forma de dímeros en ausencia de ligandos (178, 179), aunque el incremento de la actividad quinasa es estrictamente dependiente de la unión del factor de crecimiento (180). En cualquier caso, la conjunción de la dimerización y la activación de la tirosina quinasa hace posible la autofosforilación del receptor en *trans*, es decir, cada una de las subunidades fosforila residuos de tirosina de la otra (Fig. 9). A su vez, la autofosforilación desempeña un papel fundamental en el funcionamiento de estos receptores. En primer lugar, tiene una función reguladora de la propia actividad tirosina quinasa del receptor. Aunque pueda parecer chocante a simple vista, al fin y al cabo se trata de un fenómeno similar al que hemos tenido ocasión de contemplar antes. En efecto, han aparecido varias veces en este discurso ejemplos de enzimas cuya actividad aumenta por fosforilación. Lo peculiar del caso que ahora nos ocupa es que cada subunidad fosforila a la otra y cada una de ellas, al quedar fosforilada, ve incrementada su propia actividad. La reciente determinación de la estructura terciaria del dominio catalítico del receptor de EGF (181) ha proporcionado una base estructural adecuada para comprender el mecanismo de los procesos antedichos. Por otro lado, la fosforilación de residuos de tirosina situados fuera del centro activo, en un cuarto dominio que se encuentra en el extremo C-terminal del receptor, hace que esta región del receptor adquiera la capacidad de unirse a otras proteínas citoplasmáticas.

Las consecuencias funcionales de la unión de otras proteínas celulares es determinante para que la transducción de la señal iniciada por la asociación del factor de crecimiento con su receptor se lleve a término. Entre las proteínas reclutadas por el receptor de EGF, por ejemplo, se encuentran adaptadores, pero también proteínas que participan directamente en rutas de señalización celular, como quinasas (182, 183) y fosfatasas (184). La formación de un complejo con el receptor (Fig. 9) incrementa la actividad de estas enzimas, que inician de ese modo una cascada de fosforilación-desfosforilación hasta llegar al destino final intracelular.

Pero hay que tener en cuenta que ese destino ha de ser el material genético. En efecto, si los factores de crecimiento inducen el crecimiento y diferenciación de células eucarióticas, parece claro que la señal mitogénica²¹ iniciada en el receptor tiene que llegar hasta el DNA. Esto es así,

²¹ En general, recibe el nombre de mitógeno toda sustancia que favorece la división mitótica de la célula sobre la que actúa.

no sólo porque el DNA haya de replicarse para que las células se dividan, sino porque el crecimiento y la diferenciación implican la transcripción de múltiples genes que controlan la progresión del ciclo celular. En un contexto diferente —el de la regulación enzimática— hemos tenido ocasión de ver qué son las cascadas de modificación covalente, qué propiedades tienen y cómo a la vista de ellas se explica que este tipo de regulación coexista con otros mecanismos. Pero se puede decir que entonces el destino final era una enzima que debía cambiar de actividad, mientras que ahora las cascadas iniciadas en los receptores de factores de crecimiento han de llevar la señal hasta los genes. En cierto sentido, el panorama que surge al confrontar ambos tipos de cascadas es paralelo al que apareció cuando, en el inicio de la década de 1960, se comparaban los datos entonces disponibles sobre regulación enzimática y la regulación de la expresión génica en procariotas. Monod tuvo la intuición de solucionar ambos problemas con una solución única, integradora, a través del postulado del alosterismo. ¿Es posible también una integración de la regulación enzimática por modificación covalente con la regulación de la expresión génica por factores de crecimiento?

¿Es compatible el buen humor con la seriedad científica?

Se acaba de anotar que el descubrimiento del primer factor de crecimiento tuvo lugar tras unos experimentos realizados en Brasil por Rita Levi-Montalcini y cómo la autora del hallazgo se refería a él con un toque de humor. El buen humor, la pequeña broma que genera una sonrisa, es una de las actitudes que tienden a relajar sin distraer, a hacer amable lo arduo. Como se ha apuntado antes, el optimismo es un valor que ayuda a superar las dificultades confiando en nuestra propia capacidad y en la ayuda de los demás. El buen humor, por el contrario, va dirigido más a los otros que a uno mismo y en ese sentido merece ser tratado también como un valor humano. Se ha dicho, incluso, que «el humor pertenece a lo específico, sustancial y genuinamente humano» (185). Pues bien, es muy frecuente encontrar en los científicos esa actitud de hacer con sus hallazgos, con la exposición de unos resultados, la *broma justa* que facilita la comprensión, que distiende la innegable tensión que un razonamiento profundo implica. Me atrevería a decir que el buen humor se encuentra presente en la comunicación de las ciencias quizá más que en la de otras ramas del saber humano, pero posiblemente, esta afirmación no pase de ser una osada consecuencia de mi desconocimiento de esas otras áreas. «Cada

uno juzga bien aquello que conoce», advertía Aristóteles²² y, apoyado en la autoridad del Estagirita, me propongo mostrar algunos ejemplos de esta actitud para que cada uno pueda juzgar adecuadamente.

Pero es conveniente aclarar algunas cuestiones previas. El buen humor no es incompatible con la seriedad que debe presidir la actividad científica y, en general, cualquier tarea profesional. Sin seriedad sería imposible profundizar. Hasta en el lenguaje ordinario la falta de seriedad se hace sinónimo de la superficialidad. Pero lo serio supone tensión y parece evidente que el hombre no puede soportarla de modo continuo. «La Humanidad no puede soportar demasiada realidad» decía Elliot²³. El ritmo trabajo-descanso, la interrupción festiva, el recurso a lo lúdico, etc. son precisamente procedimientos de que se vale para aliviar esa tensión. Algo semejante se podría decir de la broma, que se puede inscribir dentro de lo lúdico. Naturalmente, la broma, el humor que resulta admisible en el contexto de la producción o difusión de la ciencia, no debe asimilarse en absoluto a la frivolidad. La frivolidad implica vacío interior, confundir el legítimo recurso a la levedad, que relaja en un momento tenso, con el instalarse definitivamente en la levedad. La frivolidad es, en definitiva, «la vida en hueco» (5) o, como decía Polo, «vivir instalado en la superficie de la vida» (186). Por tanto, ser frívolo es hacerse incapaz de profundizar y por tanto, de hacer una aportación seria al conocimiento humano. Así pues, no deberá confundirse nunca el buen humor en la actividad científica —que muestra el rostro humano del quien vierte su optimismo hacia los demás— con el recurso fácil y frívolo al chiste a destiempo y, menos aún, con el comentario irónico que, más que relajar, hiere.

Sentadas estas premisas se puede proceder a examinar algunos ejemplos —una vez más tomados del estudio de la regulación biológica—, que ponen de manifiesto el buen humor de muchos científicos. Viene a mi memoria un primer ejemplo de humor, aunque sea un tanto ribeteado de negro. Hace referencia al receptor Fas/APO-1, que está implicado en la transducción de señales extracelulares que provocan la apoptosis, o muerte celular programada. Precisamente, dentro del primer programa de *Promoción de la Cultura Científica y Tecnológica* que organizó esta Casa, el Prof. Martín Municio tuvo ocasión de tratar de las características de este receptor (187). Pues bien, en 1995 se describió una proteína capaz de interactuar con el dominio intracelular de ese receptor, lo que, al igual que en

²² La cita es de la *Ética a Nicómaco*, según la traducción de J. Marías y M. Araujo. Centro de Estudios Constitucionales, Madrid, 1981.

²³ Citado por Yepes (5) en el inglés original; la traducción es mía.

el caso de los receptores de factores de crecimiento que hemos considerado hace un momento y con los que Fas/APO-1 está relacionado estructural y funcionalmente, inicia la cascada de transducción que culmina con la muerte celular. Esa proteína es esencial, pues, para provocar la muerte de la célula y, habida cuenta de que es una *receptor-interacting protein*, los autores eligieron el significativo acrónimo RIP (188).

Más reciente es el descubrimiento en levadura de una variante del complejo HAT SAGA, que carece de Spt8p, uno de sus componentes normales. Esta forma del complejo ha sido denominada con un acrónimo que corresponde a un ritmo bien conocido en todos los países, SALSA, porque es un complejo SAGA alterado, en el que Spt8p está ausente (189). Y de los acrónimos más o menos humorísticos podemos pasar a aquellos que constituyen una onomatopeya o cuya pronunciación sugiere una palabra corriente bien conocida. Se ha mencionado antes un complejo de HDAC que actúa en la regulación de genes dependientes de receptores nucleares (152). Ahora es el momento de dar el nombre de ese complejo, derivado de su comportamiento como *Silencing mediator of retinoid and thyroid hormone receptor*. De las iniciales de las cuatro primeras palabras inglesas surge el acrónimo SMRT, cuya pronunciación (*smart*) resulta acorde con su elegante función. Se podría continuar indefinidamente esta relación, pero es el momento de pasar a otros ejemplos.

Y, por seguir con la acetilación-desacetilación de histonas, podemos centrar la mirada en unas enzimas a las que repetidamente nos hemos referido a lo largo de este discurso: las histona acetiltransferasas. Los bioquímicos siempre han sido muy aficionados a utilizar siglas —mucho antes, incluso, de que esta práctica se extendiera en la escritura corriente— y, como repetidas veces ha aparecido en este texto, las que corresponden a histona acetiltransferasa son HAT. En inglés, el idioma casi exclusivo de la comunicación científica, estas siglas corresponden a una palabra concreta y muy corriente, que todos conocen. Pues bien, es muy frecuente que en dibujos, esquemas, etc. en los que aparecen esas enzimas, se representen... ¡con un sombrero!

Por alguna razón, los investigadores que trabajan con *Arabidopsis* son proclives a mostrar un acendrado sentido del humor al dar nombre a los genes. Baste el siguiente y significativo caso. Se había denominado SUPERMAN un gen que regula la floración, y se sabía que su expresión cesaba tras la metilación del DNA. El año pasado, en una búsqueda de supresores de la hipermetilación del *locus* SUPERMAN, se identificó un gen que codifica una histona metiltransferasa, específica de la lisina 9 de H3. Desde un punto de vista funcional el hallazgo fue importante, ya que

permitió establecer una conexión entre la metilación de histonas y la metilación del DNA, un mecanismo muy conocido para silenciar genes en muchos eucariotas. Pero en este momento, en que estamos tratando del buen humor de los científicos, basta con decir que ese gen, que codifica una histona metiltransferasa que suprime la función de *SUPERMAN*, recibió el descriptivo nombre de *KRYPTONITE* (190).

En otras ocasiones, el buen humor se pone de manifiesto en el propio título de la publicación. Los juegos de palabras son un recurso que han utilizado y siguen utilizando muchos buenos escritores —pensemos, por ejemplo, en Shakespeare o en Quevedo y en tantos otros autores de nuestro Siglo de Oro—, ordinariamente para dar un cierto tono desenfadado a sus escritos. En la literatura bioquímica, este recurso aparece especialmente en los artículos de revisión. Posiblemente, haya que encontrar el motivo no sólo en el deseo de llamar la atención desde el título sino también en el de hacer más ligera y soportable la carga de información que habitualmente contienen esos artículos, tan necesarios —por otra parte— en las circunstancias actuales. Por mencionar un solo ejemplo, dos autores que habían diseñado métodos para el análisis de las proteínas asociadas a la cromatina, publicaron hace unos años una revisión de esas técnicas y el artículo vio la luz con el nombre «*Immunological analysis of chromatin: FIS and CHIPS*» (191). Y es que los métodos descritos eran la inmunotinción fluorescente y la inmunoprecipitación de la cromatina, que se conocen, respectivamente, con los acrónimos FIS (*F*luorescent *I*mmunostaining) y ChIP (*C*hromatin *I*mmunoprecipitation). La reunión de ambos acrónimos ofrecía una evidente posibilidad de dar un toque de humor que no desperdiciaron los autores.

Otras veces, es la elección de la metáfora sutil, que admira por su ingenio y provoca la sonrisa, muchas veces sólo interior, lo que constituye un rasgo de buen humor. Se lamentaba en una ocasión nuestro inolvidable Prof. Martín Municio de que se clasificara «el pensamiento de los hombres según que entienda por medio de metáforas o por medio de fórmulas», para añadir que esa distinción «replantea la amputación cultural de nuestros días; la de unos, al presentar la cultura de las humanidades como vestigios fósiles de un gran pasado, y, la de otros, incapaces de concebir las ciencias naturales como expresión de una cultura común». Y, con su conocido afán por superar toda artificial barrera entre los distintos aspectos del saber humano, ofrecía una audaz integración que, además, viene como anillo al dedo en el tema de este discurso: «Y, ya que cuanto más remotas sean las cosas acopladas mayor será la tensión creada, un buen ejemplo de la comprensión conjunta de metáforas y fórmulas es un tipo muy singular de silencio: el silencio de los genes»²⁴. De las metáforas hemos tenido ocasión

de tratar repetidas veces en distintos conceptos. Quizá podríamos preguntarnos ahora, la metáfora, ¿es ingenio?, ¿o es humor? Pero, en realidad, ¿qué más da? Lo importante es que tanto el recurso al ingenio como el buen humor tienen cabida en el desarrollo de la ciencia y que, mientras se ejerciten con esa intención de verter hacia los demás un poco de nuestro optimismo o, por decirlo de una manera llana, de alegrar la vida a los demás, no sólo son compatibles con la seriedad científica, sino que constituyen una manifestación clara de ese rostro humano patente en todas las actividades del hombre si son verdaderamente humanas.

Regulación de la modificación de la cromatina

Terminábamos nuestro breve paseo por la acetilación de histonas y remodelación de la cromatina considerando la necesidad de que estos procesos ocurrieran de una forma controlada. Control que, como se ha advertido, tiene componentes tanto de lugar como de tiempo: no es lo mismo que se acetile o se remodele la cromatina de un gen que la de otro, y no es irrelevante el momento en que eso ocurra. Ocurre con frecuencia que para aclarar una cuestión es preciso comenzar por complicarla, y ese es precisamente el caso presente. Las histonas no sólo son capaces de acetilarse, sino que también pueden sufrir otras modificaciones covalentes. Especialmente interesa considerar la metilación y la fosforilación. El descubrimiento de ambas modificaciones de las histonas es contemporáneo del de su acetilación. En 1964, Murray detectaba la presencia de metil lisina en las histonas (192) y algo más tarde se comprobaba que las histonas eran capaces de fosforilarse (193). El papel de la metilación de histonas se minusvaloró inicialmente, ya que esa modificación no introduce variaciones en la carga de las histonas y, como se ha comentado, se pensaba que la función de las modificaciones covalentes era simplemente la de debilitar la interacción de las histonas con el DNA. Por su parte, la fosforilación de histonas, especialmente en el caso de la H1, se asoció con la condensación mitótica. Ha sido la revolución producida en la pasada década en el estudio de la cromatina lo que ha permitido vislumbrar el real significado de ambas modificaciones.

La metilación puede afectar a residuos de arginina y lisina, mientras que la fosforilación se produce en las cadenas laterales de serina. Al igual

²⁴ Las citas corresponden al artículo titulado "Silencios", de A. MARTÍN MUNICIO, publicado en la tercera página del diario ABC, de 13 de Marzo de 2001.

que ocurre con la acetilación, estas modificaciones tienen lugar en las colas N-terminales de las histonas nucleosomales (Fig. 10). La metilación, a expensas de ese donador universal de metilos que es la S-adenosilmetionina, tiene lugar en una reacción catalizada por histona metiltransferasas, cuyas propiedades y especificidad se han comenzado a estudiar recientemente (194). Hay que señalar que, hasta ahora, no se ha encontrado ninguna enzima capaz de eliminar los grupos metilo introducidos en las proteínas, incluidas, por supuesto, las histonas. Así pues, se mantiene abierta la cuestión de la posible reversibilidad de esta modificación covalente (195). La química de la fosforilación-desfosforilación de histonas es bien sabida; intervienen, respectivamente, quinasas, que, como ya hemos tenido ocasión de ver, catalizan la transferencia de fosfato desde el ATP, y fosfatasas, que hidrolizan los ésteres fosfóricos. Pero la naturaleza y especificidad exactas de las quinasas y fosfatasas concretas que participan no es tan conocida. Hace tan sólo tres años que se describieron las primeras quinasas y fosfatasas auténticamente específicas de histonas (196). Se han descrito después algunas más y también se ha comprobado que otras quinasas relativamente inespecíficas, como la proteína quinasa A (197) o Snf1p de levadura (198), son capaces de fosforilar histonas *in vivo*.

En este momento, cabe plantearse una nueva cuestión: si todas las modificaciones que venimos considerando —acetilación, metilación, fosforilación— tienen lugar en las mismas regiones de las histonas, a veces incluso en el mismo aminoácido (Fig. 10), ¿sus funciones son independientes o se da algún tipo de coordinación entre ellas? Hace apenas tres años que Strahl y Allis, en un artículo que llevaba el sugerente título de “The language of covalent histone modifications” propusieron una hipótesis de la que decían:

«Nos referiremos a la hipótesis de que múltiples modificaciones de histonas, actuando de un modo combinatorio o secuencial sobre una o varias colas de histonas, especifiquen funciones singulares subsiguientes como la hipótesis del código de las histonas» (199).

El planteamiento —e incluso el modo de denominar la hipótesis— resultan atractivos. Hace ya bastantes años que se descifró el *código genético* mediante el cual, el lenguaje del DNA se traduce en proteínas. ¿Qué tipo de código es el de las histonas? ¿Se trata de una clave añadida al código genético? La respuesta puede ser, en cierto modo, afirmativa. Estamos no ante un nuevo código genético, sino ante un *código epigenético*, por utilizar

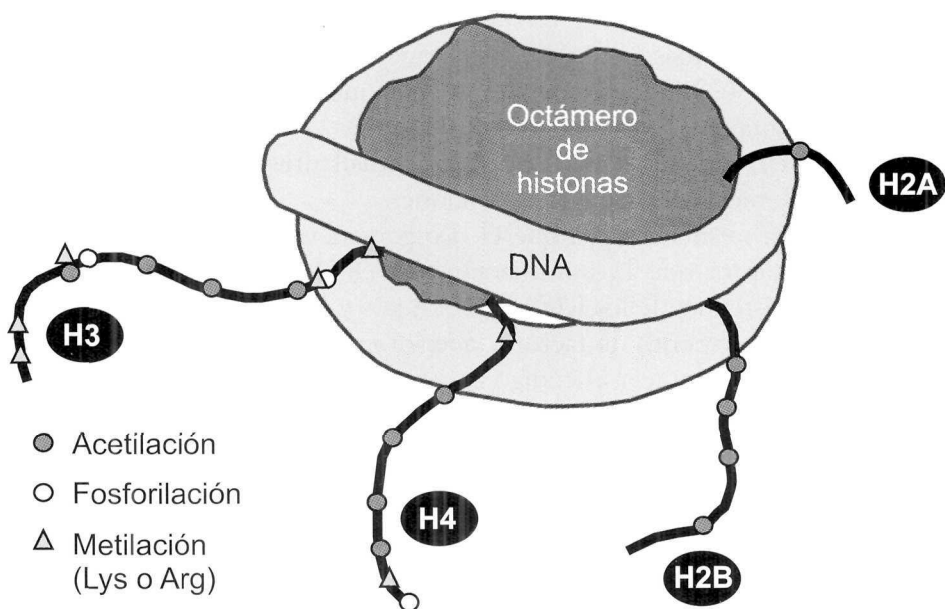


FIGURA 10. *Sitios de modificación covalente de las histonas.* Se representa esquemáticamente una partícula núcleo con las colas N-terminales de las histonas proyectándose hacia fuera. Los sitios de acetilación, fosforilación y metilación se indican en su posición aproximada. Puede verse que, prácticamente todos ellos, quedan fuera de la región ocupada por el octámero de histonas y de la porción de las colas que, en su salida, interacciona con el DNA. Para mayor sencillez, sólo se han representado las colas de una de las dos copias de cada histona.

la terminología de Turner (200). Un código epigenético que no se contrapone, sino que se superpone al código genético inscrito en el DNA, poniendo de manifiesto las potencialidades contenidas en los restantes componentes de la cromatina. La hipótesis de Allis recuerda a la que Loidl había postulado en 1988, que ya ha sido mencionada anteriormente. Entonces Loidl proponía que la acetilación podía introducir una señalización en las histonas. Ahora Strahl y Allis extienden esa posibilidad a las otras modificaciones de las histonas.

¿Había en el momento de emitir la hipótesis algún dato experimental que la hiciera plausible? Desde luego, aunque eran aún muy limitados e inciertos. No obstante, ese mismo año, se comprobó uno de los postulados de Strahl y Allis, con un resultado que constituye un ejemplo llamativo. La fosforilación de la serina 10 de H3, si va seguida de la acetilación de la lisina 14, es una señal para que se dé la transcripción en genes que

responden a estímulos mitogénicos. Si, por el contrario, va seguida de una nueva fosforilación, esta vez en la serina 28, las células interpretan la combinación de ambas fosforilaciones como señal para iniciar la condensación mitótica (201). Los ejemplos se han multiplicado desde entonces incluyendo también la metilación de histonas (194, 202). Puede, pues, hablarse del lenguaje de las modificaciones covalentes, que está escrito con acetilaciones, metilaciones y fosforilaciones.

Pero, de la misma manera que el código genético se puede leer —y es posible, por tanto, que la información del DNA pase a las proteínas— gracias a la existencia de los RNAs mensajeros y de transferencia, así como de todo el complemento de factores que intervienen en la transcripción y en la traducción, para leer el código epigenético de las histonas harán falta moléculas capaces de distinguir una combinación de modificaciones de otra. Era, pues, lógico que Strahl y Allis, tras enunciar su hipótesis, se plantearan dos preguntas, que constituyen otros tantos epígrafes de su artículo: “How is the histone code read?” y “Who reads the code?” (199). Las respuestas iniciales tenían que ser, por fuerza, provisionales, pero el tiempo ha confirmado que estaban bien encaminadas. Hoy sabemos que existen determinados módulos en las proteínas capaces de interactuar específicamente con acetil-lisina o metil-lisina. Son los conocidos, respectivamente, como bromodominios o cromodominios (203), que se encuentran presentes en muchas proteínas que interactúan con la cromatina, entre las que se encuentran las propias HATs (138) y las ATPasas de los complejos de remodelación (168). De esta manera se explica que pueda darse un reclutamiento sucesivo de las diferentes enzimas o complejos que deben actuar sobre la cromatina, tanto introduciendo nuevas modificaciones covalentes, como remodelando su estructura (204, 205). El orden temporal en que ocurren las diferentes alteraciones es objeto de activa investigación y parece que es variable en función de la naturaleza de los genes. Los resultados de los últimos años, revisados por Berger (206) sugieren que en los genes inducibles independientes del ciclo celular la acetilación de histonas precede al reclutamiento de los complejos de remodelación, mientras que en los genes activados por mitógenos se da la situación contraria.

En cualquier caso, la existencia del código de las histonas, hoy generalmente admitida, no significa que sus modificaciones covalentes tengan sólo un significado de señalización. Cuando Loidl postuló la posibilidad de que la acetilación de histonas funcionara como una señal introducida en los nucleosomas (115) ya advirtió que esa función era compatible con unos efectos estructurales más generales en la cromatina. Del mismo modo, la fosforilación y la metilación también pueden tener consecuencias globales

sobre la estructura de la cromatina. Un reciente artículo de Iizuka y Smith (207) acentúa precisamente la coexistencia de ambas funciones de la modificación de histonas.

La presencia, en algunas proteínas, de unos motivos estructurales capaces de leer el código de las histonas resuelve parcialmente los interrogantes con que se iniciaba el presente apartado. Además de una modificación más o menos global de las histonas en regiones amplias del genoma —lo que se puede llamar modificación no dirigida—, otras modificaciones se dirigen a unos genes y no a otros. El conocimiento de la estructura y propiedades de los cromodomínios y bromodomínios proporciona las bases moleculares para comprender la causa de esa modificación específica. Por ejemplo, en el caso concreto de la acetilación, se ha postulado un mecanismo que, basándose en la presencia de bromodomínios en histona acetiltransferasas, permitiría explicar la extensión de la acetilación de histonas a lo largo de regiones extensas del genoma (208). Incluso, permite en algunas circunstancias explicar la secuencia temporal de acontecimientos —acetilación, metilación, remodelación, etc.— que se dan en algunos promotores concretos (209). También, la investigación reciente está ofreciendo respuestas a la cuestión de cómo se perpetúan las modificaciones epigenéticas en la cromatina naciente (210). Así, a pesar de que en la actualidad la comprensión de estos fenómenos diste aún mucho de ser cabal, parece indudable que el camino para dilucidar el asunto ya está marcado, aunque evidentemente haya que seguir recorriéndolo. Un complejo de remodelación, una histona acetiltransferasa, etc. puede reclutarse correctamente si es capaz de reconocer la modificación previa de alguna histona en la región diana. Pero, evidentemente, surgen inmediatamente otras cuestiones. La primera de ellas es obvia: ¿cómo se introduce adecuadamente esa primera modificación que desencadena todo el proceso? La segunda pregunta se podría plantear así: la modificación de la cromatina, ¿se controla sólo por el reclutamiento del complejo que la produce o, al igual que ocurre en tantas otras actividades enzimáticas, depende también de efectores alostéricos o de modificación covalente de la propia enzima? A su vez, si se requiere una activación de la enzima que modifica la cromatina, ésta podría producirse antes o después de su reclutamiento al lugar correcto en la cromatina. Todas estas posibilidades están esquematizadas en la figura 11.

En cierto modo, resulta más fácil empezar a responder estas preguntas por el final. Hace ya más de 10 años que se describió por primera vez la regulación por fosforilación de una enzima que modifica la cromatina. Concretamente, se trata de un complejo HDAC de maíz, cuya actividad e incluso su especificidad de histona varían al fosforilarse (211). Después

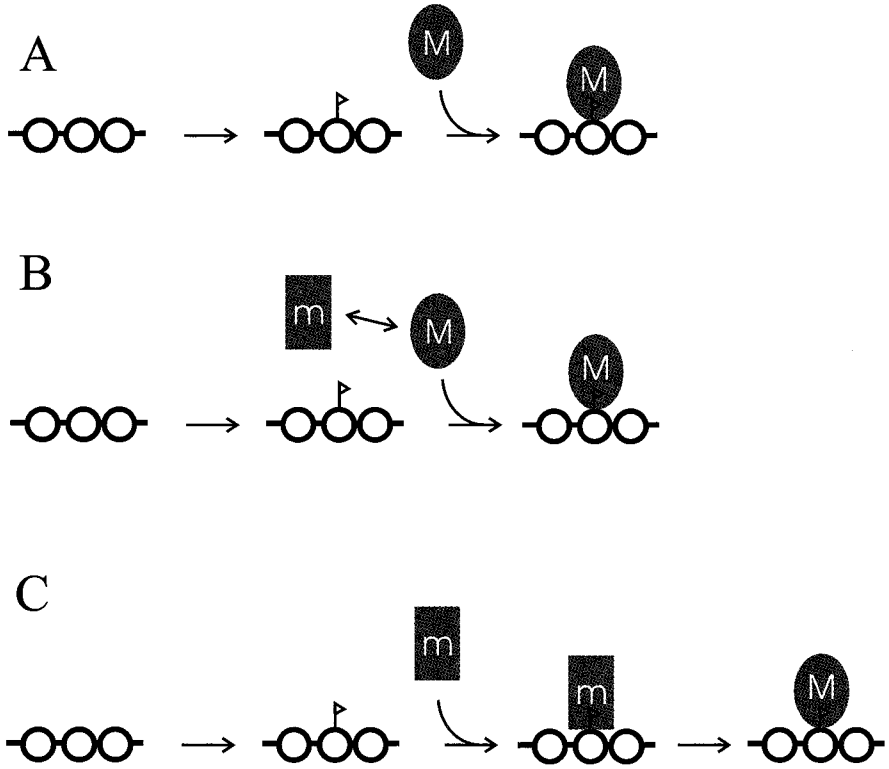


FIGURA 11. *Hipótesis para el reclutamiento de un complejo que modifica la cromatina en un locus concreto.* En todos los casos, se supone que se introduce previamente una modificación, señalada por el banderín, que en la posibilidad A recluta al complejo activo (M). En B y C, se admite la existencia de una forma inactiva del complejo (m), que puede activarse antes (B) o después (C) de su unión a la cromatina. Dependiendo de la naturaleza del complejo, el resultado del reclutamiento podría ser una modificación covalente de las histonas o la remodelación de la cromatina.

de este hallazgo inicial, tuvieron que transcurrir varios años hasta que se obtuvieron otras pruebas sobre la regulación de las enzimas implicadas en la modificación de histonas. Hoy se sabe que se modula por fosforilación-desfosforilación la actividad de las HATs hGcn5 (212), CBP (213) y p300 (214) y de las desacetilasas HDAC1 (215-217) y HDAC2 (217). La regulación de las HATs por fosforilación constituye un hecho importante, y a él tendremos que retornar más adelante, cuando se haga mención de algunas de las quinasas que actúan. Pero se puede decir que el descubrimiento no fue sorprendente, habida cuenta de la numerosa serie de enzimas y factores transcripcionales cuya actividad se regula de esa manera.

Más llamativo es que algunas HATs se regulen por acetilación. Tal es el caso de ACTR, una enzima presente en uno de los complejos que actúan en conexión con los receptores nucleares, que puede ser acetilada por p300 con el resultado de su inactivación (218). En otros casos, las HATs son capaces de autoacetilarse, lo que conduce a la pérdida de la actividad por un mecanismo peculiar: el bromodominio que contienen estas HATs interacciona con la acetil-lisina recién generada, lo que provoca un plegamiento anómalo de la enzima con la concomitante pérdida de actividad (219).

Hasta ahora, habíamos tratado de la acetilación como si fuera una modificación covalente exclusiva de las histonas, pero acabamos de ver cómo las propias HATs pueden acetilarse. En realidad, desde hace algún tiempo se sabe que, además de las histonas, las HATs son capaces de acetilar otras proteínas, la mayoría de ellas relacionadas con el metabolismo informativo. Hasta tal punto es así, que junto a la habitual abreviatura, HAT, de esas enzimas, algunos autores emplean la de FAT (“factor acetyl transferase”). Aparte de las histonas y de las propias HATs, los sustratos más conocidos de estas enzimas —HATs o FATs, como las queramos denominar— son proteínas no histonas del grupo HMG, activadores transcripcionales, como p53, E2F o c-Myb, coactivadores relacionados con receptores nucleares, como el caso ya mencionado de ACTR, y factores transcripcionales generales, como TFIIE y TFIIF (114). También se da acetilación de residuos de lisina en algunas proteínas citoplásmicas, como la α -tubulina, y la importina- α , una proteína implicada en el transporte núcleo-citoplasma, es sustrato de la HAT CBP/p300 (220). El hecho de que las propias acetiltransferasas sean sustratos de otras acetiltransferasas, junto con la diversidad de funciones que puede tener la acetilación de proteínas, junto con el conjunto de propiedades de las acetiltransferasas, que recuerdan a las de las proteína quinatas, ha llevado a Kouzarides a proponer la existencia de cascadas de acetilación, análogas a las de fosforilación, que podrían intervenir en la regulación de la expresión génica (221).

Pero, dejemos esta cuestión por un momento para volver a la regulación de la modificación de histonas. Habíamos visto ya que tanto las HDACs como las HATs pueden regularse por fosforilación y que la actividad de estas últimas también puede controlarse por acetilación. Recientemente se ha descubierto una nueva modificación covalente que tiene también trascendencia en este control. Se trata de la sumoilación, la unión de SUMO (*small ubiquitin-like modifier*) una pequeña proteína muy parecida a la ubiquitina. Se conjuga con las proteínas que modifica mediante un

enlace isopeptídico, igual que hace la ubiquitina, pero, a diferencia de la ubiquitinación, que normalmente da lugar a la degradación proteolítica, la sumoilación es reversible y altera la función de la proteína modificada, por ejemplo, variando su capacidad de interactuar con otras proteínas (222). Tanto la HDAC1 (223), como la HDAC4 (224) se pueden sumoilar con alteración de su función biológica, aunque es aún pronto para conocer el alcance de tal alteración.

Finalmente, otro peculiar mecanismo de regulación afecta a las HDACs: la translocación núcleo-citoplasma. Las HDACs de la clase II poseen en su secuencia tanto una señal de localización nuclear, como una de exportación nuclear. Por tanto, pueden localizarse tanto en el núcleo como en el citoplasma y, de hecho, así ocurre. ¿De qué depende esa translocación? Grozinger y Schreiber (225) describieron por primera vez este complicado proceso. Si la desacetilasa se fosforila en el núcleo por una quinasa dependiente de calcio y calmodulina, forma un complejo con una proteína 14-3-3, lo que, a su vez, enmascara la señal de localización nuclear y expone la de exportación, con lo que el complejo interactúa con la exportina CRM1 y sale del núcleo. Si, una vez en el citoplasma, la desacetilasa se desfosforila por acción de una fosfatasa, se desensambla el complejo con la proteína 14-3-3 y la señal de localización nuclear permite que la desacetilasa, tras interacción con la importina- α regrese al núcleo. En el fondo, se trata de una regulación por fosforilación-desfosforilación, pero mediada por un proceso de translocación. En algunos procesos, como la miogénesis, este medio de regulación tiene una importancia fundamental (226, 227).

En resumen, los datos anteriores, que sólo son una muestra de los descritos en los dos o tres últimos años, muestran que la actividad de las enzimas que modifican la cromatina depende de numerosos factores y que, estrictamente hablando, las tres posibilidades contempladas en la figura 11 pueden darse. Queda por aclarar cómo se produce esa primera señal que marca el lugar, generalmente el promotor de un gen, donde ha de iniciarse todo el complejo proceso de modificación de histonas y remodelación de la cromatina necesario para la expresión génica. Para aclararlo, también la investigación con los factores de crecimiento ha sido fundamental. Habrá que continuar, pues, la cuestión donde hace un momento la dejábamos: cuando se iniciaba una cascada de fosforilación en el receptor del factor de crecimiento.

Cascadas de señalización: de un receptor de membrana al núcleo

Cuando el receptor de un factor de crecimiento se une a su ligando, a través de una serie de acontecimientos que se han considerado sucintamente, se inicia una cascada de fosforilación, que ha de transducir la señal hasta el núcleo. Recordando cómo, al contemplar conjuntamente la regulación génica en procariotas y la regulación enzimática, se había logrado la solución integradora del alosterismo, terminábamos nuestra consideración preguntándonos si podría lograrse una integración entre la regulación enzimática por modificación covalente y la regulación de la expresión génica por factores de crecimiento. Ahora estamos en condiciones de retomar esta cuestión con la luz que la consideración de la modificación covalente de las histonas y su regulación ha arrojado sobre el problema.

Hace unos diez años se conocían con bastante exactitud las cascadas de señalización que implicaban segundos mensajeros como el cAMP, el cGMP, los diacilgliceroles o los iones Ca^{2+} . De hecho, ya hemos tenido oportunidad de tratar anteriormente de algunos de esos segundos mensajeros, que, de una forma u otra, activan quinasas o fosfatasa, de modo que la transducción de la señal iniciada en un receptor acaba en una cascada de fosforilación. Una revisión publicada en 1992 trataba precisamente de la fosforilación de proteínas como un medio de integrar diversas señales procedentes del exterior de la célula (228). Cuando en esa revisión se hablaba de la señalización iniciada en receptores de factores de crecimiento, su autor, Cohen, comentaba:

«En minutos, a la activación de las tirosina quinasas de los receptores se ve seguida por la activación de muchas proteína quinasas de serina o treonina y por aumentos (y disminuciones) en la fosforilación de serina y treonina en muchas proteínas intracelulares. Sin embargo, a pesar del reciente progreso en la disección de las cascadas de proteína quinasas implicadas en la acción de la insulina y de los factores de crecimiento (...), los mecanismos moleculares de la regulación de las proteína quinasas de serina y treonina por las proteína quinasas de tirosina de los receptores no se ha dilucidado aún, ni se ha aclarado si está implicada la formación de un segundo mensajero nuevo» (228).

Sirvan las líneas anteriores para mostrar, apoyados en la autoridad de Philip Cohen, cómo estamos ante un campo de reciente desarrollo, centra-

do fundamentalmente en los últimos 10 años, en el que todavía quedan interrogantes planteados.

En la actualidad se conocen alrededor de 20 rutas de señalización que, a través de un receptor de membrana, transducen una señal extracelular hacia el núcleo. Al menos ocho de ellas se pueden iniciar por factores de crecimiento y, de una forma u otra, en todas ellas participan quinasas. Especial interés revisten unas proteína quinasas que, teniendo en cuenta la activación, en último término, de la cascada de fosforilación por estímulos mitogénicos, se denominan MAP (*mitogen-activated protein*) quinasas. Son las proteínas citoplasmáticas destinatarias de la señalización, el último eslabón de una cadena de quinasas que comienza aguas arriba en la proteína que se une al receptor una vez autofosforilado (Fig. 9). Como se considerará más adelante, las MAP quinasas se encargan de introducir la señal en el núcleo. El rasgo más característico de estas quinasas, que se descubrieron alrededor de 1990, es que se activan por fosforilación de un residuo de treonina y otro de tirosina, separados por un aminoácido variable. Poco después, se encontró que unas quinasas semejantes, que tenían también un destino final en el núcleo celular, se activaban como consecuencia de diversos factores de estrés. Se las comenzó a denominar SAP (*stress-activated protein*) quinasas. Algunas veces, dada su similitud funcional —casi todas las propiedades que se comentarán a continuación son comunes a las MAP y SAP quinasas— se engloban todas bajo el genérico nombre de MAP quinasas.

En 1992 se conocían sólo 4 MAP quinasas (229), pero ocho años más tarde ya se conocían 13 (230). Las MAP y SAP quinasas se distribuyen, por lo menos, en seis rutas, cuyos intermediarios son bien conocidos. El módulo fundamental de una ruta de señalización de MAP quinasas contiene una cascada muy conservada de tres elementos, que son otras tantas proteína quinasas. El primer elemento *aguas abajo* en la cascada es la propia MAP quinasa. Para que se active, se requiere la actuación del segundo elemento de ese módulo fundamental, una MAP quinasa quinasa (MKK o MEK²⁵) de doble especificidad —serina/treonina y tirosina—, que es, a su vez, fosforilada por el tercer elemento, una MAP quinasa quinasa quinasa (MKKK o MEKK). De esta manera, se produce una amplificación de la señal original, que hace posible la respuesta fisiológica final ejecutada por las MAP o SAP quinasas. Para ello, una vez fosforiladas, se traslocan al núcleo, donde fosforilan a su sustrato, ordinariamente un factor transcripcional. A veces, la cascada de fosforilación continúa en el interior del

²⁵ El acrónimo MEK deriva de *MAP/ERK kinase* y alude al nombre de las primeras MAP quinasas caracterizadas, las ERK (*extracellular signal-regulated protein kinase*).

núcleo. Por ejemplo, la quinasa Msk-1 (*mitogen and stress-activated kinase-1*), es sustrato tanto de MAP como de SAP quinasa y, una vez fosforilada, es capaz de fosforilar directamente a la histona H3 y a otras proteínas cromosomales (231).

Pero se puede caer en una simplificación: la de pensar que todas estas rutas de señalización son lineales, que cada una comienza en un receptor y termina en una diana nuclear. Sería una visión tan simplista como la de pensar que las rutas metabólicas ocurren en un organismo vivo sin conexiones entre ellas, de esa forma *disecada* con que a menudo se las considera en los libros de texto. En algunos casos, hay redundancia entre las rutas de señalización y muy frecuentemente existe una intercomunicación entre ellas. Como acertadamente ha apuntado Gilbert, «estas rutas son simplemente las carreteras principales del flujo de información. Entre ellas, hay avenidas y calles que conectan una carretera con otra» (232). Por ejemplo, aunque en mamíferos hay unas 15 MKKKs, sólo hay 7 MKKs, muy específicas de su sustrato MAP quinasa. Por otro lado, existe una organización espacial de las cascadas, de manera que los diferentes módulos de una ruta están asociados a otras proteínas que sirven de puntos de anclaje, de forma que cada cascada pueda responder selectivamente a sus estímulos iniciales (233).

Teniendo en cuenta que ordinariamente esta respuesta ha de ser temporal, es decir, que pueda cesar cuando desaparezca el estímulo, es preciso que exista algún mecanismo que asegure la reversibilidad de los procesos y controle la duración y magnitud de la activación de las MAP quinasa. Aunque hay mecanismos de control que actúan en otros puntos de la cascada, parece claro que la regulación primordial ocurre precisamente en las propias MAP quinasa. Ya que su actividad depende de la fosforilación coincidente de los dos residuos —treonina y tirosina— críticos, basta la hidrólisis de uno de los ésteres fosfóricos para que la quinasa se inactive. A tal fin existe una amplia variedad de MAP quinasa fosfatasa. Hay, por lo menos, nueve fosfatasa capaces de desfosforilar tanto treonina como tirosina, tres específicas de tirosina y dos de treonina (230). Las bases moleculares de la especificidad se han aclarado en algunos casos (234). La existencia de proteínas adaptadoras, como Cbl, que reconocen las tirosinas fosforiladas del dominio C-terminal de los receptores y, al mismo tiempo, tienen la capacidad de unirse a múltiples proteínas, puede desencadenar también una ruta de señalización negativa que modula la respuesta al estímulo inicial (235).

Por lo comentado hasta aquí, se echa de ver que las rutas de señalización en la transducción de señales desde los receptores de factores de

crecimiento o de estrés hasta el núcleo presentan una extremada complejidad. Pero ésta es aún superior. Recientemente se ha comprobado que los propios receptores de membrana, tras su interacción con su ligando, pueden introducirse en el interior de la célula por endocitosis²⁶. Este fenómeno es funcional en la generación de una ruta de señalización (236, 237) e implica la translocación al núcleo del complejo receptor-ligando tanto intacto como tras proteólisis parcial (238). ¿Qué papel puede desempeñar el receptor en el núcleo? Al menos en un caso, el del receptor de EGF, parece que actúa como factor transcripcional y es capaz de reconocer, al menos *in vitro*, secuencias específicas de DNA (239). Se ha postulado también la posibilidad de que, puesto que los complejos receptor-ligando poseen actividad enzimática de tirosina quinasa, puedan actuar en el núcleo fosforilando algún sustrato (238).

Es menester volver a considerar ahora que el efecto final de estas rutas de señalización es precisamente la activación transcripcional. Ordinariamente, muchos autores acentúan el hecho, ya apuntado, de que las MAP quinasas, una vez activadas en el núcleo, son capaces de fosforilar factores transcripcionales. Indudablemente, se trata de algo que puede dar lugar a una transcripción específicamente regulada. Pero no olvidemos que, en eucariotas, la regulación de la transcripción no puede contemplarse sin considerar la organización de la cromatina. En efecto, no se transcribe un DNA desnudo, sino la cromatina, que —ya se ha comentado suficientemente— tiene que remodelarse y cuyas histonas tienen que modificarse. No cabe duda de que la propia unión de factores transcripcionales a su promotor diana puede actuar como cebador para reclutar complejos de remodelación o de modificación de histonas en la línea apuntada en los modelos de la figura 11 y recientemente se han obtenido datos valiosos en este sentido. Por ejemplo, se han precisado los mecanismos por los que el complejo SWI/SNF se une a los promotores (240) y se ha encontrado el primer dato sobre el reclutamiento de complejos de remodelación, dirigido por activadores transcripcionales, sobre la región codificante de los genes, reclutamiento necesario para facilitar la elongación de la transcripción (241).

Por otro lado, recientemente se ha puesto de manifiesto que la acetilación de histonas en un promotor se induce como consecuencia de la unión de un factor de crecimiento a su receptor. Concretamente, se trata

²⁶ La “internalización” se conocía desde hace tiempo como parte del mecanismo de transducción de la señal por parte de algunos receptores, como el de la insulina. Lo novedoso es que este mecanismo tenga lugar también en el caso de factores de crecimiento.

del promotor de *MAT2A*, al que ya ha habido ocasión de aludir anteriormente. El gen se induce tempranamente como consecuencia de la adición de HGF, el factor de crecimiento hepático, a un cultivo primario de hepatocitos y, en paralelo con el inicio de la transcripción, se puede detectar la hiperacetilación de H4 en su promotor, acetilación que requiere la actividad tirosina quinasa del receptor (164). La cascada de señalización que interviene en la inducción de la acetilación se ha identificado recientemente (242), aunque aún se desconoce el último eslabón que media entre la entrada en el núcleo de la MAP quinasa, en este caso ERK1/ERK2, y la acetilación de H4. Una hipótesis plausible es que, como ocurre en todos los genes de inducción inmediata-temprana tras estímulos mitogénicos, la proteína quinasa Msk-1, a su vez fosforilada por las MAP quinastas, fosforile la serina 10 de H3 (231), fosforilación que va, en este caso, seguida de la acetilación de la lisina 14 de la misma histona (201). Pero si esto es así, habría que justificar el porqué del reclutamiento de Msk-1 sobre el promotor de *MAT2A* o, dicho de otro modo, sería necesario explicar la causa de que la primera señal sobre la cromatina, en este caso la fosforilación de H3, se introduzca en el lugar adecuado. Al fin y al cabo, sigue pendiente la cuestión que se planteó resumida en la figura 11. De todos modos, lo importante es que, aunque sigan presentándose múltiples interrogantes, ya se acierta a ver una luz al final de ese camino que va desde los receptores de membrana hasta el núcleo y, una vez allí, termina en la activación génica.

Una nueva integración: hacia la visión global de la regulación

No sería acertado pasar por alto una realidad implícita en ese «ver una luz al final del camino» a que acabamos de aludir. Esa realidad es que, como consecuencia de las investigaciones que se han resumido, se han integrado dos mecanismos de regulación: el de los genes eucarióticos y el de las cascadas de señalización. Integración que ha permitido vislumbrar eslabones comunes y semejanzas notables entre procesos aparentemente diversos. Implícitamente, también, se integra en todo este entramado la regulación alostérica. Sin ir más lejos, la respuesta a una señal mitogénica se inicia como consecuencia de la unión de un ligando a su receptor, que aumenta su actividad de tirosina quinasa. Se trata de un caso más de regulación alostérica, en la que la interacción con un ligando en el ectodominio da lugar a un cambio de actividad de un centro catalítico situado en otro lugar, en un dominio intracelular. El resultado es que un fenómeno

extraordinariamente complejo, como la propia existencia de numerosas rutas de señalización interdependientes, que controlan múltiples procesos intracelulares y son, a su vez, controladas por mecanismos muy variados, se puede describir en forma de conceptos relativamente simples.

En realidad, esto es una consecuencia del desarrollo científico. Casi siempre que las ciencias han llegado a acumular tantos datos que se antojaba imposible una visión de conjunto, ha surgido una teoría unificadora que ha permitido captarlos de una forma simplificada y global. Pensemos, por ejemplo, en el desarrollo de la Química. Cuando a finales del siglo XIX la prolija descripción de los elementos químicos impedía contemplarlos en su conjunto, surge la organización propuesta por Mendeleev, que no sólo simplifica la comprensión de sus propiedades, sino que permite predecir las de elementos nuevos, como en los conocidos casos del galio, el escandio y el germanio. A este propósito, es significativo mencionar que el bioquímico Finn Wold empezaba en 1971 un libro sobre estructura y función de macromoléculas con el siguiente párrafo:

«Podría ser útil empezar con unas pocas palabras acerca de los modelos. Algún día, tal como venga determinado por la necesidad y por los conocimientos, un Mendeleev de la biología construirá una tabla periódica de los elementos de la vida y el complejísimo mundo de los organismos vivos podría quedar entonces magníficamente clasificado de acuerdo con los equivalentes biológicos de valencia y peso atómico. Estos equivalentes deberán basarse necesariamente en una definición precisa tanto de la estructura como de la función y requerirán una impresionante acumulación de datos» (243)

Posiblemente, se puede decir que esa impresionante acumulación de datos se está dando en las últimas décadas y, aunque no se vislumbre próxima esa gran integración con que soñaba Wold, sí que se puede decir que la Biología está experimentando integraciones parciales muy importantes. La modelización, por ejemplo, constituye una vía de integración extremadamente importante que, aunque no sea nueva, sí se puede decir que ha alcanzado cimas importantes. No es nueva, en efecto, la modelización, y en el presente discurso ya hemos tenido ocasión de aludir, por ejemplo, a los modelos alostéricos, surgidos hace casi 40 años; hemos podido entrever su admirable sencillez y hemos contemplado la «controversia creativa» a que dieron origen. También ahora están surgiendo modelos que pueden permitir una notable clarificación de los más complejos procesos de regulación

que se han tratado en las líneas precedentes. Son recientes, por ejemplo, los que han abordado las complejas rutas de señalización de las MAP quinasas, pero ya permiten racionalizar cuáles han de ser los elementos necesarios —bucles positivos o negativos de retroalimentación— para que una respuesta sea limitada en el tiempo o persistente (244, 245).

Y si los modelos que eso permiten se basan fundamentalmente en tratamientos algebraicos, se ha elaborado también recientemente otro, desde un punto de vista exclusivamente estructural, que tiene en cuenta el hecho de que muchas de las proteínas implicadas en la transducción de señales están construidas a partir de diferentes combinaciones de dominios catalíticos y dominios de interacción que se relacionan entre sí, constituyendo lo que el autor del modelo denomina “alosterismo modular” (246). De la interrelación entre todos esos dominios, puede surgir el sofisticado comportamiento requerido para la función reguladora de las cascadas de señalización.

En la misma línea de lograr una simplificación integradora, aunque en un terreno diferente, el de la metodología, habría que incluir los nuevos tecnicismos experimentales que se empiezan a aplicar con fruto al problema de la regulación biológica. En efecto, ¿quién puede dudar que la genómica y la proteómica nacieron con vocación globalizante, integradora? En vez de considerar este o aquel gen, la genómica, por ejemplo, contempla la totalidad de la información genética de un organismo. O en vez de estudiar la función de unas pocas proteínas de la célula, la proteómica se refiere al conjunto de todo su complemento proteico, incluidas sus múltiples interrelaciones. Y a la sombra del genoma y del proteoma, cuya presencia en las bases de datos rebasa ya los 70.000 artículos de investigación, han surgido conceptos como el de transcriptoma, metaboloma, interactoma, secretoma, reguloma... Nada tiene de extraño que se hable en la actualidad de aproximaciones “ómicas” para referirse al conjunto de todas las metodologías experimentales que subyacen a esos conceptos o se han construido sobre ellos. Pues bien, esta incipiente investigación ha avanzado ya lo suficiente como para que haya aparecido la primera revisión sobre aproximaciones “ómicas” al problema de las rutas de señalización celular (247). Aunque se limita al empleo de técnicas habituales en genómica y proteómica, es significativo comprobar cómo se han aplicado para identificar los genes diana de la ruta JNK de MAP quinasas o los sustratos de las proteína quinasas.

Todas las anteriores consideraciones tienen perfecta cabida dentro del presente discurso. Habrá que recordar, una vez más, que estamos tomando el hilo conductor de la regulación biológica para discurrir sobre el rostro

humano de la ciencia. Por tanto, vale la pena considerar ahora hasta qué punto ese afán integrador es un rasgo humano y a ello llegaremos después de plantear una aparente paradoja. Hace más de 20 años, Ferraz llamaba la atención sobre la fragmentación de la ciencia, para concluir que «la especialización representa también una forma de enajenación. El superespecialista, encerrado en su dominio, ignora a veces otros campos e incluso el significado de la ciencia en el contexto de la existencia humana. El científico no alcanza entonces una clara conciencia de su puesto en la sociedad» (248). Hace ya mucho tiempo que la ciencia llegó a un grado de desarrollo tal que todo intento de dominar un campo científico tiene que ir acompañado del concomitante estrechamiento de sus fronteras. El saber enciclopédico deja de ser posible en la misma medida en que la ciencia progresa y, por tanto, la especialización es necesaria. Pero la especialización no tiene por qué implicar ese encerramiento en sus dominios que, por continuar con la idea de Ferraz, lleve al científico a perder la conciencia de su puesto en la sociedad. No; se puede decir con Bronowski que «la vida humana es una vida social y no hay ciencia que no sea en parte una ciencia social» (249). El científico, aún manteniendo e incrementando la profundidad de su especialización, debe tratar de remontarse por encima de la estrechez de miras, para lo cual deberá fomentar la comunicación, no sólo con otros colegas, sino también con la sociedad en general. «El investigador solitario, no tan sólo corre el riesgo de perderse si no posee una voluntad muy potente; se expone también a los riesgos de la deformación», decía D. José María Albareda, mi ilustre predecesor en la medalla número 3, en su discurso de ingreso en esta Real Academia (250). Otra forma de evadir esos riesgos es la permanente actitud de contemplar sus conocimientos — otra vez aparece la contemplación— desde una perspectiva globalizante, que los encuadre dentro del amplio marco del conocimiento humano. Procurará, si se comporta así —y no hay científico auténtico que, al menos, no lo desee—, hacer compatible el estudio de lo más complejo con la búsqueda de las generalizaciones más sencillas. Sirva como botón de muestra de esta actitud, por no apartarnos del ámbito de la regulación biológica, el reciente comentario con que los editores abrían un número de una revista de la serie *Current Opinion* dedicado monográficamente a cuestiones de regulación. Después de señalar cómo el control del desarrollo de los metazoos se ejerce fundamentalmente a través de la comunicación intercelular y de la expresión génica, concluyen:

«En los últimos años, se ha puesto un énfasis creciente en investigar la zona de contacto entre estos dos procesos de regu-

lación, dando lugar a una visión más integrada, holística, del desarrollo» (251).

O también, si se quiere, puede considerarse el ilustrativo título de una revisión sobre rutas de señalización aparecida hace años: «*The role of GTP-binding proteins in signal transduction: From the sublimely simple to the conceptually complex*» (252).

Pero, además de contribuir a que el científico no se aísle del mundo en que vive, se puede decir que esa actitud de buscar lo “sublimemente simple” dentro de lo “conceptualmente complejo” es una exigencia de la misma naturaleza humana. Lo complicado es artificial; lo natural, aunque complejo, es simple. Simple, no trivial, porque no puede confundirse la simplificación con la superficialidad. A medida que una ciencia se perfecciona, avanza hacia la simplicidad, aunque cada vez su conocimiento resulte más complejo: he ahí la paradoja. Por sólo citar un ejemplo tomado de la Física —y espero perdonen mi atrevimiento los especialistas que me escuchan— no cabe duda que decir que la totalidad de nuestro universo está constituida, aparte de la energía oscura, sólo por leptones, hadrones y radiación es mucho más simple que hablar de una interminable relación de partículas elementales; o es infinitamente más simple que referirse a unos mal definidos átomos, como haría Demócrito hace tantos siglos. Pero, al mismo tiempo, esa simplicidad se ha construido sobre una imponente complejidad de estudios, no sobre una trivial simplificación.

Falta mucho camino por recorrer hasta que se disponga de una visión de la regulación biológica tan integrada como la que se tiene hoy sobre la estructura de la materia. Pero el camino está ahí y el afán de seguir avanzando también. Seguramente ocurrirá que al llegar a una cima en ese recorrido se encuentre que hay otra montaña detrás, oculta antes a nuestros ojos. Pero ese afán de superación al que anteriormente hemos aludido hará que ese nuevo obstáculo no se contemple con desesperación, sino son la ilusión de quien tiene otro reto que vencer.

La ciencia al servicio del hombre

Llegamos al término de nuestro recorrido dual por los mecanismos de regulación biológica y por los aspectos humanos del trabajo científico. A lo largo de él, hemos visto que ese apasionante trabajo que se llama ciencia puede prestar muchos servicios al hombre. En ocasiones, se trata de pequeños servicios, como el buen humor que alegra la vida a los demás. En otros

casos, asomarse a un trabajo científico permite admirar la belleza que explosiona y se hace patente en una estructura, en un entramado de reacciones, cuando se las contempla —esa es la palabra adecuada— con ojos sencillos, que no entienden de estar *de vuelta* de las cosas. Aquí hemos visto cómo la colaboración une y permite, en aras de un beneficio científico, acentuar lo que las personas tienen en común superando lo que las distancia. Más allá, hemos podido echar de ver que la reflexión sobre el sentido de la finalidad en Biología puede entrelazar una reflexión científica con un problema epistemológico, aportando así elementos de superación de esa artificial separación entre las diferentes modalidades del saber humano. O se nos ha hecho patente que el asombroso poder de la inteligencia humana, siempre motivo de optimismo, no debe separarse de la capacidad de asombro. Y, como flotando a lo largo y a lo ancho de esta exposición, ha estado implícitamente presente la contribución que la ciencia puede hacer a la solidaridad, ese indiscutible valor humano.

De intento me he referido hasta aquí a esos servicios que la ciencia es capaz de prestar a la humanidad, porque quizá son los que nos puedan pasar más inadvertidos. En este tiempo en que nos ha tocado vivir se ha ido abriendo camino lo que se ha dado en llamar la cultura del bienestar y los científicos tenemos que felicitarnos de que las ciencias hayan contribuido de modo tan decisivo a aumentar el bienestar humano. Pero eso no significa en modo alguno que haya que colocar el bienestar como un valor supremo, si por bienestar se entiende sólo el que deriva de la satisfacción de las necesidades más materiales. Porque también conduce al bienestar el que la ciencia enseñe al hombre a contemplar la belleza, o a ser optimista, o a caminar codo con codo con quienes piensan de un modo distinto o quizá opuesto al nuestro. Ni por asomo significan estas consideraciones que no haya que valorar, y mucho, el esfuerzo que los científicos han hecho y hacen por mejorar el bienestar material del hombre. Y como exponente de esa valoración, se dedican las últimas reflexiones de este discurso a esa perspectiva.

Toda ciencia, cada una a su modo, es capaz de prestar grandes servicios al bienestar material de la humanidad. Esto es cierto incluso para las disciplinas más abstractas, de las que, con frecuencia, han surgido aplicaciones de innegable interés práctico. Cuando Boole, a mediados del siglo XIX, construía su álgebra binaria nadie podía pensar que se estaban echando los cimientos del gigantesco edificio que es hoy la informática. Esta consideración, sobradamente conocida, viene como anillo al dedo en este momento, porque la trayectoria que han seguido las investigaciones sobre los mecanismos de regulación biológica que hasta aquí se han referido, se nos

podría antojar algo tan básico —de hecho, no ha aparecido ningún comentario sobre su potencial aplicación—, que no tuviera apenas alcance práctico. Y ese alcance no está en un horizonte aún lejano, sino que ya está hecho realidad en muchos casos. Por su impacto, y por su indudable interés humano, me remitiré tan sólo a las aplicaciones que el conocimiento de todos estos mecanismos de regulación está empezando a tener en el área sanitaria.

Un primer ejemplo viene dado por la regulación de la glucógeno fosforilasa hepática, en la que nos hemos detenido anteriormente. Tuvimos entonces ocasión de ver que las indol-2-carboxamidas se unen en una localización distinta del centro activo, pero también del sitio alostérico del AMP y dan lugar a una estabilización la conformación T de la enzima (60, 61). Puesto que la inhibición de la esa enzima constituye una posibilidad farmacológica para el tratamiento de la diabetes no insulino dependiente, se han comenzado a explorar las posibilidades farmacológicas de este hallazgo.

Si nos hemos de referir a las cascadas de señalización, algunos datos nos pueden alertar sobre el interés biomédico de su conocimiento profundo. Por ejemplo, el agente esencial causante de la virulencia de la peste bubónica es una proteína fosfatasa codificada por el genoma de bacterias del género *Yersinia* (253). La infección provoca de esta manera una desfosforilación incontrolada de fosfotirosina que, como consecuencia del importante papel de la modificación de ese aminoácido en las cascadas de señalización, resulta letal. No es éste, ni mucho menos, el único caso en que una perturbación de la fosforilación de proteínas implicadas en rutas de señalización celular se encuentra en la base molecular de un proceso patológico. A finales del siglo que acaba de terminar, se conocían ya otras toxinas de diversos orígenes cuya acción primaria es la inhibición de fosfatasas y se sabía de la existencia de 15 enfermedades hereditarias causadas por alteraciones genéticas en varias proteína quinasas o fosfatasas (254). La posibilidad de generar fármacos antiinflamatorios basados en el conocimiento de las rutas de MAP quinasas constituye también una atractiva y reciente línea de investigación en Farmacología (255).

Pero, sin duda, donde se proyecta con más fuerza la dimensión biomédica de los aspectos que, sobre la regulación biológica, hemos tratado en este discurso, es en el campo de la Oncología. El cáncer es actualmente la segunda causa de muerte en el mundo desarrollado, sólo detrás de las enfermedades cardiovasculares. Como media, llega a afectar de una forma u otra a uno de cada tres individuos en los países desarrollados y es la causa de uno de cada cinco casos de fallecimiento. Individual y socialmente, el

cáncer sigue siendo hoy la más temida de las enfermedades. Es lógico, por ese motivo, que tanto el desarrollo de la investigación básica en oncología, como las potencialidades de su aplicación terapéutica constituyan uno de los temas favoritos de la biomedicina.

La conexión entre alteraciones de las rutas de señalización y enfermedades neoplásicas es evidente, y se advirtió desde los inicios de la investigación en este campo. En primer lugar, las señales extracelulares inducen en muchos casos, como el de los factores de crecimiento, la proliferación celular. En otras palabras, hacen que células diferenciadas abandonen su estado quiescente, para iniciar el ciclo celular. En los términos habituales de la *Biología Celular*, es lo que se denomina transición G_0 - G_1 , que para muchos autores constituye el punto clave de regulación del ciclo celular, ya que representa el momento en que una célula comienza unidireccionalmente un proceso de proliferación. Es cierto que, una vez iniciado el ciclo, existen en él varios puntos de control y que su progreso viene determinado por la actuación de numerosos factores, entre los que los procesos de fosforilación juegan también un papel fundamental. Por supuesto, los errores en ese control pueden conducir a transformaciones neoplásicas (256). Por estos motivos, no es de extrañar que muchos tipos de cáncer estén asociados con alteraciones en las rutas que, desde los receptores de factores de crecimiento, transducen su señal hasta el núcleo celular. Y, como en estas rutas, de un modo u otro, se integran la práctica totalidad de los mecanismos de regulación considerados en las líneas precedentes, esas alteraciones pueden afectar a un aspecto u otro de esos mecanismos.

En bastantes tipos de cáncer se da, por ejemplo, una sobreexpresión de los genes que codifican los propios receptores de factores de crecimiento (257). En otros, es una alteración del receptor, cuya actividad tirosina quinasa se hace constitutiva, el factor desencadenante del cáncer (258). Por eso, no es extraño que se estén haciendo esfuerzos encaminados a utilizar la inhibición de los receptores con actividad de tirosina quinasa como terapia antitumoral. De hecho, varios fármacos se encuentran en experimentación clínica. Entre ellos, vale la pena destacar, por el avanzado estado de los ensayos, el empleo de un anticuerpo monoclonal dirigido al ectodominio del receptor de EGF y el de una quinazolina que interacciona con el sitio de unión de ATP en el dominio de tirosina quinasa del mismo receptor (256, 257).

Es obvio que puede dirigirse también la terapia antitumoral contra componentes de las cascadas de señalización aguas abajo del receptor. Precisamente, algunos de los componentes de rutas de señalización se identificaron inicialmente como productos de oncogenes. Por sólo citar un

ejemplo significativo, tal es el caso de la quinasa Ras, una proteína G²⁷ que aparece mutada con mucha frecuencia en diversos tumores. Ras tiene que desplazarse a la membrana para recibir la señal del receptor y para ese proceso requiere una previa prenilación, modificación covalente que añade un isoprenoide a la proteína (259). Pues bien, en 2001 se iniciaron los ensayos clínicos de inhibición de la farnesiltransferasa, la enzima que cataliza esa prenilación, en casos de leucemia mieloide aguda (260). La lógica subyacente a estos ensayos es clara: si no se produce la prenilación, Ras no puede migrar a la membrana y, por tanto, deja de transducir la señal y la cascada se interrumpe.

Por otro lado, como quiera que la progresión de un tumor está inversamente relacionada con la ejecución de su programa de muerte celular, la inducción específica de apoptosis se ha considerado clásicamente como una posibilidad de terapia antitumoral. Muchos oncogenes y genes supresores de tumores actúan precisamente en las rutas de señalización que conducen a la apoptosis, cuyo conocimiento, aunque aún incompleto, ha ido mejorando gradualmente²⁸. Este es el motivo por el que se han comenzado ya a sentar las bases para la interferencia en esas rutas apoptóticas con fines terapéuticos (261).

Pero, con toda la importancia que tienen las antedichas estrategias antitumorales, las perspectivas más prometedoras se abren actualmente en torno a la modificación de histonas y a la remodelación de la cromatina, es decir, en el mismo punto de destino de la señal. Hace mucho tiempo que parecía evidente que la transformación cancerosa estaba relacionada con alteraciones en los mecanismos de regulación transcripcional, dado el elevado número de genes cuya expresión resulta alterada en los procesos neoplásicos. Pero en 1998 aparecieron, casi simultáneamente, tres publicaciones en las que se demostraba que la forma hipofosforilada de pRb —una proteína importante en la regulación del ciclo celular— es capaz de reclutar al menos dos histona desacetilasas, HDAC1 y HDAC2, (262-264). De esa forma se advirtió con claridad que la relación entre cáncer y defectos en la transcripción, pasaba a través de la estructura de la cromatina. Aunque, en realidad, no se tratara estrictamente

²⁷ Reciben este nombre unas proteínas capaces de unir GTP/GDP, que se encuentran presentes en muchas cascadas de señalización. En el caso concreto de las iniciadas en receptores de estrés o de factores de crecimiento, las proteínas G actúan entre el receptor y las MAP quinazas.

²⁸ En un artículo ya mencionado (187), correspondiente al Programa de Promoción de la Cultura Científica, el Prof. Martín Municio revisó los aspectos más importantes de estas rutas.

tamente de una sorpresa, toda vez que no puede contemplarse la regulación de la transcripción en eucariotas haciendo abstracción de la organización de la cromatina, la enorme trascendencia de la enfermedad cancerosa hizo que en el número de la revista *Nature* en que aparecieron dos de los tres artículos que se acaban de citar, se publicara una nota editorial comentando la conexión entre cáncer y cromatina (265). Desde entonces, la bibliografía sobre las bases moleculares de esta conexión es extensísima, como lo prueba la publicación de decenas de revisiones al respecto (ver, p. ej., las referencias 266-268). Otro botón de muestra del interés de este aspecto es que el comentario que apareció en la revista *Trends in Genetics* sobre el 93° Congreso de la *American Association for Cancer Research*, celebrado el año pasado, llevaba el título de “*Cancer: the chromatin connection*” (269).

Desde hace algún tiempo, se conocían empíricamente las propiedades antitumorales de algunos compuestos que, antes o después, se identificaron como inhibidores de las HDACs. El hallazgo que se acaba de mencionar sobre la interacción de pRb con esas enzimas proporcionó una explicación funcional a tal hecho y, al mismo tiempo, orientó la búsqueda sistemática de otros inhibidores de desacetilasas como agentes antitumorales (270, 271). Un reto importante en esta investigación es la superación de la falta de especificidad. Ya se ha avanzado en el diseño de inhibidores específicos de distintas clases de HDACs (272) y con algunos de estos compuestos se han comenzado los ensayos clínicos (273), por lo que el potencial terapéutico de la alteración farmacológica de la acetilación de histonas es prometedora (274). Pero la conexión funcional que se da entre la acetilación y otras modificaciones covalentes de las histonas o la metilación del propio DNA ha hecho que se hayan explorado también las posibilidades terapéuticas de los que se ha comenzado a llamar “fármacos epigenéticos” (275), entendiendo como tales los que potencialmente pueden restablecer el *código epigenético* alterado en procesos neoplásicos. De este modo se está empezando a considerar que la modificación de histonas puede constituir la base de una nueva ola en la terapéutica antitumoral (276). Y, como la remodelación de la cromatina es, junto con la modificación de histonas, un paso necesario para la transcripción, puede esperarse también que alteraciones en la actuación de los complejos de remodelación den lugar a la aparición de transformaciones neoplásicas, al conducir a un patrón de expresión génica erróneo. No se trata tan sólo de una suposición plausible; las mutaciones en hSNF5-INI1, un componente del complejo de remodelación humano SWI-SNF, son características de varios tipos de tumores (277, 278). El conocimiento del papel exacto de esa subunidad del com-

plejo de remodelación, del que aún no se dispone, permitirá diseñar de modo racional agentes terapéuticos adecuados (266). Mención aparte merece el interés que ha despertado el hallazgo de que varias enfermedades hereditarias, que cursan con retardo mental, como la α -talasemia, el síndrome de Rett, el síndrome de Coffin-Lowry y el síndrome de Rubinstein-Taybi estén causadas por anomalías en la remodelación de la cromatina (279).

¿Cuál es la causa de esta plétora de información y de prometedores resultados que, cara a la terapia del cáncer se están desarrollando en los últimos años sobre una línea de trabajo que parecía eminentemente básica? Probablemente se deba a que prácticamente todos los investigadores tienen un noble empeño por prestar un servicio a la humanidad, de modo que siempre están ojo avizor para no pasar por alto un hallazgo que pueda derivar hacia una aplicación práctica en bien de los demás. Es cierto que no han faltado, por desgracia, quienes han utilizado, consciente o inconscientemente, la ciencia en contra del ser humano o de su dignidad, y que, como decía Sir Joseph Rotblat, galardonado con el premio Nobel de la paz en 1995,

«La creatividad de la ciencia se ha empleado en detrimento de la humanidad. La aplicación de la ciencia y tecnología al desarrollo y fabricación de armas de destrucción masiva ha creado un auténtico riesgo para la existencia de la raza humana en este planeta» (280).

Y aunque este riesgo es una de las causas que provocan el que algunos miren con desconfianza a la ciencia, son más numerosos, muchísimo más sin duda, los científicos que desean el bien de sus semejantes que los que no piensan en ello. Pensar en el bien de los demás, antes que en el beneficio propio puede parecer una postura demasiado idealista en esta época caracterizada, lo hemos visto antes, por una tremenda competitividad. Pero, a mi parecer, sigue siendo necesario para mostrar a la humanidad el rostro humano de la ciencia.

Estamos entrando en un punto crucial. Acabamos de ver cómo la actividad científica puede constituirse en un servicio a los demás o algo en beneficio propio, cuando no en detrimento de la humanidad. Y es que si bien la ciencia, en abstracto, podría considerarse como algo éticamente neutro, no lo es el ejercicio científico, como actividad humana que es. Precisamente en este mismo lugar, mi inolvidable maestro, Ángel Martín Municio, decía al iniciarse el curso 1980-1981:

«Por *moral* significamos una reflexión científica y sistemática sobre el conjunto de la actividad humana, que va a dar una apreciación de su bondad —o malicia— intrínseca, según su acuerdo o desacuerdo con las exigencias del ser humano (...) Las ciencias que tienen su propio objeto y su método son autónomas, es decir, tienen su bondad y su valor intrínsecos en su saber particular y este valor depende de la verdad que ellas ofrecen. (..) Pero, la actividad científica (los experimentos, el trabajo teórico y sintético) es una actividad del hombre; el hombre es responsable de lo que hace y, de esta manera, la actividad científica cae bajo su moral. Por otro lado, el hombre, el científico, no tiene la misma libertad de opción en la práctica de una ciencia que en el ejercicio de la mayor parte de las actividades humanas, ya que la ciencia —por su definición misma— es el conocimiento de las causas, las estructuras, las cosas, los dinámicos presentes en ellas; es, pues, un universo objetivo que el hombre puede explorar pero en el cual tiene que reconocer la verdad. Una ciencia tiene sus métodos que es preciso emplear y que no se deducen de consideraciones morales, sino que nacen únicamente de las exigencias de su objeto.

»Sin embargo, el científico no puede utilizar su ciencia contra el bien de la humanidad, debe respetar los derechos de cada persona humana y no puede sacrificar esos derechos a los fines de la investigación. Ya hemos visto cómo a medida que las aplicaciones de una ciencia se hacen más y más importantes, y cuando la ciencia —como la biología— concierne más inmediatamente con la vida humana, la moral se ha de pronunciar más sobre el trabajo científico» (281).

Espero se me disculpe la larga cita de mi maestro, pero pienso que difícilmente se pueden expresar las cosas con mayor claridad. El viejo principio de que *no todo lo técnicamente posible es éticamente admisible* no sólo sigue teniendo vigencia, sino que en nuestros días la necesidad de su aplicación se hace patente sin más que abrir las páginas de la prensa diaria. Afortunadamente, se observa una creciente sensibilidad ética, y en el caso de las disciplinas biológicas, que como señalaba también el Prof. Martín Municio requieren un mayor pronunciamiento de la moral, esa sensibilidad ha dado origen a una joven y pujante área de conocimiento. Todos habrán advertido ya que me refiero a la Bioética. Es mucho lo que está diciendo y lo que habrá de decir esta naciente disciplina para que el ejercicio de la

ciencia respete en todo momento los derechos humanos. Y, como la inviolabilidad de éstos se fundamenta, a su vez, en la consideración de la dignidad de la persona humana, una de esas realidades que van más allá de lo que pueden alcanzar las ciencias experimentales, el debate bioético ha de ser forzosamente multidisciplinar. Y tiene que ser un debate optimista. El hombre no es incapaz de resolver los dilemas éticos a los que se ve enfrentado. La inteligencia humana ha superado retos impresionantes, una muestra —mínima— de los cuales hemos tenido ocasión de contemplar a lo largo de nuestro recorrido por los caminos de la regulación biológica. La buena voluntad de todos hará, sin duda posible superar también los obstáculos y allanar el camino para que el progreso ético corra parejo al progreso científico. Es obvio que también así brillará más y mejor el rostro humano de la ciencia.

No me resisto a transcribir unas palabras que, a propósito de quien fuera ilustre miembro de esta Corporación, D. Florencio Bustinza, escribió el Prof. Laín Entralgo en 1961:

«Para definir concisa y canónicamente la condición del técnico, los antiguos solían valerse de una fórmula tópica, consistente en hacer de la expresión *vir bonus* el género próximo de la definición. El orador sería *vir bonus dicendi peritus*; el médico, *vir bonus medendi peritus*, y así los demás. Tal proceder tiene un flanco muy vulnerable: su exclusivo y abusivo masculinismo. ¿Es acaso aceptable una definición del técnico que no incluya la figura de Mme. Curie? Hecha esta salvedad, la fórmula es bien plausible, porque exige que la bondad del hombre sirva de plinto a la pericia del experto.

»Fiel, pues, a la vieja norma, diré que mi compañero Florencio Bustinza es *vir bonus physiologizandi peritus*» (282).

Por supuesto, podemos oír con legítimo orgullo la alabanza que Laín Entralgo dirigía a un Académico de esta Casa, pero, además, sus palabras permiten terminar nuestra reflexión fijándonos en esa exigencia de que «la bondad del hombre sirva de plinto a la pericia del experto». Si, de verdad, queremos contribuir a mostrar el rostro humano de la ciencia a los demás —nuestros alumnos, nuestros colegas, la sociedad entera—, hemos de procurar que nuestro quehacer científico se apoye sobre un comportamiento íntegro, también desde un punto de vista humano.

CONCLUSIÓN

He de terminar; no quiero abusar más de vuestra paciencia. Iniciaba mi discurso con agradecimientos y de la misma forma deseo terminarlo. Soy plenamente consciente de que para estar hoy aquí, yo he contribuido sólo mínimamente. Es, por tanto, de justicia que dé gracias públicamente a quienes han puesto casi todo. En primer lugar, a mis padres. A ellos debo la mayor parte de lo que soy en todos los órdenes. Hace ya muchos años que mi padre terminó su andadura en este mundo, pero me cabe la satisfacción de decir que mi madre, recién cumplidos los 100 años, sigue estando entre nosotros y puede recoger mi emocionado agradecimiento a ella y a mi padre.

De justicia es, también, que haga aquí una agradecida referencia a tantos buenos profesores del Colegio Sagrada Familia de Madrid en el que me eduqué, y utilizo de intento esta palabra para recalcar el sentido integral de la enseñanza. Y, sin que eso signifique menoscabo de la sacrificada labor de los demás, quisiera señalar particularmente a dos de ellos: el Hermano Bernardino, de quien aprendí tantos hábitos de trabajo y D. Patricio Astillero, mi profesor de Química, cuya atractiva presentación de esta ciencia hizo que mi futuro profesional se decantara hacia ella.

Señores académicos, no sé qué apreciaríais en mí en el momento de la elección, pero hay algo de lo que me siento particularmente orgulloso: siempre he estado rodeado de excelentes colaboradores y amigos, sin quienes los méritos que pueda tener nunca lo habrían sido. En mis días, ya lejanos, de la Universidad Complutense conté con la inestimable colaboración de José Luis Barbero, Francisco Montero, Federico Morán, Rosa Nieto-Sandoval, Julián Perera, Carmen Rojo y tantos otros a quienes dirigí la tesis doctoral o trabajaron de alguna manera en mi grupo. Y tras mi

incorporación a la Universidad de Valencia pronto pude contar con un excelente grupo de colaboradores que hicieron fácil la puesta en marcha de una apasionante línea de investigación. Debo mencionar explícitamente a Gerardo López Rodas, Isabel Rodrigo y José Luis Rodríguez, con quienes tengo la suerte de seguir trabajando codo con codo. Y a los que, como Esteban Ballestar, Francisco Estruch, Juan Carlos Igual, Emilia Matallana, Marcel·lí del Olmo, Ramón Sendra, José Enrique Pérez, Luis Torres o María Ángeles Ull, se formaron en mi grupo y continúan su labor investigadora por otros derroteros.

Pero hay todavía una mención de reconocimiento que me resulta especialmente grata y dolorosa a un tiempo. Hace ahora 40 años, mediado el recorrido de mi licenciatura en Química, aún no sabía hacia dónde me encaminaría al terminarla. Pero precisamente entonces daba mis primeros pasos en el aprendizaje de la Bioquímica y, lo digo con legítimo orgullo, tuve como maestro al Prof. Ángel Martín Municio. De él aprendí qué es la Bioquímica, al tiempo que me transmitía su entusiasmo por ella. Un entusiasmo que hizo cuajar definitivamente mi vida profesional, en la que por tantos años he tenido la dicha de contar con su magisterio, con su ejemplo, con su consejo y con su amistad, de modo que su nombre queda indeleblemente escrito en el libro de mi vida. Pero ocurre a veces que ese libro se abre por la página del dolor, y tal ocurrió el 23 de noviembre del pasado año, cuando el Prof. Martín Municio nos dejó. Es lógico que los que seguimos aquí sintamos el dolor de vernos privados de su presencia, pero para un creyente —y Ángel Martín Municio lo era— la vida no termina con la muerte. Por eso, estoy convencido de que puede recoger mi agradecimiento y puedo terminar este discurso diciendo: por tantas cosas, ¡muchas gracias, D. Ángel!

BIBLIOGRAFIA

1. GUTIÉRREZ RÍOS, E. (1970) *José María Albareda. Una época de la cultura española*. CSIC, Madrid.
2. RIVAS MARTÍNEZ, S. (1985) *Biogeografía y Vegetación*. Discurso de ingreso, Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Madrid.
3. MARÍAS, J. (1998) *Antropología metafísica*. Alianza Editorial, Madrid.
4. RAMÓN Y CAJAL, S. (1897) *Fundamentos racionales y condiciones técnicas de la investigación biológica*. Discurso de ingreso, Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Madrid.
5. YEPES STORK, R. (1996) *Fundamentos de Antropología. Un ideal de la excelencia humana*. EUNSA, Pamplona.
6. FELL, D. (1997) *Understanding the Control of Metabolism*. Portland Press, London.
7. HOFMEYR, J. Y CORNISH-BOWDEN, A. (1991) Quantitative assessment of regulation in metabolic systems. *Eur. J. Biochem.* **200**, 223–236.
8. YATES R. A. Y PARDEE, A. B. (1956) Control of pyrimidine biosynthesis in *Escherichia coli* by a feed-back mechanism. *J. Biol. Chem.* **221**, 757–770.
9. UMBARGER, H. E. (1956) Evidence for a negative feed-back mechanism in the biosynthesis of isoleucine. *Science* **123**, 848.
10. JUDSON, H. D. (1979) *The Eighth Day of Creation. The makers of the revolution in Biology*. Simon & Schuster, New York.
11. NOVICK, A. Y SZILARD, L. (1954) en *Dynamics of Growth Processes*, p. 21. University Press, Princeton.
12. AVERY, O. T., McLEOD, C. M. Y McCARTY, M. (1944) Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types. *J. Exp. Med.* **79**, 137–158.
13. WATSON, J. D. Y CRICK, F. H. C. (1953) Molecular structure of nucleic acids. A structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature* **171**, 737–738.
14. CRICK, F. H. C. (1958) Protein synthesis. *Symp. Soc. Exp. Biol.* **12**, 138–163.
15. MONOD, J. (1972) From enzymatic adaptation to allosteric transitions, en *Nobel Lectures, Physiology and Medicine 1963-1970*, pp. 188–209. Elsevier, Amsterdam.

16. RICKENBERG, H. V., COHEN, G. N., BUTTIN, G. Y MONOD, J. (1956) Galactoside-permease d'*Escherichia coli*. *Ann. Inst. Pasteur* **91**, 829–857.
17. JACOB, F. (1954) *Les Bactéries Lysogènes et la Notion de Provirus*. Masson et Cie. Paris.
18. JACOB, F. (1972) Genetics of the bacterial cell, en *Nobel Lectures, Physiology and Medicine 1963-1970*, pp. 148–171. Elsevier, Amsterdam.
19. PARDEE, A. B., JACOB, F. Y MONOD, J. (1958) Sur l'expression et le rôle des allèles «inductible» et «constitutif» dans la synthèse de la β -galactosidase chez des zygotes d'*Escherichia coli*. *Compt. Rend.* **246**, 3125–3128.
20. PARDEE, A. B., JACOB, F. Y MONOD, J. (1959) The genetic control and cytoplasmic expression of inducibility in the synthesis of β -galactosidase by *Escherichia coli*. *J. Mol. Biol.* **1**, 165–178.
21. JACOB, F. Y MONOD, J. (1961) Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins. *J. Mol. Biol.* **3**, 318–356.
22. BOURGEOIS, S., COHN, M. Y ORGEL, L. (1965) Suppression of and complementation among mutants of the regulatory gene of the lactose operon of *Escherichia coli*. *J. Mol. Biol.* **14**, 300–302.
23. KÉPÈS, A. (1960) Études cinétiques sur la galactoside-perméase d'*Escherichia coli*. *Biochim. Biophys. Acta* **40**, 70–84.
24. KÉPÈS, A. (1963) Kinetic of induced enzyme synthesis determination of the mean life of galactoside-specific messenger RNA. *Biochim. Biophys. Acta* **76**, 293–309.
25. MONOD, J. Y JACOB, F. (1961) Teleonomic mechanism in cellular metabolism, growth, and differentiation *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* **26**, 389.
26. CHANGEUX, J. P. (1961) Feedback control mechanism of L-threonine deaminase by L-isoleucine. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* **26**, 313–318.
27. CRANE, R. K. Y SOLS, A. (1954) The non-competitive inhibition of brain hexokinase by glucose-6-phosphate and related compounds. *J. Biol. Chem.* **210**, 597–606.
28. MONOD, J., CHANGEUX, J. P. Y JACOB, F. (1963) Allosteric proteins and cellular control systems. *J. Mol. Biol.* **6**, 306–329.
29. CORI, G. T., COLOWICK, S. P. Y CORI, C. F. (1938) The action of nucleotides in the disruptive phosphorylation of glycogen. *J. Biol. Chem.* **123**, 381–393.
30. MONOD, J., WYMAN, J. Y CHANGEUX, J. P. (1965) On the nature of allosteric transitions: A plausible model. *J. Mol. Biol.* **12**, 88–118.
31. KOSHLAND, D., NÉMETHY, G. Y FILMER, D. (1966) Comparison of experimental binding data and theoretical models in proteins containing subunits. *Biochemistry* **5**, 365–385.
32. CHANGEUX, J. P. (1993) Allosteric proteins: from regulatory enzymes to receptors –personal recollections. *BioEssays* **15**, 625–634.
33. CHANGEUX, J. P. Y EDELSTEIN, S. J. (2001) Allosteric mechanisms in normal and pathological nicotinic acetylcholine receptors. *Curr. Opin. Neurobiol.* **11**, 369–377.
34. KARDOS, J. Y NYIKOS, L. (2001) Universality of receptor channel responses. *Trends Pharmacol. Sci.* **22**, 642–645.

35. HOROVITZ, A., FRIDMANN, Y., KAFRI, G. Y YIFRACH, O. (2001) Allostery in chaperonins. *J. Struct. Biol.* **135**, 104–114.
36. LUQUE I., LEAVITT S. A. Y FREIRE, E. (2002) The linkage between protein folding and functional cooperativity: two sides of the same coin? *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **31**, 235–256.
37. KHAITLINA, S. Y. (2001) Functional specificity of actin isoforms. *Int. Rev. Cytol.* **202**, 35–98.
38. EIGENBROT, C. Y KIRCHHOFER, D. (2002) New insight into how tissue factor allosterically regulates factor VIIa. *Trends Cardiovasc. Med.* **12**, 19–26.
39. HENRY, E. R., JONES, C. M., HOFRICHTER, J. Y EATON, W. A. (1997) Can a two-state MWC allosteric model explain hemoglobin kinetics? *Biochemistry* **36**, 6511–6528.
40. PRIGOGINE, I. Y STENGERS, I. (1979) *La Nouvelle Alliance. Métamorphose de la Science*. Gallimard, Paris. Traducción castellana, *La nueva alianza. Metamorfosis de la ciencia*, Alianza Editorial, Madrid, 1983.
41. MONOD, J. (1970) *Le Hasard et la Nécessité. Essai sur la Philosophie Naturelle de la Biologie Moderne*. Ed. du Seuil, Paris. Traducción castellana, *El azar y la necesidad. Ensayo sobre la filosofía natural de la biología moderna* Barral, Barcelona, 1970.
42. PRIMO YÚFERA, E. (1981) *La investigación: un problema de España*. Caja de Ahorros de Valencia, Valencia.
43. GARFIELD, E. (1988) The most-cited 1986 life-sciences articles highlight cell-surface receptors, tumor necrosis factor and AIDS research. *Current Contents Life-Sci.* **31**, 3–16.
44. MIRANDA, G. (1994) Fundamentos éticos de la bioética personalista. *Cuadernos de Bioética* **17-18**, 49–62.
45. LÓPEZ QUINTÁS, A. (1968) *Pensadores cristianos contemporáneos*. BAC, Madrid
46. JUAN PABLO II (1998) Carta Encíclica *Fides et Ratio*.
47. CORI, G. T. Y GREEN, A. A. (1943) Crystalline muscle phosphorylase. II. Prostetic group. *J. Biol. Chem.* **151**, 31–38.
48. KORNBERG, A. (1997) Centenary of the birth of modern Biochemistry. *Trends Biochem. Sci.* **22**, 282–283.
49. GILSON, E. (1971) *D'Aristote à Darwin et retour*. Vrin, Paris. Traducción castellana, *De Aristóteles a Darwin (y vuelta)*. EUNSA, Pamplona, 1976.
50. NÚÑEZ DE CASTRO, I. (1980) Epistemología de la Bioquímica y Biología Molecular. *Pensamiento* **36**, 425–435.
51. MONOD, J. (1972) Lección inaugural de la Cátedra de Biología Molecular del Collège de France, Cuadernos Anagrama, 40, pp. 10–43. Barcelona.
52. JACOB, F. (1970) *La logique du vivant, une Histoire de l'Heredité*. Traducción castellana: *La lógica de lo viviente*, Ed. Laia, Barcelona, 1970.
53. STADTMAN, E. R. Y CHOCK, P. B. (1978) Interconvertible enzyme cascades in metabolic regulation. *Curr. Top. Cell Regul.* **13**, 53–95.
54. CÁRDENAS, M. L. (1997) Metabolic cascades: An evolutionary strategy for an integrated and sensitive response to multiple signals, en *New Beer in an Old Bottle*.

- Eduard Buchner and the Growth of Biochemical Knowledge* (ed. Cornish-Bowden, A.), pp. 159–172. Universitat de València.
55. SOLS, A. (1981) Multimodulation of enzyme activity. *Curr. Top. Cell. Regul.* **19**, 77–101.
 56. JOHNSON, L. N. (1992) Glycogen phosphorylase: control by phosphorylation and allosteric effectors. *FASEB J.* **6**, 2274–2282.
 57. SPRANG, S. Y FLETTERICK, R. J. (1979) The structure of glycogen phosphorylase a at 2.5 Å resolution. *J. Mol. Biol.* **131**, 523–551.
 58. GREGORIOU, M., NOBLE, M. E., WATSON, K. A., GARMAN, E. F., KRULLE, T. M., DE LA FUENTE, C., FLEET, G. W., OIKONOMAKOS, N. G. Y JOHNSON, L. N. (1998) The structure of a glycogen phosphorylase glucopyranose spirohydantoin complex at 1.8 Å resolution and 100 K: the role of the water structure and its contribution to binding. *Protein Sci.* **7**, 915–927.
 59. RATH, V. L., AMMIRATI, M., LEMOTTE, P. K., FENNEL, K. F., MANSOUR, M. N., DANLEY, D. E., HYNES, T. R., SCHULTE, G. K., WASILKO, D. J, Y PANDIT, J. (2000) Activation of human liver glycogen phosphorylase by alteration of the secondary structure and packing of the catalytic core. *Mol. Cell.* **6**, 139–148.
 60. OIKONOMAKOS, N. G., SKAMNAKI, V. T., TSITSANOU, K. E., GAVALAS, N. G. Y JOHNSON, L. N. (2000) A new allosteric site in glycogen phosphorylase b as a target for drug interactions. *Structure* **8**, 575–584.
 61. RATH, V. L., AMMIRATI, M., DANLEY, D. E., EKSTROM, J. L., GIBBS, E. M., HYNES, T. R., MATHIOWETZ, A. M., MCPHERSON, R. K., OLSON, T. V., TREADWAY, J. L. Y HOOVER, D. J. (2000) Human liver glycogen phosphorylase inhibitors bind at a new allosteric site. *Chem. Biol.* **7**, 677–682.
 62. BRUSHIA, R. J. Y WALSH, D. A. (1999) Phosphorylase kinase: the complexity of its regulation is reflected in the complexity of its structure. *Front. Biosci.* **15**, D618–641.
 63. PICKETT-GIES, C. Y WALSH, D. A. (1985) Subunit phosphorylation and activation of skeletal muscle phosphorylase kinase by the cAMP-dependent protein kinase. *J. Biol. Chem.* **260**, 2046–2056.
 64. NEWSHOLME, P. Y WALSH, D. A. (1992) A kinetic re-interpretation of the regulation of rabbit skeletal muscle phosphorylase kinase activity by Ca²⁺ and phosphorylation. *Biochem. J.* **283**, 845–848.
 65. HUANG, C., YUAN, C. -J., BLUMENTHAL, D. K. Y GRAVES, D. J. (1995) Identification of the substrate and pseudosubstrate binding sites of phosphorylase kinase gamma subunit, *J. Biol. Chem.* **270**, 7183–7188.
 66. OTTAWAY, J. H. (1988) *Regulation of Enzyme Activity*. IRL Press, Oxford.
 67. LEE, E. Y. C., ZHANG, L., ZHAO, S., WEI, Q., ZHANG, J., QI, Z. Q. Y BELMONTE, E. R. (1999) Phosphorylase phosphatase: New horizons for an old enzyme. *Front. Biosci.* **15**, D270–D285.
 68. COHEN, P. (1989) The structure and regulation of protein phosphatases. *Annu. Rev. Biochem.* **58**, 453–508.

69. GENOUX, D., HADITSCH, U., KNOBLOCH, M., MICHALON, A., STORM, D. Y MANSUY, I. M. (2002) Protein phosphatase 1 is a molecular constraint on learning and memory. *Nature* **418**, 970–975.
70. MARTÍ GARCÍA, M. A. (1997) *La admiración*. Ediciones Internacionales Universitarias, Barcelona.
71. ALFARO DRAKE, T. (1997) *El Señor del azar*. San Pablo, Madrid.
72. MILLÁN PUELLES, A. (1977) *El interés por la verdad*. Rialp, Madrid.
73. MORAVCSIK, M. J. (1974) Scientists and artists: motivations, aspirations, approaches and accomplishments. *Leonardo* **7**, 255–259.
74. BIRCHMORE, S. (1988) The beauty of Science. *New Scientist* **118**, 81–82.
75. KEMP, M. (2002) Seeing stains. Mary Osborn's immunofluorescence images of cellular structures. *Nature* **417**, 23.
76. WHITROW, G. J. (1969) *Einstein: el hombre y su obra*, p. 121. Siglo XXI, México.
77. FERNÁNDEZ, O. (1942) El Arte y la Fantasía en la Química. *Rev. Univ. Madrid (Ciencias)* **2**, 60–70.
78. DELANGE, R. J., FAMBROUGH, D. M., SMITH, E. L. Y BONNER, J. (1969) Calf and pea histone IV. II. Complete amino acid sequence of calf thymus histone IV; presence of N- ϵ -acetyl-lysine. *J. Biol. Chem.* **244**, 319–334.
79. DELANGE, R. J., FAMBROUGH, D. M., SMITH, E. L. Y BONNER, J. (1969) Calf and pea histone IV. III. Complete amino acid sequence of pea seedling histone IV; comparison with homologous calf thymus histone. *J. Biol. Chem.* **244**, 5669–5679.
80. HEWISH, D. R. Y BURGOYNE, L. A. (1973) Chromatin sub-structure. The digestion of chromatin DNA at regularly spaced sites by a nuclear deoxyribonuclease. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **52**, 504–510.
81. OLINS, A. L. Y OLINS, D. E. (1974) Spheroid chromatin units (v bodies). *Science* **183**, 330–332.
82. VAN HOLDE, K. E. (1989) *Chromatin*. Springer-Verlag, New York.
83. OLINS, D. E. Y OLINS, A. L. (2003) Chromatin history: our view from the bridge. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* **4**, 809–814.
84. FINCH, J. T., LUTTER, L. C., RHODES, D., BROWN, A. S., RUSHTON, B., LEVITT, M. Y KLUG, A. (1977) Structure of nucleosome core particles of chromatin. *Nature* **269**, 29–36.
85. RICHMOND, T. J., FINCH, J. T., RUSHTON, B., RHODES, D. Y KLUG, A. (1984) Structure of the nucleosome core particle at 7 Å resolution. *Nature* **311**, 532–537.
86. ARENTS, G., BURLINGAME, R. W., WANG, B. -C., LOVE, W. E., Y MOUDRIANAKIS, E. N. (1991) The nucleosomal core histone octamer at 3.1 Å resolution: a tripartite protein assembly and a left-handed superhelix. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **88**, 10148–10152.
87. LUGER, K., MÄDER, A. W., RICHMOND, R. K., SARGENT, D. F. Y RICHMOND, T. J. (1997) Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution. *Nature* **389**, 251–260.
88. RICHMOND, T. J., LUGER, K., MÄDER, A. Y SARGENT, D. (1999) The nucleosome core structure at 2.0 Å resolution, en *Transcription Regulation in Eukaryotes* (Eds. Chambon, P., Fukasawa, T., Kornberg, R. D. y Coath, C.) pp 28–35. HFSP, Strasbourg.

89. BALLESTAR, E. Y FRANCO, L. (1997) Use of the transglutaminase reaction to study the dissociation of histone N-terminal tails from DNA in nucleosome core particles, *Biochemistry* **36**, 5963–5969.
90. HAYES, J. J. Y HANSEN, J. C. (2001) Nucleosomes and the chromatin fiber. *Curr. Opin. Genet. Develop.* **11**, 124–129.
91. RICHMOND, T. J. Y DAVEY, C. A. (2003) The structure of DNA in the nucleosome core. *Nature* **423**, 145–150.
92. THOMAS, J. O. (1999) Histone H1: location and role. *Curr. Op. Cell Biol.* **11**, 312–317.
93. TRAVERS, A., MUYLDERMANS, S Y RHODES, D. (1999) Nucleosomal location of the linker histone and its role in transcriptional repression, en *Transcription Regulation in Eukaryotes* (Eds. Chambon, P., Fukasawa, T., Kornberg, R. D. y Coath, C.) pp 36–41. HFSP, Strasbourg.
94. DABAN, J. -R. (2000) Physical constraints in the condensation of eukaryotic chromosomes. Local concentration of DNA versus linear packing ratio in higher order chromatin structures. *Biochemistry* **39**, 3861–3866.
95. FINCH, J. T. Y KLUG, A. (1976) Solenoidal model for superstructure in chromatin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **73**, 1897–1901.
96. WIDOM, J. (1998) Structure, dynamics and function of chromatin *in vitro*. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **27**, 285–327.
97. WOODCOCK, C.L., FRADO, L. L. Y RATTNER, J. B. (1984) The higher-order structure of chromatin: evidence for a helical ribbon arrangement. *J. Cell Biol.* **99**, 42–52.
98. WILLIAMS, S. P. Y LANGMORE, J. P. (1991) Small angle x-ray scattering of chromatin. Radius and mass per unit length depend on linker length. *Biophys. J.* **59**, 606–618.
99. BEDNAR, J., HOROWITZ, R. A., GRIGORYEV, S. A., CARRUTHERS, L. M., HANSEN, J. C., KOSTER, A. J. Y WOODCOCK, C. L. (1998) Nucleosomes, linker DNA, and linker histone form a unique structural motif that directs the higher-order folding and compaction of chromatin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **95**, 14173–14178.
100. DABAN, J. -R. Y BERMÚDEZ, A. (1998) Interdigitated solenoid model for compact chromatin fibers. *Biochemistry* **37**, 4299–4304.
101. CRAMER, P., BUSHNELL, D. A. Y KORNBERG, R. D. (2001) Structural basis of transcription: RNA polymerase II at 2.8 Ångstrom resolution. *Science* **292**, 1863–1876.
102. LORCH, Y., LAPOINTE, J. W. Y KORNBERG, R. D. (1987) Nucleosomes inhibit the initiation of transcription but allow chain elongation with the displacement of histones. *Cell* **49**, 203–210.
103. PÉREZ-ORTÍN, J. E., MATALANA, E. Y FRANCO, L. (1989) Chromatin structure of yeast genes. *Yeast* **5**, 219–238.
104. ALMER, A. Y HÖRZ, W. (1986) Nuclease hypersensitive regions with adjacent positioned nucleosomes mark the gene boundaries of the *PHO5/PHO3* locus in yeast. *EMBO J.* **5**, 2681–2687.
105. PÉREZ-ORTÍN, J. E., ESTRUCH, F., MATALANA, E. Y FRANCO, L. (1986) DNase I sensitivity of the chromatin structure of the yeast *SUC2* gene. *Mol. Gen. Genet.* **205**, 422–427.

106. ALMER, A., RUDOLPH, H., HINNEN, A. Y HÖRZ, W. (1986) Removal of positioned nucleosomes from the yeast *PHO5* promoter upon *PHO5* induction releases additional upstream activating DNA elements. *EMBO J.* **5**, 2689–2696.
107. PÉREZ-ORTÍN, J. E., ESTRUCH, F., MATALLANA, E. Y FRANCO, L. (1987) Fine analysis of the chromatin structure of the yeast *SUC2* gene and of its changes upon derepression. Comparison between the chromosomal and plasmid-inserted genes. *Nucleic Acids Res.* **15**, 6937–6956.
108. THOMA, F. Y SIMPSON, R. T. (1985) Local protein-DNA interactions may determine nucleosome positions on yeast plasmid. *Nature* **315**, 250–252.
109. THOMA, F. Y ZATCHEJ, M. (1988) Chromatin folding modulates nucleosome positioning in yeast minichromosomes. *Cell* **55**, 945–953.
110. IGUAL, J. C., MATALLANA, E., GONZÁLEZ-BOSCH, C., FRANCO, L. Y PÉREZ-ORTÍN J. E. (1991) A new glucose-repressible gene identified from the analysis of chromatin structure in deletion mutants of yeast *SUC2* locus. *Yeast* **7**, 379–389.
111. ALLFREY, V. G., FAULKNER, R. Y MIRSKY, A. E. (1964) Acetylation and methylatoin of histones and their possible role in the regulation of RNA synthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **51**, 786–794.
112. GARCEA, R. L. Y ALBERTS, B. M. (1980) Comparative studies of histone acetylation in nucleosomes, nuclei, and intact cells. Evidence for special factors which modify acetylase action. *J. Biol. Chem.* **255**, 11454–11463.
113. RUIZ-CARRILLO, A., WANGH, L. J. Y ALLFREY, V. G. (1975) Processing of newly synthesized histone molecules. *Science* **190**, 117–128.
114. ALLIS, C. D., CHICOINE, L. G., RICHMAN, R. Y SCHULMAN, I. G. (1985) Deposition-related histone acetylation in micronuclei of conjugating *Tetrahymena*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **82**, 8048–8052.
115. LOIDL, P. (1988) Towards an understanding of the biological function of histone acetylation. *FEBS Lett.* **227**, 91–95.
116. LÓPEZ-RODAS, G., TORDERA, V., SÁNCHEZ DEL PINO, M. M. Y FRANCO, L. (1989) Yeast contains multiple forms of histone acetyltransferase. *J. Biol. Chem.* **264**, 19028–19033.
117. LÓPEZ-RODAS, G., TORDERA, V., SÁNCHEZ DEL PINO, M. M. Y FRANCO, L. (1991) Subcellular localization and nucleosome specificity of yeast histone acetyltransferases. *Biochemistry* **30**, 3728–3732.
118. LÓPEZ-RODAS, G., GEORGIEVA, E. I., SENDRA, R. Y LOIDL, P. (1991) Histone acetylation in *Zea mays*. I. Activities of histone acetyltransferases and histone deacetylases. *J. Biol. Chem.* **266**, 18745–18750.
119. GEORGIEVA, E. I., LÓPEZ-RODAS, G., SENDRA, R., GROBNER, P. Y LOIDL, P. (1991) Histone acetylation in *Zea mays*. II. Biological significance of post-translational histone acetylation during embryo germination. *J. Biol. Chem.* **266**, 18751–18760.
120. SENDRA, R., RODRIGO, I., SALVADOR, M. L. Y FRANCO, L. (1988) Characterization of pea histone deacetylases. *Plant Mol. Biol.* **11**, 857–866.
121. CHICOINE, L. G., SCHULMAN, I. G., RICHMAN, R., COOK, R. G. Y ALLIS, C. D. (1986) Nonrandom utilization of acetylation sites in histones isolated from *Tetrahymena*.

- Evidence for functionally distinct H4 acetylation sites. *J. Biol. Chem.* **261**, 1071–1076.
122. SOBEL, R. E., COOK, R. G., PERRY, C. A., ANNUNZIATO, A. T. Y ALLIS, C. D. (1995) Conservation of deposition-related acetylation sites in newly synthesized histones H3 and H4. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **92**, 1237–1241.
 123. MINGARRO, I., SENDRA, R., SALVADOR, M. L. Y FRANCO, L. (1993) Site specificity of pea histone acetyltransferase B *in vitro*. *J. Biol. Chem.* **268**, 13248–13252.
 124. BROWNELL, J. E., ZHOU, J., RANALLI, T., KOBAYASHI, R., EDMONDSON, D. G., ROTH, S. Y. Y ALLIS, C. D. (1996) *Tetrahymena* histone acetyltransferase A: a homolog to yeast Gcn5p linking histone acetylation to gene activation. *Cell* **84**, 843–851.
 125. KLEFF, S., ANDRULIS, E. D., ANDERSON, C. W. Y STERNGLANZ, R. (1995) Identification of a gene encoding a yeast histone H4 acetyltransferase. *J. Biol. Chem.* **270**, 24674–24677.
 126. PARTHUN, M. R., WIDOM, J. Y GOTTSCHLING, D. E. (1996) The major cytoplasmic histone acetyltransferase in yeast: links to chromatin replication and histone metabolism. *Cell* **87**, 85–94.
 127. TAUNTON, J., HASSIG, C. A. Y SCHREIBER, S. L. (1996) A mammalian histone deacetylase related to the yeast transcriptional regulator Rpd3p. *Science* **272**, 408–411.
 128. ECHEGARAY, J. DE (1866) *De las Matemáticas puras en España*. Discurso de Ingreso. Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Madrid.
 129. SEGLEN, P. O. (1989) From bad to worse: evaluation by Journal Impact. *Trends Biochem. Sci.* **14**, 326–327.
 130. FRANCO, L. (1990) *Estudiar Bioquímica*. Servicio de Publicaciones. Universidad de Valencia. Valencia.
 131. BRONOWSKI, J. (1965) *Science and Human Values*. Harper and Row. Traducción española: *Ciencia y Valores Humanos*. Ed. Lumen, Barcelona, 1968.
 132. FRANCO, L. (1997) Ética de la investigación-Ética del investigador, en *Cuestiones de Bioética*, pp. 95–106. Fundación Valenciana de Estudios Avanzados, Valencia.
 133. JOHNS, E. W. Y BUTLER, J. A. V. (1962) Further fractionations of histones from calf thymus *Biochem. J.* **82**, 15–18.
 134. JOHNS, E. W. (1964) Studies on histones.7. Preparative methods for histone fractions from calf thymus. *Biochem. J.* **92**, 55–59.
 135. JOHNS, E. W., GOODWIN, G. H., WALKER, J. M. Y SANDERS, C. (1975) Chromosomal proteins related to histones, en *The Structure and Function of Chromatin* (Eds. Fitzsimons, D. W. y Wolstenholme, G. E. W.). Ciba Foundation Symposium 28, Elsevier, Excerpta Medica, North-Holland, Amsterdam, Oxford, New York.
 136. REMER, T. C. (1965) *Serendipity and the Three Princes*, University of Oklahoma Press, Norman, Okla. U. S. A.
 137. STERNER, D. E., GRANT, P. A., ROBERTS, S. M., DUGGAN, L. J., BELOTSERKOVSKAYA, R., PACELLA, L. A., WINSTON, F., WORKMAN, J. L. Y BERGER, S. L. (1999) Functional organization of the yeast SAGA complex: distinct components involved in structural integrity, nucleosome acetylation, and TATA-binding protein interaction. *Mol. Cell. Biol.* **19**, 86–98.

138. ROTH, S. Y., DENU, J. M. Y ALLIS, C. D. (2001) Histone acetyltransferases. *Annu. Rev. Biochem.* **70**, 81–120.
139. GRANT, P. A., EBERHARTER, A., JOHN, S., COOK, R. G., TURNER, B. M. Y WORKMAN J. L. (1999) *J. Biol. Chem.* **274**, 5895–5900.
140. MARMORSTEIN, R. (2001) Structure of histone acetyltransferases. *J. Mol Biol.* **311**, 433–444.
141. STERNER, D. E. Y BERGER, S. L. (2000) Acetylation of histones and transcription-related factors. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **64**, 435–459.
142. GRAY, S. G. Y EKSTROM, T. J. (2001) The human histone deacetylase family. *Exp. Cell Res.* **262**, 75–83.
143. DE RUIJTER, A. J. M., VAN GENNIP, A. H., CARON, H. N., KEMP, S. Y VAN KUILENBURG, A. B. P. (2003) Histone deacetylases (HDACs): characterization of the classical HDAC family. *Biochem. J.* **370**, 737–749.
144. TRIEVEL, R. C., ROJAS, J. R., STERNER, D. E., VENKATARAMANI, R. N., WANG, L., ZHOU, J., ALLIS, C. D., BERGER, S. L. Y MARMORSTEIN, R. (1999) Crystal structure and mechanism of histone acetylation of the yeast GCN5 transcriptional coactivator. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **96**, 8931–8936.
145. CLEMENTS, A. ROJAS, J. R., TRIEVEL, R. C., WANG, L., BERGER, S. L. Y MARMORSTEIN, R. (1999) Crystal structure of the histone acetyltransferase domain of the human PCAF transcriptional regulator bound to coenzyme A. *EMBO J.* **18**, 3521–3532.
146. YAN, Y., BARLEV, N. A., HALEY, R. H., BERGER, S. L. Y MARMORSTEIN, R. (2000) Crystal structure of yeast Esa1 suggests a unified mechanism of catalysis and substrate binding by histone acetyltransferases. *Mol. Cell* **6**, 1195–1205.
147. GRANT, P. A., DUGGAN, L., CÔTÉ, J., ROBERTS, S. M., BROWNELL, J. E., CANDAU, R., OHBA, R., OWEN-HUGHES, T., ALLIS, C. D., WINSTON, F., BERGER, S. L. Y WORKMAN, J. L. (1997) Yeast Gcn5 functions in two multisubunit complexes to acetylate nucleosomal histones: characterization of an Ada complex and the SAGA (Spt/Ada) complex. *Genes Dev.* **11**, 1640–1650.
148. EBERHARTER, A., STERNER, D. E., SCHIELTZ, D., HASSAN, A., YATES, J. R., BERGER, S. L. Y WORKMAN, J. L. (1999) The ADA complex is a distinct histone acetyltransferase complex in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Cell. Biol.* **19**, 6621–6631.
149. JOHN, S., HOWE, L., TAFROV, S. T., GRANT, P. A., STERNGLANZ, R. Y WORKMAN, J. L. (2000) The something about silencing protein, Sas3, is the catalytic subunit of NuA3, a yTAF(II)30-containing HAT complex that interacts with the Spt16 subunit of the yeast CP (Cdc68/Pob3)-FACT complex. *Genes Dev.* **14**, 1196–1208.
150. ALLARD, S., R., UTLEY, T., SAVARD, J., CLARKE, A., GRANT, P., BRANDL, C. J., PILLUS, L., WORKMAN, J. L. Y CÔTÉ, J. (1999) NuA4, an essential transcription adaptor/histone H4 acetyltransferase complex containing Esa1p and the ATM-related cofactor Tra1p. *EMBO J.* **18**, 5108–5119.
151. OGRYZKO, V. V., KOTANI, T., ZHANG, X., SCHILTZ, R. L., HOWARD, T., YANG, X.-J., HOWARD, B. H., QIN, J. Y NAKATANI, Y. (1998) Histone-like TAFs within the PCAF histone acetylase complex. *Cell* **94**, 35–44.

152. XU, L., GLASS, C. K. Y ROSENFELD, M. G. (1999) Coactivator and corepressor complexes in nuclear receptor function. *Curr. Opin. Genet. Dev.* **9**, 140–147.
153. FISCHLE, W., DEQUIEDT, F., HENDZEL, M. J., GUENTHER, M. G., LAZAR, M. A., VOELTER, W. Y VERDIN, E. (2002) Enzymatic activity associated with class II HDACs is dependent on a multiprotein complex containing HDAC3 and SMRT/N-CoR. *Mol. Cell* **9**, 45–57.
154. FISCHLE, W., DEQUIEDT, F., FILLION, M., HENDZEL, M. J., VOELTER, W. Y VERDIN, E. (2001) Human HDAC7 histone deacetylase activity is associated with HDAC3 in vivo. *J. Biol. Chem.* **276**, 35826–35835.
155. YANG, W. M., TSAI, S. C., WEN, Y. D., FEJER, G. Y SETO, E. (2002) Functional domains of histone deacetylase-3. *J. Biol. Chem.* **277**, 9447–9454.
156. KÖLLE, D., BROSCHE, G., LECHNER, T., PIPAL, A., HELLIGER, W., TAPLICK, J. Y LOIDL, P. (1999) Different types of maize histone deacetylases are distinguished by a highly complex substrate and site specificity. *Biochemistry* **38**, 6769–6773.
157. CARMEN, A. A., GRIFFIN, P. R., CALAYCAY, J. R., RUNDLETT, S. E., SUKA, Y. Y GRUNSTEIN, M. (1999) Yeast HOS3 forms a novel trichostatin A-insensitive homodimer with intrinsic histone deacetylase activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **96**, 12356–12361.
158. IMAI, S., ARMSTRONG, C.M., KAEBERLEIN, M. Y GUARENTE, L. (2000) Transcriptional silencing and longevity protein Sir2 is an NAD-dependent histone deacetylase. *Nature* **403**, 795–800.
159. CLEMENTE, S., FRANCO, L. Y LÓPEZ-RODAS, G. (2001) Distinct site specificity of two pea histone deacetylase complexes. *Biochemistry* **40**, 10671–10676.
160. WORKMAN, J. L. Y KINGSTON, R. E. (1998) Alteration of nucleosome structure as a mechanism of transcriptional regulation. *Annu. Rev. Biochem.* **67**, 545–579.
161. WANG, X., MOORE, S. C., LASZCZAK, M. Y AUSIÓ, J. (2000) Acetylation increases the α -helical content of the histone tails of the nucleosome. *J. Biol. Chem.* **275**, 35013–35020.
162. GARCÍA-RAMÍREZ, M., ROCCHINI, C. Y AUSIÓ, J. (1995) Modulation of chromatin folding by histone acetylation. *J. Biol. Chem.* **270**, 17923–17928.
163. WANG, X., HE, C., MOORE, S. C. Y AUSIÓ, J. (2001) Effects of histone acetylation on the solubility and folding of the chromatin fiber. *J. Biol. Chem.* **276**, 12764–12768.
164. LATASA, M. U., BOUKABA, A., GARCÍA-TREVIJANO, E. R., TORRES, L., RODRÍGUEZ, J. L., CABALLERÍA, J., LU, S. C., LÓPEZ-RODAS, G., FRANCO, L., MATO J. M. Y ÁVILA, M. A. (2001) Hepatocyte growth factor induces MAT2A expression and histone acetylation in rat hepatocytes. Role in liver regeneration. *FASEB J.* **15**, 1248–1250.
165. HIRSCHHORN, J. N., BROWN, S. A., CLARK, C. D. Y WINSTON, F. (1992) Evidence that SNF2/SWI2 and SNF5 activate transcription in yeast by altering chromatin structure. *Genes Dev.* **6**, 2288–2298.
166. CÔTÉ, J., QUINN, J., WORKMAN, J. L. Y PETERSON, C. L. (1994) Stimulation of GAL4 derivative binding to nucleosomal DNA by the yeast SWI/SNF complex. *Science* **265**, 53–60.

167. KWON, H., IMBALZANO, A. N., KHAVARI, P. A., KINGSTON, R. E. Y GREEN, M. R. (1994) Nucleosome disruption and enhancement of activator binding by a human SW1/SNF complex. *Nature* **370**, 477–481.
168. NARLIKAR, G. J., FAN, H. -Y. Y KINGSTON, R. E. (2002) Cooperation between complexes that regulate chromatin structure and transcription. *Cell* **108**, 475–487.
169. BECKER, P. B. Y HÖRZ, W. (2002) ATP-dependent nucleosome remodeling. *Annu. Rev. Biochem.* **71**, 247–273.
170. JASKELIOFF, M., GAVIN, I. M., PETERSON, C. L. Y LOGIE, C. (2000) SWI-SNF-mediated nucleosome remodeling: role of histone octamer mobility in the persistence of the remodeled state. *Mol. Cell. Biol.* **20**, 3058–3068.
171. GUYON, J. R., NARLIKAR, G. J., SULLIVAN, E. K. Y KINGSTON, R. E. (2001) Stability of a human SWI-SNF remodeled nucleosomal array. *Mol. Cell. Biol.* **21**, 1132–1144.
172. BONALDI, T., LÄNGST, G., STROHNER, R., BECKER, P. B. Y BIANCHI M. E. (2002) The DNA chaperone HMGB1 facilitates ACF/CHRAC-dependent nucleosome sliding. *EMBO J.* **21**, 6865–6873.
173. LEVI-MONTALCINI, R. (1993) The nerve growth factor: thirty-five years later, en *Nobel Lectures, Physiology and Medicine 1981-1990*, World Scientific Publishing Co., Singapore.
174. COHEN, S., Y ELLIOTT, G. A. (1963) The stimulation of epidermal keratinization by a protein isolated from the submaxillary gland of the mouse. *J. Invest. Dermatol.* **40**, 1–5.
175. JORISSEN, R. N., WALKER, F., POULIOT, N., GARRETT, T. P. J., WARD, C. W. Y BURGESS, A. W. (2003) Epidermal growth factor receptor: mechanisms of activation and signalling. *Exptl. Cell Res.* **284**, 31–53.
176. YARDEN, Y. Y SCHLESSINGER, J. (1987) Epidermal growth factor induces rapid, reversible aggregation of the purified epidermal growth factor receptor, *Biochemistry* **26**, 1443–1451.
177. COHEN, S., USHIRO, H., STOSCHECK, C. Y CHINKERS, M. (1982) A native 170,000 epidermal growth factor receptor-kinase complex from shed plasma membrane vesicles. *J. Biol. Chem.* **257**, 1523–1531.
178. SAKO, Y., MINOGHCHI, S. Y YANAGIDA, T. (2000) Single-molecule imaging of EGFR signalling on the surface of living cells. *Nat. Cell. Biol.* **2**, 168–172.
179. YU, X., SHARMA, K. D., TAKAHASHI, T., IWAMOTO, R. Y MEKADA, E. (2002) Ligand-independent dimer formation of epidermal growth factor receptor (EGFR) is a step separable from ligand-induced EGFR signaling. *Mol. Biol. Cell.* **13**, 2547–2557.
180. MORIKI, T., MARUYAMA, H. Y MARUYAMA, I. N. (2001) Activation of preformed EGF receptor dimers by ligand-induced rotation of the transmembrane domain. *J. Mol. Biol.* **311**, 1011–1026.
181. STAMOS, J., SLIWKOWSKI, M. X. Y EIGENBROT, C. (2002) Structure of the EGF receptor kinase domain alone and in complex with a 4-anilinoquinazoline inhibitor, *J. Biol. Chem.* **277**, 46265–46272.

182. ZHU, G., DECKER, S. J., MACLEAN, D., MCNAMARA, D. J., SINGH, J., SAWYER, T. K. Y SALTIEL, A. R. (1994) Sequence specificity in the recognition of the epidermal growth factor receptor by the ab1 Src homology 2 domain, *Oncogene* **9**, 1379–1385.
183. STOVER, D. R., BECKER, M., LIEBETANZ, J. Y LYDON, N. B. (1995) Src phosphorylation of the epidermal growth factor receptor at novel sites mediates receptor interaction with Src and P85 α . *J. Biol. Chem.* **270**, 15591–15597.
184. MILARSKI, K. L., ZHU, G., PEARL, C. G., MCNAMARA, D. J., DOBRUSIN, E. M., MACLEAN, D., THIEME-SEFLER, A., ZHANG, Z. Y., SAWYER, T. Y DECKER, S. J. (1993) Sequence specificity in recognition of the epidermal growth factor receptor by protein tyrosine phosphatase 1B. *J. Biol. Chem.* **268**, 23634–23639.
185. FREIRE, J. B. (1996) *Humor y serenidad. En la vida corriente.* EUNSA, Pamplona.
186. POLO, L. (1985) *Hegel y el posthegelianismo.* Universidad de Piura, Perú.
187. MARTÍN MUNICIO, A. (2000) Medicamentos viejos para enfermedades nuevas, en *Horizontes Culturales. Las Fronteras de la Ciencia*, pp. 53–79. Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Espasa, Madrid.
188. STANGER, B. Z., LEDER, P., LEE, T. H., KIM, E. Y SEED, B. (1995) RIP: a novel protein containing a death domain that interacts with Fas/APO-1 (CD95) in yeast and causes cell death. *Cell* **81**, 513–523.
189. STERNER, D. E., BELOTSEKOVSKAYA, R. Y BERGER, S. L. (2002) SALSA, a variant of yeast SAGA, contains truncated Spt7, which correlates with activated transcription. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **99**, 11622–11627.
190. JACKSON, J. P., LINDROTH, A. M., CAO, X. Y JACOBSEN, S. E. (2002) Control of CpNpG DNA methylation by the KRYPTONITE histone H3 methyltransferase. *Nature* **416**, 556–560.
191. CRANE-ROBINSON, C. Y WOLFFE, A. P. (1998) Immunological analysis of chromatin: FIS and CHIPS. *Trends Genet.* **14**, 477–480.
192. MURRAY, K. (1964). The occurrence of ϵ -N-methyllysine in histones. *Biochemistry* **3**, 10–15.
193. KLEINSMITH, L. J., ALLFREY, V. G. Y MIRSKY, A. E. (1966) Phosphoprotein metabolism in isolated lymphocyte nuclei. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **55**, 1182–1186.
194. ZHANG, Y. Y REINBERG, D. (2001) Transcription regulation by histone methylation: interplay between different covalent modifications of the core histone tails. *Genes Dev.* **15**, 2343–2360.
195. BANNISTER, A. J., SCHNEIDER, R. Y KOUZARIDES, T. (2002) Histone methylation: Dynamic or static? *Cell* **109**, 801–806.
196. HSU, J. Y., SUN, Z. W., LI, X., REUBEN, N., TATCHELL, K., BISHOP, D. K., GRUSHCOW, J. M., BRAME, C. J., CALDWELL, J. A., HUNT, D. F., LIN, R., SMITH, M. M. Y ALLIS, C. D. (2000) Mitotic phosphorylation of histone H3 is governed by Ipl1/aurora kinase and Glc7/PP1 phosphatase in budding yeast and nematodes. *Cell* **102**, 279–291.
197. SALVADOR, L. M., PARK, Y., COTTOM, J., MAIZELS, E. T., JONES, J. C., SCHILLACE, R. V., CARR, D. W., CHEUNG, P., ALLIS, C. D., JAMESON, J. L. Y HUNZICKER-DUNN, M.

- (2001) Follicle-stimulating hormone stimulates protein kinase A-mediated histone H3 phosphorylation and acetylation leading to select gene activation in ovarian granulosa cells. *J. Biol. Chem.* **276**, 40146–40155.
198. LO, W. S., DUGGAN, L., EMRE, N. C. T., BELOTSERKOVSKYA, R., LANE, W. S., SHIEKHATTAR, R. Y BERGER, S. L. (2001) Snf1—a histone kinase that works in concert with the histone acetyltransferase Gcn5 to regulate transcription. *Science* **293**, 1142–1146.
199. STRAHL, B. D. Y ALLIS, C. D. (2000) The language of covalente histone modifications. *Nature* **403**, 41–45.
200. TURNER, B. M. (2000) Histone acetylation and an epigenetic code. *BioEssays* **22**, 836–845.
201. CHEUNG, P., ALLIS, C. D. Y SASSONE-CORSI, P. (2000) Signaling to chromatin through histone modifications. *Cell* **103**, 263–271.
202. RICE, J. C. Y ALLIS, C. D. (2001) Histone methylation versus histone acetylation: new insights into epigenetic regualtion. *Curr. Opin. Cell Biol.* **13**, 263–273.
203. MARMORSTEIN, R. (2001) Protein modules that manipulate histone tails for chromatin regulation. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* **2**, 422–432.
204. HASSAN, A. H., NEELY, K. E., VIGNALI, M., REESE, J. C. Y WORKMAN, J. L. (2001) Promoter targeting of chromatin-modifying complexes. *Front. Biosci.* **6**, d1054–1064.
205. HASSAN, A. H., PROCHASSON, P., NEELY, K. E., GALASINSKI, S. C., CANDY, M., CARROZZA, M. J. Y WORKMAN, J. L. (2002) Function and selectivity of bromodomains in anchoring chromatin-modifying complexes to promoter nucleosomes. *Cell* **111**, 369–379.
206. BERGER, S. L. (2002) Histone modifications in transcriptional regulation. *Curr. Opin. Genet. Develop.* **12**, 142–148.
207. IZUKA, M. Y SMITH, M. M. (2003) Functional consequences of histone modifications. *Curr. Opin. Genet. Develop.* **13**, 154–160.
208. FORSBERG, E. C. Y BRESNICK, E. H. (2001) Histone acetylation beyond promoters: long-range acetylation patterns in the chromatin world. *BioEssays* **23**, 820–830.
209. AGALIOTI, T., CHEN, G. Y THANOS, D. (2002) Deciphering the transcriptional histone acetylation code for a human gene. *Cell* **111**, 381–392.
210. TURNER, B. M. (2002) Cellular memory and the histone code. *Cell* **111**, 285–291.
211. BROSCHE, G., GEORGIEVA, E. I., LÓPEZ-RODAS, G., LINDNER, H. Y LOIDL, P. (1992) Specificity of *Zea mays* histone deacetylase is regulated by phosphorylation. *J. Biol. Chem.* **267**, 20561–20564.
212. BARLEV, N. A., POLTORATSKY, V., OWEN-HUGHES, T., YING, C., LIU, L., WORKMAN, J. L. Y BERGER, S. L. (1998) Repression of GCN5 histone acetyltransferase activity via bromodomain-mediated binding and phosphorylation by the Ku-DNA-dependent protein kinase complex. *Mol. Cell. Biol.* **18**, 1349–1358.
213. AIT-SI-ALI, S., CARLISI, D., RAMIREZ, S., UPEGUI-GONZALEZ, L. C., DUQUET, A., ROBIN, P., RUDKIN, B., HAREL-BELLAN, A. Y TROUCHE, D. (1999) Phosphorylation by p44 MAP kinase/ERK1 stimulates CBP histone acetyl transferase activity in vitro. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **262**, 157–162.

214. YUAN, L., SOH, J. Y WEINSTEIN, I. (2002) Inhibition of histone acetyltransferase function of p300 by PKC δ . *Biochim. Biophys. Acta* **1592**, 205–211.
215. CAI, R., KWON, P., YAN-NEALE, Y., SAMBUCCETTI, L., FISCHER, D. Y COHEN, D. (2001) Mammalian histone deacetylase 1 protein is posttranslationally modified by phosphorylation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **283**, 445–453.
216. PFLUM, M. K., TONG, J. K., LANE, W. S. Y SCHREIBER, S. L. (2001) Histone deacetylase 1 phosphorylation promotes enzymatic activity and complex formation. *J. Biol. Chem.* **276**, 47733–47741.
217. TSAI, S. C. Y SETO, E. (2002) Regulation of histone deacetylase 2 by protein kinase CK2. *J. Biol. Chem.* **277**, 31826–31833.
218. CHEN, H., LIN, R. J., XIE, W., WILPITZ, D. Y EVANS, R. M. (1999) Regulation of hormone-induced histone hyperacetylation and gene activation via acetylation of an acetylase. *Cell* **98**, 675–686.
219. WINSTON, F. Y ALLIS, C. D. (1999) The bromodomain: a chromatin-targeting module? *Nat. Struct. Biol.* **6**, 601–604.
220. BANNISTER, A. J., MISKA, E. A., GÖRLICH, D. Y KOUZARIDES, T. (2000) Acetylation of importin- α nuclear import factors by CBP/p300. *Curr. Biol.* **10**, 467–470.
221. KOUZARIDES, T. (2000) Acetylation: a regulatory modification to rival phosphorylation? *EMBO J.* **19**, 1176–1179.
222. GILL, G. (2003) Post-translational modification by the small ubiquitin-related modifier SUMO has big effects on transcription factor activity. *Curr. Opin. Genet. Develop.* **13**, 108–113.
223. DAVID, G., NEPTUNE, M. A. Y DEPINHO, R.A. (2002) SUMO-1 modification of histone deacetylase 1 (HDAC1) modulates its biological activities. *J. Biol. Chem.* **277**, 23658–23663.
224. KIRSH, O., SEELER, J. S., PICHLER, A., GAST, A., MULLER, S., MISKA, E., MATHIEU, M., HAREL-BELLAN, A., KOUZARIDES, T., MELCHIOR, F. Y DEJEAN, A. (2002) The SUMO E3 ligase RanBP2 promotes modification of the HDAC4 deacetylase. *EMBO J.* **21**, 2682–2691.
225. GROZINGER, C. M. Y SCHREIBER, S. L. (2000) Regulation of histone deacetylase 4 and 5 and transcriptional activity by 14-3-3-dependent cellular localization. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **97**, 7835–7840.
226. MCKINSEY, T. A., ZHANG, C. L. Y OLSON, E. N. (2001) Control of muscle development by dueling HATs and HDACs. *Curr. Opin. Genet. Develop.* **11**, 497–504.
227. MCKINSEY, T. A., ZHANG, C. L. Y OLSON, E. N. (2002) Signaling chromatin to make muscle. *Curr. Opin. Cell. Biol.* **14**, 763–772.
228. COHEN, P. (1992) Signal integration at the level of protein kinases, protein phosphatases and their substrates. *Trends Biochem. Sci.* **17**, 408–413.
229. PELECH, S. L. Y SANGHERA, J. S. (1992) Mitogen-activated protein kinases: versatile transducers for cell signaling. *Trends Biochem. Sci.* **17**, 233–238.
230. KEYSE, S. M. (2000) Protein phosphatases and the regulation of mitogen-activated protein kinase signalling. *Curr. Opin. Cell Biol.* **12**, 186–192.

231. THOMSON, S., CLAYTON, A. L., HAZZALIN, C. A., ROSE, S., BARRATT, M. J., Y MAHADEVAN, L. C. (1999) The nucleosomal response associated with immediate-early gene induction is mediated via alternative MAP kinase cascades: MSK1 as a potential histone H3/HMG-14 kinase. *EMBO J.* **18**, 4779–4793.
232. GILBERT, S. F. (2000) *Developmental Biology*, 6th ed. Sinauer Associates, Sunderland, Mass. U. S. A.
233. GARRINGTON, T. P. Y JOHNSON, G. L. (1999) Organisation and regulation of mitogen-activated protein kinase signalling pathways. *Curr. Opin. Cell Biol.* **11**, 211–218.
234. TONKS, N. K. Y NEEL, B. G. (2001) Combinatorial control of the specificity of protein tyrosine phosphatases. *Curr. Opin. Cell Biol.* **13**, 182–195.
235. DIKIC, I. Y GIORDANO, S. (2003) Negative receptor signalling. *Curr. Opin. Cell Biol.* **15**, 128–135.
236. CARPENTER, G. (2000) The EGF receptor: a nexus for trafficking and signaling. *BioEssays* **22**, 697–707.
237. SORKIN, A. Y VON ZASTRO, M. (2002) Signal transduction and endocytosis: close encounters of many kinds. *Nature Rev.* **3**, 600–614.
238. CARPENTER, G. (2003) Nuclear localization and possible functions of receptor tyrosine kinases. *Curr. Opin. Cell Biol.* **15**, 143–148.
239. LIN, S. -Y., MAKINO, K., XIA, W., MATIN, A., WEN, Y., KWONG, K. Y., BOURGUIGNON, L. Y HUNG, M. -C. (2001) Nuclear localization of EGF receptor and its potential new role as a transcription factor. *Nat. Cell Biol.* **3**, 802–808.
240. MARTENS, J. A. Y WINSTON, F. (2003) Recent advances in understanding chromatin remodeling by Swi/Snf complexes. *Curr. Opin. Genet. Develop.* **13**, 136–142.
241. COREY, L. L., WEIRICH, C. S., BENJAMIN, I. J. Y KINGSTON, R. E. (2003) Localized recruitment of a chromatin-remodeling activity by an activator in vivo drives transcriptional elongation. *Genes Dev.* **17**, 1392–1401.
242. BOUKABA, A. (2003) *Histone acetylation as a mechanism of gene regulation: A three gene case study*. Tesis doctoral. Universidad de Valencia (Estudi General).
243. WOLD, F. (1971) *Macromolecules: Structure and Function*. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey.
244. SHVARTSMAN, S. Y., HAGAN, M. P., YACOUB, A., DENT, P., WILEY, H. S. Y LAUFFENBURGER, D. A. (2002) Autocrine loops with positive feedback enable context-dependent cell signaling. *Am. J. Physiol.* **282**, C545–C559.
245. TYSON, J. J., CHEN, K. C. Y NOVAK, B. (2003) Sniffers, buzzers, toggles and blinkers: dynamics of regulatory and signaling pathways in the cell. *Curr. Opin. Cell Biol.* **15**, 221–231.
246. LIM, W. A. (2002) The modular logic of signaling proteins: building allosteric switches from simple binding domains. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **12**, 61–68.
247. ZHU, H. Y SNYDER, M. (2002) ‘Omic’ approaches for unraveling signaling networks. *Curr. Opin. Cell Biol.* **14**, 173–179.
248. FERRAZ, A. (1982) Historia y ciencia. *Boletín informativo de la Fundación Juan March* **117**, 40–44.

249. BRONOWSKI, J. (1968) *The common sense of science*. Penguin Books, Harmondsworth, U. K.
250. ALBAREDA, J. M. (1942) *Valor formativo de la investigación*. Discurso de ingreso, Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Madrid.
251. MICHELSON, A. M. Y KOPAN, R. (2002) Differentiation and gene regulation. Toward a holistic understanding of animal development: intercellular communication and transcriptional regulation are two sides of the same coin. *Curr. Opin. Genet. Develop.* **12**, 499–502.
252. RODBELL, M. (1992) The role of GTP-binding proteins in signal transduction: From the sublimely simple to the conceptually complex. *Curr. Topics Cell. Regul.* **32**, 1–47.
253. BLISKA, J. B., GUAN, K., DIXON, J. E. Y FALKOW, S. (1991) Tyrosine phosphate hydrolysis of host proteins by an essential *Yersinia* virulence determinant. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **88**, 1187–1191.
254. COHEN, P. (1999) Identification of a protein kinase cascade of major importance in insulin signal transduction. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* **354**, 485–495.
255. HOMMES, D. W., PEPPELENBOSCH, M. P. Y DEVENTER, S. J. H. (2003) Mitogen activated protein (MAP) kinase signal transduction pathways and novel anti-inflammatory targets. *Gut* **52**, 144–151.
256. ELSAYED, Y. A. Y SAUSVILLE, E. A. (2001) Selected novel anticancer treatments targeting cell signalling proteins. *Oncologist* **6**, 517–537.
257. ZWICK, E., BANGE, J. Y ULLRICH, A. (2001) Receptor tyrosine kinase signalling as a target for cancer intervention strategies. *Endocrin. Rel. Cancer* **8**, 161–173.
258. CHAPPUIS-FLAMENT, S., PASINI, A., DE VITA, G., SEGOUFFIN-CARIOU, C., FUSCO, A., ATTIE, T., LENOIR, G. M., SANTORO, M. Y BILLAUD, M. (1998) Dual effect on the RET receptor of MEN 2 mutations affecting extracytoplasmic cysteines. *Oncogene* **17**, 2851–2861.
259. GELB, M. H. (1997) Protein prenylation, et cetera: signal transduction in two dimensions. *Science* **275**, 1750–1751.
260. KARP, J. E., LANCET, J. E., KAUFMANN, S. H. END, D. W., WRIGHT, J. J., BOL, K., HORAK, I., TIDWELL, M. L., LIESVELD, J., KOTTKE, T.J., ANGE, D., BUDDHARAJU, L., GOJO, I., HIGHSMITH, W.E., BELLY, R.T., HOHL, R.J., RYBAK, M.E., THIBAUT, A. Y ROSENBLATT, J. (2001) Clinical and biologic activity of the farnesyltransferase inhibitor R115777 in adults with refractory and relapsed acute leukemias: a phase I clinical-laboratory correlative trial. *Blood* **97**, 3361–3369.
261. HUANG, P. Y OLIFF, A. (2001) Signaling pathways in apoptosis as potential targets for cancer therapy. *Trends Cell Biol.* **11**, 343–348.
262. BREHM, A., MISKA, E. A., MCCANCE, D. J., REID, J. L., BANNISTER, A. J. Y KOUZARIDES, T. (1998) Retinoblastoma protein recruits histone deacetylase to repress transcription. *Nature* **391**, 597–601.
263. LUO, R. X., POSTIGO, A. A. Y DEAN, D. C. (1998) Rb interacts with histone deacetylase to repress transcription. *Cell* **92**, 463–473.

264. MAGNAGHI-JAULIN, L., GROISMAN, R., NAGUIBNEVA, I., ROBIN, P., LORAIN, S., LE VILLAIN, J. P., TROALEN, F., TROUCHE, D. Y HAREL-BELLAN, A. (1998) Retinoblastoma protein represses transcription by recruiting a histone deacetylase. *Nature* **391**, 601–605.
265. DEPINHO, R. A. (1998) The cancer-chromatin connection. *Nature* **391**, 533–536.
266. CAIRNS, B. R. (2001) Emerging roles for chromatin remodeling in cancer biology. *Trends Cell Biol.* **11**, S15–S21.
267. LEHRMANN, H, PRITCHARD, L. L. Y HAREL-BELLAN, A. (2002) Histone acetyltransferases and deacetylases in the control of cell proliferation and differentiation. *Adv. Cancer. Res.* **86**, 41–65.
268. NEPHEW, K. P. Y HUANG, T. H. (2003) Epigenetic gene silencing in cancer initiation and progression. *Cancer Lett.* **190**, 125–133.
269. GOLDMAN, M. A. (2002) Cancer: the chromatin connection. *Trends Genet.* **18**, 390–391.
270. GALVEZ, A. F., CHEN, N., MACASIEB, J. Y DE LUMEN, B. O. (2001) Chemopreventive property of a soybean peptide (lunasin) that binds to deacetylated histones and inhibits acetylation. *Cancer Res.* **61**, 7473–7478.
271. MUNSTER, P. N., TROSO-SANDOVAL, T., ROSEN, N., RIFKIND, R., MARKS, P. A. Y RICHON, V. M. (2001) The histone deacetylase inhibitor suberoylanilide hydroxamic acid induces differentiation of human breast cancer cells. *Cancer Res.* **61**, 8492–8497.
272. KOMATSU, Y., TOMIZAKI, K. Y., TSUKAMOTO, M., KATO, T., NISHINO, N., SATO, S., YAMORI, T., TSURUO, T., FURUMAI, R., YOSHIDA, M., HORINOUCHE, S., HAYASHI, H. (2001) Cyclic hydrozamic acid containing peptide 31, a potent synthetic histone deacetylase inhibitor with antitumor activity. *Cancer Res.* **61**, 4459–4466.
273. GABRIELLI, B. G., JOHNSTONE, R. W. Y SAUNDERS, N. A. (2002) Identifying molecular targets mediating the anticancer activity of histone deacetylase inhibitors: A work in progress. *Curr. Cancer Drug Targets* **2**, 257–277.
274. KRÄMER, O. H., GÖTTLICHER, M. Y HEINZEL, T. (2001) Histone deacetylase as a therapeutic target. *Trends Endocrinol. Metab.* **12**, 294–300.
275. BROWN, R. Y STRATHDEE, G. (2002) Epigenomics and epigenetic therapy of cancer. *Trends Mol. Med.* **8**, S43–S48.
276. CHUNG, D. (2002) Histone modification: the ‘next wave’ in cancer therapeutics. *Trends Mol. Med.* **8**, S10–S11.
277. VERSTEEGE, I., SEVENET, N., LANGE, J., ROUSSEAU-MERCK, M. F., AMBROS, P., HANDGRETINGER, R., AURIAS, A. Y DELATTRE, O. (1998) Truncating mutations of hSNF5/INI1 in aggressive paediatric cancer. *Nature* **394**, 203–206.
278. SEVENET, N., SHERIDAN, E., AMRAM, D., SCHNEIDER, P., HANDGRETINGER, R. Y DELATTRE, O. (1999) Constitutional mutations of the hSNF5/INI1 gene predispose to a variety of cancers. *Am. J. Hum. Genet.* **65**, 1342–1448.
279. AUSIÓ, J., LEVIN, D. B., DE AMORIM, G. V., BAKKER, S. Y MACLEOD, P. M. (2003) Syndromes of disordered chromatin remodeling. *Clin. Genet.* **64**, 83–95.

280. ROTBLAT, J. (2002) Science and humanity in the twenty-first century. The Nobel Foundation (<http://www.nobel.se>).
281. MARTÍN MUNICIO, A. (1980) *Ciencia y Aristobiología*. Discurso inaugural del año académico 1980-1981. Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Madrid.
282. LAÍN ENTRALGO, P. (1961) Prólogo, en BUSTINZA, F. *10 años de amistad con Sir Alexander Fleming*. Editorial M. A. S., Madrid.

CONTESTACIÓN
DEL
EXCMO. SR. D. PEDRO GARCÍA BARRENO

Excmo. Sr. Presidente.
Excmos. Srs. Académicos.
Señoras y Señores.

Cumplo la obligación que impone la costumbre, y que antigua y buena amistad me impone a la vez, contestando al discurso del nuevo Académico. Cumpliré, pues, la honra que se me dispensa. Mas debería haber sido Ángel Martín Municio quién, hoy, ocupara esta tribuna; él manifestó su deseo de recibir a Luis Franco Vera. Ello supone que la honra se torne aflicción.

Uno, ante todo, mi adhesión a las sentidas frases que el Sr. Franco Vera ha dedicado al recuerdo de D. Ángel Martín Municio. Trabajar siempre, trabajar con entusiasmo, hacer amable la ciencia. La Real Academia toda, y yo con ella, pagamos justo tributo de respeto sincero a la memoria del que fue nuestro amigo, compañero y Presidente.

Luis Franco se decidió por la carrera universitaria cursando el último año de la Licenciatura en Química, tras una conversación con nuestro recordado compañero D. Enrique Costa Novella, con quien había estudiado ingeniería química el año anterior. «Más o menos —refiere Luis Franco— me dijo: Si usted es un buen químico y trabaja en una industria, conseguirá que esa industria vaya mejor. Si es un buen químico y trabaja en la Universidad, formará a otros buenos químicos y serán muchas las cosas que vayan mejor». Tras concluir con éxito la Tesis doctoral, en 1971, don Ángel me convenció —comenta Luis Franco— de la oportunidad de dar un giro profundo y orientar la investigación hacia problemas de aislamiento y función de proteínas» (FRANCO, 1990). En 1972 marcha a Londres, al *Chester Beatty Research Institute*, del *Royal Cancer Hospital*, bajo la dirección de Ernst W Johns (grupo pequeño, con pocos medios, pero con muchas y buenas ideas y un gran ambiente de trabajo), líder mundial en

el campo de las proteínas nucleares. La estancia postdoctoral supuso la plena entrada del recipiendario en el mundo de las histonas. A su regreso a Madrid, se concentra en la caracterización inicial de histonas de *Ceratitidis*, para dedicarse finalmente a profundizar en el estudio de la histona H1 en los aspectos estructurales y de interacción con el ADN.

En el Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, dirigido por el Prof. Municio comenzó la andadura docente en asignaturas como Técnicas instrumentales y, sobre todo, la configuración definitiva de la Bioquímica especial. A la vez, fue destacado impulsor del Grupo de Biofísica y Biología molecular de la Real Sociedad Española de Química y Física.

En 1981 se traslada a Valencia como Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular de la Facultad de Ciencias, donde sigue estudiando la cromatina, aunque desde un punto de vista más funcional; línea de trabajo que culmina con la identificación de un nuevo gen de levadura detectado gracias a los cambios estructurales que sufre la cromatina de una región concreta del genoma. Otro aspecto abordado por Luis Franco es la acetilación de histonas; un estudio que permitió describir por primera vez la multiplicidad de histona acetiltransferasas y de histona desacetilasas, en levadura. Los últimos años los dedica al estudio de la cartografía de la acetilación de histonas; de la relación de la expresión de los genes de la metionina adenosiltransferasa en ratas y en humanos, con la metilación del ADN, y la interacción de diferentes factores con la cromatina. En resumen, el Sr. Franco Vera es bien conocido de cuantos se dedican al estudio del nucleosoma. Cuenta además en su haber con una rancia tradición artística y de funcionarios «hacendosos» pioneros.

«El ingreso requiere un discurso cuyo tema elige el recipiendario. Una cuestión que, a mi modo de ver —nos ha dicho Franco Vera— no es trivial». Ha elegido un tema de interés general —«El Rostro Humano de la Ciencia»— que incluye el tema central de su labor investigadora —la «Regulación Biológica»—. Diré algo de lo que se me alcanza referente al tema del discurso del nuevo compañero.

«La organización existe en los organismos vivos —señalaba Joseph Needham—, y esta organización no es algo fundamentalmente místico e inasequible al enfoque científico, sino que es el problema básico al que se enfrenta el biólogo» (NEEDHAM, 1936).

Los avances en las artes y en las ciencias son, a menudo, el resultado de interacciones sinérgicas y de relaciones simbióticas entre unos pocos individuos. Quizás, uno de los ejemplos más festejados en las Artes haya

sido la sinergia y simbiosis que desarrollaron, durante cincuenta años, Henri Matisse y Pablo Picasso. Ningún otro par de artistas influyó más en el arte universal. Sus estilos fueron completamente diferentes. Matisse fue el maestro del color y de las figuras; Picasso lo fue de las líneas y de los ángulos. A pesar de la diferencia innata de sus estilos, la influencia mutua fue indiscutible (GOLDSTEIN, 2002).

«La colaboración: una enriquecedora realidad en investigación», indicó Luis Franco. En su relato han aparecido Leonor Michaelis y Maud L Menten, Françoise Jacob y Jacques-Lucien Monod o Rita Levi-Montalcini y Stanley Cohen. Sin olvidar el paradigmático dúo «James D Watson-Francis C Crick» que, hace cincuenta años, propuso la «hélice dorada», tal como la calificó Arthur Kornberg (KORNBERG, 1995); una colaboración intensa por la magnitud del resultado y la brevedad de la interacción. Luis Franco, junto a simbiosis y sinergia, recalcó otras facetas: la pasión, belleza, creatividad, optimismo, intuición y juego limpio; lo que Subrahmanyam Chandrasekhar refirió como «Verdad y Belleza. Estética y Motivación en Ciencia» (CHANDRASEKHAR, 1987). Todo ello corresponde, no cabe duda, al «rostro humano de la ciencia». Pero, son muchos los rostros de la ciencia (FERNÁNDEZ-RAÑADA, 1995).

El, al menos, doble rostro de la ciencia -el Jano científico-, incluye la competitividad y un juego, también al menos, turbio; un toma y daca donde intuición, determinación y «picardía» son ingredientes importantes. Durante el breve tiempo asignado discurriré por un tema cuyo cuño de partida fue la disputa de la propiedad intelectual. Un desarrollo transdisciplinar en el que un dueto, mezcla de arte y tecnociencia, formado por el arquitecto Richard Buckminster Fuller y el artista Kenneth Snelson, llevó a cabo una idea común en edificios y en esculturas; una interactividad entre arte y ciencia que ha venido a denominarse «futuros emergentes» (MOLINA y LANDA, 2000). Una idea que se plasmó en una nueva palabra: tensegridad. Años después, el biólogo Donald E Ingber aplicó el concepto a la arquitectura de la vida; con ello, pretendió la «gran unificación» de la Biología.

INTRODUCCIÓN

Las células están expuestas durante sus vidas a una amplia gama de fuerzas físicas, desde las generadas por sus asociaciones con otras células y la matriz extracelular, hasta la fuerza constante de la gravedad. Alteraciones de esas fuerzas, inducidas por la diferenciación y desarrollo o por cambios en

la actividad o en su comportamiento, resultan en modificaciones en la bioquímica y en la adaptación de la estructura y función celulares (Fig. 1). Ello

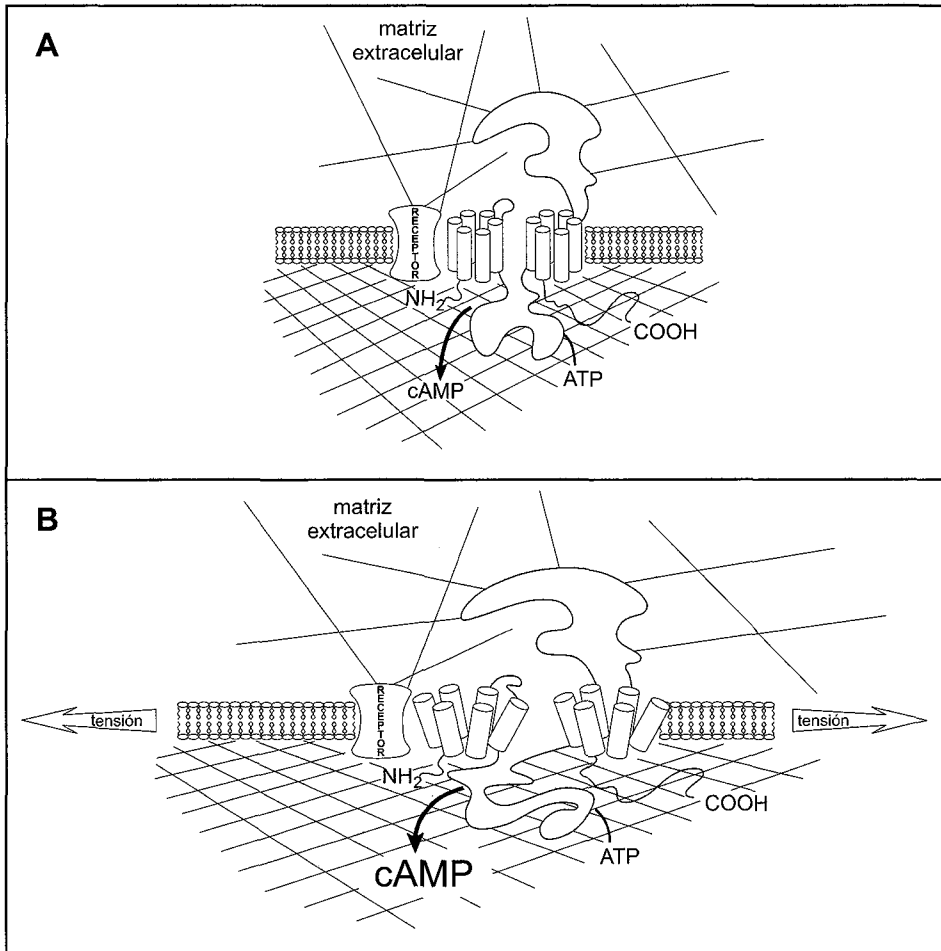


FIGURA 1. Mecanismo inicialmente propuesto para la activación de la adenilato ciclasa (AC) por fuerzas físicas durante la deformación celular. (A) AC en la membrana celular en ausencia de perturbación mecánica. El receptor se refiere a proteínas del tipo de las integrinas del repertorio glicoproteico de la superficie celular y que, previamente, fueron identificadas como receptores de matriz extracelular (MEC). Los dominios citoplasmáticos de esas proteínas interaccionan con el citoesqueleto (CE), bien directamente o a través de proteínas de acoplamiento como talina. (B) Se producen distorsiones de la molécula AC durante la deformación celular. Las fuerzas mecánicas que resultan de 1) deformación celular directa; 2) tensión pasiva transmitida por la MEC o 3) generadas por la tracción ejercida sobre el sustrato por las células, son transmitidas por el CE al interior celular (Modificada de: Watson, 1991; fig 1, pg 2016).

condujo al concepto de que las fuerzas percibidas por las células pueden dictar su forma, y que los efectos combinados de los estímulos físicos externos y de las fuerzas internas responsables de mantener el perfil celular pueden inducir modificaciones en la bioquímica celular (WATSON, 1991).

Mecanotransducción es el proceso de articulación y respuesta a las señales celulares generadas por estímulos mecánicos (Fig. 2). El estrés mecánico regula una amplia colección de funciones fisiológicas: desde la percepción sonora por las células auditivas y la detección del estrés de cizallamiento ejercido por el flujo sanguíneo sobre las células endoteliales vasculares, hasta la percepción gravitacional; y estímulos mecánicos modulan casi todos los aspectos de la función celular: crecimiento, diferenciación, migración, expresión génica o apoptosis (CHEN y cols, 1997; INGBER, 1993, 1999). Además, fuerzas mecánicas influyen de manera directa sobre la forma y la función tisulares: los efectos de la compresión sobre el hueso y el cartílago y de la tensión sobre el músculo y la piel, son dos ejemplos

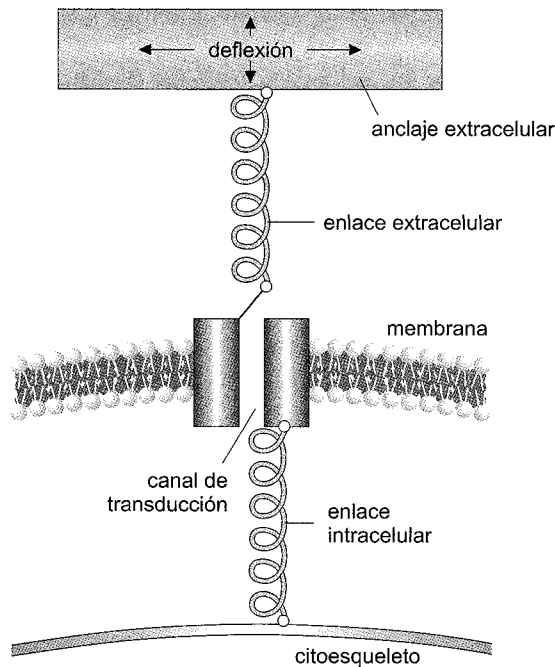


FIGURA 2. Esquema de la transducción mecanosensorial. Un canal de transducción está fijado por anclajes intra y extracelulares al CE y a la MEC. El canal de transducción responde a la tensión en el sistema, que incrementa por desplazamientos netos entre las estructuras intra y extracelulares (Modificada de: Gillespie y Walter, 2001; fig 1, pg 194).

familiares. Por ello, destapar los mecanismos por los que la célula percibe el estrés mecánico es de capital importancia para comprender como las células responden y se adaptan a sus ambientes físicos (ALENGHAT e INGBER, 2002). Un editorial de *Science* arranca: «Pocos campos en ciencia progresan a mayor velocidad que la transducción de señales: un ómnibus de interacciones moleculares que capta información de fuentes extracelulares o intracelulares para, a través de una compleja cascada de moléculas informativas, controlar procesos básicos como transcripción y metabolismo» (KENNEDY, 2002).

De manera tradicional, los investigadores distinguen la mecanotransducción de otros tipos de procesamiento de señales; ello sobre la base de que asumen que aquella ocurre independientemente de la activación secundaria a la interacción entre ligandos y sus receptores sobre la superficie celular. La mecanotransducción convierte el estímulo mecánico en una secuencia química a partir de la distorsión generalizada de la membrana celular (INGBER, 2002). Ello condujo a la búsqueda de componentes membranares que pudieran mediar tal conversión mecanoquímica, identificándose canales iónicos mecanosensibles que se disponen ubicuamente en la membrana celular. Tales canales incrementan o disminuyen el flujo iónico cuando la membrana celular es estimulada mecánicamente, tanto en las células ciliadas del oído interno como las neuronas táctiles cutáneas (GARCÍA-AÑOVEROS y COREY, 1997; SHIN y cols, 2003; SRINIVASAN y cols, www). También, el sistema de balsas o almadías lipídicas son sensibles a las fuerzas que inciden sobre la superficie celular (SIMONS e IKONEN, 1997).

Sin embargo, entre las vías de señales mecanosensibles de la mayoría de las células, incluidas las células sensoriales especializadas, surge un tema común: la función de sus moléculas mecanotransductoras depende de interacciones en las que participan la matriz extracelular (MEC) y el citoesqueleto. En los tejidos vivos, en condiciones normales, el estrés mecánico se distribuye a las células a través del andamiaje de la MEC que mantiene unidas las células y proporciona soporte mecánico al tejido. Las señales mecánicas que se propagan desde la MEC convergen sobre receptores de adhesión celular —integrinas— localizados en la membrana celular. Tales receptores transmembranares se ligan intracelularmente con el citoesqueleto de actina. Todo ello mediante estructuras especializadas de adhesión focal, verdaderos puntos de soldadura entre las células y la MEC (BURRIDGE y CHRZANOWSKA-WODNICKA, 1996).

Margaret P Price y cols identificaron un canal de sodio (*brain sodium channel-1*, BNC-1) del que depende la sensación de tacto en el ratón. La estructura y la función de BNC-1 se correlacionan con los canales de

sensación táctil de *Caenorhabditis elegans* que están compuestos de degenerinas; ambos canales, en el ratón y en el nematodo, pertenecen a la misma superfamilia de canales conocida como los canales de sodio degenerinas/epitelios (*degenerins/epithelial sodium channels*, DEG/ENaCs). Las degenerinas se identificaron en un rastreo genético de rutina en nematodos insensibles a sensaciones táctiles (mutantes *mec*). El hecho más importante es que las degenerinas requieren conexiones con el citoesqueleto y con proteínas de la MEC para ser sensoperativas: MEC-2 (homóloga a la estomatina, una proteína de membrana que se asocia al citoesqueleto); las tubulinas MEC-7 y MEC-12, y la MEC-9 que, secretada por las neuronas sensoriales, se asocia con la MEC-5 de la familia de los colágenos (GUILLESPIE y WALKER, 2001; PRICE y cols, 2000).

En las células ciliadas auditivas, aunque no se ha descubierto canal mecanosensible alguno, se conoce bastante sobre la localización del canal y sobre la trama proteica del citoesqueleto involucrada en su apertura y cierre. Los canales se localizan en los extremos apicales de los estereocilios de las células ciliadas y cuyo cuerpo filamentososo central está formado por una trama de actina. Extracelularmente, las bocas de los canales se mantienen agrupadas por un complejo proteico de ingredientes mal conocidos denominado aglutinador de la corona (*tip-link*), un complejo formado por cada uno de los extremos de los 50-60 estereocilios de cada célula ciliada. Dicha estructura se encuentra bajo tensión; esto es, pretensada o preestresada como la cuerda afinada de un violín. Cuando los estereocilios son perturbados por las vibraciones sonoras, la corona de canales se estira, lo que resulta en un incremento en la tensión que abre los canales. Por la parte intracelular, los canales conectan con el esqueleto de actina a través de un motor de miosina que tiende a escalar hacia el ápice del estereocilio a lo largo de los filamentos de actina; con ello se mantienen los niveles basales de tensión que justifican la adaptación de las células ciliadas a deflexiones prolongadas. De este modo, el preestrés o tono celular puede ayudar a modular la respuesta a la señal mecánica (GOLDBERG, www).

Dado el importante papel del citoesqueleto en la transmisión de la fuerza, inherente a los rápidos mecanismos de detección por las células mecanosensibles cutáneas y auditivas, es lógico que el desarrollo y la función de esas células especializadas descansen en la presencia de compuestos específicos del citoesqueleto. La maduración de los estereocilios junto con la de las células ciliadas, está amenazada por mutaciones en varias proteínas de la MEC y por la ausencia de integrina $\alpha\beta 1$ que, en las células auditivas, se encuentra específicamente en los estereocilios (EVANS y MÜLLER, 2000). Diferentes mutaciones de las proteínas de los estereocilios del

tipo espina (ZHENG y cols, 2000) o de una proteína —mDia1 (LYNCH y cols, 1997)— que se acopla a la pequeña guanosina trifosfatasa (GTPasa) Rho, pueden causar sordera.

Las GTPasas son interruptores moleculares que utilizan una estrategia bioquímica simple para controlar procesos celulares complejos (Fig. 3). Ellas alternan entre dos estadios conformacionales: uno acoplado a GTP (estado activo) y otro a GDP (estado inactivo); un ciclo en el que la guanosina trifosfato (GTP) es hidrolizada a guanosina difosfato (GDP). En su conformación activa —GTP acoplado— las GTPasas reconocen proteínas dianas y generan una respuesta que se suprime cuando la hidrólisis del GTP retorna la enzima a su estado inactivo. Este esquema ha sido elaborado a lo largo de la evolución biológica y las células de los mamíferos contienen varios cientos de interruptores GTPasa. La denominada superfamilia Ras de GTPasas tienen interés particular para los biólogos celulares; ello porque sus miembros han llegado a desempeñar funciones reguladoras maestras en muchos aspectos del comportamiento celular. Las Ras GTPasas son pequeñas GTPasas monoméricas que, en número superior a sesenta, se dividen en cinco grupos principales: Arf, Rab, Ran, Ras y Rho. De ellas, Rho está particularmente involucrada en la regulación del citoesqueleto. Aunque el interruptor Rho es simple, está esmeradamente regulado; el genoma humano contiene más de 60 activadores (factores de intercambio de nucleótidos de guanina: *guanine nucleotide exchange factors*, GEFs) y más

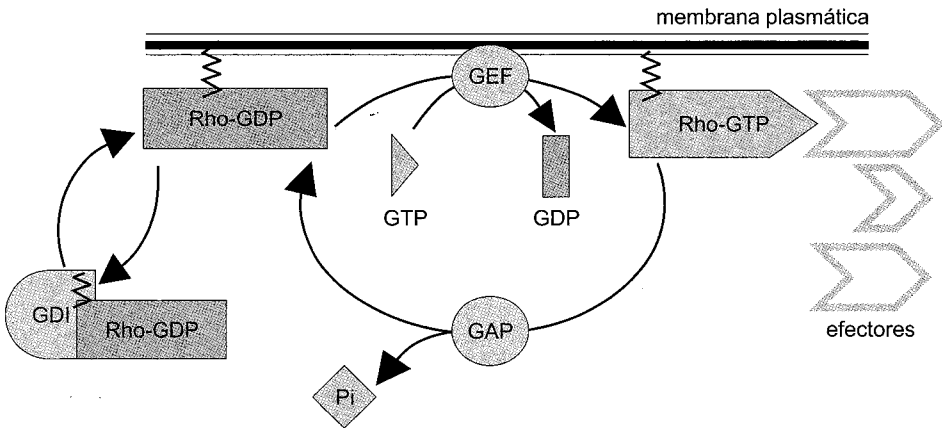


FIGURA 3. Ciclo de las GTPasas Rho. Ciclan entre una conformación activa (acoplada a GTP: GTPasa_a) y otra inactiva (acoplada a GDP: GTPasa_i). En su estado activo interactúan con una de más de 60 proteínas dianas (efectores). El ciclo está regulado por tres clases de proteínas: GEFs, GAPs y GDIs (Modificada de: Etienne-Manneville y Hall, 2002; fig 1, pg 629).

de 70 inactivadores (proteínas activadoras de GTPasas: *GTPase-activating proteins*, GAPs), que controlan esta familia de fosfatasas. Además, cuatro inhibidores del intercambio de guanina nucleotidos (*guanine nucleotide exchange inhibitors*, GDIs) rescatan Rho-GDP de la membrana celular. Por su parte, se han identificado más de 60 posibles dianas. El gen Rho fue identificado en 1985, pero hubo que esperar hasta 1992 para identificar las primeras funciones celulares de las Rho GTPasas, que se centraron en la regulación de vías específicas de transducción de señales que relacionaban receptores específicos de membrana con el ensamblaje de estructuras definidas del citoesqueleto de actina. Más tarde se comprobó que las Rho GTPasas participan en la transcripción génica y en las vías de transporte vesicular, en la progresión del ciclo celular, dinámica de los microtúbulos, regulación de la polaridad celular, y en multitud de actividades enzimáticas (ETIENNE-MANNEVILLE y HALL, 2002).

Aunque su imbricación en procesos citoesqueléticos predomina en los mecanismos de las células mecanosensibles especializadas, las respuestas a los estímulos mecánicos están también bien estudiadas entre muchos tipos celulares y en numerosos sistemas orgánicos diferentes. Osteocitos, osteoblastos y osteoclastos mecanosensibles supervisan el remodelamiento óseo en respuesta a sobrecargas compresoras anormales; células musculares lisas modifican su tono como respuesta al incremento de la presión intraluminal en los vasos sanguíneos, bronquios o intestino; el estrés mecánico estimula a los fibroblastos a producir y depositar proteínas en la MEC, y células endoteliales expresan genes que codifican factores ateroprotectores en respuesta al estrés de cizallamiento que provoca el flujo sanguíneo. En todos los casos apuntados las células involucradas no son células comprometidas primariamente en la percepción mecánica; ninguna de ellas es una célula mecanosensible especializada; sin embargo, el papel del citoesqueleto sigue uno protagonista de la mecanotransducción genérica por células mecanosensibles no especializadas, habiéndose postulado que la deformación de la membrana celular es el principal mediador de la mecanotransducción celular inespecífica (GUDI y cols, 1998).

El grupo que dirige Donald E Ingber en la *Harvard Medical School* y en el *Massachusetts Institute of Technology* ha demostrado que el soporte mecánico de las células no es un continuo mecánico o una membrana cortical en tensión. La trama mecánica celular es un conjunto de elementos discretos del citoesqueleto que comparte la compresión en cooperación con la MEC; ello a efectos de pretensar y así estabilizar un entramado de elementos tensionales (WANG y cols, 2001). Los elementos de compresión intracelulares son, en principio, microtúbulos (polímeros de dímeros de tubuli-

na); por su parte, los elementos de tensión son, ante todo, microfilamentos de actina y filamentos intermedios (Fig. 4). Estos últimos se agrupan en cinco tipos: tipos I y II (queratinas ácida y básica, respectivamente, producidas por diferentes tipos de células epiteliales); tipo III (vimentina en fibroblastos, células endoteliales y leucocitos; desmina en miocitos; factor ácido fibrilar glial en glía, y periferina en fibras nerviosas periféricas); tipos IV (neurofilamentos H —pesados—, M —medianos— y L —ligeros— e internexina, y otros filamentos relacionados como filensina y faquina), y tipo V (laminas nucleares). Además, una serie de proteínas asociadas a los filamentos intermedios (plectina, receptor de lamina tipo B, anquirina o desmoplaquina) estabilizan la red filamentosa.

En respuesta a la carga mecánica —puntual o sobre el conjunto celular— se produce un desplazamiento de elementos del citoesqueleto; ello, siguiendo un patrón de deformabilidad consistente con predicciones matemáticas basadas en el modelo de tensegridad de la arquitectura celular; un modelo en el que el preestrés tensional juega un papel estabilizador esen-

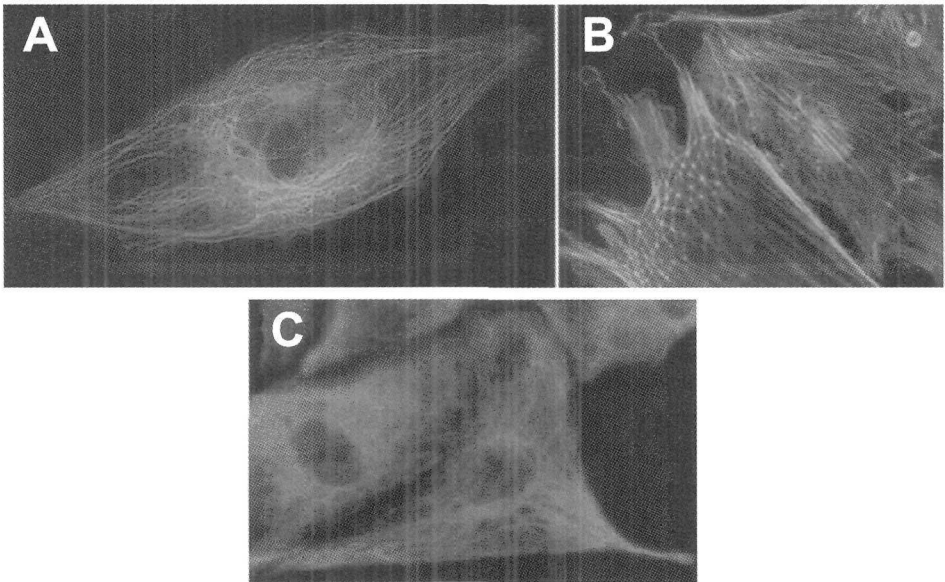


FIGURA 4. (A) Microtúbulos, (B) microfilamentos y (C) filamentos intermedios, que conforman el citoesqueleto (CE), visualizados con tubulina-proteína verde fluorescente, falloidina rodamina y anticuerpos fluorescentes frente a vimentina, respectivamente. Los MTs se expanden por la totalidad del citoplasma, en ocasiones adoptando formas curvadas. Los MFs construyen fibras lineales preestrenadas y geocúpulas de actina. Los IFs estructuran una trama reticulada que se extiende desde el núcleo hasta la periferia (Tomada de: Ingber, 2003; fig 3, pg 5).

cial (STEMENOVIC y COUGHLIN, 1999). Tales hallazgos establecen que las cargas aplicadas sobre la superficie celular son absorbidas, preferentemente, por el citoesqueleto; y, más importante, que la transmisión de la carga depende de la conectividad mediada por integritas entre la MEC, la superficie celular y el citoesqueleto (BOUDREAU y JONES, 1999; CHICUREL y cols, 1998). Esto es tensegridad.

TENSEGRIDAD

En otoño de 1948, mientras experimentaba nuevas estrategias para construir torres modulares flexibles, un joven artista —Kenneth Snelson— construyó una clase de esculturas nunca vista antes. Tan etéreas en apariencia como los *mobiles* de Alexander Calder y sin elementos obvios que soporten peso alguno, sin embargo mantienen su forma y estabilidad. En el verano siguiente mostró la escultura a su mentor, el polifacético y aún no famoso Richard Buckminster Fuller, quién incorporó de inmediato el hallazgo de Snelson como una pieza central de su sistema de sinérgica. Fuller se referiría a los nuevos objetos en términos de «mis estructuras». En el proceso de apropiación, Fuller acuñó la denominación por la que hoy se conocen y que hace referencia a su propiedad de integrar la tensión de la estructura confiriéndola estabilidad. El término *tensegrity* (tensegridad) se forma a partir de «*tensional integrity*» (integración tensional o tensión integrada). Las esculturas de Snelson, en que barras o componentes de compresión (*compression member*: parte de una estructura que soporta estrés de compresión) aparecen como suspendidas en el aire por cables casi-invisibles o alambres extremadamente finos, pueden admirarse por todo el mundo. Valiosos juguetes (*tensegritoys*, Fig. 5) infantiles —y para adultos— utilizan los mismos principios que las tensegridades originales de Snelson (TENSEGRITOY, [http](http://)). También los futuros tensigrirrobot operarán con esos mismos principios () Por su parte, podría argüirse que las primeras tensegridades no fueron hechas por humanos: una tela de araña es una estructura de tensegridad (tensegridal), aunque sin partes rígidas o componentes de compresión. Para Pugh, se establece un sistema de tensegridad cuando un conjunto de componentes de compresión discontinuos interacciona con otro conjunto de componentes de tensión continuos, para definir un volumen estable en el espacio (PUGH, 1976). Los componentes de una estructura de tensegridad están siempre en tensión o sometidos a compresión. Los componentes tensiles suelen ser cables o elementos elásticos, y los com-

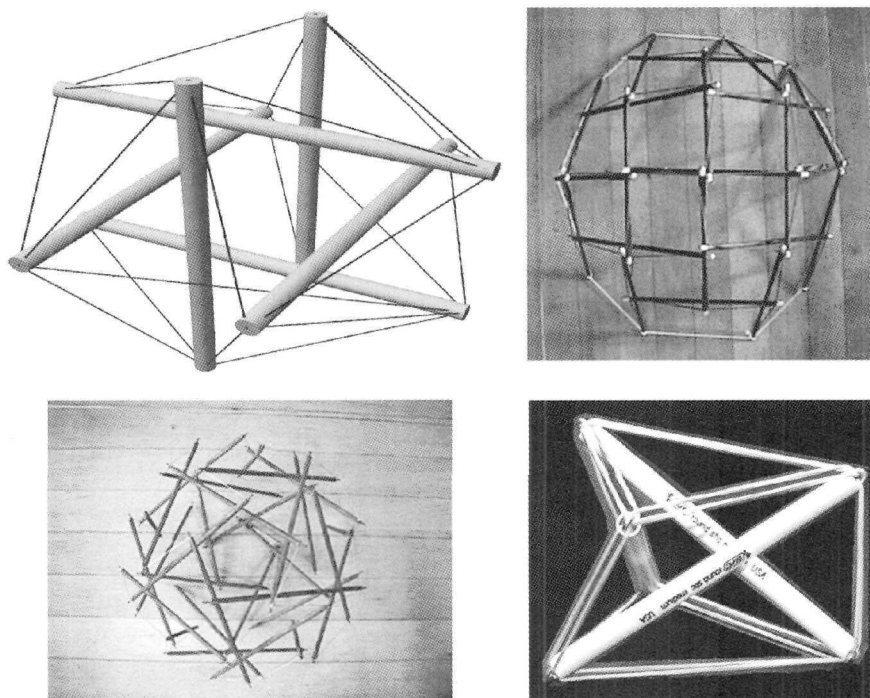


FIGURA 5. Tensegrijuguete. *Tensegritoy*©: Juguete educativo y divertido que permite investigar las propiedades tensiles. Tomado de: 0-0-0 *Checkmate*© (movimiento de ajedrez).

ponentes de compresión secciones de tubos. Los componentes de tensión forman un entramado continuo, con lo que las fuerzas de tensión se transmiten instantáneamente a través de toda la estructura. Los componentes de compresión son discontinuos, con lo que solo trabajan localmente; dado que no transmiten cargas a distancia no están sujetos a la carga global de la estructura con lo que pueden ser más gráciles sin sacrificar la integridad estructural. (BURKHARDT, [www](#)).

Aunque las cúpulas geodésicas (Fig. 6) y su sinérgica (B FULLER y APPLEWHITE, 1075-9; EDMONSON, 1986; URNER, [www](#)) dieron a Fuller renombre universal, la mayor parte de las matemáticas que utilizó Richard Buckminster estaban bien establecidas. Sin embargo, el descubrimiento de su alumno Snelson abrió nuevas cuestiones matemáticas que siguen ocupando a los matemáticos: qué es una tensegridad, porqué es estable o ¿pueden clasificarse las tensegridades? Branco Grünbaum fue responsable de reavivar el interés de los matemáticos en tales preguntas; ello, a comienzos de la década de los 70s, mediante unas notas mimeografiadas que



Figura 6. Cúpula geodésica: *Spaceship Earth*, Disney's Epcot. Florida, EEUU.

tituló «*Lectures on Lost Mathematics*». En 1980, Robert Connelly demostró una conjetura de Grünbaum sobre la construcción metódica de tensegridades planas estables (CONNELLY, 1980).

Pero, ¿dónde está el origen de tensegridad? (LALVANI, 1996). Motro apunta que el origen de los sistemas de tensegridad puede rastrearse, de la mano de Emmerich, hasta 1921, y aunque su consagración no llegaría hasta 1948 con el trabajo de Snelson. Los fundamentos geométricos fueron establecidos por el propio Emmerich y por Fuller y, luego, por Pugh; poco después llegaron las aproximaciones mecánicas y, finalmente, los proyectos industriales (MOTRO, 1992).

David G Emmerich proclama: «El descubrimiento de las estructuras autotensadas no fue un azar sino una consecuencia de mi proyecto *Logemobile* que comencé a estudiar en 1957. Tras varios intentos fallidos de construir estructuras bilaminares con componentes diferentes partiendo de patrones continuos denominados emulsiones (*Emulsions*), orienté mi investigación hacia entidades estáticas elementales más simples. Inventé —señala Emmerich— el primer conjunto básico de unidades estructurales auto-tensadas (*self-tensioning*) a finales de 1958; término utilizado en opo-

sición al de auto-soportadas (*self-supporting*). Fui hospitalizado en septiembre, estando inmovilizado durante cien días; tiempo suficiente para pensar. Lo que entonces pasó por mi cabeza lo publiqué tiempo después en una serie de artículos con el título «estables simples» (*Simplex Stables*) y como una introducción a la resistencia de formas. Por otro lado, durante mi convalecencia alguien me regaló un juego Mikado con el que comencé a construir modelos con aquellos finos palillos y como mero entretenimiento. Por supuesto que los pretendidos modelos planos nunca se mantenían planos sino que se deformaban, de inmediato, en el espacio. Tuve una idea: dado que en un viento se necesitan tres cables para estabilizar un mástil, comencé a inclinar los palillos. Utilicé tres de ellos, cada palillo con tres cuerdas atadas a cada uno de sus extremos y los uní circularmente. Imaginé el sistema de conexiones como una figura plana; luego corregí el modelo acortando las cuerdas progresivamente. ¡Aquello funcionó inmediatamente! Tras el trípode descrito, al que denominé «trinidad», extrapolé los resultados a otras dos unidades con 4 y con 5 bastones; con seis, la estructura construida con tan primitivos medios colapsaba. El proceso de búsqueda de formas fue un juego y una compensación. Tras reintegrarme a mi hogar, en enero de 1959, inicié una búsqueda febril de combinaciones. Primero mezclé unidades levo- y dextrógiras, entrelazándolas en configuraciones racémicas o compensadas; estudié los límites de sus deformaciones afines y su mutabilidad hasta ser capaces de ensamblarse en sistemas mayores hasta conseguir estructuras bilaminares. Y descubrí que, en ambas direcciones —lateral y axial— existían tres modos de correspondencia: yuxtaposición, interpenetración y entrelazamiento; una técnica por la que pueden construirse una variedad de estructuras incluyendo confinamientos... Hice docenas de combinaciones... Para proteger la propiedad intelectual deposité la especificación de tales estructuras con el título «estructuras perladas» (*Charpentes Perles*) en el Instituto Nacional —francés— de la Propiedad Industrial (N° registro: 59423) en 26 de mayo de 1959, lo que me garantizaba una prioridad de creación. En el documento, el resumen establecía el principio estático con estas palabras: «Separación de los trabajos de compresión y de tracción. Estructura compensada...» Para el cálculo de tales estructuras involucré a Alfredo Valle, un ingeniero graduado en Zurich; juntos, presentamos una patente a través de una agencia que consideró que las formas geométricas estáticas no eran patentables, que sólo componentes materiales o procesos industriales lo eran. Por fin, las especificaciones y patente que conseguimos eran tan generales que la protección fue una mera ilusión... Junto a ello, mis actividades docentes se fueron ampliando hasta desembocar en lo que se denominó «Universidad

Permanente» y que se extendió a lo largo de la década de 1960s. Entre los asistentes, Anthony Pugh...Durante el Congreso anual de la Unión Internacional de Arquitectos de 1965, en París, Fuller y Critchlow —discípulo mío— mostraron, en una exhibición al aire libre, una torre tensegridal. Tras las protestas de mis estudiantes y de Monica Pidgeon, editora de *Architectural Design*, el objeto fue retirado y Fuller me obsequió con los cuatro volúmenes de su *World Design Science Decade*, editado por John McHale en 1965 y que me dedicó *with friendship*. Fue nuestro primer encuentro personal. Desde luego que antes de este incidente conocía su nombre en relación con el *Palais des Sports* de París construido en 1960, con una cúpula geodésica, y con la publicación *Architectural Design*, en marzo 1960, en la que mostraba protoestructuras tensegridales: una estructura construida con unidades tetraédricas, similar a los espacios de Soltan...En la Expo'58 de Bruselas Fuller había presentado una estructura irregular realizada por Snelson en la que los componentes de compresión estaban realmente separados. Luego, en 1964, leí un trabajo sobre las «torres» de Snelson (Fig. 7) y, en 1969, sobre una exhibición en un parque... Veinte años después, todos estos logros fueron debidamente presentados con referencias y datos en mi informe *Posibilités d'Application des Structures Autotendantes*, encarga en 1984 por la Administración francesa. Prácticamente, el mismo texto fue utilizado en 1988 en mi libro *Structures Tendues* en cuyo capítulo introductorio —*From self-supporting to self-tensioning structures*; págs 37 a 51— recoge el trasfondo y circunstancias que condujeron a la invención de las estructuras autotensadas... Desde comienzos del siglo XIX Polonceau, Stephenson, Turner, Hawkshaw o Viollet-le-Duc, entre otros, desarrollaron estructuras con elementos de compresión y de tensión disociados. La discontinuidad de los componentes de compresión encerrados en un continuo rígido es la característica esencial de las estructuras autosoportadas como la rueda de bicicleta. Sus derivados, obtenidos por diferentes transformaciones como elongación, aplanamiento o plegamiento, están ejemplificadas por Robert Le Ricolais en sus investigaciones en los comienzos de los 1950s, y por Fuller en su estructura «aspensión» (de: *ascending suspension*). La primera y la más espectacular aplicación de tales estructuras parcialmente desconectadas es el *cigar*, construido por FJ Samuely con Rowel & Moya para el Festival londinense de 1950. Se eleva 91.5 metros y con 4.5 m de diámetro parece levitar, aparentemente liberado de los efectos de la gravedad... Tan fascinantes estructuras junto con la nueva tendencia hacia estructuras tensiles a finales de los 1950s, presentan el problema sin resolver: cómo componer estructuras en las que los elementos rígidos están desconectados y son independientes del terreno» (EMMERICH, 1996).

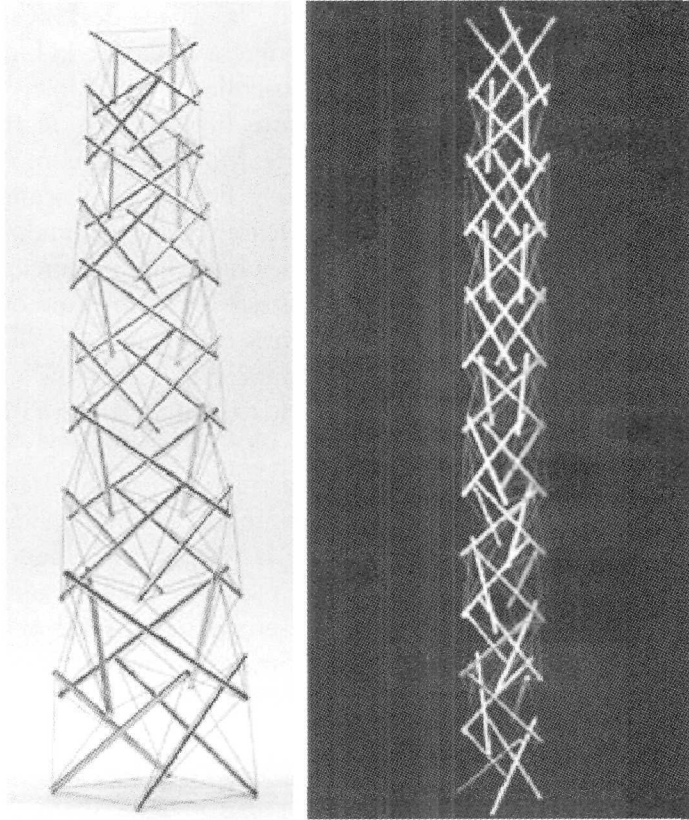


Figura 7. 4-Way Tower. (A) Aluminio y acero inoxidable. 147x46x46. Kenneth Snelson, c1959. (B) Aluminio y acero inoxidable. 214x28x28 cm. Kenneth Snelson, 1963.

Relata Shoji Sadao que «conoció, de primera mano y por primera vez, las estructuras tensegridales de Fuller cuando R Buckminster acudió, en la primavera de 1952, a la Universidad de Cornell para dictar un curso de cuatro semanas para los alumnos del último curso de Arquitectura. Durante la discusión mostró fotos de la estructura tensegridal polarizada *4D Dymaxion House*, y el mástil tensegridal tetraédrico de la Universidad de Carolina del Norte. La fascinante exposición de Fuller de los principios estructurales de la tensegridad y su potencial para desarrollos futuros fueron cautivadores -comenta Sadao- De mi conocimiento personal de los trabajos de Fuller y de Snelson (Fig. 8) y estando familiarizado con la controversia respecto al tema de la autoría de las estructuras tensegridales, me creo en el deber de decir que fue Fuller quién generalizó la teoría de las estructuras tensegridales, además de ser el origen de la versión polari-

zada de tensegridades. La contribución de Snelson fue abrir la teoría, en 1948, a todas las versiones despolarizadas que él, Fuller y otros fueron capaces de desarrollar» (SADAO, 1996).

La postura de Fuller respecto al desarrollo de estructuras tensegridales está documentada en su artículo *Tensegrity* publicado en el *Portfolio Art News Annual*, número 4, 1961. Un borrador de este artículo tiene fecha de 22 de diciembre de 1958 con el título *Tensegrity: Excerpts from Buckminster Fuller's Discourse on Structural Exploration and Invention*. En el artículo de *Art News* escribe: «Mientras que he sido ayudado por muchos en el desarrollo de mis implementaciones inventivas de mi descubrimiento del sistema completo y coordinador de la naturaleza, Kenneth Snelson me asistió de un modo extraordinariamente intuitivo en un momento importante de mi exploración hacia el descubrimiento de las estructuras de compresión discontinua y tensión continua. Kenneth Snelson, por ello, debe ser citado oficialmente en mi memorial del descubrimiento de la tensegridad. [Sin embargo] durante veintiún años, antes de mi encuentro con Kenneth Snelson, estuve, desde 1927, escudriñando el concepto de tensegridad; ello en los mástiles 4D multiniveles y en la casa *Dymaxion*. En 1917, antes de mi primera tensegridad, había descubierto el sistema vectorial, coordinado, geométrico y topológico que denominé Geometría energético-sinérgica.

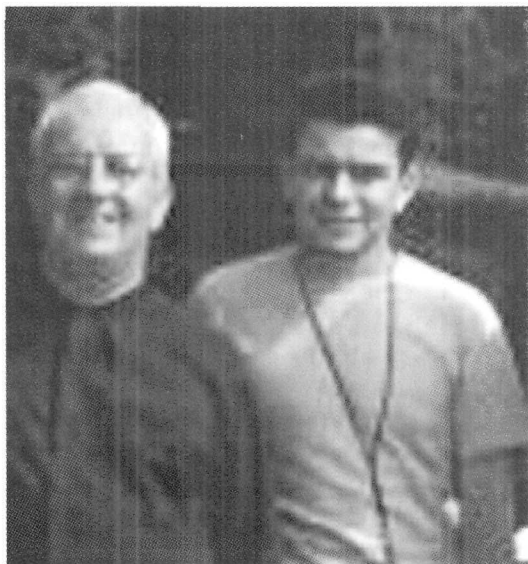
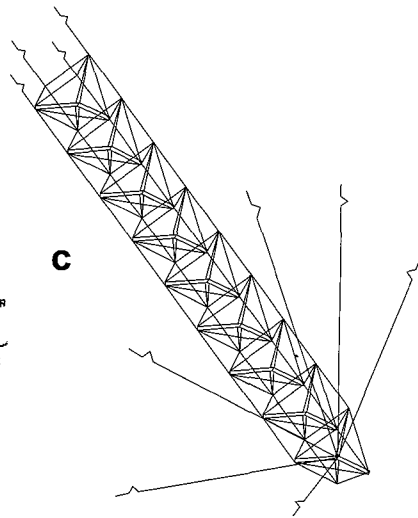
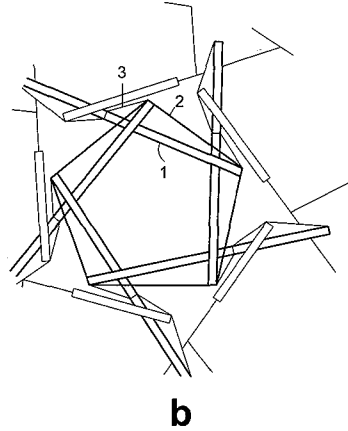
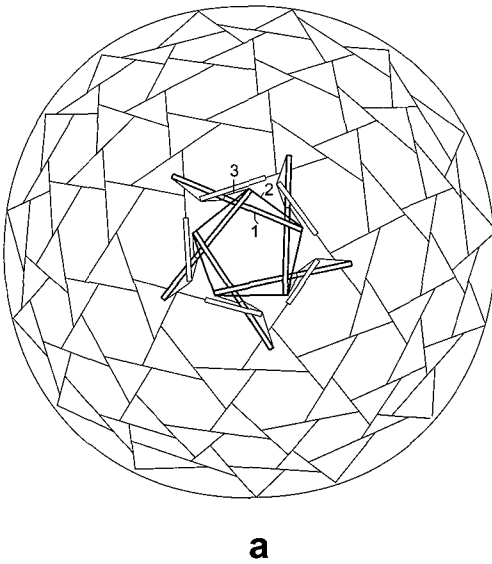


FIGURA 8. Richard Buckminster Fuller y Kenneth Snelson. *Black Mountain College*, Oregon, 1949.

Esta Geometría revela simetrías en cuatro, cinco y seis dimensiones a parte de la clásica simetría bi- y tridimensional. A pesar de mi descubrimiento, dar nombre y desarrollar la geometría vectorial multidimensional (Geometría energético-sinérgica) y la tensegridad tridimensional, había sido incapaz de integrarlas. En 1947 di una conferencia sobre Geometría energético-sinérgica con una muestra de mis modelos. Kenneth Snelson, un artista y estudiante de pintura, apareció al día siguiente con una serie de modelos que había construido durante la noche, tras mi se-

minario. Durante el año siguiente, Snelson llegó a ser mi discípulo más próximo. Su sensibilidad, habilidad y capacidad imaginativa conceptual eran extraordinarias. Le sugerí que tomara un curso de física nuclear, pero lo encontró poco atractivo y retornó a sus exploraciones artísticas a través de la construcción de esculturas y de la pintura. Un año después, en el verano de 1948, Snelson me mostró una estructura que remedaba un pivote voladizo construido con octaedros; una composición lograda mediante tensegridad aplicada al acoplamiento de octaedros, que reorientaba sus ejes diafisarios hacia un alineamiento paralelo. Esa estructura me abrió el camino que me permitió integrar la jerarquía global de las interrelaciones matemáticas de mis estructuras de tensegridad con mi Geometría energético-sinérgica, y con la simetría multidimensional y multiaxial de Snelson» (FULLER, 1961). Tras desarrollar modelos de tensegridad de diferentes poliedros, Fuller exploró la aplicación de estructuras de tensegridad a las esferas geodésicas. Una patente (*Tensile Integrity Structures*, patente USA 3063521, de 31 agosto 1959) cubrió tales desarrollos. En 1953, Fuller había construido una esfera tensegridal de 90 elementos en la Universidad de Princeton, y otra de 270 en la Universidad de Minnesota. En 1966 presentó la solicitud de patente de las cúpulas geodésicas (Fig. 9). Para Fuller, la tensegridad es la estrategia estructural de la naturaleza (GRIMALDI, 1990).

Richard Buckminster Fuller (Milton, Massachussets, 1895 – Los Angeles, California, 1983) es conocido universalmente por su invento de la cúpula geodésica; la construcción más ligera, resistente y con mejor relación coste-eficacia jamás diseñada. La cúpula geodésica es capaz de cubrir más espacio sin soporte interno alguno que cualquier otro confinamiento. La estructura se hace, proporcionalmente, más ligera y resistente cuanto mayor es. La de mayores dimensiones alberga la *Spruce Goose* en Long Beach Harbor, y la más famosa es la que albergó el pabellón de EEUU en la Expo'67 en Montreal. Incluso proyectó una cúpula de dos millas de diámetro para amparar Manhattan en un ambiente controlado, y que podría autofinanciarse en diez años con el ahorro de los costes de la retirada de la nieve cada invierno. Su mapa *Dymaxion*® (*Dynamic Maximum Tension*), un atlas terráqueo, representó la primera patente de un sistema cartográfico y también el primero que representó los continentes sobre una superficie plana sin distorsiones aparentes; el mapa presenta a la masa continental como una isla en medio de un océano. Acuñó la frase: «no hay crisis energética, sólo una crisis de ignorancia»; siendo su respuesta a las necesidades básicas la casa *Dymaxion*®. Todo ello desembocó en una ciencia del diseño —una aproximación a la solución de problemas que implica un estudio riguroso, sistemático, de la ordenación deliberada de los com-



INVENTOR
R. BUCKMINSTER FULLER
BY
Richard Johnston, Joseph H. Robertson
ATTORNEYS

FIGURA 9. RB Fuller. Tensegrity patent, USA 3063521, 12 nov 1962.

ponentes de nuestro universo— de la que surgieron el capitalismo natural y la permacultura (*permaculture* = **permanet** + **culture**), y el biomimetismo y las biomicromáquinas (B FULLER INST, www).

El siguiente protagonista es Kenneth Snelson. Nacido en Pendleton, Oregon, en 1927, Snelson proclama que «mi arte está comprometido con la naturaleza en su aspecto primario: el diseño de fuerzas físicas en el espacio tridimensional. La mayoría de la gente que se acerca a la tensegridad cree —escribe Snelson— que fue un invento de Buckminster Fuller. Una lectura detallada de los escritos de Fuller desvela que nunca reclamó tal inventiva; lo que él acuñó fue el término «tensegridad», una

combinación de sílabas de tensión e integridad. Lo que relataré —continúa Snelson— es cómo inventé una nueva clase de estructura que acabó conociéndose como tensegridad (Fig. 10). Como sucede con muchas ideas, descubrí el principio de tensegridad en el curso del mero placer de experimentar; en mi caso jugaba con ideas que pudieran aplicarse a esculturas con posibilidad de realizar movimientos. Corría el año 1948 [por aquellas fechas Snelson no conocía a Fuller ni a Emmerich, a quién no nombra una sola vez]. Era —continúa Snelson— un estudiante de segundo año de Arte en la Universidad de Oregón cuando conocí la Bauhaus alemana y a los artistas Klee, Kandinsky, Maholy, Nagy y a otros. Uno de ellos, Josef

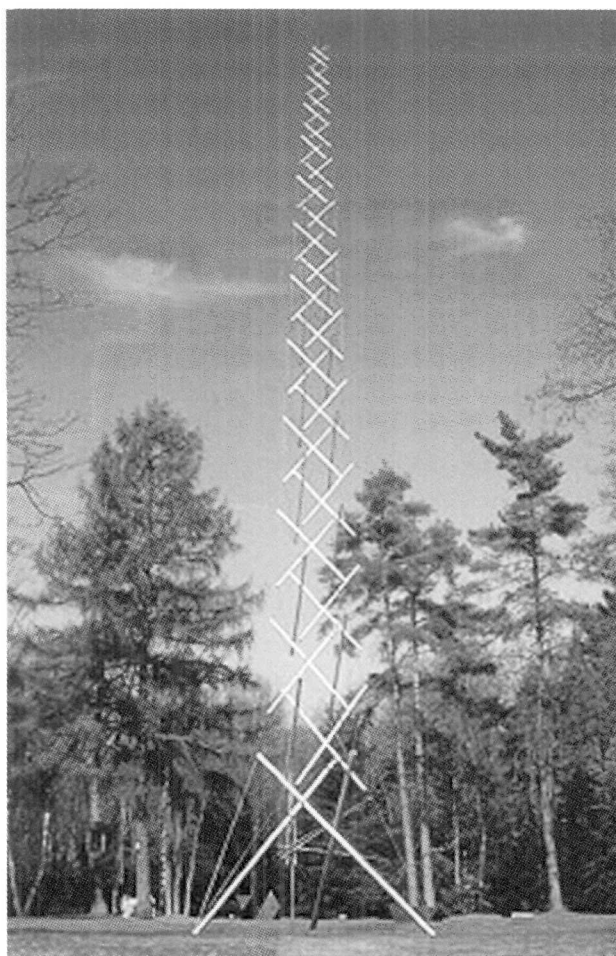


Figura 10. *Needle Tower II*. Aluminio y acero inoxidable. 30x6x6 m. Kenneth Snelson, 1969. Museo Kröller Müller, Otterlo, Holanda.

Albers, se había trasladado al *Black Mountain College*, en Carolina del Norte; un colegio liberal, progresista que, en aquellas fechas, atraía a gente de talento, artistas principalmente, a quienes se invitaba a participar en los cursos de verano. La población local veía el lugar como un nido de comunistas. El verano en que yo me incorporé había cincuenta alumnos y unos pocos profesores; entre ellos Willem DeKooning, Richard Lippold, Merce Cunningham, John Cage y Annie y Josef Albers. Richard B Fuller estuvo dos semanas; las últimas porque fue invitado en el último minuto para sustituir a otro arquitecto quién falló sin previo aviso. El nombre de Fuller no era famoso, así que su llegada no despertó especial interés. Lo único destacable es que había viajado desde New York conduciendo un trailer repleto de modelos arquitectónicos. Josef Albers me encomendó que ayudara al recién llegado a preparar el material para su clase, así que fui al camión aparcado cerca del auditorio. Al primer vistazo algo me dijo que estaba ante algo nuevo; estaba ante lo que parecían estudios geométrico-matemáticos: docenas de poliedros de cartón de todas formas y tamaños, esferas construidas por grandes círculos, construcciones a partir de bandas metálicas y de elementos triangulares de plástico. Seguí sus instrucciones y trasladé el material, modelo tras modelo.. Aquella tarde, cuando se despejaron las mesas del comedor, la audiencia se preparó para escuchar al nuevo orador. Era un hombre pequeño y fornido, de pelo blanco y con unas enormes gafas. Tras un breve silencio interminable comenzó a tartamudear. Describió el cuerpo humano en términos robóticos: un bípedo móvil y multiadaptable. También entramos en contacto con edificios livianos, esferas geodésicas compuestas de grandes círculos y con el coche *Dymaxion*®; todo ello explicado a partir de su Geometría energética, basada en el triángulo y en el tetraedro en vez de en el cuadrado y el cubo. Una geometría que revolucionaría las matemáticas y la física. Para todos nosotros, estudiantes de Arte, su mensaje se encaminaba hacia el diseño de un mundo nuevo que salvaría a la humanidad de su autodestrucción. El Colegio pareció mesmerizarse con su imaginería futurística. Algún profesor como el Dr. Dehn, matemático, se quejó de que estábamos perdiendo el tiempo con un charlatán. Algunos, yo incluido, pensamos que se trataba de algo grande. Comenzamos a llamarle «Bucky». El resto del curso, profesores y alumnos abarrotábamos sus clases matinales. Continué como ayudante de clase y me pregunté si debía continuar pintando o, como Albers advertía, debía pasarme a la escultura. A finales del verano estaba muy influido por las ideas *Dymaxion* de Fuller; un grupo de alumnos era conocido como los «Bucky-Fulleritos» o los *Dymaxion-Fellows*.

Bucky fue un hombre de su tiempo —comenta Snelson. En aquellos días inmediatamente después de la Segunda Guerra Mundial, el país estaba abatido y Fuller era un optimista atractivo que hacía creer a su audiencia que el mundo podía salir adelante si se hacían las cosas a su manera. Tenía carisma y un mensaje: salvar a la humanidad y resolver sus problemas mediante el diseño racional utilizando las tecnologías más avanzadas. Por mi parte, fue la geometría y las ideas estructurales las que me engancharon, aunque tenía mis dudas sobre si sería capaz de salvar al mundo. Finalizado el curso de verano pasé los cuatro meses siguientes en casa, construyendo cosas. Conocía por Fuller la llamada Geometría energética, y por Albers algo del constructivismo de la Bauhaus. Decidí aplicar ambas ideas. Escuchando a Fuller una tenía la impresión de que él había descubierto, por vez primera, que el tetraedro y el octaedro eran formas trianguladas y que proporcionaban estructuras sólidas; incluso que Fuller había inventado el triángulo. Durante el otoño e invierno de 1948-49 construí varios estudios, de bastante altura, móviles y estáticos. Estas esculturas incorporaban los conceptos de Fuller y de Albers. Tres de ellas tuvieron un interés especial. La primera parecía una variación de los familiares balancines. La evolución a la segunda construcción hacía pensar más en una variación de los *mobiles* de Calder que de estructuras de tensión/compresión elementales. Lo que perseguía era mantener unidos los componentes en la estructura global por medio de algún engarce mágico; al menos tan desapercibido como las cuerdas de las marionetas. Para ello eliminé los brazos de balanceo y empleé líneas de tensión adicionales. Mi primera estructura estable estuvo construida con dos piezas en forma de «C». Era evidente que el perfil ideal era un módulo en forma de «X», pues proporcionaba cuatro cuadrantes para añadir nuevos elementos. Escribí a Bucky y le envié algunas fotos de mis construcciones. Volví a *Black Mountain* en el verano de 1949, llevándome conmigo la columna X. Bucky, que no había prestado mucha atención a mis fotos, observó la estructura y me preguntó si podía quedársela. Asentí, a la vez que me di cuenta de que no le desagradó que hubiera empleado «su» geometría para hacer arte [algo que el verano anterior no habría tolerado]. Al día siguiente me comentó que las posibilidades mejorarían utilizando los ángulos centrales de un tetraedro en vez de los de elementos X. Desde mi punto de vista creí que la forma X era mejor, pues permitía el crecimiento de la estructura en cualquier dirección a partir de cualquier cuadrante, y no sólo a lo largo de un eje en el caso de utilizar tetraedros. En aquellas fechas los estudiantes poco podían hacer frente a las opiniones de los profesores. Fui a un almacén para comprar una docena de elementos telescópicos para cortinas. Siguiendo las indicaciones de Fuller

ensamblé los elementos con facilidad. Al día siguiente Fuller estaba encantado con «su» nueva estructura: un mástil de compresión discontinua.

Estando en París, estudiando con Fernard Leger, un día de agosto de 1951 me topé en un quiosco con la cubierta de la revista *Architectural Forum*, que reproducía el perfil inconfundible de una cúpula geodésica; en el interior, un artículo sobre los experimentos de Fuller y una foto de «mi» mástil sin más referencia que el nombre de quién había tomado la foto. Desde entonces la estructura fue atribuida a una invención de Bucky. El daño —remacha Snelson— estaba hecho. Fuller había accedido a la publicidad y, lección de lecciones, el poder está en la prensa. La palabra tensegridad no aparecía en el artículo; la acuñó cinco años después. La reparación, parcial, tuvo lugar en noviembre de 1959, en una exposición de la obra de Fuller en el MOMA (*Museum of Modern Art*) de New York: *Three Structures by Buckminster Fuller*; entre ellas el mástil tensegridal. Fui presentado a Arthur Drexler, responsable del Departamento de Arquitectura del museo, a quién expliqué mi autoría de la obra. En el catálogo de la exposición apareció: «El principio involucrado en el mástil tensegridal fue descubierto inicialmente por Kenneth Snelson en 1949 ... El mástil expuesto está basado en el mismo principio aunque utilizando una configuración diferente de las partes». En 1960 patenté (*Continuous Tension, Discontinuous Compression*: Patente USA 3169611) el principio del Módulo X y su capacidad de expansión en todas direcciones» (SNELSON, 1996; www).

Una figura que aparece fugazmente en las trayectorias de David G Emmerich, Richard B Fuller y Kenneth Snelson, es Alexander Calder. El primero al hacer referencia a los *mobiles*; Fuller en cuanto a la inclusión del artista en diferentes anécdotas, y Snelson al comparar sus primeras esculturas en movimiento con los «móviles» de Calder (FOX, 1982; MULLER, 1971); sin embargo, Calder no refiere una sola vez el nombre de estos autores en sus memorias (CALDER, 1966). Alexander «Sandy» Calder (Lawton, Pennsylvania, 1898 – New York, 1976) se inició, siendo muy joven, en la construcción de juguetes. En 1926 se trasladó a París, donde creó el *Cirque Calder*, una representación artística que utilizaba pequeñas figuras circenses, planas, hechas por él a base de alambre, madera, tela y otros materiales. Luego, profundizó en el manejo del alambre realizando objetos tridimensionales continuos para, a finales de 1930, realizar sus primeras esculturas abstractas que culminaron en composiciones con diferentes elementos muy simples, en equilibrio dinámico inestable que las hacen sensibles a mínimas corrientes de aire. Esas esculturas de alambre y de diversas formas realizadas con láminas de metal fueron bautizadas como

«móviles» (Fig. 11) —*mobiles*— por Marcel Duchamp, quién sugirió tal nombre -ya lo había él utilizado opcionalmente para su *Rueda de bicicleta*, para una exposición de la obra de Calder en la Galería Vignon de París, en 1932. «Un móvil: una pequeña celebración particular; un objeto definido por su movimiento y que no existe sin él, una flor que se marchita en cuanto se detiene, un simple juego de movimientos de la misma manera que existen simples juegos de luces... La escultura sugiere el movimiento, la pintura sugiere la profundidad o la luz. Calder nada sugiere: imita auténticos movimientos animados y les da forma. Sus móviles no significan nada más que a ellos mismos: son, eso es todo; son absolutos. Son más impredecibles tal vez que cualquier otra creación humana... Decía Valéry del mar que estaba siempre recomenzando. Un objeto de Calder es parecido al mar e igual de subyugante: siempre recomenzando, siempre nuevo... El móvil del Calder tiene un movimiento ondulatorio, titubea, se diría que se equivoca y que rectifica... Aunque Calder no haya querido imitar nada sino crear escalas y acordes de movimientos inéditos, sus móviles son a la vez invenciones líricas, combinaciones técnicas, casi matemáticas y, al

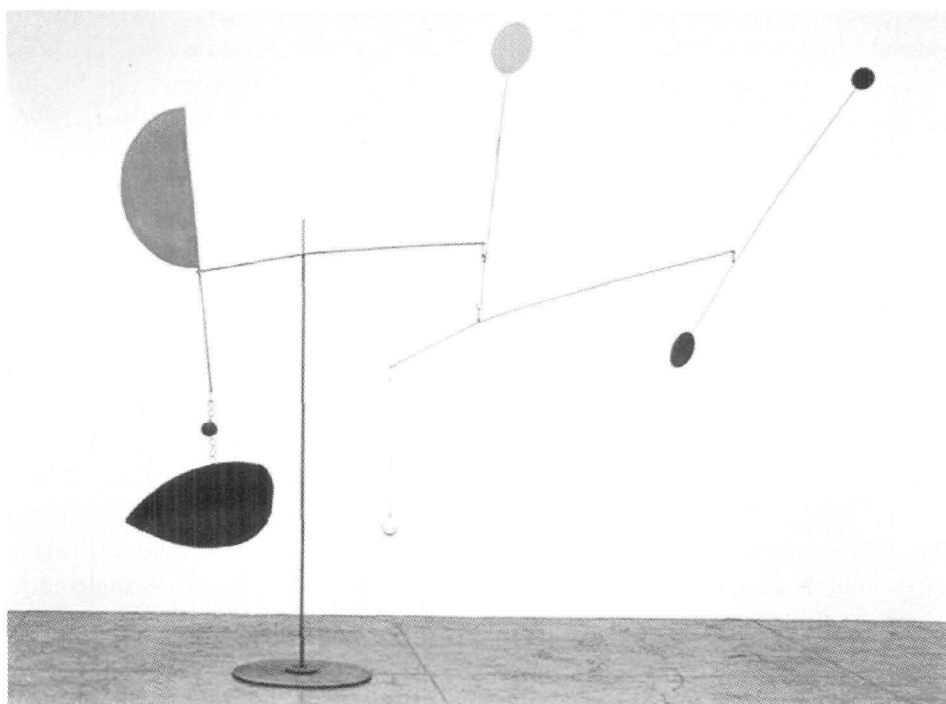


FIGURA 11. Móvil: *Steel Fish*. Barra, aluminio laminado pintado, alambre y plomo. 292.1x348x304.8 cm. Alexander Calder, 1934. Colección privada.

mismo tiempo, símbolo apreciable de la naturaleza baldía que desperdicia el polen y produce bruscamente el vuelo de mil mariposas, de la cual nunca se sabe si es el ciego encadenamiento de causas y efectos o el tímido desarrollo, siempre retardado, alterado, de una idea surgida inopinadamente» (SARTRE, 1946). «La gente cree —comentaba Calder— que los monumentos deben salir de la tierra, nunca del techo, pero los móviles pueden ser monumentos también». «A mi juicio —escribe Francisco Calvo Serraller (2003)— es difícil no sentir fascinación ante esta frase aparentemente inocua a pesar de desafiar las leyes de la gravedad». Calder también desarrolló «estables» —*stables*: nombre sugerido por Jean Arp-; esculturas estáticas que sugieren un volumen limitado por múltiples planos. Sus últimas creaciones fueron enormes esculturas de líneas arqueadas y perfiles abstractos que pueden contemplarse por las plazas públicas de todo el mundo. Calder fue un artista original que definió volúmenes sin masa e incorporó el tiempo y el movimiento al arte. Sus invenciones redefinieron ciertos principios básicos de la escultura (CALDER FUND, [www](http://www.calderfund.org); CALDER WEB, [www](http://www.calderweb.org); LIPMAN, 1976).

Con todo lo anterior, las herramientas matemáticas de las teorías de grupos y de representación, acopladas con las capacidades gráfica y computacional de los ordenadores, ha hecho posible confeccionar un catálogo completo de tensegridades referido a ciertos tipos preestablecidos de estabilidad y simetría, incluyendo algunas nunca intuidas: Programa STRUCK desarrollado por Gerard de Jong y Kart Erickson (CONNELLY y BACK, 1998; De JONG, [www](http://www.struck.nl)). Las tensegridades tienen una pureza y simplicidad que conducen de manera natural a la descripción matemática. Dejando a un lado los detalles físicos de la construcción, cada tensegridad puede modelarse matemáticamente como una configuración de puntos o vértices, que satisface simples restricciones de distancia. Las estructuras de Snelson se mantienen estables mediante dos tipos de elementos o componentes: cables o tendones inextensibles pero flexibles, y barras rígidas. Los dos elementos juegan papeles complementarios: los cables mantienen los vértices unidos; las barras los apartan. Dos vértices conectados por un cable pueden estar tan juntos como se desee —pueden estar uno encima del otro si la tensegridad colapsa— pero nunca pueden estar más allá de la longitud del cable que los une; de igual manera, dos vértices sobre una barra nunca pueden estar más próximos que su propia longitud. El equilibrio de la estructura depende de fuerzas de tensión y de compresión, dirigidas en el sentido axial de cada uno de los componentes que las constituyen —cables y barras—, sin que existan fuerzas de torsión. Sobre la base de la ausencia de contacto físico entre los componentes de compresión, las articulaciones

de una estructura de tensegridad tienen una respuesta lineal predecible en un amplio abanico de formas diferentes. En los estudios iniciales sobre estructuras tensegridales, Emmerich, Fuller y Snelson utilizaron poliedros regulares convexos como punto de partida para explorar nuevas configuraciones. Tal exploración, exclusivamente geométrica, condujo a un gran número de configuraciones que fueron clasificadas por Pugh tras la identificación de tres tipos de patrones: diamante, circular y en zig-zag (PUGH, 1976).

La forma geométrica de un sistema de tensegridad debe satisfacer el criterio de autoestresamiento. Si $\{t\}$ representa los vectores de estrés en los componentes, y si $[A]$ es la matriz de equilibrio del sistema, en términos generales el equilibrio de un sistema de barras se expresa: $[A] \{t\} = \{F\}$. $\{F\}$ representa el vector de acciones externas, que es el vector cero en sistemas tensegridales; ello significa que la matriz $[A]$ debe ser singular en el caso de autoestresamiento $\neq 0$. Ello satisface la definición de Pugh: «Se establece un sistema de tensegridad cuando un conjunto de componentes de compresión discontinuos interacciona con un conjunto de componentes de tensión continuos, para definir un volumen estable en el espacio» (PUGH, 1976).

Sin embargo, el *Structural Topology Group* (STG) aportó modelos físicos en los que la figura de tensegridad correspondiente a una forma poliédrica particular es diferente a la del poliedro de partida; esto es, la figura autotensada de una tensegridad no es idéntica a la del poliedro correspondiente. Roth y Whitely —del grupo apuntado— definen los sistemas de tensegridad

como aquellos contruidos de barras, que mantienen fija la distancia entre ciertos pares de nodos; de cables, que definen un límite máximo en la distancia entre otros pares de nodos, y de sistemas telescópicos que determinan la distancia mínima entre otros pares de nodos (ROTH y WHITELEY, 1981). Esta aproximación se caracteriza por la distinción manifiesta entre barras, cables y amortiguadores, lo que fue formalizado matemáticamente: «Una trama tensegridal en el d -espacio $G(p)$, es un grafo del tipo $(V; E^-; E_0; E^+)$, y una asignación $p \Sigma R^{div}$ tal que $p_i = p_j$ si $(i, j) \in E^- \cup E_0 \cup E^+$. Los componentes en E^- son cables, en E_0 son barras y en E^+ son amortiguadores (WHITELEY, 1987).

Ambas definiciones, la estándar de Pugh, y la revisada del STG, no son contradictorias; son, sólo, enfoques diferentes que deben conocerse a la hora de abordar soluciones para construir sistemas de tensegridad. Los dos únicos requisitos son, en primer lugar, que los elementos de tensión son rectilíneos por naturaleza. Los elementos de compresión pueden tener ejes

rectilíneos pero no es incongruente que los sistemas de tensegridad incluyan subsistemas cuyos componentes de compresión sean ensamblajes curvados de elementos rectilíneos —por ejemplo las esculturas de Moreno (en especial «Crescent Moon», Fig. 12) incluyen poliedros estrellados cuyos elementos de compresión son triángulos entrelazados— o de elementos intrínsecamente curvos como los anillos de compresión de las cúpulas de Geiger. El «diseñador conceptual» —como él mismo se define— hispano-canadiense Rafael Felipe Moreno (nombre artístico: «Falo»; Sevilla, 1946), estudioso de formas tridimensionales, ha centrado su atención en el desarrollo y construcción de esculturas interactivas; ello sobre la base de los sistema de tensegridad (MORENO, www). El segundo requisito es la discontinuidad de los elementos de compresión. Así, una definición de compro-

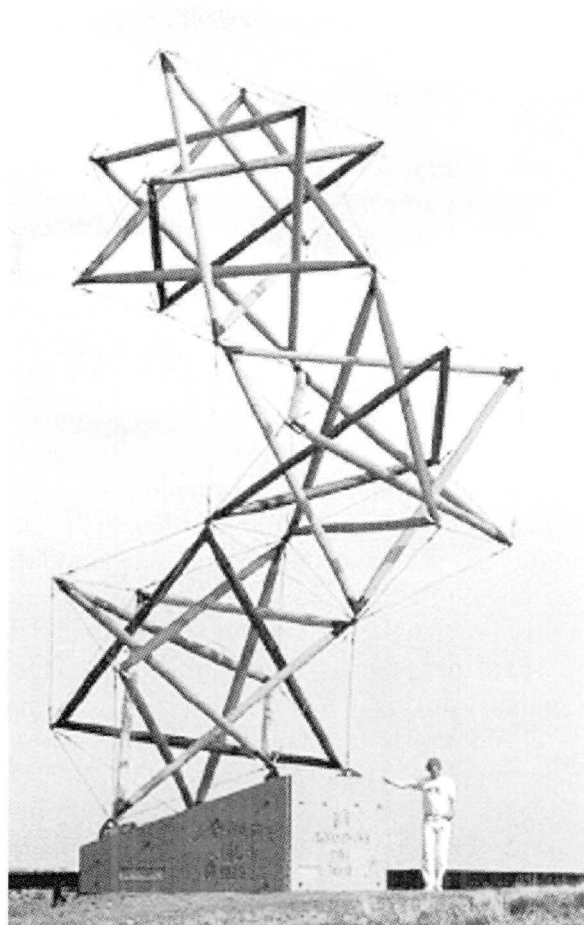


FIGURA 12. *Crescent moon*, de Rafael Felipe (Falo) Moreno. Ejemplo de escultura monumental de tensegridad. VI Competición «Henry Moore» de escultura abstracta. Hakone Open Air Museum, Japón.

miso: Sistemas de tensegridad son aquellos cuya rigidez es el resultado de un estado de equilibrio autoestresado entre cables tensados y componentes comprimidos, e independiente de cualquier campo de acción. Ello exige la utilización de métodos de determinación de formas (*form-finding*) posibles en aras de especificar la configuración geométrica de equilibrio de incluso la estructura tensegridal más simple. Tales métodos han sido clasificados en cinemáticos y estadísticos. Los primeros determinan la configuración de una estructura de tensegridad dada a partir de la longitud máxima de las barras mientras se mantienen constantes las longitudes de los cables, o a partir de la longitud mínima de las cuerdas con tubos constantes. Esta metodología remeda el modo en que las estructuras tensegridales se construyen en la práctica, sin explicitar el requerimiento de que los cables estén en un estado pretensado. Los métodos cinemáticos contemplan tres aproximaciones: una estrategia analítica, sólo aplicable a estructuras simples o estrictamente simétricas; un método de optimización no lineal, y un método iterativo pseudodinámico o relajación dinámica. Por su parte, los métodos estadísticos presumen que existe una estrecha relación entre las posibles configuraciones de equilibrio de una estructura de tensegridad con una topología predeterminada, y las fuerzas soportadas por sus componentes. Esta metodología contempla cuatro enfoques: soluciones analíticas similares a las señaladas para la metodología cinemática; método matricial de densidad de fuerzas; enfoque de minimización de energía que produce una matriz idéntica a la matriz de densidad de fuerza y que introduce el concepto de tensegridades superestables, y método de coordenadas reducidas (TIBERT y PELLEGRINO, www).

El objeto de tensegridad tridimensional más simple es el prisma tensegridal (*prisma T*), siendo el prisma triangular la forma más primitiva: tanto, que se denomina *simplex*. Un prisma tensegridal es uno formado por cables a lo largo de las aristas del prisma, con barras formando las diagonales de las caras en un sentido consistente. Las dos bases del prisma están rotadas, en relación una con otra, en un ángulo dictado por el requerimiento para la estabilidad de la figura. Para prismas regulares este ángulo es la mitad del ángulo del polígono base (30° para un prisma triangular; 45° para un prisma cuadrangular; etc.). Se pueden distinguir configuraciones dextrógiras y levógiras, de acuerdo con el sentido de la rotación de las dos bases. Pueden construirse poliedros más complejos (Fig. 13). Emmerich señaló la sistemática para derivar tensegridades en el rango de los poliedros platónicos y arquimedeanos. La cúpula de Fuller es un poliedro tensegridal de orden superior obtenido por subdivisión geodésica de la esfera, que puede denominarse cúpula tensegridal geodésica o cúpula geodésica de Fuller.

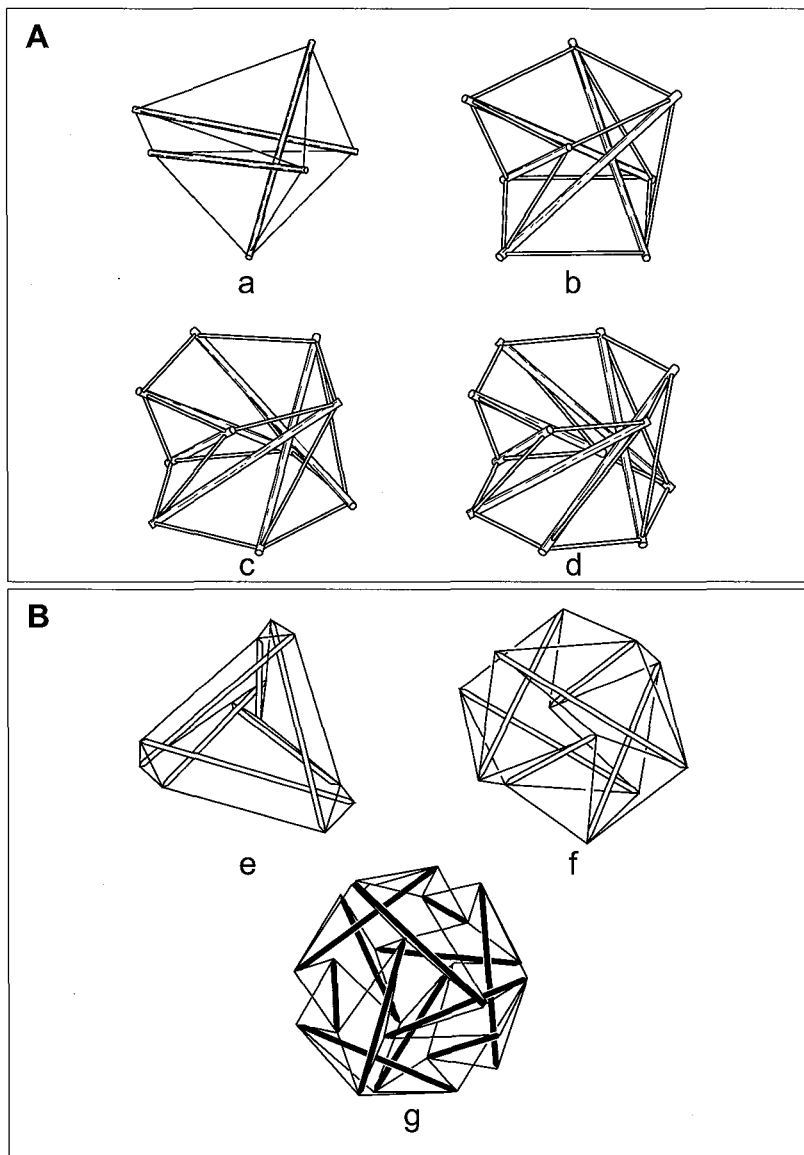


FIGURA 13. (A) Prismas de tensegridad: a) triangular, b) cuadrado, c) pentagonal, d) hexagonal. (B) Poliedros tensegridales: (e) tetraedro truncado; (f) octaedro; (g) cuboctaedro.

Mientras que los poliedros tensegridales encierran un espacio finito, entramados construidos de patrones repetitivos de construcciones cable-barra limitan espacio ilimitado. Como superficie plana, tales entramados no son estables, requieren curvatura para conseguir caparazones. Parrillas tensegri-

dales bilaminares (*double-layer tensegrity grids*, DLTGs) pueden construirse ensamblando prismas tensegridales, y entramados de geometrías complejas pueden construirse mediante el ensamblaje de poliedros de orden superior. Junto a los poliedros y los entramados o redes, la tercera geometría tensegridal es, para Hanaor, las formas estructurales. Cúpulas monolaminares o superficies cupulares pueden formarse sobre la base de poliedros tensegridales y subdivisión esférica geodésica, tal como la cúpula de Fuller. Superficies monolaminares curvadas de cualquier perfil pueden generarse a partir de entramados monolaminares, y superficies bilaminares de cualquier perfil, incluso superficies planas, pueden generarse a partir de entramados bilaminares sobre la base de prismas o de pirámides T. Todas estas composiciones tensegridales son, desde un punto de vista estructural, entramados o redes de cables preestresados. Ello implica que son estructuras, en la mayoría de los casos, deformables geoméricamente: deformabilidad geométrica vs rigidez geométrica.

La deformabilidad se expresa por el hecho de que el sistema no puede mantener el equilibrio ante una carga aplicada, en su geometría original. La estructura debe modificar —deformar— y cambiar su forma —perfil— a efectos de desarrollar componentes internos de fuerza que compensen la carga externa. La magnitud de la deformación depende primariamente de la carga y del nivel del preestrés —la fuerza de tensión en el cable; la deformación puede ser muy grande incluso para valores pequeños de carga. Por el contrario, un entramado o red planar de cables —los cables son estresados en su plano— puede equilibrarse en su geometría original y su deformación es un resultado de deformaciones elásticas (elongación y acortamiento) de los cables únicamente. Tales deformaciones son pequeñas en comparación con las deformaciones geométricas de los cables. En ocasiones se ha etiquetado de «inestables» a las estructuras geoméricamente deformables; ello es un error, pues son capaces de soportar la carga, a pesar de grandes deflexiones, en comparación con estructuras geoméricamente rígidas como las vigas. En otras ocasiones se refieren como estructuras cinemáticamente indeterminadas; lo que se refiere a que los cambios de geometría dependen de la carga. Por su parte, las estructuras geoméricamente rígidas no requieren preestrés para mantener una rigidez razonable. En ellas, variaciones en la longitud de un componente repercuten en la geometría global. Las estructuras geoméricamente rígidas son estáticamente indeterminadas; son incapaces de adaptar su geometría para compensar cambios en las dimensiones de sus componentes (HANAOR, 1997).

Partiendo del concepto de «comparabilidad»—dos configuraciones son comparables si tienen el mismo número de vértices, conectados por cables

y por barras de la misma manera- Alex Tsou califica una tensegridad de superestable si cualquier configuración comparable de vértices o viola uno de los requisitos de distancia —una de las barras es demasiado corta o uno de los cables demasiado largo—, o es una copia idéntica —en términos geométricos— del original. En términos generales, tensegridades planares superestables pueden generarse a partir de un teorema de Connelly: Si los cables forman un polígono estrictamente convexo, si las barras son diagonales interiores, y si hay un estrés positivo para cada cable, un estrés negativo para cada barra y equilibrio en cada vértice, entonces la tensegridad es superestable, y aunque la estabilidad no siempre sea intuitivamente obvia. Y tensegridades tridimensionales estables pueden generarse mediante la acción de un grupo de simetría sobre una barra y dos cables (CONNELLY, 1980).

Comenta Miguel de Guzmán que, por su comportamiento integrado, las estructuras tensegridales remedan organismos vivos. Un elemento cualquiera, una barra o un tendón, está ligado al conjunto de tal manera que cualquier mínimo cambio que experimente altera todos y cada uno de los componentes de la estructura. Y esto ocurre de una forma extraordinariamente directa y simple. La economía de esta transmisión de información es absolutamente sencilla, no interviniendo en ella otros elementos sino los que proporcionan la misma consistencia a la estructura. El control de la estructura misma en sus posibles modificaciones se puede realizar sin violencia alguna para ella, utilizando las mismas tensiones ya inherentes y variando simplemente sus intensidades. La torsión de alguno de los componentes, que tradicionalmente era el mecanismo normal para las modificaciones estructurales, está aquí ausente. En las estructuras de tensegridad todas las fuerzas que aparecen son fuerzas axiales y, así, el encorvamiento o pandeo global de la estructura se efectúa sin necesidad de pandeo de ninguno de sus componentes. La simplicidad de las estructuras tensegridales, esencialmente con dos tipos de sencillos componentes —barras y tendones— con su economía de energía y de espacio, hace posible, si es deseable una redundancia que resulta bien económica desde muchos puntos de vista (GUZMÁN, 2003).

LA FUNCIÓN SIGUE A LA FORMA

Tensegridad, como ha sido presentada, es un principio de construcción, intuido DG Emmerich, desarrollado por RB Fuller y explicitado por el escultor K Snelson. Fuller definió los sistemas de tensegridad como

estructuras que estabilizan su forma o figura mediante tensión continua, tensión integrada o integridad tensional más que por compresión continua (por ej. la que utiliza un arco de piedras). El ejemplo más evidente de tensegridad lo representan las esculturas de Snelson; estructuras compuestas por barras de acero independientes que son mantenidas en posición y suspendidas en el espacio mediante cables muy tensados. La sorprendente simplicidad de esas esculturas ha condicionado una descripción de arquitectura tensegridal como una red tensada de componentes estructurales autoestabilizada y resistente a la distorsión de su figura, al incorporar otros elementos de soporte que resisten la compresión. Estas bellas composiciones ilustran el balance de fuerzas subyacentes que, basado en la compresión local y en la tensión continua, es responsable de su estabilidad (Fig. 14). Sin embargo, los componentes rígidos no son imprescindibles, pues pueden construirse estructuras similares con muelles flexibles que, simplemente, difieren en su estabilidad, o mediante meros cables como la tela de araña (CONNELLY y BACK, 1998).

De acuerdo con la definición más general de Fuller, tensegridad incluye dos amplias clases de estructuras: preestresadas y geodésicas. Las primeras mantienen la posición o estabilidad de sus vértices sobre la base de un preestrés (estrés tensor preexistente o tensión isométrica) en la estructura (Fig. 15). La segunda triangula sus componentes estructurales que, orientados a lo largo de geodésicas (trayectos mínimos), consiguen una geometría estable. El cuerpo humano proporciona un ejemplo familiar de estructura tensegridal preestresada: los huesos representan barras que resisten la tracción muscular y la tensión de tendones y de ligamentos; con ello, el tono (preestrés) muscular modula la estabilidad (rigidez) de la figura corporal (LEVIN, *www*). El cuello de la jirafa (Fig. 16), o la acción de levantarse de la cama cada día son ejemplos perfectos de tensegridad en acción, de dinámica tensegridal (BROOKES, 1999). Ejemplos de tensegridad geodésica incluyen las cúpulas geodésicas de Fuller, los fullerenos (APPLEWHITE, *www*) y los armazones tensegridales (ROTH y WHITELEY, 1981). Estos últimos incluyen las denominadas estructuras espaciales tetraédricas, popularizadas a través de la NASA, que mantienen su estabilidad en ausencia de gravedad y, por tanto, sin compresión continua, y también las denominadas estructuras flotantes de dimensiones muy grandes (VLFS) o islas artificiales (Fig. 17). Sin embargo, se ha demostrado la existencia de una base estructural común para ambas tensegridades (MOTRO, 2003).

La célula es la unidad básica de la vida; su nombre alude simplicidad autocontenida. Sin embargo, Donald [Don] B Ingber, un biólogo celular en el Departamento de Cirugía del Hospital Infantil de la Facultad de Medi-

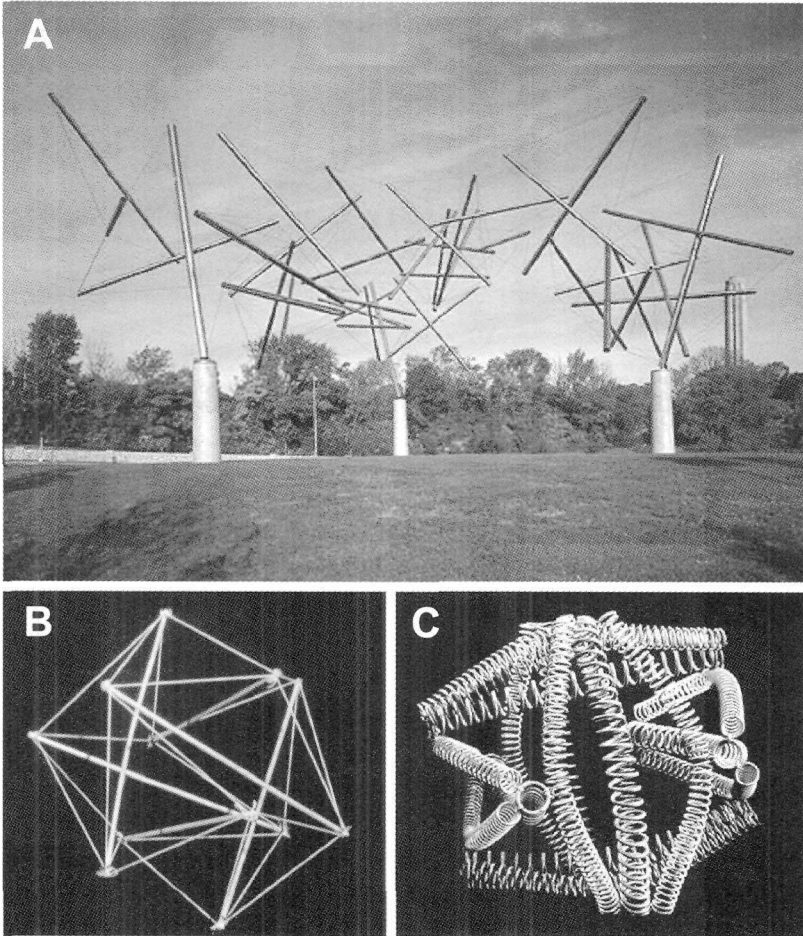


FIGURA 14. Estructuras de tensegridad. (A) *Triple corona*, una escultura tensegridad realizada por Kenneth Snelson, compuesta por barras de acero inoxidable y cables tensados. (B) Una esfera de tensegridad compuesta por seis barras de madera y 24 gomas elásticas. (C) Configuración tensegridad construida en su totalidad por muelles con elasticidades diferentes.

cina de la Universidad Harvard, apunta que la célula tiene un problema de imagen. El dogma define la célula como un balón relleno de orgánulos en un citoplasma poco estructurado, y en el que el citoesqueleto proporciona un armazón que soporta la forma. Esta visión simplista —apunta Ingber— no hace justicia a la compleja realidad celular. Porqué, por ejemplo, tras manipular una célula recupera rápidamente su forma original, o porqué determinado tipo celular adopta formas diferentes sobre distintas superficies, o porqué las células planas se dividen y las esféricas mueren. En la

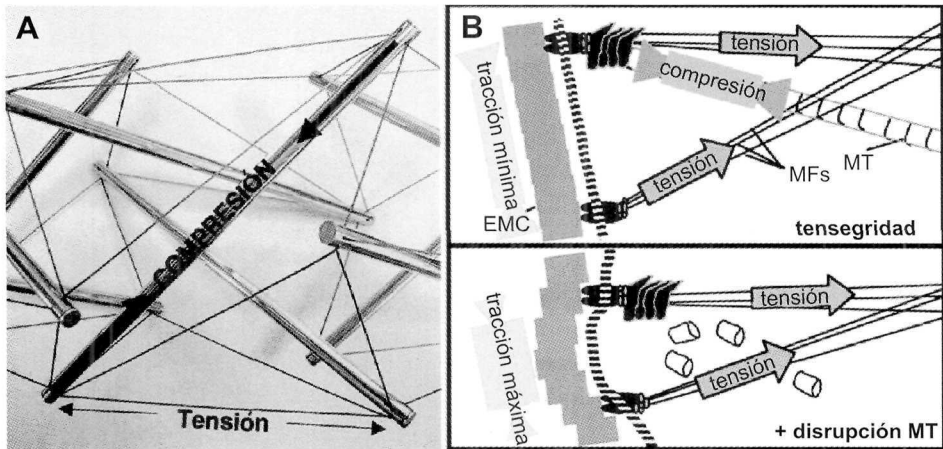


FIGURA 15. (A) Detalle de una escultura de Snelson donde los componentes de compresión y de tensión visualizan el balance de las fuerzas de tensegridad basadas en compresión local y tensión continua. (B) Esquema de la compensación de fuerzas complementarias entre microfilamentos (MFs) tensados, filamentos intermedios (IFs), microtúbulos comprimidos (MTs) y la matriz extracelular (MEC), en una región del entramado tensegridal celular. Las fuerzas de compresión soportadas por los MTs se transfieren a los focos de adhesión a la MEC cuando los MTs colapsan, incrementando la tracción sobre el sustrato (Modificada de: Ingber, 2003; fig 1, pg 3).

década de los 1980s se alzaron voces disidentes al modelo celular convencional, apuntándose, entonces, que el modelo de tensegridad es aplicable en todas las escalas de tamaño de la jerarquía de la vida. La mayoría de los modelos teóricos en biología —señala Ingber— proporcionan mecanismos creíbles para explicar un conjunto de datos experimentales. Sin embargo, el que un fenómeno biológico pueda ser explicado por una teoría simple no significa que sea correcto. Un ejemplo sencillo, verificable a simple vista, es que moldes plásticos, recortables de papel o figuras de madera pueden utilizarse para construir una figura que remede un dinosaurio. Sin embargo, sólo un sistema de rígidos huesos interconectados mediante series continuas de músculos tensiles puede soportar una estructura viva de 30 pies de altura y 100 pies de largo, que puede cambiar su forma y andar: un *Ultra-saurus*. El poder del paradigma tensegridad, en contraste con modelos puramente descriptivos —por ej. fractales—, es que proporciona un sistema tangible e inherentemente operativo que predice cómo interactúan las moléculas para formar estructuras tridimensionales que exhiben forma y función especializadas (INGBER, 1993a; INGBER y cols, 1981).

«Un conjunto universal de reglas de construcción parece guiar el diseño de estructuras orgánicas – desde simples compuestos de carbono hasta

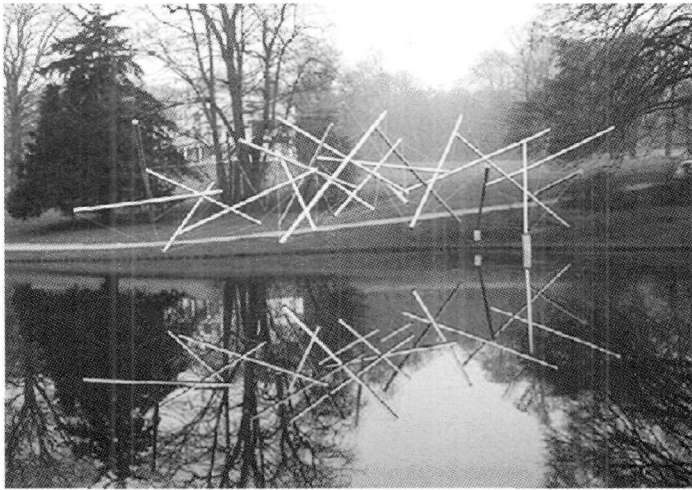
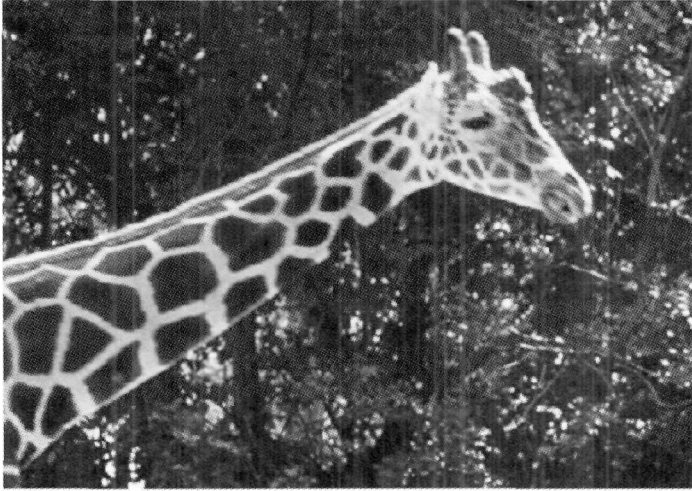


FIGURA 16. Las estructuras voladizas tensegridales preestresadas incluyen el cuello de la jirafa y Easy-K, una escultura tensegridal de Kenneth Snelson, 1970 (aluminio y acero inoxidable; 6.5x6.5x32 m).

complejas células y tejidos». Esta frase encabeza *The Architecture of Life*, el trabajo de divulgación con el que Don Ingber presentó en sociedad su modelo de biotensegridad. La vida es el último ejemplo de complejidad en acción. Un organismo —una bacteria o un humano— se desarrolla a través de una serie increíblemente compleja de interacciones que involucran un vasto número de componentes diferentes. Tales componentes o subsistemas son, en sí mismos, productos de componentes más pequeños que, de manera independientes, exhiben su propio comportamiento dinámico como, por ejemplo, su capacidad de catalizar reacciones químicas. Sin embargo, cuando estos últimos componentes se integran en unidades funcionales de orden superior —una célula o un tejido— emergen propiedades

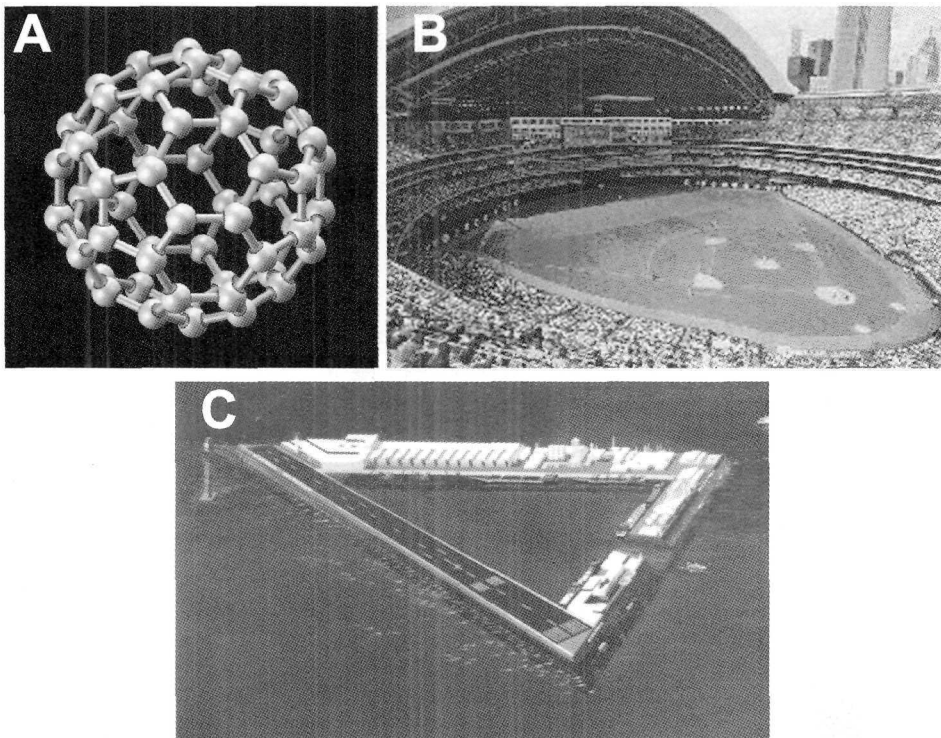


FIGURA 17. (A) Fullerenos, C_{60} . (B) Diseño de entramado espacial tetraédrico: *Sky Dome*, Toronto, Canadá. (C) El *Newfoundland Deltaport* es una base aeroportuaria — con la posibilidad de alcanzar las dimensiones de una ciudad— flotante, inherentemente estable y resistente ante cualquier condición adversa sobre la base de su diseño espacial tetraédrico triangular (Tomada de: <http://home:thezone.net/~deltaprt/structure.htm>).

nuevas e impredecibles: capacidad de moverse, de cambiar de forma y de crecer. Si bien las esperanzas para desentrañar el enigma descansan sobre el genoma y postgenoma, el puzzle no se resolverá a menos que se comprendan las reglas para su ensamblaje (INGBER, 1998).

Que la naturaleza aplica reglas de ensamblaje universales está implícito en la recurrencia —desde la escala molecular a la macroscópica— de ciertos patrones como espirales y formas pentagonales o triangulares. Tales patrones aparecen en estructuras, aparentemente tan dispares, como cristales y proteínas, y en organismos tan diferentes como virus, plancton y humanos (Fig. 18). Después de todo, la materia inorgánica y la orgánica están hechas con los mismos mimbres: átomos de carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno o fósforo. La única diferencia es cómo los diferentes

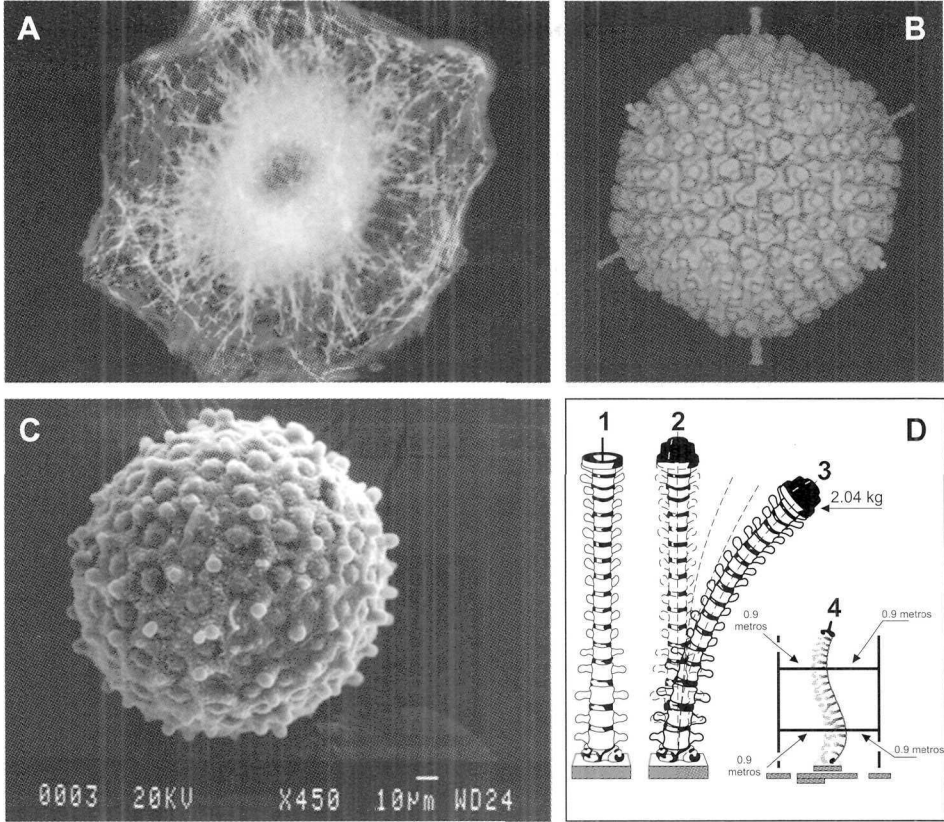


FIGURA 18. Las formas geodésicas aparecen en numerosas estructuras naturales (biofulerenos): (A) Citoesqueleto de actomiosina de una célula pulmonar cancerosa; (B) cápside adenoviral; (C) grano de polen. También se definen estructuras tensegridales de Snelson (biosnelsones): (D) columna lumbar (1: reposo, 2: carga, 3: sobrecarga, 4: estructura de compensación).

átomos se disponen en el espacio tridimensional. Este fenómeno, en el que los componentes se organizan para formar estructuras estables de orden superior, que presentan nuevas propiedades (emergentes) impredecibles de las características de las partes individuales, se denomina autoensamblaje. Se observa en diferentes escalas de la naturaleza; en el cuerpo humano, por ejemplo, determinadas macromoléculas se autoensamblan en componentes celulares denominados orgánulos, que se autoensamblan en células, que lo hacen en tejidos, que se autoensamblan en órganos. El resultado es un cuerpo organizado jerárquicamente a modo de sistemas dentro de sistemas. Si bien las reglas de autoensamblaje son ingrediente asentado de la química supramolecular —la química más allá de la molécula que descansa en los

principios de la complementariedad molecular (LEHN, 1988)—, se conoce muy poco sobre los principios básicos que guían la organización biológica (CAMAZINE, 2003; HUANG e INGBER, 1999; SCHMEICHEL y BISSELL, 2003; WEISS y cols, 2003).

El modelo apenas apuntado líneas atrás es uno de tensegridad celular, que propone que el comportamiento mecánico de la célula no es el de una estructura continua sino que la célula, en su conjunto, es una estructura tensegridal preestresada —citoesqueleto—, aunque también se encuentran en la célula composiciones geodésicas en el orden de la microescala —vesículas de transporte—. En el modelo, las fuerzas de tensión son soportadas por microfilamentos y filamentos intermedios del citoesqueleto; fuerzas que son contrarrestadas por componentes estructurales interconectados que resisten compresión y que están representados por barras microtubulares internas y adhesiones a la MEC. El preestrés tensional que estabiliza el conjunto celular se genera activamente por el aparato contráctil de actomiosina; contribuciones adicionales pasivas a este preestrés llegan de la distensión celular producida por adhesiones a otras células y, principalmente, a la MEC (ALENGHAT e INGBER, 2002). Otros modelos de mecánica celular presumen que una densa red cortical de microfilamentos, que yace directamente debajo de la membrana celular, es el elemento primario de detección de carga (SCHMID-SCHÖNBEIN y cols, 1995).

Los modelos corticales predicen que el estrés aplicado externamente es transmitido a toda la superficie —punto por punto— de la célula, y que sólo la corteza lo percibe. En contraste, el modelo de tensegridad establece que las cargas mecánicas son detectadas por estructuras discretas que salpican la superficie celular y se expanden por todo el citoplasma. Más específicamente, moléculas transmembranares que acoplan físicamente anclajes extracelulares (moléculas de la MEC o de adhesiones célula-célula) al entramado citoesquelético indican vías preferenciales para transferir estrés mecánico en la célula; junto a ellas, otros receptores transmembranares disipan localmente el estrés y bloquean la transmisión de esas mismas señales. Si la célula es una estructura tensegridal preestresada, el estrés local puede provocar reorganizaciones estructurales globales que afectan al citoplasma y al núcleo celulares (SINGHVI y cols, 1994; STAMENOVIC y cols, 2003). Ello sucede porque los componentes discretos de la red de recepción de carga cambian su orientación y espaciamiento relativos entre unos con otros, hasta conseguir una nueva configuración de equilibrio. Así, el modelo de tensegridad difiere de los modelos convencionales celulares en que la aplicación de estrés local sobre la superficie celular puede resultar en deformación dirigida de estructuras locales, citoplasmáticas o nucleares.

Debe hacerse hincapié en que —en el modelo de tensegridad celular— la respuesta celular al estrés depende de la conectividad molecular entre el exterior y el interior celulares, y de interacciones cooperativas entre los componentes del citoesqueleto. Sin embargo, el hecho fundamental del modelo de tensegridad celular está representado por el estrés tensil interno (preestrés) que garantiza la estabilidad de la forma celular; diversas aproximaciones experimentales, mecánicas y farmacológicas, ponen de manifiesto que las células experimentan tensión isométrica. Por otro lado, diversos estudios indican que, al menos, un subconjunto de microtúbulos funciona a modo de componente de compresión en el citoplasma, y actúa de manera complementaria con los complejos de adhesión a la MEC para resistir la fuerza tensional generada por los microfilamentos. Así se establece el balance de fuerzas de tensegridad (STAMENOVIC y cols, 2002; WANG y cols, 2002).

La teoría celular de tensegridad fue, inicialmente, un modelo intuitivo, utilizándose estructuras tensegridales prestresadas, construidas de palillos y de gomas elásticas para visualizar el concepto. Sin embargo, tan simples construcciones remedaban fielmente el comportamiento celular. Por ejemplo (Fig. 19), la célula y su núcleo, en un modelo esférico de tensegridad, se comportan de manera coordinada: cuando la célula se adhiere a una superficie rígida, el núcleo se desplaza hacia la base (se polariza), tal como sucede en una célula en cultivo (INGBER y JAMIESON, 1985). La formulación matemática del modelo de tensegridad celular representó el salto cualitativo que afianzó la teoría. La primera formulación teórica del modelo fue desarrollada por Dimitrije Stamenovic, del grupo de Ingber, quién asumió un modelo celular simétrico en el que los filamentos tensados estaban representados por 24 cables y los microtúbulos por 6 barras. Tal esqueleto ofrecía un sistema mecánico estable, autoequilibrado, en el que el preestrés aportado por los cables estaba compensado por la compresión de las barras. Esta primera formalización asentó la idea de que la arquitectura (la disposición espacial de los elementos de soporte) y el preestrés (el nivel de tensión isométrica) en el citoesqueleto son las llaves para que la célula sea capaz de estabilizar su forma (STAMENOVIC y cols, 1996). El trabajo inicial de Stamenovic, realizado sobre el modelo micromecánico muy simplificado referido, ha ido complicándose progresivamente. Las formulaciones más recientes incluyen barras semiflexibles análogas a los microtúbulos en vez de barras de compresión completamente rígidas; filamentos intermedios como cables de tensión que conectan diferentes componentes y que remedan el comportamiento de células en las que se ha noqueado el gen vimentina, e incluso de proponen modelos de citoesqueleto que sólo incorpora

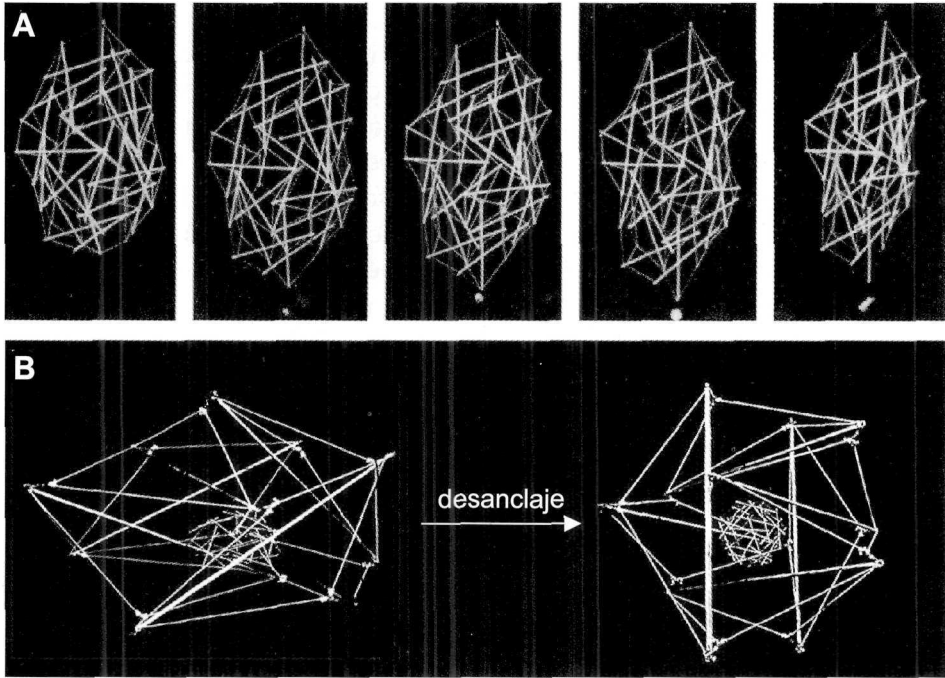


FIGURA 19. Modelos celulares de tensegridad compuestos de barras y muelles. (A) Un modelo fue suspendido de uno de sus polos y sometido a cargas crecientes (izquierda – derecha: 0, 20, 50, 100 ó 200 g) aplicadas en su polo opuesto. El estrés local induce reordenaciones globales de la estructura. (B) Modelo de tensegridad de una célula nucleada cuando se adhiere y repta sobre un sustrato rígido (izq) o se libera y esferifica (der). El modelo celular y su núcleo están contruidos con barras metálicas y cuerdas elásticas. Las barras representan MTs y los elásticos corresponden a MFs y IFs que soportan tensión, en el CE (Modificada de: Ingber, 2003; fig 4(B), pg 6).

elementos de tensión a modo de la estructura de tensegridad de la tela de araña estudiada por Connelly y Back (1998). Stamenovic también ha realizado análisis energéticos utilizando datos cuantitativos a partir de estudios mediante microscopía de fuerza de tracción; un análisis que es independiente de la geometría microestructural, lo que elimina las posibles limitaciones de la configuración tensegridal en los cálculos teóricos. El análisis conjunto de todos estos resultados señala que la formulación actual de la teoría celular de tensegridad, a partir de modelos todavía simples (seis barras y 24 cables), predice con eficacia numerosos comportamientos mecánicos estáticos y, más sorprendente, insinúa ciertos comportamientos dinámicos (COUGHLIN y STAMENOVIC, 2003; STAMENOVIC y COUGHLIN, 2000; STAMENOVIC e INGBER, 2002; STAMENOVIC y cols, 2002, 2003; WANG y STAMENOVIC, 2000).

Frente a la simplicidad del modelo estándar (6 barras y 24 cables), la célula es una entidad mucho más compleja: es una estructura de tensegridad multimodular (Fig. 20). Ello es que está compuesta de múltiples módulos tensegridales más pequeños, autoestables, que se relacionan a través de reglas similares de integridad tensional, confiriendo al sistema global un acoplamiento armónico mecánico entre las partes y el todo. La destrucción de una unidad o módulo en una tensegridad multimodular solo provoca una respuesta local; el módulo afectado colapsará sin comprometer el resto de la estructura. Otro aspecto importante es que el modelo de tensegridad celular también incorpora la estructura jerárquica de las células y la de los tejidos, órganos y organismo, donde residen. Fuller fue el primero en darse cuenta de que podían construirse sistemas de tensegridad como estructuras jerarquizadas en las que los componentes de tensión y de compresión que conforman la estructura a un nivel determinado fueran, en sí mismas,

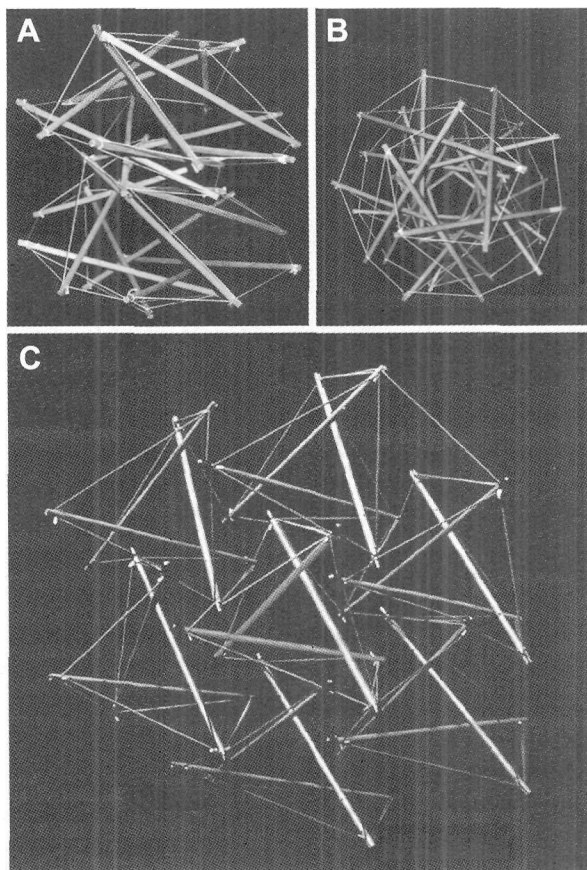


FIGURA 20. Tensegridades multimodulares. (A) Vista lateral de una tensegridad compuesta por 4 módulos interconectados. Cada uno de ellos consta de 5 barras. (B) Vista coronal de la figura (A). (C) Trama tensegridal compuesta por 7 módulos de tensegridad similares.

sistemas de tensegridad en una escala más pequeña (FULLER, 1961). El modelo de tensegridad de una célula nucleada (Fig. 21), en la que la trama tensegridal nuclear es en sí misma un elemento de tensión en la estructura celular, ilustra este concepto (MANIOTIS y cols, 1997).

Huesos, músculos y tendones utilizan tensegridad para autoestabilizarse. El corazón y los pulmones son estructuras preestresadas sobre la base de fuerzas de distensión (fuerza hemodinámica y presión de aire). Las arquitecturas neurales cerebral y de la retina están también gobernadas por fuerzas tisulares internas, en este caso generadas en el citoesqueleto de sus células constitutivas. Las fuerzas en esos tejidos y órganos están soportadas por una rígida MEC y por fuerzas de contracción opuestas generadas por células vecinas. Por ello se separan los bordes de una herida. Pero la jerarquía tensegridal no acaba en el nivel celular. El citoesqueleto interno, que se comporta como una estructura de tensegridad, se conecta con el citoesqueleto submembranar, en la periferia celular, y con el andamiaje nuclear, en el centro de la célula; una estructura que se extiende por toda la célula gobernando múltiples funciones básicas (NATH, 2003). El citoesqueleto submembranar es otra estructura tensegridal; un entramado discreto compuesto por moléculas de actina, anquirina y espectrina, sometido a pres-

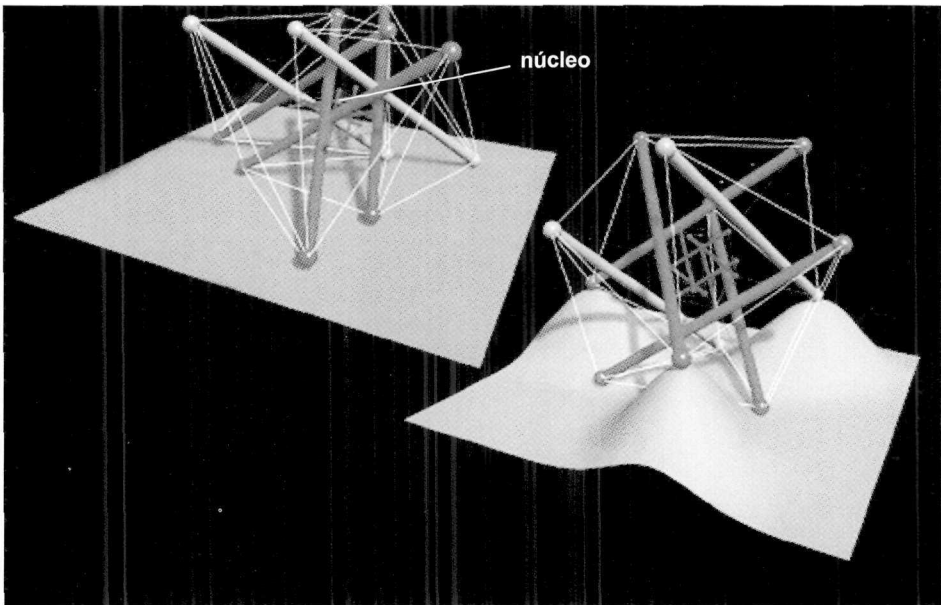


FIGURA 21. Modelo celular de tensegridad. Como una célula viva, ella y su núcleo se aplanan cuando está adherida a una superficie rígida; y se retraen en formas esféricas sobre superficies flexibles (Modificada de: Ingber, 1998; pg 51).

trés motivado por fuerzas osmóticas transmembranares y organizado geodésicamente con una trama hexagonal. Por su parte, el núcleo representa otra estructura de tensegridad: está sometido a preestrés y exhibe estabilidad de forma cuando se aísla de la célula, tal como se observa durante el trasplante nuclear. Además, el huso mitótico es, de nuevo, un sistema tensegridal. Las tres estructuras tensegridales subcelulares —citoesqueletos submembranar e interno, y el núcleo— pueden actuar de manera independiente, pero cuando se acoplan mecánicamente funcionan como un sistema tensegridal jerarquizado. Por su parte, formas preestresadas y geodésicas también ocurren en los niveles organular y molecular. El ejemplo más llamativo de una forma geodésica es el hallazgo de geocúpulas de actina en el citoesqueleto de ciertas células in vivo e in vitro. Otros ejemplos de estructuras geodésicas incluyen la disposición hexagonal de ciertas proteínas en los basamentos membranares, complejos poliédricos enzimáticos, vesículas de transporte construidas de trisqueliones de clatrina y la mayoría de las cápsides virales. Las estructuras moleculares peptídicas (α -hélice y lámina β) y de los ácidos nucleicos, son estructuras tensegridales preestresadas. De igual modo, la compleja estructura de la cromatina, donde ADN e histonas protegen códigos genético y epigenético, pudiera incorporar un tercer código, tensegridal, regulado por la interacción entre el citoesqueleto interno y el andamiaje nuclear. En resumen, el modelo de tensegridad celular ha incorporado el concepto que células, tejidos y otras estructuras biológicas de mayor y menor tamaño, exhiben comportamiento mecánico integrado sobre la base de compartir una arquitectura de tensegridad. El reconocimiento de que la naturaleza utiliza estructuras preestresadas y geodésicas a escala celular y subcelular sugiere que las estructuras de tensegridad son manifestaciones de un principio de diseño común (INGBER, 2003).

¿Un nuevo paradigma? Hasta ahora, biología y medicina se han esforzado en identificar los componentes moleculares —desde la perspectiva química— que comprometen la vida, siendo el análisis del genoma la meta. El reto es, sin embargo, comprender como emergen los comportamientos celulares, tisulares u orgánicos a partir de interacciones colectivas entre una multitud de componentes moleculares que proporcionan genoma y proteoma; ello exige describir los procesos moleculares integrados en sistemas jerarquizados. Otra tendencia es el resurgimiento del interés por las fuerzas mecánicas mas que las reacciones químicas, como reguladores biológicos. Los clínicos reconocen la importancia de las fuerzas mecánicas en el desarrollo y función del corazón y los pulmones, de los crecimientos cutáneo y muscular, del mantenimiento de huesos y cartílagos, y en la

etiología de varias enfermedades degenerativas como hipertensión, osteoporosis, asma o insuficiencia cardiaca. Todo ello lleva a considerar cómo las vías moleculares de transducción de señales funcionan en el contexto físico de las células y los tejidos. Cómo una fuerza física —un estrés mecánico aplicado a la MEC o una distorsión celular— cambia las actividades químicas celulares o controla el desarrollo tisular. La contestación hay que buscarla en la biofísica molecular; pero sin dejar de lado una perspectiva arquitectónica que asume interacciones multimoleculares jerarquizadas (INGBER, 2003^a).

Una parte considerable de la maquinaria metabólica celular opera en un estado sólido: moléculas involucradas en el metabolismo intermediario, en procesos de biosíntesis de macromoléculas o en la transducción de señales, se encuentran inmovilizadas sobre el entramado citoesquelético. Esta bioquímica de estado sólido (Fig. 22) difiere del punto de vista convencional de la regulación y control —homeostasis y cambio, apuntó Luis Franco— celulares, pues este modelo no contempla fenómenos de difusión sino que las actividades bioquímicas y genético-moleculares se regulan independientemente de aquellos procesos que actúan libremente en el citosol (HALL y LEFKOWITZ, 2002; PAWSON y NASH, 2003; PAWSON y SCOTT, 1997). De este modo, la utilización combinada, sinérgica, de tensegridad y mecanobioquímica de estado sólido por la célula puede, mediante mecanotransducción, integrar las diversas señales, físicas y químicas, que son responsables del comportamiento celular global (INGBER, 1997).

El modelo de tensegridad celular indica que el entramado molecular que forma el citoesqueleto y que contacta con los receptores de adhesión celular, es el elemento celular primario de detección de cargas proporcionando un mecanismo potencial que acopla el estrés mecánico sobre los tejidos con los cambios inducidos en la química celular (WANG e INGBER, 1994; WANG y cols, 1994). Específicamente, el logro de la teoría de la tensegridad es el concepto de que las señales mecánicas que son transferidas por los receptores celulares de la MEC —específicamente, las integrinas— pueden transducir una respuesta química a través de distorsiones de la estructura del citoesqueleto bien en el entorno del receptor o distalmente en el interior celular, incluso del propio armazón nuclear. Respuestas del orden de milisegundos parecen mas propias de un mecanismo en fase sólida, tanto citoplasmático como nuclear. En este último nivel, el control mecánico del nucleosoma puede intervenir, en parte, en el código epigenético (INGBER, 2003^a). El citoesqueleto, por su parte, es una central integradora de la migración celular, de la que sus elementos principales son la tensión (preestrés) actomiosínica, la reciprocidad de las actividades de Rho

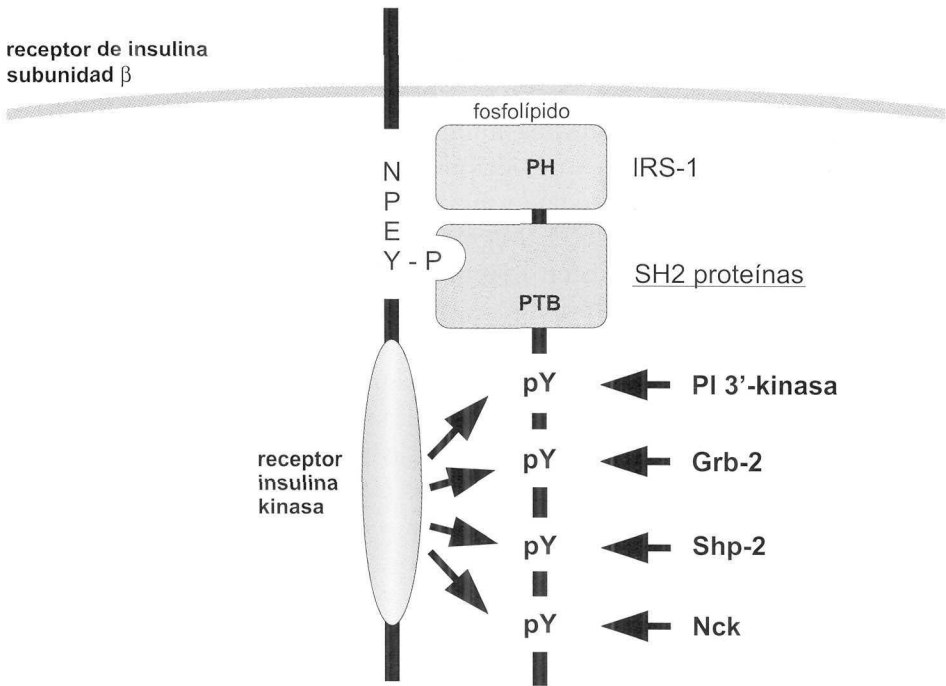


FIGURA 22. Bioquímica de estado sólido. La proteína IRS-1 (sustrato del receptor de insulina-1) contiene un dominio PH (homología pleckstrina) amino-terminal que potencialmente media interacciones con la membrana y un dominio PTB (acoplamiento de fosfotirosina) que acopla un sitio específico yuxtamembranar de autofosforilación Tyr, en el receptor de insulina. El dominio quinasa del receptor de insulina activado fosforila restos Tyr en IRS-1, que actúa como lugar de atraque para dominios SH2 (homología src 2) de proteínas-señales (Modificada de: Pawson y Scout, 1007; fig 4, pg 2077).

y de Roc, los microtúbulos y la regulación del de los complejos de adhesión (HORWITZ y PARSONS, 1999; JOSHI y cols, 1985; STAMENOVIC y COUGHLIN, 1999).

Todas las adhesiones celulares contienen integrinas que anclan el citoesqueleto de actina a la MEC a través de un grupo de proteínas asociadas a actina —talina, vinculina, praxilina, α -actinina— presentes en las adhesiones focales que, también, ubican proteínas (placa submembranar) —tirosina quinasa, lípido-inositol quinasa, canales iónicos, proteínas G o receptores de factores de crecimiento— involucradas en diversas cascadas de señales (ZAMIR y GEIGER, 2001). Por ello, las fuerzas mecánicas generadas en la MEC o en el citoesqueleto, convergen en las adhesiones focales alertando al aparato membranar (placa submembranar) de las vías de se-

ñales intracelulares. Así, las integrinas han sido candidatas a sensores, transductores y traductores del estímulo mecánico en respuestas bioquímicas celulares (INGBER, 1991; SHYY y CHIEN, 1997). Diversos estudios demuestran el papel central de las integrinas como sensores del ambiente extracelular; en respuesta a interacciones con la MEC, las integrinas inician la vía de señales que regula la migración, crecimiento y supervivencia celulares (MARTIN y cols, 2002; MIYAMOTO y cols, 1995).

En los metazoos (no existen homólogos en procariotes, plantas u hongos), las integrinas son los principales receptores para la adhesión celular a la matriz extracelular, y en los vertebrados juegan también un papel importante en ciertas adhesiones intercelulares (Fig. 23). Además de mediar la adhesión celular, las integrinas realizan conexiones transmembranares con el citoesqueleto y activan numerosas vías de señales intracelulares. Las integrinas y sus ligandos juegan papeles claves en el desarrollo, respuesta inmune, tráfico leucocitario, hemostasia y cáncer, estando en el meollo de diversas enfermedades inflamatorias. Por su parte, son dianas farmaco-

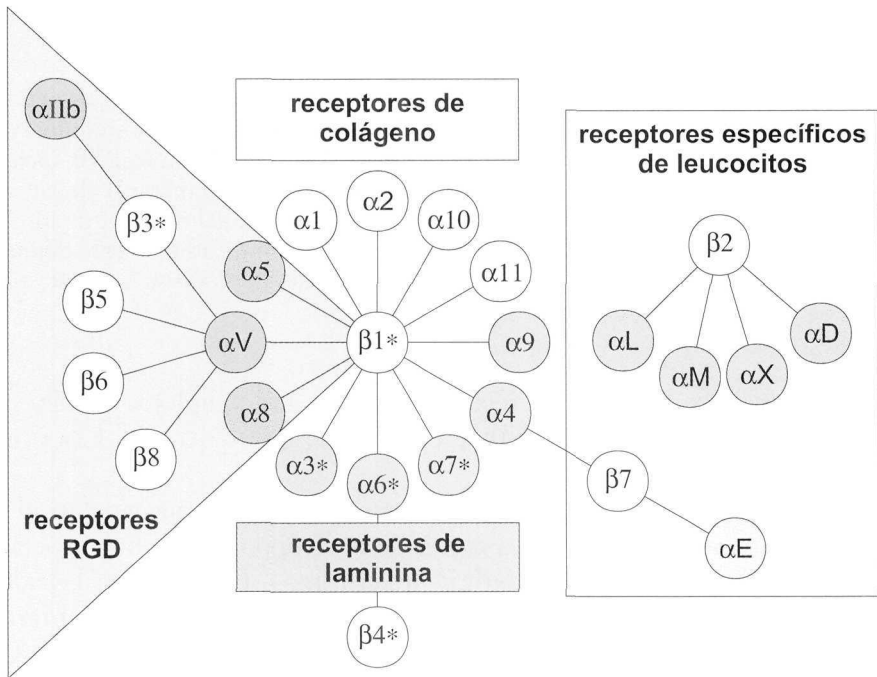


FIGURA 23. Familia del receptor de integrinas. Las integrinas son heterodímeros αβ; cada subunidad atraviesa una vez la membrana celular, mostrando un dominio extracelular (>1600 aminoácidos, AAs) y dos cortos dominios citoplasmáticos (20-50 AAs) (Modificada de: Hynes, 2002; fig 1, pg 674).

lógicas frente a trombosis e inflamación, y son receptores para muchos virus y bacterias. 8 subunidades β y 18 subunidades α ensamblan 24 heterodímeros diferentes. Cada una de estas integrinas parece tener una función específica no redundante, que queda patente en los fenotipos de los noqueos de cada uno de los correspondientes genes. Es importante destacar que la activación de las integrinas puede inducirse a partir de señales extra o intracelulares; ello significa que la señal detectada en uno de los extremos de la molécula es transmitida al lugar de acoplamiento con el ligando en el otro extremo molecular (matriz extracelular o citoesqueleto) situado a 10-20 nm (Fig. 24). Tan astronómica nanodistancia es manejada mediante cambios alostéricos —de los que hablaba Luis Franco— de largo alcance (HYNES, 2002).

La vía de señales dependiente de 3',5'-monofosfato cíclico de adenosina (cAMP) puede activarse aplicando estrés mecánico a las integrinas de la superficie membranar; ello utilizando técnicas de microscopía de fuerza de tracción, y de citometría de torsión magnética, que emplea sondas ferromagnéticas para inducir estrés de cizallamiento sobre ligandos selectivos (MEYER y cols, 2000; TAKAYAMA y cols, 2001; WANG y cols, 2001). Otros estudios también han demostrado que las integrinas son protagonistas en la respuesta celular al flujo de fluidos, tal como sucede en la convivencia de las células endoteliales vasculares con el flujo sanguíneo, y que podría explicar, al menos en parte, la participación del estrés del flujo en condiciones hidrodinámicas adversas sobre el endotelio arterial en la patofisiología vascular (CHEN y cols, 2001; JALALI y cols, 2001). En este contexto, el glicocáliz de la superficie de las células endoteliales emerge como un órgano importante de mecanotransducción (WEINBAUM y cols, 2002). Resultados similares sobre la respuesta celular al estrés de cizallamiento se han observado en epitelios (HAHN y LABOUESSE, 2001; PARAMIO y JORCANO, 2002), en mioblastos (TOMASEK y cols, 2002) y en osteoblastos; una respuesta que apunta las bases de la disposición de la trama cálcica ósea (Fig. 25), que sigue la distribución de las líneas de fuerza dictadas por la carga (PAVALKO y cols, 1998). En un aspecto totalmente diferente, el estrés de cizallamiento y la mecanotransducción se han involucrado en la fisiopatología de la agresión pulmonar asociada a la ventilación mecánica (PINHU, 2003).

La tensegridad enseña que ni las moléculas ni sus interacciones deben considerarse ni individual ni independientemente; que el comportamiento biológico debe explicarse a partir de ensamblajes supramoleculares y arquitecturas de orden superior. La tensegridad también pone de manifiesto que las estructuras complejas jerarquizadas exhiben comportamientos mecáni-

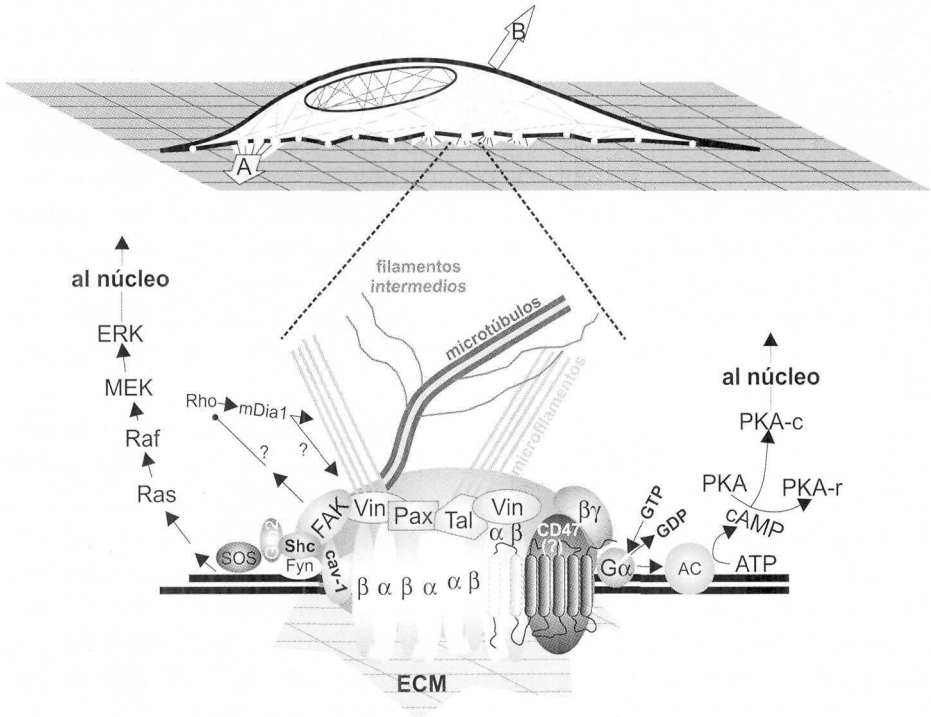


FIGURA 24. Esquema de cómo la aplicación de fuerzas a través de la MEC (A) o directamente sobre la superficie celular (B), se orientan hacia las adhesiones focales (AFs) ancladas por integrinas a la MEC o hacia los componentes del CE, respectivamente. La tensión generada internamente y las fuerzas transmitidas vía contactos intercelulares alcanzan de manera similar las AFs a través del CE. Las fuerzas concentradas en las AFs pueden estimular el agrupamiento de dímeros de receptores de integrinas (α , β) e inducir el reclutamiento de proteínas de adhesión focal [por ej, vinculina (Vin), paxilina (Pax) o talina (Tal)] que interaccionan directamente con los MFs e indirectamente con MTs y IFs. Las fuerzas aplicadas a estos complejos especializados de adhesión al CE disparan cascadas de señales asociadas a integrinas que, entre otras, incluyen a la quinasa de adhesión focal (FAK) que puede estar involucrada en el reclutamiento de Shc y en la modulación de Rho que, a su vez, puede regular la intensidad de la respuesta a través de mDia1. Caveolina (cav-1) puede también presentar Shc a integrinas para activar la cascada ERK (proteína quinasa regulada por señales extracelulares) / MEK (proteína quinasa activada por mitógenos) que tiene por componentes iniciales las oncoproteínas Raf y Ras. Por su parte, CD47 se asocia con el heterodímero de integrinas para formar un complejo proteico que mimetiza la acción de los receptores acoplados a proteínas G. Cuando las integrinas son estresadas mecánicamente, el complejo estimula la activación mediada por Gs de la cascada de cAMP a través de la adenilato ciclasa (AC), que resulta en la translocación nuclear de la subunidad catalítica de la proteína quinasa A (PKA) (Modificada de: Alenghart e Ingber, 2002; fig1, pg 3. Ingber, 2003^a; fig 1, pg 5).



FIGURA 25. Trama cálcica ósea del cuello del fémur.

cos integrados (KLYMKOWSKY, 1999). Además, mecanismos de control son innatos al diseño tensegridal. Todo ello hace que la tensegridad represente el *hardware* de los sistemas vivos. ¿Y el *software*?, pregunta Donald Ingber. Ello conduce al problema de cómo la red estructural afecta a la red de procesamiento de la información, en una célula donde la tensegridad parece ejercer sus efectos sobre la integración de la señal. Los experimentos muestran que aunque una célula puede recibir simultáneamente múltiples señales, la célula las integra instantáneamente para producir sólo una, de una serie de posibles respuestas o fenotipos. Los biólogos celulares tienden a considerar la transducción de señales en términos de autopistas lineales

con un destino particular; sin embargo la información transportada por la maquinaria de transducción de señales se distribuye, con frecuencia, por diversas vías, y el mismo estímulo puede originar respuestas diferentes (INGBER, 2003^a).

Por su parte, la observación que variaciones graduales en un único parámetro de control (por ej., la forma celular) puede llevar a la célula hacia distintos programas genéticos —destinos celulares— es reminiscencia de una transición de fases en física. Sui Huang ha explorado la posibilidad de que los destinos celulares (por ej., apoptosis *vs* diferenciación) puedan estudiarse como estados celulares y que los desplazamientos entre estados puedan interpretarse en términos de transiciones de fase biológicas. Para ello, considera la maquinaria de transducción de señales como una red dinámica de procesamiento de información, desvinculando el comportamiento celular colectivo de los componentes moleculares individuales. Este planteamiento sugiere que los destinos celulares pueden

interpretarse en clave de programas finalistas o atractores, que se auto-organizan en el contexto de redes reguladoras dinámicas. La posibilidad de que operen atractores en las redes celulares de procesamiento de información está respaldada por la observación de que diferentes estímulos, que activan una multitud de proteínas en varias vías de señalización, pueden definir idénticos fenotipos (HUANG e INGBER, 2000). Así, será sin duda interesante combinar la formulación matemática de la tensegridad con modelos de redes dinámicas para explorar cómo esos diferentes tipos de entramados biológicos —uno mecánico y otro informativo— han coevolucionado para permitir a la célula funcionar con la increíble eficiencia que lo hace.

Los principios expuestos, ¿son universales?, ¿son aplicables al mundo de los ilimitadamente grande y al de lo muy, muy pequeño? No lo sabemos. Snelson ha propuesto un modelo atómico de tensegridad sobre la base de las ideas de Louis de Broglie (SNELSON, [www](#)). El mismo Fuller habló de movimiento planetario en términos de tensegridad gravitatoria (B FULLER INST, [www](#)). Quizás, sueña Ingber, un tema único impregna la Naturaleza (INGBER, 1998). Como sugirió el zoólogo escocés D'Arcy Thompson, en los comienzos del siglo XX, quién refiriéndose a Galileo quién, a su vez, había citado a Platón: es probable que el libro de la naturaleza haya sido escrito en el lenguaje de la Geometría.

Debo concluir, y concluyo como empecé, saludando afectuosamente, en nombre de la Real Academia, a nuestro nuevo compañero; a quién expreso la esperanza, que a todos nos anima, que con su saber reflexivo recupere la estabilidad de la medalla número tres que, el último cuarto de siglo, ha tenido un cierto carácter supernumerario. Sr. Franco Vera, la Corporación le recibe gustosísima en su seno.

He dicho.

Pedro García Barreno

BIBLIOGRAFÍA SELECCIONADA

ALENGHAT FJ, INGBER DE. *Mechanotransduction: All signals point to cytoskeleton, matrix, and integrins*. En: www.stke.org/cgi/content/full/OC_sigtrans;2002/119/pe6.

APPLEWITE EJ. *The naming of buckminsterfullerene*. En: www.inetarena.com/~pdx4d/synergetica/ejal.html.

BOUDREAU NJ, JONES PL. Extracellular matrix and integrin signalling: the shape of things to come. *Biochem J* 339: 481–488, 1999.

BROOKES M. Hard cell, soft cell. *New Scientist* 164: 42–46, oct 1999.

- BUCKMINSTER FULLER INSTITUTE. **En:** www.bfi.org.
- BUCKMINSTER FULLER R, APPLEWHITE EJ. *Synergetics. Explorations in the Geometry of Thinking*. Nueva York: Macmillan Publishing Co Inc, 1975 y 1979. Online ed **en:** www.rwgrayprojects.com/synergetics/synergetics.html.
- BURKHARDT RW. *A Practical Guide to Tensegrity Design* (Última revision: 11 julio 2003). **En:** www.channel1.com/users/bobwb/tenseg/book/tenseg.pdf.
- BURRIDGE K, Chrzanowska-Wodnicka M. Focal adhesions, contractility, and signalling. *Annu Rev Cell Dev Biol* **12**: 463–519, 1996.
- CALDER A. *Calder, an Autobiography with Pictures*. New York: Pantheon Books, 1966.
- CALDER FOUNDATION. *Alexander Calder*. **En:** www.calder.org.
- CALDER WEB FEATURES. *Alexander Calder*. **En:** www.sfmoma.org/espace/calder/calder_intro.html.
- CALVO SERRALLER F. CALDER: La gravedad y la gracia. **En:** C Jiménez, ASC Rower (Comisarios). Catálogo editado con motivo de la exposición «Calder: la Gravedad y la Gracia». Madrid: Tf. Editores, 2003. Pgs 5–38.
- CAMAZINE S. Patterns in nature. *Natural History* **100**: 34–41, junio 2003.
- CHANDRASHEKAR S. *Truth and Beauty. Aesthetics and Motivations in Science*. Chicago: The Chicago University Press, 1987.
- CHEN J, FABRY B, SCHIFFRIN EL, WANG N. Twisting integrin receptors increases endothelin-1 gene expression in endothelial cells. *Am J Physiol Cell Physiol* **280**: C1475–C1484, 2001.
- CHEN CS, MRKSICH M, HUANG S, WHITESIDES GM, INGBER DE. Geometric control of cell life and death. *Science* **276**: 1425–1428, 1997.
- CHICUREL ME, CHEN CS, INGBER DE. Cellular control lies in the balance of forces. *Curr Op Cell Biol* **10**: 232–239, 1998.
- CONNELLY R. Rigidity and energy. *Invent Mathemat* **66**: 11–33, 1980.
- CONNELLY R, BACK A. Mathematics and tensegrity. *Am Scientist* **86**: 142–151, 1998.
- COUGHLIN MF, STAMENOVIC D. A prestressed cable network model of the adherent cell cytoskeleton. *Biophys J* **84**: 1328–1366, 2003.
- DE JONG G. *Elastic Interval*. **En:** www.beautifulcode.nl/eig/index.html.
- DELTAPORT. *The Newfoundland Deltaport*. **En:** <http://home.thezone.net/~deltaprt/>
- EDMONDSON AC. *A Fuller Explanation. The Synergetic Geometry of R Buckminster Fuller*. Boston, Basilea: Birkhäuser, 1986. Online ed **en:** www.angelfire.com/mt/marksomers/40.html.
- EMMERICH DG. **Ver:** Haresh Lalvani, 1996; págs 29–36.
- ETIENNE-MANNEVILLE S, HALL A. Rho GTPases in cell biology. *Nature* **420**: 629–635, 2002.
- EVANS AL, MÜLLER U. Stereocilia defects in the sensory hair cells of the inner ear in mice deficient in integrin $\alpha 8 \beta 1$. *Nature Genet* **24**: 424–428, 2000.
- FERNÁNDEZ-RAÑADA A. *Los Muchos Rostros de la Ciencia*. Oviedo: Ediciones Nobel SA, 1995.
- FOX HN. Portrait of an atomist. *Catalog Essay for Kenneth Snelson Exhibition at Hirshhorn Museum and Sculpture Garden, Smithsonian Institution, Washington DC*. Septiembre-noviembre, 1981; University of Houston, Texas, enero-febrero, 1982.

- FRANCO L. Veinte años de investigación en proteínas cromosomales. En: C Acebal, P García Barreno, Gavilanes JG, MA Lizarbe (Eds) *Departamento de Bioquímica. Profesor Ángel Martín Municio: 1966-1989*. Madrid: Facultad de Ciencias, Universidad Complutense, 1990.
- FULLER RB. Tensegrity. *Portfolio Artnews Annual* 4: 112–127, 1961.
- GARCÍA-AÑOVEROS J, COREY DP. The molecules of mechanosensation. *Annu Rev Neurosci* 20: 567–594, 1997.
- GULLESPIE PG, Walter RG. Molecular basis of mechanosensory transduction. *Nature* 413: 194–202, 2001.
- GOLDBERG J. The quivering bundles that let us hear: Signals from a hair cell. En: Seeing, hearing, and smelling the world. A report from the Howard Hughes Medical Institute. www.hhmi.org/senses/c110.html.
- GOLDSTEIN JL. Synergy and symbiosis á la Matisse-Picasso. *Nature Med* 8: 1053–1054, 2002.
- GRIMALDI R. *R Buckminster Fuller: 1895-1983*. Dizionario monografico degli architetti e contemporanei diretto da Ada Francesca Marcianò 2. Roma: Officina edizioni, 1990.
- GUDI S, NOTAN JP, FRANGOS JA. Modulation of GTPase activity of G protein by fluid shear stress and phospholipid composition. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 2515–2519, 1998.
- GUZMÁN M DE. Tensegridad. De la escultura a la célula.
- HAHN B-S, LABOUESSE M. Hemidesmosomes and resistance to stress. *Curr Biol* 11: R858–R861, 2001.
- HALL RA, LEFKOWITZ RJ. Regulation of G protein-coupled receptor signalling by scaffold proteins. *Circ Res* 91: 672–680, 2002.
- HANAOR A. TENSEGRITY: Theory and Application. En: JF Gabriel (Ed) *Beyond the Cube: The Architecture of Space Frames and Polyhedra*. New York, NY: John Wiley & Sons Inc, 1997; cap 13, págs 385–408.
- HORWITZ AR, PARSONS JT. Cell migration – Movin’ on. *Science* 286: 1102–1103, 1999.
- HUANG S, INGBER DE. The structural and mechanical complexity of cell-growth control. *Nature Cell Biol* 1: E131–E138, 1999.
- HUANG S, INGBER DE. Shape-dependent control of cell growth, differentiation, and apoptosis: Switching between attractors in cell regulatory networks. *Exper Cell Res* 261: 91–103, 2000.
- HYNES RO. Integrins: Bidirectional, allosteric signalling machines. *Cell* 110: 673–687, 2002.
- INGBER DE. Integrins as mechanochemical transducers. *Curr Opin Cell Biol* 3: 841–848, 1991.
- INGBER DE. The riddle of morphogenesis: A question of solution chemistry or molecular cell engineering? *Cell* 75: 1249–1252, 1993.
- INGBER DE. Cellular tensegrity: defining new rules of biological design that govern the cytoskeleton. *J Cell Sci* 104: 613–627, 1993a.
- INGBER DE. Tensegrity: The architectural basis of cellular mechanotransduction. *Annu Rev Physiol* 59: 575–599, 1997.

- INGBER DE. The architecture of life. *Scient Amer* 278 (1): 48–57, enero 1998
- INGBER DE. How cells (might) sense microgravity. *FASEB J* 13 (Suppl): S3–S15, 1999.
- INGBER DE. Mechanical signaling and the cellular response to extracellular matrix in angiogenesis and cardiovascular physiology. *Circ Res* 91: 877–887, 2002.
- INGBER DE. Tensegrity I. Cell structure and hierarchical systems biology. *J Cell Sci* 116: 1157–1173, 2003.
- INGBER DE. Tensegrity II. How structural networks influence cellular information processing networks. *J Cell Sci* 116: 1397–1408, 2003a.
- INGBER DE, Jamieson JD. Cells as tensegrity structures: architectural regulation of histodifferentiation by physical forces transduced over basement membrane. **En:** *Gene Expression During Normal and Malignant Differentiation*. Eds: LC Andersson, CG Gahmberg, P Ekblom. Orlando, FL: Academic Press, 1985. Págs 13–32.
- INGBER DE, Madri JA, Jamieson JD. Role of basal lamina in the neoplastic disorganization of tissue architecture. *Proc Natl Acad Sci USA* 78: 3901–3905, 1981
- JALALI S, del Pozo MA, Chen K-D, Miao H, Li Y-S, Schwartz MA, Shyy JY-J, Chien S. Integrin-mediated mechanotransduction requires its dynamic interaction with specific extracellular matrix (ECM) ligands. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 1042–1046, 2001.
- JOSHI HC, Chu D, Buxbaum RE, Heidemann SR. Tension and compression in the cytoskeleton of PC12 neurites. *J Cell Biol* 101: 697–705, 1985.
- KENNEDY D. Editorial: Signals, Ahoy!. *Science* 296: 1569, 2002.
- KLYMKOWSKY MW. Weaving a tangled web: the interconnected cytoskeleton. *Nature Cell Biol* 1: E121–E123, 1999.
- KORNBERG A. *The Golden Helix. Inside Biotech Ventures*. Sausalito, CA: University Science Books, 1995.
- LALVANI H (Ed) Origins of tensegrity: Views of Emmerich, Fuller and Snelson [Emmerich DG: Emmerich on self-tensioning structures. Sadao S: Fuller on tensegrity. Snelson K: Snelson on the tensegrity invention. Responses: Emmerich's response; R Buckminster Fuller on priority of tensegrity – Excerpts from Fuller's letter to Snelson; A Fuller Snyder-Response from Buckminster Fuller Institute]. *Intern J Space Struct* 11 (1&2): 27–55, 1996.
- LEHN, J-M. Supramolecular chemistry – Scope and perspectives. Molecules – Supermolecules – Molecular devices. Nobel Lecture [Chemistry], December 1987. **En:** *Les Prix Nobel 1987*. Stockholm-Sweden: Almquist&Wiksell International, 1988. Pgs 129–176.
- LEVIN SM. Biotensegrity. **En:** www.biotensegrity.com
- LIPMAN J. *Calder's Universe*. Philadelphia, PA: Running Press, 1976.
- LITTLEWOOD A, MÜLLER U. Stereocilia defects in the sensory hair cells of the inner ear in mice deficient in integrin $\alpha 8\beta 1$. *Nature Genet* 24: 424–428, 2000.
- LYNCH ED, LEE MK, MORROW JE, WELCSH PL, LEÓN PE, KING MC. Nonsyndromic deafness DFNA1 associated with mutation of a human homolog of the Drosophila gene diaphanous. *Science* 278: 1315–128, 1997.

- MANIOTIS AJ, CHEN CS, INGBER DE. Dstration of mechanical connections between integrins, cytoskeletal filaments, and nucleoplasm that stabilize nuclear structure. *Proc Natl Acad Sci USA* **94**: 849–854, 1997.
- MARTIN KH, SLACK JK, BOERNER SA, MARTIN CC, PARSONS JT. Integrin connections map: To infinity and beyond. *Science* **296**: 1652–1653, 2002.
- MEYER CJ, ALENGHAT FJ, RIM P, FONG J H-J, FABRY B, INGBER DE. Mechanical control of cyclic AMP signalling and gene transcription through integrins. *Nature Cell Biol* **2**: 666–668, 2000.
- MOLINA Á, LANDA K (Eds) *Futuros Emergentes. Arte, interactividad y nuevos medios*. Valencia: Institució Alfons el Magnànim-Diputació de Valencia, 2000.
- MIYAMOTO S, TERAMOTO H, COSO OA, GUTKIN JS, BURBELO PD, AKIYAMA SK, YAMADA KM. Integrin function: molecular hierarchies of cytoskeletal and signalling molecules. *J Cell Biol* **131**: 791–805, 1995.
- MORENO («Falo») RF. **En**: <http://mypage.direct.ca/o/olaf/next.html>.
- MOTRO R. Tensegrity systems: The state of the art. *Int J Space Struct* **7**: 75–84, 1992.
- MOTRO R. *Tensegrity. Structural Systems for the Future*. Londres: Kogan Page Science, 2003.
- MULLER G. *Kenneth Snelson's Position is unique*. Kunstverein Hannover, 1971.
- NATH D (Ed) *Cytoskeleton (Nature insight)*. *Nature* **422**: 739–781, 2003.
- NEEDHAN J. *Terry Lecture*. Yale University, 1936.
- PARAMIO JM, JORCANO JL. Beyond structure: do intermediate filaments modulate cell signalling? *BioEssays* **24**: 836–844, 2002.
- PAVALKO FM, CHEN XN, TURNER CH, BURR DB, ATKINSON S, HSIEH YF, QIU J, DUNCAN RL. Fluid shear-induced mechanical signalling in MC3t3-E1 osteoblasts requires cytoskeleton-integrin interactions. *Am J Physiol Cell Physiol* **275**: C1591–C1601, 1998.
- PAWSON T, NASH P. Assembly of cell regulatory systems through protein interaction domains. *Science* **300**: 445–452, 2003.
- PAWSON T, SCOTT JD. Signaling through scaffold, anchoring, and adaptor proteins. *Science* **278**: 2075–2080, 1997.
- PINHU L, WHITEHEAD T, EVANS T, GRIFFITHS M. Ventilator-associated lung injury. *Lancet* **361**: 332–340, 2003.
- PRICE MP, LEWIN GR, MCILWRATH SL, CHENG C, XIE J, HEPPENSTALL PA, STUCKY CL, MANNSFELDT AG, BRENNAN TJ, DRUMMOND HA, QIAO J, BENSON CJ, TARR DE, HRSTKA RF, YANG B, WILLIAMSON RA, WELSH MJ. The mammalian sodium channel BNC1 is required for normal touch sensation. *Nature* **407**: 1007–1011, 2000.
- PUGH A. *An introduction to Tensegrity*. Berkeley, CA: University of California Press, 1976.
- ROTH B, Whiteley W. Tensegrity frameworks. *Trans Am Math Soc* **256**: 419, 1981.
- SADAO S. **Ver**: H Lalvani, 1996; págs 37–42.
- SASTRE J-P. Les mobiles de Calder. **En**: *Calder*. París: Fondation Maeght, 1969. Pgs 33–37.
- SCHMEICHEL KL, BISSELL MJ. Modeling tissue-specific signalling and organ function in three dimensions. *J Cell Sci* **116**: 2377–2388, 2003.

- SCHMID-SCHÖNBEIN GW, KOSAWADA T, SKALAK T, CHIEN S. Membrane model of endothelial cell and leukocytes. A proposal for the origin of cortical stress. *ASME J Biomech Eng* **117**: 171–178, 1995.
- SHIN J-B, MARTÍNEZ-SALGADO C, HEPPENSTALL PA, LEWIN GR. A T-type calcium channel required for normal function of a mammalian mechanoreceptor. *Nature Neurosci* **6**: 724–730, 2003.
- SHYY JY-J, CHIEN S. Role of integrins in cellular responses to mechanical stress and adhesion. *Curr Opin Cell Biol* **9**: 707–713, 1997.
- SIMONS K, IKONEN E. Functional rafts in cell membranes. *Nature* **387**: 569–572, 1997.
- SNELSON K. Ver: H Lalvani, 1996; págs 43–48.
- SNELSON K. *Kenneth Snelson*. En: www.kennethsnelson.net/
- SRINIVASAN MA, BIGGS SJ, RAJU BI, DE S, CYSYK JP, GIDWANI AC, LAMOTTE RM. Role of skin biomechanics in mechanoreceptor response. En: <http://rleweb.mit.edu/Publications/pr142/srini3-142.pdf>.
- STAMENOVIC D, COUGHLIN MF. The role of prestress and architecture of the cytoskeleton and deformability of cytoskeletal filaments in mechanics of adherent cells: a quantitative analysis. *J Theor Biol* **201**: 63–74, 1999.
- STAMENOVIC D, COUGHLIN MF. A quantitative model of cellular elasticity based on tensegrity. *ASME J Biomech Eng* **122**: 39–43, 2000.
- STAMENOVIC D, FREDBERG JJ, WANG N, BUTLER JP, INGBER DE. A microstructural approach to cytoskeletal mechanics based on tensegrity. *J Theor Biol* **181**: 125–136, 1996.
- STAMENOVIC D, INGBER DE. Models of cytoskeletal mechanics and adherent cells. *Biomech Model Mecanobiol* **1**: 95–108, 2002.
- STAMENOVIC D, MIJAILOVICH SM, TOLIC-NØRRELYKKE IM, CHEN J, WANG N. Cell prestress. II. Contribution of microtubules. *Am J Physiol Cell Physiol* **282**: C617–C624, 2002.
- STAMENOVIC D, MIJAILOVICH SM, TOLIC-NØRRELYKKE IM, WANG N. Experimental test of the cellular tensegrity hypothesis. *Biorheol* **40**: 221–225, 2003.
- TAKAYAMA S, OSTUNI E, LEDUC P, NARUSE K, INGBER DE, WHITESIDES GM. Subcellular positioning of small molecules. *Nature* **411**: 1016, 2001.
- TENSEGRITTOY. En: http://Tensegritoy.com/What_is_Tensegrity.html.
- TIBERT AG, PELLEGRINO. Review of form-finding methods for tensegrity structures. En: www.civ.eng.cam.ac.uk/dsl/tensegrity.pdf.
- TIBERT AG, PELLEGRINO S. Form-finding of tensegrity structures – A review. En: www2.mech.kth.se/~gunnart/NSCM14.pdf.
- TOMASEK JJ, GABBIANI G, HINZ B, CHAPONNIER C, BROWN RA. Myofibroblasts and mechanoregulation of connective tissue remodelling. *Nature Rev Mol Cell Biol* **3**: 349–363, 2002.
- URNER K. *Synergetics on the Web*. En: www.grunch.net/synergetics/
- WANG N, BUTLER JP, INGBER DE. Mechanotransduction across the cell surface and through the cytoskeleton. *Science* **260**: 1124–1127, 1993.
- WANG N, INGBER DE. Control of cytoskeletal mechanics by extracellular matrix, cell shape, and mechanical tension. *Biophys J* **66**: 2181–2189, 1994.
- WANG N, NARUSE K, STAMENOVIC D, FREDBERG JJ, MIJAILOVICH SM, TOLIC-NØRRELYKKE IM, POLTE T, MANNIX H, INGBER DE. Mechanical behaviour in living cells consistent with the tensegrity model. *Proc Natl Acad Sci USA* **98**: 7765–7770, 2001.

- WANG N, STAMENOVIC D. Contribution of intermediate filaments to cell stiffness, stiffening, and growth. *Am J Physiol Cell Physiol* **279**: C188–C194, 2000.
- WANG N, TOLIC-NØRRELYKKE IM, CHEN J, MIJAILOVICH SM, BUTLET JP, FREDBERG JJ, STAMENOVIC D. CELL PRESTRESS. I. Stiffness and prestress are closely associated in adherent contractile cells. *Am J Physiol Cell Physiol* **282**: C606–C616, 2002.
- WATSON PA. Function follows form: generation of intracellular signals by cell deformation. *FASEB J* **5**: 2013–2019, 1991.
- WEINBAUM S, ZHANG X, HAN Y, VINK H, COWIN SC. Mechanotransduction and flow across the endothelial glycocalyx. *Proc Natl Acad Sci USA* **100**: 7988–7995, 2003.
- WEISS JN, QU Z, GARFINKEL A. Understanding biological complexity: lessons of the past. *FASEB J* **17**: 1–6, 2003.
- WHITELEY W. Séminaire sur la rigidité structurale. Centre de Recherches Mathématiques. Université de Montreal. 1987. **Citado en:** R Motro (ref núm 59).
- ZAMIR E, GEIGER B. Molecular complexity and dynamics of cell-matrix adhesion. *J Cell Sci* **114**: 3583–3590, 2001.
- ZHENG L, SEKERKOVÁ G, VRANICH K, TILNEY LG, MUGNAINI E, BARTLES JR. The deaf jerker mouse has a mutation in the gene encoding the espin actin-binding proteins of hair cell stereocilia and lacks espins. *Cell* **102**: 377–385, 2000.