

2º Horizonte, 2005

# Vida latente y resurrección de los organismos

♦ Gabriel Iturriaga

El agua forma parte de nuestras vidas, literalmente, ya que constituye más del 80 por ciento del volumen de cada célula y de cada organismo, sea éste animal, planta o bacteria. Es probable que la vida se haya originado en un ambiente acuoso en la Tierra primitiva y desde entonces el agua nos acompaña para mantener la forma y el funcionamiento adecuado de la célula. El agua disuelve, diluye, transporta y permite las reacciones químicas que llevan a cabo las enzimas durante el metabolismo para formar compuestos o degradar alimentos y obtener energía, por lo que siempre ha sido un reto para la célula mantener constante su contenido de agua, en respuesta a los cambios del medio, tales como temperaturas extremas, salinidad o deshidratación. Este problema tuvo que ser resuelto desde que se formaron las primeras células que habitaban los mares primitivos. A lo largo de la evolución, los organismos han desarrollado dos estrategias distintas para contender con el estrés abiótico. En ciertos organismos que habitan ambientes extremos, se seleccionaron mutaciones que originaron enzimas cuya actividad óptima se da en condiciones de alta temperatura o concentración de sal (este es el caso de los halófilos). Otro camino distinto evolucionó en muchos otros organismos que se ven expuestos temporalmente a condiciones desfavorables, en los que se crearon rutas de síntesis de compuestos osmótica-

mente activos que son compatibles con el metabolismo, y que permiten contender con el estrés ambiental.

Durante el invierno son pocos los animales que permanecen activos. Muchas especies de aves o mamíferos migran, algunas cavan hoyos y otras encuentran refugio en cuevas. Algunos organismos pueden vivir debajo del hielo en mares o lagos. Pero, ¿qué pasa con los animales de sangre fría como los anfibios o reptiles, y con los invertebrados, muchos de los cuales sobreviven a  $-50^{\circ}\text{C}$  durante meses? El congelamiento puede ser letal para un organismo, ya que, al congelarse, el agua se expande y provoca el rompimiento de las células, se disgregan sus componentes y la organización que requieren para su funcionamiento se pierde. La respuesta está en que algunos de estos animales producen compuestos osmoprotectores que evitan la formación de hielo en su sangre, como el pez del antártico que acumula proteínas anticongelantes. Otros animales que efectivamente se congelan -como ciertos sapos y tortugas, al igual que algunas plantas, larvas y hongos que sobreviven deshidratados, o que resisten un exceso de sal como ciertas algas que habitan en el Mar Muerto u otros más que habitan en el desierto a temperaturas de más de  $40^{\circ}\text{C}$ - tienen como denominador común la capacidad de acumular en su interior ciertos polioles, como el glicerol o el



♦ Profesor-Investigador, Centro de Investigación en Biotecnología



sorbitol; algunos aminoácidos, como la prolina o el ácido glutámico; sales cuaternarias de amonio, como la glicina betaína o disacáridos, tales como la sacarosa o trehalosa. Estas sustancias naturales no son tóxicas para los organismos y protegen las estructuras subcelulares y biomoléculas de la acción destructiva del estrés. Entre todas estas sustancias, la que más comúnmente se encuentra en los organismos y es más eficiente como osmoprotector es la trehalosa.

La trehalosa es un disacárido no reductor formado por dos moléculas de glucosa unidas por enlaces  $1\alpha-1\alpha$ . Ésta fue descrita por Berthelot en el siglo XIX al caracterizar un disacárido presente en los huevos del escarabajo del género *Larinus*, mismos que fueron utilizados en la medicina durante el imperio Otomano y conocidos entonces como “trehala”; de ahí que Berthelot llamó al azúcar “trehalosa”. Aun hoy en día, en cierta época del año en el desierto del Sinaí, es posible encontrar verdaderas nubes de estos escarabajos.

La trehalosa es un azúcar insípido, transparente y que puede reemplazar al agua de los organismos, preservando intactas las estructuras de la célula a pesar de la ausencia del líquido. En condiciones de deshidratación, la trehalosa es capaz de estabilizar y proteger estructuras celulares como membranas y proteínas, lo que permite a los organismos anhidrobiontes sobrevivir después de ciclos de deshidratación-rehidratación. Algunos organismos que acumulan trehalosa en su interior pueden mantenerse deshidratados durante varios años o inclusive décadas. Hace unos años un biólogo inglés que estudiaba musgos en el herbario del Museo de Historia Natural de Londres los cuales habían sido

colectados en el siglo XIX, cometió la torpeza de derramar agua sobre la planta. ¡Cuál no sería su sorpresa, y nuestra, cuando de pronto empezaron a caminar varios animales minúsculos después de ciento veinte años de estar deshidratados! Estos organismos eran el “osito de agua” del grupo de los tardígrados y algunos rotíferos. Por cierto, cabe recordar que en el siglo XVIII fue Leeuwenhoek, el inventor del microscopio, el primero en describir el fenómeno de la criptobiosis. En una de sus primeras observaciones, tomó polvo del techo de su casa y después de ponerle unas gotas de agua observó que algo empezó a moverse. En un artículo para la Royal Society de Londres, escribió: “después de un corto tiempo, empezaron a extender sus cuerpos y en al menos media hora una centena de ellos empezaron a nadar”. Es probable que estos animalillos correspondan a los rotíferos. Lamentablemente, esta observación sirvió de apoyo durante muchos años a los creacionistas, quienes fueron debidamente refutados un siglo después por Pasteur, y los bichos resucitadores quedaron en el olvido. Fueron más de cien años después que Hooker, un amigo de Darwin, vino a México y entre la flora encontrada describió a la *Selaginella lepidophylla* y a su capacidad de revivir horas después de estar en contacto con el agua. Sin embargo, las bases científicas de la criptobiosis tuvieron que esperar el final del siglo XX.

En un principio, la presencia de trehalosa fue asociada principalmente a organismos criptobiontes o con vida latente sin agua, en donde este azúcar se acumula en concentraciones del 10 al 20 por ciento. Esta clase de organismos, donde se incluyen las “plantas de resurrección”, como la “doradilla”

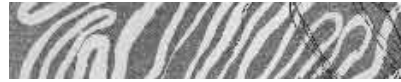
(*Selaginella lepidophylla*), los crustáceos (*Artemia salina*), la levadura del pan (*Saccharomyces cerevisiae*), algunos nemátodos (*Ditylenchus dipsaci*) y tardígrados (*Adoribiotus coronifer*), tienen la increíble capacidad de sobrevivir durante años a niveles de deshidratación extrema. En la actualidad sabemos que la trehalosa también se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza, en organismos tan diversos como bacterias, hongos, nemátodos, insectos y plantas que de hecho contienen genes funcionales que codifican para las enzimas involucradas en la síntesis y degradación. Recientemente descubrimos en nuestro laboratorio, con métodos bioinformáticos, que al contrario de lo que se pensaba, los mamíferos sí tienen la capacidad de sintetizarla. En *Homo sapiens* encontramos un gen que se expresa específicamente en el riñón, el cual es justamente un órgano donde se lleva a cabo una osmorregulación muy activa y en este proceso la trehalosa juega un papel clave. La “doradilla” o “flor de roca” tiene un uso medicinal desde tiempos precolombinos y se describe en el *Código Cruz-Badiano* de la medicina azteca. La podemos encontrar en los puestos de medicina naturista de los mercados y los hierberos recomiendan esta planta para curar padecimientos del riñón tomándola en una infusión. Hoy en día se siguen encontrando usos medicinales para la trehalosa, por ejemplo en la curación de enfermedades graves como la osteoporosis y la enfermedad congénita de Huntington. En ambas, ayuda a reestablecer la estructura de las células y proteínas dañadas.

Además, se han descrito diversas funciones para la trehalosa. En bacterias de los géneros *Mycobacteria*, *Nocardia*, *Rhodococcus* y *Corynebacterium*,

forma parte de los glicolípidos de la pared celular. En las levaduras y hongos, además de ser un factor crucial en la respuesta adaptativa a diferentes tipos de estrés, es un componente de reserva y un regulador del metabolismo de la glucosa. En los insectos se consume durante el vuelo y es utilizada como reserva de energía, siendo el azúcar más abundante en la hemolinfa y en los músculos del tórax.

La evolución ha generado varias vías de síntesis de trehalosa, las cuales se caracterizan por tener diferentes sustratos, intermediarios y enzimas. Hasta hace poco tiempo la literatura sobre el tema contemplaba sólo una vía de síntesis, sin embargo, su metabolismo es ampliamente requerido y variado en los organismos, de tal manera que algunos de ellos presentan más de una forma de hacer trehalosa. La primera vía descrita y al mismo tiempo la más ampliamente distribuida en diversas especies fue elucidada en 1958 por Leloir en levaduras y está presente también en bacterias y plantas. Su degradación la realiza una enzima altamente específica, conocida como trehalasa, que da como resultado dos moléculas de glucosa.

La trehalasa fue identificada en el hongo *Aspergillus niger*, y ha sido aislada de decenas de otros organismos, usualmente de los mismos organismos capaces de sintetizar trehalosa. Resulta interesante que la trehalasa ha sido también aislada de organismos que aparentemente no sintetizan trehalosa o donde no ha sido posible detectarla. En el intestino delgado de varias especies de mamíferos es posible encontrar la enzima trehalasa, incluyendo al *Homo sapiens*, que es un activo consumidor de alimentos con trehalosa.



### **Alimentos frescos con trehalosa**

Al ser la trehalosa un disacárido no reductor, se encuentra entre los azúcares menos reactivos químicamente; es también altamente termoestable y resistente a un amplio rango de pH. Estas características han hecho que sea un azúcar muy utilizado en la naturaleza y cumpla con diferentes propósitos, los cuales dependen del sistema biológico analizado. Por ejemplo, la “doradilla” y “el osito de agua”, además de sobrevivir a la desecación, resisten la congelación, calor a 100 °C y un exceso de rayos equis. Además, existe una gran cantidad de reportes donde se describe la preservación de células vegetales o animales a las que se les agrega trehalosa y se pueden mantener deshidratadas y viables durante varios meses a temperatura ambiente. No sería extraño que en el futuro la trehalosa permitiera transportar en viajes interestelares a distintos organismos, incluidos humanos, en vida latente para ser rehidratados al llegar a su destino.

La trehalosa se encuentra de forma natural en muchos de los alimentos consumidos en la dieta del ser humano desde hace siglos, como los hongos, el pan, la miel, el vinagre, la cerveza y el vino. Si tomamos en cuenta que la elaboración de vinos y cerveza se remonta a hace más de siete mil años en Babilonia, no sería inexacto afirmar que el consumo de trehalosa se inició desde entonces, ya que este azúcar se encuentra en altas concentraciones en la levadura. Hoy en día se acepta que la biotecnología, entendida como el uso de los organismos para producir bienes, servicios y productos comerciales, se inició precisamente con el uso de las fermentaciones; por lo que podemos afirmar que el consumo de trehalosa

es casi tan antiguo como la civilización misma. Cabe también destacar que los antiguos egipcios utilizaron la miel para momificar, lo cual indica que desde entonces se conocía esta extraordinaria capacidad de ciertos productos -que hoy sabemos que la contienen- para preservar células en estado deshidratado. En la actualidad se empieza a usar para preservar alimentos como purés y rebanadas de frutas o carnes. Las pruebas piloto indican que después de rehidratar frutos que han estado secos con trehalosa sin refrigeración, éstos recuperan su sabor, aroma, consistencia y color sin perder sus propiedades alimenticias. Por lo que un chef que se jacte de usar productos frescos pero no los pueda obtener más que en países lejanos, podrá acudir al mercado por sus frutos o carnes secados con trehalosa y servirlos, después de rehidratados, como frescos. Igualmente, podremos desayunar cereal que incluya en el empaque fruta secada con trehalosa, y que al agregar la leche se rehidrate y nos sepa como recién cortada del árbol. Los estudios clínicos señalan que la intolerancia a la trehalosa entre la población es más baja que a la lactosa de la leche, lo cual la hace un producto altamente seguro.

### **Cultivos resistentes a la sequía**

El cambio climático por la contaminación ha generado una desertificación creciente y una reducción de las áreas de cultivo, y plantea un reto que es urgente resolver. Una alternativa sería disponer de cultivos resistentes a la sequía, salinidad o temperaturas extremas. Sin embargo, durante años los agrónomos han tratado sin éxito de mejorar genéticamente la tolerancia a la sequía, en diversos

granos como el trigo, el maíz y el arroz, los principales cultivos en extensión sembrada y consumo, y que han sido la base de la alimentación de países y regiones enteras en el mundo. Es más, la domesticación de estas plantas permitió la sedentarización y el desarrollo social y cultural.

En la mayoría de las especies el crecimiento y periodo reproductivo está sincronizado con la estación de lluvias. Una vez terminadas las lluvias, las semillas en los frutos adquieren la capacidad de resistir la desecación y mantenerse latentes hasta la siguiente estación pluvial. Por cierto, las semillas de la mayoría de las plantas también contienen sustancias osmoprotectoras como la sacarosa y la rafinosa. Por el contrario, los organismos que habitan en ambientes húmedos tienen mecanismos simples de adaptación a la falta de agua o bien carecen de ellos del todo. Tal es el caso de los helechos o las semillas de muchas especies de plantas de una selva tropical, que no resisten la desecación y están adaptadas para germinar casi inmediatamente después de formadas. A medida que los ambientes y nichos se alejan del agua y la presencia de ésta es más escasa, hasta llegar a los desiertos, las adaptaciones metabólicas y anatómicas se hacen más complejas y sofisticadas. Éste sería el caso de los cactus o los agaves, que están prácticamente acorazados para evitar la pérdida del agua. El caso de las plantas de resurrección, que habitan sobre suelos rocosos con poca agua, generalmente en zonas áridas, es distinto. Pueden sobrevivir años sin agua y en cuanto llueve crecen y se reproducen por un mecanismo primitivo como son las esporas.

En años recientes, en algunos países, incluido el nuestro, se han realizado experimentos que demuestran que la trehalosa puede ser sintetizada en otras plantas además de las de resurrección. Estos trabajos, incluido el nuestro, fueron realizados en plantas transgénicas con el objetivo de conferir tolerancia al estrés por deshidratación. Se han obtenido plantas de *Arabidopsis*, tabaco, papa y arroz que expresan los genes de síntesis de trehalosa provenientes, ya sea de planta, levadura o bacteria. Estas plantas son capaces de mantenerse durante semanas en estado de deshidratación. Si se riegan de nuevo las plantas al cabo de este tiempo, se recuperan totalmente.

En este momento estamos llevando a cabo experimentos de transgénesis en otros cultivos que podrían tener gran impacto en la agricultura, sobre todo en la de temporal que constituye el 79 por ciento en nuestro país y aqueja a los agricultores más pobres. Además de esta nueva característica, encontramos que la trehalosa tiene un papel importante en la regulación del desarrollo y el metabolismo del carbono en las plantas. En *Arabidopsis thaliana* nuestro grupo de investigación ha demostrado que la síntesis de trehalosa tiene un papel importante en el desarrollo temprano de la planta y en los procesos de señalización mediada por azúcares y ácido abscísico, el cual es un fitorregulador que juega un papel clave en la adquisición de la tolerancia al estrés abiótico. Para finalizar, recientemente aislamos mutantes de *Arabidopsis* insensibles a trehalosa, que serán de gran interés para ayudar a entender el mecanismo por medio del cual la trehalosa actúa en la regulación génica.