Ciencia y Tecnología

Un gusano microscópico clave para la investigación biomédica

Diego de Mendoza y Gastón Prez

Dos organismos no mamíferos, la mosca Drosophila y el gusano C. elegans, fueron introducidos en el ámbito de la ciencia para estudiar procesos fisiológicos en el contexto de un animal entero. Son modelos relativamente fáciles de manipular genéticamente.

Introducción

Numerosas estrategias fueron utilizadas en el mundo para identificar mutaciones en los genes responsables de enfermedades humanas. La identificación de estos genes no sólo informa acerca del desarrollo de la enfermedad, sino que proporciona también herramientas potenciales para un mejor diagnóstico y tratamiento.

La elección de un organismo modelo para estudiar la relación entre genes y enfermedades requiere de un balance cuidadoso. Claramente, los seres humanos son el mejor modelo para estudiar anormalidades de origen genético; sin embargo, para dicho estudio hay limitaciones prácticas y éticas para reproducir enfermedades en hombres y mujeres. El uso de otros mamíferos, tales como ratones, ha probado ser un modelo valioso para estudiar enfermedades humanas; sin embargo, en estos animales hay enfermedades que son difíciles de reproducir y los experimentos consumen mucho tiempo. Con el advenimiento de técnicas muy poderosas para producir edición génica, los cultivos de células humanas han sido muy utilizados, esto aportó nuevas herramientas de investigación. Pero presentan la limitante de no poder emular la complejidad de un organismo entero. Es así que dos organismos no mamíferos, la mosca Drosophila y el gusano C. elegans, fueron introducidos en el ámbito de la ciencia como alternativas muy interesantes para estudiar procesos fisiológicos en el contexto de un animal entero, ya que son modelos relativamente fáciles de manipular genéticamente. Estos organismos modelos han sido utilizados intensamente para el estudio de terapias relacionadas con enfermedades genéticas. En este artículo nos focalizaremos en el uso del gusano C. elegans como modelo no mamífero para estudiar enfermedades humanas.

Biografía de un gusano

A través del tiempo, los genetistas apreciaron la utilidad de los pequeños organismos para medir, comparar y entender cosas mucho más grandes. Un ejemplo de ello fue el monje Gregor Mendel, que utilizó arvejas para describir las leyes de la herencia de los caracteres genéticos. Años mas tarde, trabajando con la mosca Drosophila, el científico Thomas Morgan descubrió que los genes son aportados por los cromosomas. Morgan realizó trabajos pioneros que allanaron el camino para que los genetistas de moscas establezcan cómo ciertos genes regulan el esquema general del desarrollo desde el embrión a la formación de un organismo adulto completo. Para entender el desarrollo embriológico en el nivel más

BCR

PROPIETARIO: Bolsa de Comercio de Rosario
Córdoba 1402 - S2000AWV Rosario - ARG
Tel: (+54 341) 5258300 / 4102600
contacto@bcr.com.ar - www.bcr.com.ar

Este material, que se encuentra inscripto en el Registro de la propiedad intelectual bajo el Nº 5.234.463, puede ser reproducido de manera total o parcial citando como fuente Revista Institucional de la Bolsa de Comercio de Rosario.

profundo, los genetistas necesitaban entender cómo los genes podían gobernar el destino de las células individuales en un organismo.

A mediados de la década del sesenta, el científico sudafricano Sidney Brenner empezó a buscar un organismo que pudiera ayudar a resolver el rompecabezas de la determinación del destino de una célula. Aun siendo tan minúscula, la mosca Drosophila era demasiado grande para investigar el problema. Para entender cómo los genes deciden el destino de las células, necesitaba un organismo tan pequeño y simple que cada célula pudiera ser seguida en el tiempo y en el espacio. Brenner finalmente se decidió por un minúsculo gusano que vive en el suelo llamado Caenorhabditis elegans, C. elegans para abreviar. La razón de la elección se debió a que, una vez alcanzada la edad adulta, cada gusano tiene un número fijo de células. Brenner se propuso identificar cada célula del gusano, seguir su recorrido y estudiar su control genético. Para realizar semejante desafío experimental, al laboratorio de Brenner se unieron dos jóvenes investigadores: John Sulston y Rovert Horvitz. Luego de un trabajo agotador, los investigadores pudieron recapitular la construcción del gusano célula por célula.

Se logró predecir que en 12 horas una célula particular se iba a dividir una vez, que luego en 48 horas se convertiría en una neurona y 72 horas más tarde se movería a tal parte del sistema nervioso del gusano para permanecer allí el resto de su vida.

Con toda esa información -y el análisis de mutantes del gusano donde el recorrido de las células podía ser alterado-, se pudo concluir que cada célula sabía cuál era su destino, debido a las instrucciones que los genes les dictaban. Estas instrucciones eran las que le decían a la célula en qué, dónde y cuándo debían convertirse. En otras palabras, célula a célula, un animal era construido conforme a unas instrucciones genéticas.

Cada gusano adulto tiene 959 células, pero si se cuentan las generadas durante su desarrollo, el número total es de 1090. ¿Qué pasaba con las 131 células que desaparecían en el gusano adulto? Era una muerte selectiva de células que parecía estar genéticamente programada. Este fenómeno era una muerte celular programada por los genes, y se le dio el nombre de apoptosis, un vocablo griego que alude a la caída de las hojas de los árboles o los pétalos de una flor. Pronto se vio que los genes identificados en gusanos que regulan la muerte programada de células están presentes en el ser humano y, sorpresivamente, los mismos están implicados en los cánceres humanos.

Sydney Brenner, H. Robert Horvitz y John E. Sulston obtuvieron el Premio Nobel de Fisiología o Medicina 2002. El comunicado de la academia sueca señala que los galardonados de ese año son responsables de descubrimientos claves acerca de la regulación genética del desarrollo de órganos y de la muerte celular programada. Investigando el gusano C. elegans como modelo de experimentación abrieron posibilidades para seguir la división celular y la diferenciación desde el óvulo fertilizado al individuo adulto. Asimismo, han identificado genes claves en la regulación del desarrollo de órganos y de la apoptosis y mostrado que los genes correspondientes existen en las especies más desarrolladas, entre ellas el ser humano. Según la academia sueca, estos descubrimientos son importantes para la investigación médica y han arrojado nueva luz a la patogénesis de muchas enfermedades.

¿Por qué el funcionamiento de los genes de un gusano está conservado en humanos?

Desde los descubrimientos del grupo de Brenner, C. elegans ha sido utilizado como modelo no mamífero en el estudio de terapias de enfermedades genéticas. ¿Por qué los científicos utilizan a C. elegans para estudiar problemas relacionados al desarrollo y a enfermedades humanas? Ésta es la pregunta clásica formulada por la mayoría de las personas cuando escuchan que los científicos usan un gusano para obtener información de relevancia para humanos. Indudablemente, se trata de una pregunta razonable y su respuesta es que entre gusanos y humanos hay conservación

PROPIETARIO: Bolsa de Comercio de Rosario
Córdoba 1402 - S2000AWV Rosario - ARG
Tel: (+54 341) 5258300 / 4102600
contacto@bcr.com.ar - www.bcr.com.ar

Este material, que se encuentra inscripto en el Registro de la propiedad intelectual bajo el Nº 5.234.463, puede ser reproducido de manera total o parcial citando como fuente Revista Institucional de la Bolsa de Comercio de Rosario.

en la función de los genes. C. elegans es un pequeño gusano o nematodo que deriva de un antepasado común que comparte con los humanos, el cual vivió en el período precámbrico, hace unos 500-600 millones de años (Figura 1). Este antepasado común es conocido como el "antepasado urbilateral", del cual derivan la mayoría de animales multicelulares invertebrados, tales como insectos, gusanos y erizos, y también los vertebrados, tales como mamíferos, peces y reptiles. La mayoría de los genes y mecanismos genéticos que gobiernan el desarrollo de los organismos multicelulares, incluyendo los involucrados en el crecimiento y en ciertas enfermedades de humanos, estuvieron presente en el antepasado del precámbrico y son compartidos por gusanos y humanos. Como resultado de la evolución, C. elegans posee neuronas, piel, intestino, músculos y otros tejidos que son muy similares en la forma, función y genética a los tejidos correspondientes de los humanos. Esta conservación es muy importante, ya que muchos procedimientos genéticos son imposibles de realizar en humanos y requieren mucho tiempo y recursos económicos para realizarlos en ratones y otros vertebrados, haciendo que este gusano se convierta en un modelo ideal a la hora de comenzar a entender el funcionamiento de ciertas patologías.

Anatomía y reproducción de C. elegans

C. elegans es un gusano o nematodo transparente, que normalmente vive en el suelo de jardines, bosques o lugares donde haya vegetación en descomposición. El ciclo de vida de C. elegans comienza cuando un gusano adulto deposita un huevo que al eclosionar da lugar a un pequeño gusano; éste luego se desarrolla, pasando a través de cuatro estadíos larvales y culmina en la formación de un gusano adulto. La vida de C. elegans es relativamente corta: en tres días se convierte en un gusano adulto y tiene una expectativa de vida que varía de dos a tres semanas. Como dijimos anteriormente, los adultos tienen 959 células en el cuerpo y crecen hasta medir 1mm de largo. A pesar de su pequeño tamaño, C. elegans posee muchos de los órganos presentes en organismos más complejos, tales como sistema digestivo, sistema nervioso, musculatura y sistema reproductivo. C. elegans existe en dos sexos: hermafroditas o machos. Los hermafroditas adultos presentan los órganos sexuales de ambos sexos y producen cientos de huevos autofertilizados. Sin embargo, los hermafroditas también pueden cruzarse con machos, dando lugar a una variabilidad genética de la población.

En su ambiente natural, C. elegans se alimenta de bacterias presentes en el suelo. En el laboratorio, a C. elegans se lo mantiene en pequeñas cajitas con agar, una sustancia gelatinosa que se obtiene de algas y se lo alimenta con una bacteria llamada Escherichia coli (Figura 2). Para observar en detalle su morfología es necesario una lupa binocular, que también permite al observador manipular el gusano utilizando un fino cable de platino unido a una pipeta de vidrio.

C. elegans como modelo de enfermedades humanas

Con los años se generó suficiente conocimiento y se desarrollaron tecnologías que actualmente nos permiten utilizar a este gusano como herramienta para estudiar cuestiones básicas de biología y genética, además de comprender mejor el funcionamiento de ciertas patologías que aquejan a los humanos. Un ejemplo de ello son las enfermedades inflamatorias crónicas y las infecciosas: ambas se encuentran entre las principales causas de muerte en la población mundial. Un factor común en todas estas patologías son los procesos inflamatorios llevados a cabo por nuestro sistema inmune innato.

BCR

PROPIETARIO: Bolsa de Comercio de Rosario
Córdoba 1402 - S2000AWV Rosario - ARG
Tel: (+54 341) 5258300 / 4102600
contacto@bcr.com.ar - www.bcr.com.ar

Este material, que se encuentra inscripto en el Registro de la propiedad intelectual bajo el Nº 5.234.463, puede ser reproducido de manera total o parcial citando como fuente Revista Institucional de la Bolsa de Comercio de Rosario.

Desde los 90 se utilizó a C. elegans para estudiar la mecanística de los procesos relacionados con la respuesta innata del sistema inmune frente a la infección de patógenos humanos, explotando las similitudes que existen entre el gusano y los humanos en relación a mecanismos de acción inmunológicos. También se ha logrado comprender mejor, por ejemplo, la relación entre cierto tipo de infecciones bacterianas y procesos inflamatorios crónicos.

Está bien establecido que el sistema nervioso y el sistema inmune se comunican recíprocamente para disparar respuestas que bloquean las infecciones bacterianas; C. elegans contiene sólo 302 neuronas, y el estudio de sus circuitos neuronales durante infecciones con patógenos contribuyó a una mejor comprensión de los mecanismos neurales que controlan la inmunidad innata y la neutralización de la infección.

Otro tipo de enfermedades humanas que se pueden estudiar en C. elegans son las relacionadas con los errores congénitos del metabolismo, entre las que podemos nombrar a la diabetes y la obesidad. Usando a C. elegans como modelo, se ha descripto la función de genes relacionados con la acumulación descontrolada de grasas y la posibilidad del ensayo de fármacos antiobesidad.

Los mecanismos moleculares que regulan el envejecimiento convocaron mucha atención en décadas recientes, debido a que éstos se han descripto como uno de los principales factores en enfermedades crónicas. Debido a su corto período de vida y a su fisiología relativamente simple, C. elegans es uno de los principales modelos usados para investigar los procesos genéticos y metabólicos que tienen lugar durante el fenómeno del envejecimiento y cómo estos procesos se relacionan con el desarrollo de ciertas enfermedades vinculadas con la vejez.

Un ejemplo paradigmático es la relación que existe entre el envejecimiento y la aparición de ciertas enfermedades neurodegenerativas; el envejecimiento celular está estrechamente vinculado con la disminución o pérdida de ciertas capacidades de la célula. Entre ellas, una de las más estudiadas es la actividad que realiza la célula para deshacerse de los compuestos que ya no utiliza y que podrían ser tóxicos para la misma. Estos compuestos pueden ser proteínas, grasas u otras moléculas complejas. Cuando esta capacidad de eliminación disminuye o se pierde, la célula comienza un proceso de desmejoramiento progresivo que termina finalmente con su muerte. Ésta es la base del mecanismo que subyace en varias enfermedades neurodegenerativas humanas. En este caso, las células neuronales son las afectadas. Algunas de las patologías que comparten este mecanismo son Parkinson, Alzheimer, Niemann-Pick (aunque se puede dar también en niños) y Huntington, entre las más conocidas.

Actualmente, sólo se conoce una fracción de los mecanismos por los cuales estas enfermedades se disparan en las neuronas. Es aquí donde la utilización del gusano C. elegans aparece como una herramienta esencial para lograr comprender mejor los detalles de este tipo de patologías. Estas enfermedades no existen en C. elegans, pero gracias a los desarrollos en el área de la genética se han "ingenieriado" gusanos para que simulen sufrir la enfermedad y así poder realizar experimentos en pos de echar luz sobre cuestiones mecanísticas que aún hoy no se entienden del todo. Existen modelos en el gusano para todas las enfermedades neurodegenerativas mencionadas, siendo éstos de vital importancia a la hora de profundizar el conocimiento de estas patologías y diseñar mejores estrategias terapéuticas.

Estudios de nuestro grupo de trabajo en el Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (IBR)

El colesterol es una sustancia grasa, que tradicionalmente es considerado como uno de los principales factores de riesgo para enfermedades cardiovasculares. Sin embargo, el colesterol es de gran importancia para nuestro organismo, ya que es un precursor químico de las sales biliares, que son vitales para la digestión de grasas, de la vitamina D y de hormonas

PROPIETARIO: Bolsa de Comercio de Rosario
Córdoba 1402 - S2000AWV Rosario - ARG
Tel: (+54 341) 5258300 / 4102600
contacto@bcr.com.ar - www.bcr.com.ar

Este material, que se encuentra inscripto en el Registro de la propiedad intelectual bajo el Nº 5.234.463, puede ser reproducido de manera total o parcial citando como fuente Revista Institucional de la Bolsa de Comercio de Rosario.

sexuales. En el nematodo C. elegans el colesterol es un nutriente de vital importancia; éste tiene que ser transportado adecuadamente al interior de las células, donde es transformado en hormonas imprescindibles para el crecimiento y supervivencia del gusano. En el laboratorio dirigido por Diego de Mendoza, en el IBR, los jóvenes investigadores Celina Galles y Gastón Prez (Figura 3) encontraron que ciertos ácidos grasos, sintetizados por el gusano, eran necesarios para que el colesterol ingrese correctamente a las células de C. elegans y les permita crecer. Para nuestra sorpresa, descubrimos que dichos ácidos grasos tenían que ser convertidos por C. elegans en unos compuestos denominados endocannabinoides, para que "ayuden" al colesterol entrar a las células.

Los endocannabinoides son moléculas que se producen de manera endógena, principalmente en las neuronas, y los podemos encontrar tanto en C. elegans como en todos los mamíferos, incluyendo los humanos. El nombre endocannabinoides se debe a que estas moléculas son detectadas por los mismos receptores humanos que unen el tetrahidrocannabinol (THC), compuesto psicoactivo que se encuentra en la planta cannabis sativa. Este último hallazgo es muy novedoso, porque es la primera vez que se vincula a los endocannabinoides con el transporte de colesterol. Cuando profundizamos nuestras investigaciones, descubrimos que son capaces de fomentar el crecimiento de gusanos que poseen una mutación que resulta en la pérdida de función de una proteína denominada NCR.

BCR

PROPIETARIO: Bolsa de Comercio de Rosario
Córdoba 1402 - S2000AWV Rosario - ARG
Tel: (+54 341) 5258300 / 4102600
contacto@bcr.com.ar - www.bcr.com.ar

Este material, que se encuentra inscripto en el Registro de la propiedad intelectual bajo el Nº 5.234.463, puede ser reproducido de manera total o parcial citando como fuente Revista Institucional de la Bolsa de Comercio de Rosario.

Para seguir con el concepto de que los gusanos son humanos en miniatura, la proteína NCR tiene la misma función que una proteína humana denominada NPC, esencial para el transporte y movimiento intracelular de colesterol. Estos resultados nos permitieron formular la hipótesis de que los endocannabinoides podrían comenzar a usarse para comprender y tratar patologías relacionadas con el transporte intracelular de colesterol. Una de esas patologías es el síndrome de Niemann-Pick (NP), una enfermedad hereditaria poco frecuente que afecta la capacidad del cuerpo para metabolizar las grasas -colesterol y lípidos- dentro de las células. Esta patología congénita, también llamada Alzheimer de los niños, afecta principalmente a infantes y se debe a una mutación en la proteína NPC. La pérdida de función de esta proteína produce un deterioro en las funciones celulares, que a la larga terminan desestabilizando la homeostasis en las células, lo que deriva finalmente en la muerte de la mismas. La enfermedad de NP afecta principalmente el cerebro, los nervios, el hígado, el bazo, la médula ósea y, en casos graves, también a los pulmones. Las personas que padecen esta enfermedad presentan síntomas relacionados con la pérdida progresiva del funcionamiento de los nervios, el cerebro y otros órganos, síntomas típicos de una enfermedad neurodegenerativa. Actualmente, no existe una cura, ya que en la mayoría de los casos es letal. El tratamiento se centra principalmente en palear ciertos síntomas que ayudan a las personas a mejorar su calidad de vida.

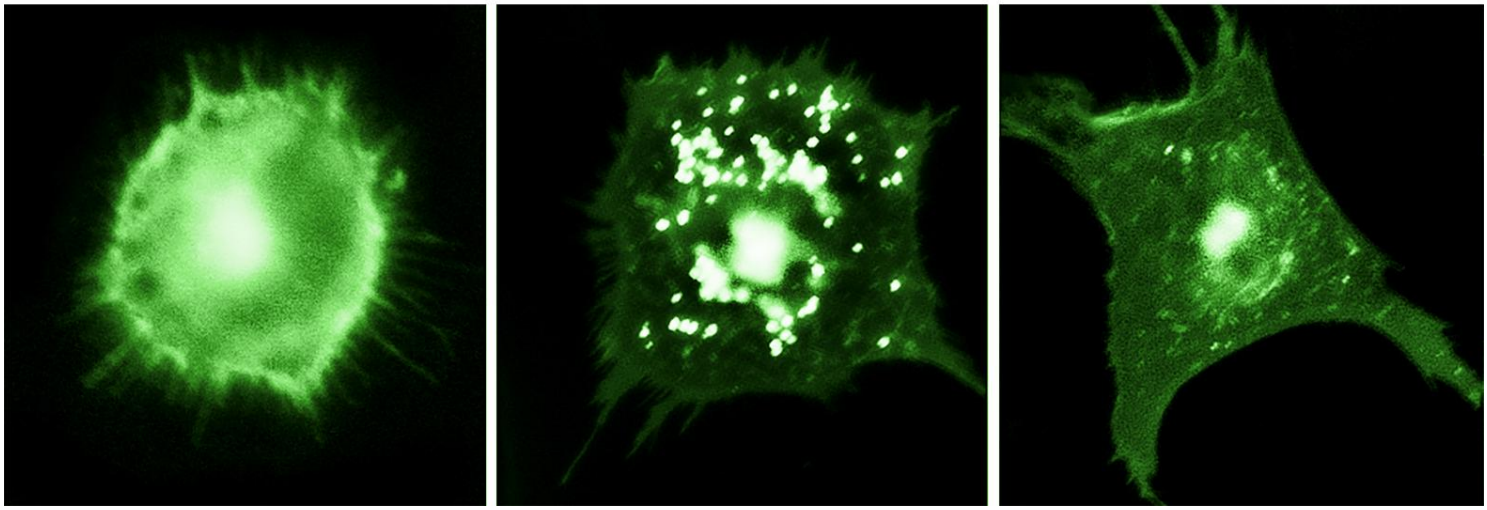
Para poner a prueba la hipótesis de que los endocannabinoides podrían revertir la acumulación de colesterol en células de mamíferos, contactamos a la Dra. Elena Posse de Chaves, una científica argentina que actualmente es profesora de la Universidad de Alberta en Canadá. La Dra. Posse de Chaves tiene una extensa trayectoria en el rol del colesterol en enfermedades neurodegenerativas; y se mostró complacida de establecer un proyecto cooperativo con nuestro laboratorio, para realizar ensayos que ayuden a determinar el efecto de los endocannabinoides en la movilización de colesterol en modelos de cultivos celulares de mamíferos. De esta manera, se podría diseñar una estrategia eficaz para revertir los efectos y daños celulares producidos por la patología. Esta colaboración pudo iniciarse en julio del año 2019, gracias al generoso apoyo de la Bolsa de Comercio de Rosario y de la Academia de Ciencias Médicas de Santa Fe, que aportaron parte de los fondos para solventar el viaje y la estadía del Dr. Prez en la Universidad de Alberta. Uno de los experimentos que realizó el Dr. Prez en Canadá fue visualizar la acumulación intracelular de colesterol en cultivos de neuronas normales y en neuronas con el defecto genético de NP (Figura 4). Para ello se utilizó una sonda fluorescente que, en contacto con el colesterol, emite fluorescencia que se puede visualizar en el microscopio (Figura 4). En células normales, el colesterol se concentra principalmente en la membrana celular, la parte más externa de la célula (Panel A); mientras que, en células con la mutación de NP, el colesterol se acumula en micro compartimentos intracelulares (Panel B), visualizándose como puntos brillantes en el interior de la célula. El panel C ilustra cómo el agregado de endocannabinoides a las neuronas NP resulta en reversión de la acumulación de colesterol en los orgánulos intracelulares. Estos estudios demuestran que la función de los endocannabinoides está conservada tanto en gusanos como en mamíferos. Obviamente, aunque los ensayos mostrados en la Figura 4 son muy alentadores, muchos experimentos adicionales son necesarios para sugerir que los endocannabinoides sean una opción para el tratamiento de la enfermedad de NP. Desafortunadamente, la cooperación con el laboratorio canadiense debió interrumpirse este año debido a las restricciones de viajes al exterior y las limitaciones para trabajar en la Universidad de Alberta por la pandemia de COVID-19.

BCR

PROPIETARIO: Bolsa de Comercio de Rosario
Córdoba 1402 - S2000AWV Rosario - ARG
Tel: (+54 341) 5258300 / 4102600
contacto@bcr.com.ar - www.bcr.com.ar

Este material, que se encuentra inscripto en el Registro de la propiedad intelectual bajo el Nº 5.234.463, puede ser reproducido de manera total o parcial citando como fuente Revista Institucional de la Bolsa de Comercio de Rosario.

Célula Normal | Célula Niemann-Pick | Célula Niemann-Pick + endocannabinoides



Reunión de científicos latinoamericanos en la Bolsa de Comercio de Rosario

Como se comenta en esta nota, C. elegans es un modelo animal de una importancia enorme en el avance de la ciencia. Sin embargo, en América Latina este campo de investigación tiene muy pocos años de recorrido. En Argentina, por ejemplo, trabajan sólo 5 grupos en este campo. Los grupos latinoamericanos, junto a científicos de varios lugares del mundo, que investigan en biomedicina usando a C. elegans, se han reunido en la ciudad de Rosario entre el 19 y el21 de febrero de 2020. Esta reunión, la segunda de su tipo, se realizó en la Bolsa de Comercio de Rosario, y logró no sólo la consolidación de la comunidad latinoamericana, sino también demostrar la expansión que está teniendo en la región el uso de este modelo en el desarrollo de la ciencia local.

BCR

PROPIETARIO: Bolsa de Comercio de Rosario
Córdoba 1402 - S2000AWV Rosario - ARG
Tel: (+54 341) 5258300 / 4102600
contacto@bcr.com.ar - www.bcr.com.ar

Este material, que se encuentra inscripto en el Registro de la propiedad intelectual bajo el Nº 5.234.463, puede ser reproducido de manera total o parcial citando como fuente Revista Institucional de la Bolsa de Comercio de Rosario.