

De la genética de la mosca a la salud humana

- Diego E. Rincón Limas
- Pedro Fernández Fúnez
- Diana Reséndez Pérez

La naturaleza hereditaria de las enfermedades humanas ha sido obvia desde la antigüedad. Distintas culturas han tratado de prevenir la consanguinidad para evitar la aparición de enfermedades severas de transmisión familiar. Estos defectos genéticos (mutaciones) se presentan con muy baja frecuencia en la población y, por lo general, no se manifiestan en individuos portadores de una copia mutante. Pero aquellos individuos que reciben dos copias mutantes del mismo gen (una heredada del padre y otra de la madre) manifiestan las consecuencias de forma dramática. Estos defectos se pueden clasificar, básicamente, en cuatro grupos: malformaciones, disfunción de sistemas (hemofilia, retrasos mentales, insuficiencias inmunológicas, carencias enzimáticas, etc.), neoplasias (cáncer) y enfermedades degenerativas.

En los últimos 25 años se ha realizado un enorme esfuerzo para lograr la identificación de genes causantes de

enfermedades en el hombre. En general, estos proyectos son complejos y requieren la colaboración de equipos multidisciplinarios. Primero se recluta un elevado número de pacientes afligidos por la misma enfermedad. Después se identifica la mutación causante de la enfermedad y se caracteriza la función del gen afectado. Finalmente, se establecen las bases moleculares y celulares de dicha enfermedad. En este punto, se pueden diseñar estrategias farmacológicas para tratar o curar el problema en cuestión.

Hasta la fecha, de los 30,000 genes que integran el genoma humano, unos 1,000 han sido directamente asociados con alguna enfermedad. Para descifrar las bases moleculares de estas enfermedades con mayor eficacia, se han desarrollado estrategias que facilitan el análisis sistemático y rápido de la función de los genes relevantes. Los sistemas genéticos simplificados, conocidos como *organismos modelo*, son valiosos en esta tarea, porque pueden mutarse y ana-

lizarse con alta rapidez y precisión. La mosca de la fruta posee evidentes ventajas prácticas para analizar los efectos nocivos asociados a diversas mutaciones para entender la función de los genes correspondientes.

Estudios genéticos en *Drosophila*

Drosophila melanogaster, también conocida como la mosca de la fruta, es un pequeño insecto que se encuentra por todo el mundo. Este nombre indica su atracción por la fruta en proceso de descomposición. Esta pequeña mosca no representa ningún riesgo para la agricultura ni para el hombre. En cambio, ha resultado ser un organismo tremendamente valioso para la investigación biomédica, particularmente en los campos de la genética y la biología del desarrollo. Su importancia para la salud humana fue reconocida al otorgarle el premio Nobel en Fisiología o Medicina a Ed Lewis, Christiane Nusslein-Volhard y Eric Wieschaus en 1995.

El trabajo de estos investigadores sentó un precedente en la identificación sistemática de genes relevantes para el desarrollo embrionario de la mosca.

Uno de los factores más críticos para los estudios genéticos es el tiempo generacional. Un ciclo vital corto facilita la experimentación genética, de ahí que la mosca de la fruta se haya convertido en uno de los organismos favoritos de los genetistas. Un día después de haber sido fertilizado, el embrión de *Drosophila* se convierte en una larva en forma de gusano. Durante los siguientes cuatro días, la larva aumenta su tamaño hasta que se convierte en una pupa inmóvil en la que padece la metamorfosis (similar al capullo de la mariposa). En los siguientes cuatro días el cuerpo tubular de la larva es completamente remodelado y da lugar a una mosca adulta. En total, el ciclo vital de *Drosophila* se completa en diez días. Además, la mosca presenta numerosas ventajas prácticas al ser un organismo pequeño (2 mm. de largo), altamente fértil y de mantenimiento fácil y económico. En el aspecto técnico, *Drosophila* ofrece insuperable flexibilidad genética y múltiples procedimientos para manipular cualquier gen.¹ Por último, las líneas mutantes para casi todos los genes de la

moscas (mutados individualmente) están disponibles en centros de distribución alrededor del mundo (www.flybase.org). Estas colecciones representan una herramienta única para realizar estudios genéticos y mantienen a la mosca como el modelo más prominente en el terreno de la genética.

A principios del siglo XX, Thomas H. Morgan y sus colegas Allan Sturtevant, Calvin Bridges y Herman Müller realizaron importantes avances en genética. Para su trabajo seleccionaron la mosca de la fruta por su relativa simplicidad genética, ya que sólo posee cuatro pares de cromosomas: el par sexual X-Y y los autosomas 2, 3 y 4, aunque éste último es muy pequeño y su contribución es habitualmente ignorada. Estos ilustres genetistas utilizaron las moscas para crear los primeros mapas genéticos, para proponer la teoría cromosómica de la herencia y demostrar que los rayos X inducen a mutaciones. En los años sesenta, se produjo la expansión de la biología del desarrollo con la identificación de mutaciones causantes de transformaciones de identidad de segmento (homeóticas). Curiosamente, estas mutaciones se agrupan en pequeñas regiones cromosómicas, lo cual aceleró el interés por estudiar y entender estos genes. El estudio de los genes homeóticos (Hox) le valió el premio Nobel a Ed Lewis. En esa misma década se produjeron muchos otros avances, entre los que destaca la descripción de las reglas que controlan el crecimiento de los tejidos y la diferenciación celular. Walter Gehring y Antonio García-Bellido contribuyeron al descubrimiento de los compartimentos (unidades de proliferación celular) y su asociación a la actividad de los genes selectores (genes que dirigen programas de desarrollo específicos). Cuando las técnicas de biología molecular surgieron en las décadas de los setenta y ochenta, *Drosophila* promovió numerosos avances fundamentales. Por ejemplo, el primer grupo de clones al azar se generó, en 1975, en el laboratorio del profesor David Hogness. Ahí mismo se hizo el primer mapeo de un segmento de ADN a su correspondiente región cromosómica y se analizaron librerías genómicas por el método de hibridación en colonias. Además, el grupo del Dr. Hogness también clonó el primer gen (el gen Hox *Ultrabithorax*) por clonaje posicional. Algo importante de des-

tacar es que el primer rescate fenotípico de un organismo mutante se realizó en *Drosophila* por transgénesis con elementos transponibles. Estos trabajos pioneros promovieron el desarrollo de nuevas técnicas de biología molecular con aplicación directa a la genética humana.

Conservación genética

El genoma de *Drosophila* se secuenció por completo en 2000 por un consorcio de más de 30 grupos de investigación privados y académicos dirigidos por Craig Venter en Celera Genomics. El genoma de *Drosophila* contiene aproximadamente 165 millones de nucleótidos y codifica para 13,600 genes.² Por comparación, el genoma humano tiene 3,300 millones de nucleótidos y se calcula que codifica para unos 30,000 genes. Curiosamente, las diferencias entre el hombre y las moscas están contenidas en poco más del doble de genes.

La reciente secuenciación de numerosos genomas de vertebrados e invertebrados confirmó la extensa conservación evolutiva (comparando directamente la secuencia de nucleótidos) que se había descrito unos diez años antes con los estudios genéticos. Así, tanto los genes que controlan el establecimiento de los principales ejes corporales (antero-posterior, próximo-distal y dorso-ventral), como aquéllos que especifican el crecimiento de órganos y tejidos, se han conservado intactos durante cientos de millones de años. Es decir, estos genes con funciones críticas no sólo están presentes en organismos muy diversos, sino que su función se ha preservado evolutivamente. Esta conservación en secuencia y función se debe al origen común de todos los organismos eucarióticos hace varios cientos de millones de años. Además, 75% de los genes implicados en enfermedades humanas tienen homólogos en *D. melanogaster*. Por lo tanto, muchas patologías humanas se pueden estudiar con *Drosophila* como organismo modelo. Ejemplos de enfermedades causadas por mecanismos conservados en moscas incluyen: malformaciones y envejecimiento; retraso mental y neurodegeneración; cáncer; adicción a drogas o alcohol; ceguera y sordera; enfermedades cardiovasculares y renales, y desórde-

nes inmunológicos, entre otros. Por lo tanto, *Drosophila* es extremadamente valiosa para entender cómo ciertas cascadas genéticas conducen hacia un crecimiento normal, mientras otras conducen a la enfermedad. Cien años después de los estudios de T.H. Morgan y con un genoma completamente caracterizado, la mosca se perfila como una herramienta sin rival para descifrar los mecanismos moleculares de las principales enfermedades que afligen al hombre.

Para caracterizar la función de genes humanos en moscas se han desarrollado dos metodologías alternativas. Los estudios clásicos de genética consisten en asignar una (o más) función a cada gen. Para ello se estudian los defectos asociados a cada mutación. Después, los genes que producen defectos similares se organizan en cascadas genéticas. Cuando un número suficiente de genes se han incorporado en rutas jerárquicas, resulta más fácil caracterizar la función de los genes homólogos humanos. Estos estudios producen una gran cantidad de información por un proceso estocástico que más tarde acaba encontrando aplicación práctica en campos específicos. Por ejemplo, los genes *wingless* y *hedgehog* se descubrieron en moscas por su función en el desarrollo del embrión y las alas. Curiosamente, los genes homólogos en humanos (*Wnt1* y *Sonic Hedgehog*) están implicados en malformaciones y cáncer.

Un procedimiento alternativo consiste en seleccionar un gen implicado en una enfermedad cuya función a nivel molecular y celular se desconoce. En este caso se puede estudiar el gen homólogo en moscas por un proceso de genética reversa. Una vez identificado el gen homólogo por métodos computacionales, se mutageniza dicho gen y se caracteriza el fenotipo de los individuos mutantes. Esta técnica es útil para estudiar enfermedades causadas por mutaciones recesivas que requieren dos copias mutantes para manifestarse, como es el caso de las malformaciones y algunas neoplasias.

Por otro lado, se pueden generar moscas transgénicas que expresan la forma causante de la enfermedad (alelo mutante) del gen humano. Este procedimiento es más apropiado para estudiar enfermedades dominantes, esto es, cau-

sadas por la presencia de un solo alelo mutante, como es el caso de varios tipos de neoplasias y las enfermedades degenerativas. A continuación se describen las contribuciones más relevantes de la mosca de la fruta en algunas de estas enfermedades humanas.

Malformaciones

Las malformaciones o dismorfologías constituyen uno de los grupos más comunes de enfermedades genéticas humanas. En la mayoría de los casos son causadas por mutaciones recesivas en genes que controlan procesos importantes del desarrollo embrionario. Muchos de estos genes codifican para factores de transcripción, proteínas que directamente controlan la expresión de genes que especifican la identidad de células o territorios. En otros casos, estos genes codifican para proteínas implicadas en cascadas de señalización que alteran la actividad de dichos factores de transcripción.

Un grupo particularmente relevante en estas enfermedades son los genes *Hox*. Estos genes se descubrieron en la mosca, gracias a mutaciones que transforman ciertos segmentos corporales por el segmento inmediatamente anterior (homeosis). Los genes homeóticos codifican para factores de transcripción que regulan la especificación de diferentes territorios (antenas o patas; tórax o abdomen) durante el desarrollo. Estas proteínas se caracterizan por la presencia de un homeodominio, una región de unión al ADN formada por 60 aminoácidos altamente conservada entre moscas y hu-

manos.³ En consecuencia, mutaciones en los genes homólogos en vertebrados alteran el número de dedos y costillas, y causan defectos en las vértebras.

Cabe destacar que a pesar de las grandes diferencias morfológicas entre las alas de las moscas y los brazos del hombre, el desarrollo de ambas estructuras está gobernado por el mismo grupo de genes que contienen un homeodominio. Por ejemplo, mutaciones en el gen *apterous* de *Drosophila* dan lugar a moscas sin alas (figura 1A). Curiosamente, mutaciones en el gen homólogo de vertebrados (*Lhx2*) resultan en el nacimiento de niños sin brazos (amelias). Para demostrar la equivalencia funcional de estos dos genes, se crearon moscas mutantes para *apterous* que expresan el gen humano *Lhx2*. Sorprendentemente, la actividad de *Lhx2* en moscas induce el desarrollo de alas completamente normales (figura 1B).⁴ Además, el alto grado de conservación funcional puede apreciarse también en muchos otros órganos y tejidos. Por ejemplo, mutaciones en los genes *eyeless* y *tinman* de la mosca afectan al ojo y el corazón, respectivamente. Asimismo, mutaciones en los genes homólogos son responsables de enfermedades comparables en el hombre: *PAX6* (ceguera) y *NKX2-5* (insuficiencias coronarias).

Cáncer

Resulta extraño pensar que un organismo de corta vida como la mosca de la fruta pueda ser relevante en el estudio del cáncer, una enfermedad que se manifiesta típicamente en la

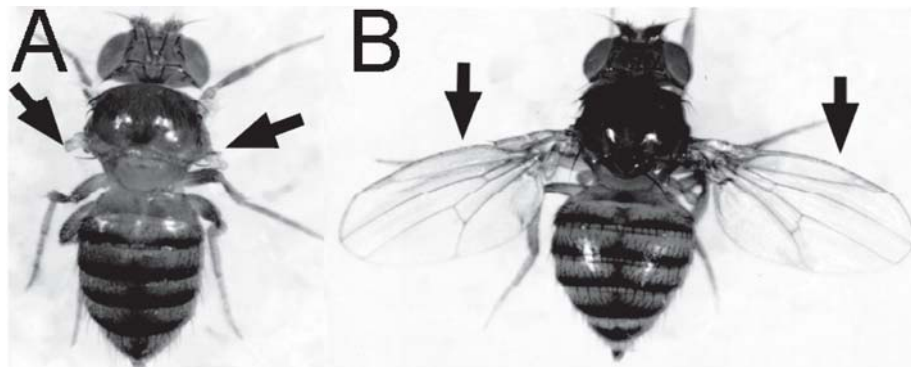


Fig. 1. Funcionalidad de los genes humanos en moscas. Mutaciones en *apterous* dan lugar a moscas sin alas (A). La expresión del gen humano *Lhx2* en moscas mutantes para *apterous* induce el crecimiento de alas normales (B).

madurez. En 1916, C. Bridges descubrió una mutación espontánea letal que causaba la aparición de «gránulos negros» en las larvas. Posteriormente, Stark (1918) caracterizó estos gránulos como tumores, lo que sugirió por primera vez que la mosca podría desarrollar enfermedades parecidas a las de humanos. A pesar de estos inicios tan prometedores, hasta hace poco no se validó el uso de *Drosophila* como un excelente modelo para estudiar los mecanismos moleculares del cáncer.

El uso de carcinógenos en *Drosophila* provoca la aparición de neoplasias causadas por mutaciones en «genes supresores de tumores». La función normal de estos genes consiste en regular la división y cohesión celular. Cuando estos controles desaparecen, las células se dividen sin restricciones (tumorigénesis) e invaden otros tejidos (metástasis). En ciertos casos, estas mutaciones causan letalidad temprana, lo que impide evaluar la función de estos genes en moscas adultas. Sin embargo, las técnicas genéticas permiten estudiar el comportamiento de mutaciones fatales en unas pocas células (mosaicos) en tejidos no esenciales como el ojo. Estos trabajos han permitido identificar numerosos genes que en condición mutante causan proliferación celular descontrolada. Por ejemplo, la ruta *hippo/salvador* y el gen *lats* (del inglés, *large tumor suppressor gene*) se descubrieron como mutaciones que generan ojos extremadamente grandes. Los genes *hippo* y *salvador* coordinan la proliferación celular y la muerte celular programada (apoptosis) en moscas para asegurar el tamaño normal del tejido. Por otro lado, mutaciones en *scribble* indican que este gen no inicia la tumorigénesis, sino que induce la migración celular, reduce los niveles de la molécula de adhesión Cadherina-E y permite la formación de tumores secundarios. Además, la combinación de mutaciones en *ras* y *scribble* es suficiente para causar la progresión del tumor, así como el proceso de metástasis en la mosca. Este interesante modelo de metástasis en *Drosophila* puede permitir el análisis de mutaciones secundarias para suprimir el fenotipo metastásico. La identificación de nuevos genes y mecanismos implicados en creci-

mientos cancerígenos resulta en aplicaciones con relevancia clínica.

Una aplicación novedosa de la mosca consiste en el descubrimiento del papel de los genes homeóticos (*Hox*) en la inducción o el diagnóstico de tumores.⁵ Por ejemplo, mutaciones en *Antennapedia* resultan en la formación de patas en lugar de antenas en *Drosophila* (figura 2^a y B). Asimismo, tejidos cancerosos muestran una clara alteración en la expresión de los genes *Hox* (figura 2C). Estos datos sugieren que los genes *Hox* pueden contribuir a la malignidad del cáncer mediante la regulación de respuestas celulares, incluyendo el ciclo celular, la apoptosis, la angiogénesis o la metástasis. Esto postula a los genes *Hox* como estrellas emergentes en el complejo mecanismo del cáncer y el uso de *Drosophila* en la búsqueda de nuevos agentes terapéuticos y métodos de diagnóstico.

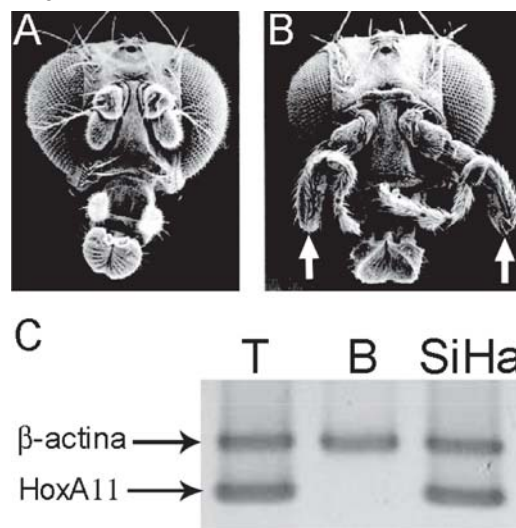


Fig. 2. Actividad de los genes *Hox* en desarrollo y cáncer. A y B, las moscas normales presentan un par de antenas (A), mientras que en moscas mutantes para *Antennapedia* las antenas se transforman en un par de patas (B, flechas). C, El gen *HoxA11* se expresa en un tumor maligno de ovario (T), pero no si la patología es benigna (B). *HoxA11* también está elevado en células tumorales SiHa. β -actina es un control para las reacciones de amplificación de RNA (RT-PCR).

Enfermedades neurodegenerativas

Las enfermedades neurodegenerativas son algunos de los desórdenes más terribles que afectan a la sociedad, y constituyen uno de los principales desafíos para la medicina

moderna. Dichas enfermedades se presentan, por lo general, en la tercera edad e implican una degeneración progresiva e imparable de regiones específicas del cerebro. Los ejemplos más típicos incluyen la enfermedad de Alzheimer y el mal de Parkinson. A pesar de ser desórdenes relativamente comunes y bien caracterizados clínicamente, los mecanismos moleculares responsables de sus patologías son prácticamente desconocidos. De momento no hay terapias para curar o parar la progresión de estas terribles enfermedades.

En los últimos años la mosca de la fruta ha surgido como un excelente modelo para el estudio de estas patologías. De hecho, de los 59 genes conocidos que causan enfermedades neurodegenerativas en humanos, 38 están plenamente conservados en *Drosophila*. Algunos ejemplos de las enfermedades que se han modelado en moscas incluyen: la enfermedad de Alzheimer, el mal de Parkinson, la enfermedad de Huntington, varias ataxias espinocerebelares (SCA en inglés), la distrofia miotónica (DM) y las enfermedades priónicas o encefalopatías espongiiformes transmisibles (TSE).⁶ Estas enfermedades se manifiestan por lo general con mutaciones dominantes (sólo una de las dos copias está mutada) que poseen propiedades únicas: producen ARN mensajero (DM, SCA8, SCA10) o proteínas (enfermedades de Alzheimer, Parkinson, Huntington y priones) que adoptan conformaciones (estructuras) anómalas, agregan en el cerebro del paciente y son directamente responsables de la patogénesis. Por lo tanto, el estudio de las mutaciones que producen agregados celulares puede ayudar a entender y curar estas patologías relativamente comunes. Curiosamente, las propiedades patológicas de estas moléculas se mantienen en moscas. Por ejemplo, el péptido b-amiloide se acumula en el cerebro de pacientes de la enfermedad de Alzheimer, y es responsable de la pérdida de neuronas que conducen a la demencia. Expresión de este péptido en moscas resulta en ojos pequeños y desorganizados (figura 3A y B). Asimismo, la proteína del prión es responsable del mal de Creutzfeldt-Jakob en humanos (también conocida como el mal de las vacas locas en el ganado). Ésta es una enfermedad con una progresión tan rápida que produce vacuolación (agujeros) en el

cerebro. Cuando moscas que expresan la proteína del prión se envejecen por 30 días, también se observa la vacuolación del cerebro (figura 3C). Por lo tanto, los efectos tóxicos del péptido b-amiloide y la proteína del prión en moscas se pueden usar para entender las bases moleculares de estas enfermedades.

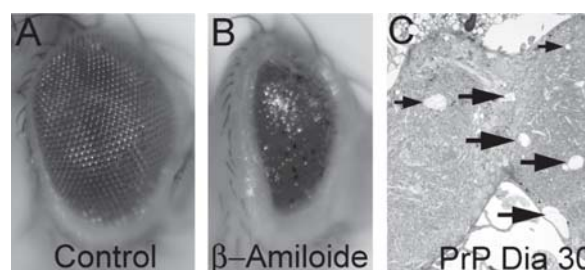


Fig. 3. Modelos de neurodegeneración en moscas. A y B, ojos de moscas que expresan una proteína inocua (β -Galactosidasa de bacterias, A) o el péptido β -Amiloide humano (B). El péptido β -Amiloide produce un ojo más pequeño y desorganizado. C, La proteína del prión (PrP) induce degeneración espongiiforme (vacuolación, flechas) en el cerebro de las moscas envejecidas por 30 días.

Uno de los posibles usos de estos modelos consiste en identificar mutaciones en otros genes (modificadores) que aumentan o reducen los efectos nocivos inducidos por los genes humanos.^{7,8} Por ejemplo, la ataxia spinocerebelar tipo 1 (SCA1) la causa una mutación que produce una expansión de 82 glutaminas (un aminoácido) en lugar de las 20 glutaminas de los individuos normales. Esta expansión produce una proteína (Ataxina1-82Glu) que se agrega en el cerebelo y destruye las neuronas. Usando un modelo de SCA1 en moscas transgénicas se identificó una mutación en la proteína-Kinasa B (Akt1) que reduce dramáticamente el efecto tóxico en el ojo de la mosca (figura 4). Akt1 es una enzima que añade grupos fosfato a otras proteínas para regular su función. Los estudios en la mosca llevaron a descubrir que Akt1 fosforila a Ataxina1 y aumenta su habilidad para formar agregados. Por lo tanto, en moscas mutantes para Akt1, la Ataxina1 no se fosforila, no se agrega y no es tóxica.⁹ Este relevante trabajo llevado a cabo en moscas sugiere que la regulación de la actividad de Akt1 en individuos portadores de mutaciones en SCA1 debería prevenir la aparición de sín-

tomas neurodegenerativas. El descubrimiento de este mecanismo celular implicado en la patología de SCA1 renueva la esperanza de que esta enfermedad (y otras) se puedan curar en las próximas décadas.



Fig. 4. Rescate de la toxicidad de Ata1-82Glu. Estas dos moscas expresan el gen mutante Ata1-82Glu de humanos. Pero moscas que llevan una segunda mutación en el gen que codifica para la proteína Kinasa B/Akt1 (derecha) tienen el ojo mejor organizado que las hermanas con Akt1 normal (izquierda). (Las moscas Akt1 mutantes también son más pequeñas porque tienen defectuosa la ruta de la insulina).

Referencias

1. Matthews K.A., Kaufman T.C., Gelbart W.M. (2005). Research resources for *Drosophila*: the expanding universe. *Nat Rev Genet* 6: 179-193.
2. Celniker S.E., Rubin G.M. (2003). The *Drosophila melanogaster* genome. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 4: 89-117.
3. Gehring W.J., Qian Y. Q., Billeter M., Furukubo-Tokunaga K., Schier A.F., et al. (1994). Homeodomain-DNA recognition. *Cell* 78: 211-223.
4. Rincón-Limas D.E., Lu C.H., Canal I., Calleja M., Rodríguez-Esteban C., et al. (1999) Conservation of the expression and function of apterous orthologs in *Drosophila* and mammals. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96: 2165-2170.
5. Grier D.G., Thompson A., Kwasniewska A., McGonigle G.J., Halliday H.L., et al. (2005). The pathophysiology of HOX genes and their role in cancer. *J Pathol* 205: 154-171.
6. Bilen J., Bonini N.M. (2005). *Drosophila* as a model for human neurodegenerative disease. *Annu Rev Genet* 39: 153-171.
7. Shulman J.M., Feany M.B. (2003) Genetic modifiers of tauopathy in *Drosophila*. *Genetics* 165: 1233-1242.
8. Fernández-Fúnez P., Nino-Rosales M.L., de Gouyon B., She W.C., Luchak J.M., et al. (2000) Identification of genes that modify ataxin-1-induced neurodegeneration. *Nature* 408: 101-106.
9. Chen H.K., Fernández-Fúnez P., Acevedo S.F., Lam Y.C., Kaytor M.D., et al. (2003) Interaction of Akt-phosphorylated ataxin-1 with 14-3-3 mediates neurodegeneration in spinocerebellar ataxia type 1. *Cell* 113: 457-468.