Gusano C. elegans

Por Gustavo Salinas*

En Estados Unidos, Europa y Asia, hace muchos años que un diminuto gusano es el centro de atención de gran cantidad de investigadores. Se hacen numerosos congresos anuales cuyo único tema es el gusano mencionado, a algunos de los cuales asisten más de dos mil científicos. Además hay miles de laboratorios que se dedican a su estudio. En América Latina el interés es más reciente. En la región hay tres en Chile, tres en Argentina, dos en Brasil y uno en Uruguay, el que empezó a funcionar a principios de este año 2014 en el Institut Pasteur. El famoso gusano es el* Caenorhabditis elegans *o* C. elegans*, un organismo modelo para la biología y las ciencias biomédicas.

"Han recorrido ya el camino que lleva desde el gusano hasta el hombre, y muchas cosas en ustedes continúan siendo gusano."

Friedrich Nietzsche en: "Así habló Zaratustra"

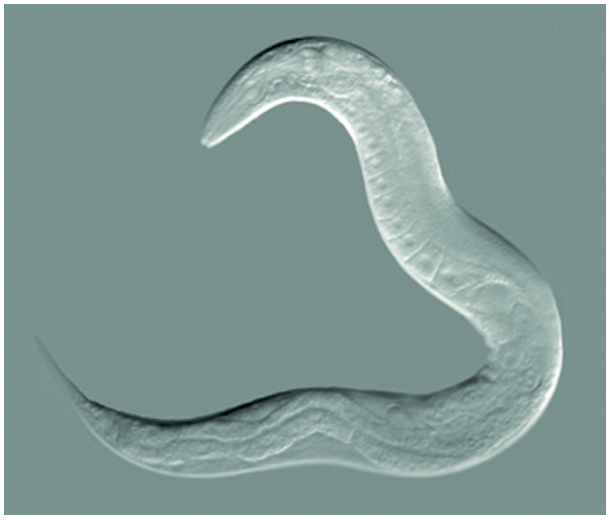
El organismo modelo es un organismo que ofrece una serie de ventajas y atributos que lo hacen adecuado para que, a través de su estudio, se puedan comprender fenómenos biológicos particulares, extrapolables a otros seres vivos.

Entre los atributos necesarios para que un organismo sea elegido como modelo se destaca la facilidad con que pueda ser manejado en el laboratorio y, en particular, la genética amigable, es decir que sea fácil conocer y modificar sus genes.

Algunos organismos sirven como modelos para estudiar enfermedades y en algunos casos, estudios mediante, es posible trasladar los conocimientos adquiridos a los seres humanos. Incluso es posible inducir enfermedades que no se pueden provocar en humanos por obvias razones éticas; por ejemplo en el ratón es posible inducir inmunodeficiencias y desórdenes metabólicos.

Otros organismos son modelos específicos para un fenómeno biológico determinado, tal es el caso de un tipo de gusanos planos, las planarias, utilizados para los estudios de regeneración, es decir de sustitución de tejido perdido por otro igual que conserva la estructura y funcionalidad del original o para el estudio de un reino de los seres vivos en particular, como lo es *Arabidopsis thaliana* que es un modelo muy importante para la biología vegetal.

Usualmente el término organismo modelo es reservado para un puñado de especies que son útiles para entender numerosos fenómenos biológicos. Estos organismos son aceptados por la comunidad académica y estudiados por numerosos científicos lo cual genera una batería de herramientas y un piso de conocimiento básico muy importante que potencia la investigación en torno al organismo modelo. Cómo se elige un organismo modelo y por qué es aceptado por la comunidad académica no son asuntos triviales ni fortuitos.



Caenorhabditis elegans, ***hermafrodita adulto - Autor: Bob Goldstein, UNC Chapel Hill - Fuente: Wikipedia***

Caenorhabditis elegans

Hace alrededor de 50 años, ya descifrada la estructura del ADN, la síntesis de proteínas y el código genético, Sydney Brenner, uno de los artífices de la biología

molecular moderna y de los científicos más influyentes de la segunda mitad del siglo XX, pensó que era hora de que la biología molecular pasara a ocuparse de problemas más complejos como ser la comprensión de los mecanismos moleculares que regulan el desarrollo de un animal y el funcionamiento del sistema nervioso. Para ello eligió a este nematodo, *Caenorhabditis elegans o C. elegans*, a secas, un gusano redondo, microscópico, de tan solo 1 mm de largo, cuyo hábitat natural es el suelo, que se alimenta de bacterias y materia orgánica en descomposición, y que, en el laboratorio, crece de forma fácil, rápida y económica cuando se lo alimenta con las bacterias *E. coli,* las mismas que habitan nuestro intestino.

Brenner eligió bien, *C. elegans* posee características formidables y enormes ventajas para ser considerado un organismo modelo, que ya ha permitido un avance importante en biología celular, biología del desarrollo, sistema nervioso, y división celular y tiene potencial para mucho más.

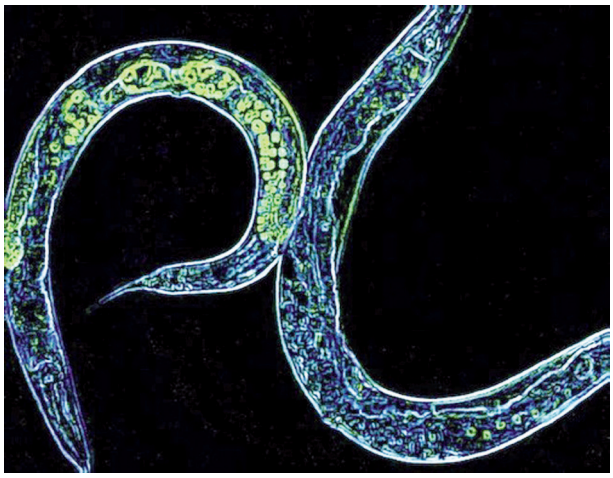
Características

Sexualidad. *C. elegans* presenta dimorfismo sexual, es decir que hay dos formas sexuales. Estos son: los individuos hermafroditas que producen ovocitos y espermatozoides, dicho de forma sencilla, son hembras que se autofertilizan, y los machos, que son pocos, constituyen un 0.5 % de la población. La reproducción entre machos y hermafroditas favorece una mayor variabilidad genética de la población. Por ello, en presencia de machos, estos son protagonistas de la cópula y en su ausencia, los hermafroditas se autofecundan.

Eutélico. A diferencia del ser humano, y de muchos otros animales, *C. elegans* posee un número fijo, invariante, de células. A los organismos de este tipo se les llama eutélicos. El hermafrodita posee 959 células, ni una más ni una menos, de las cuales 302 son neuronas (un ratón posee del orden de 100 millones de neuronas y un ser humano 1.000 veces más que este). Los machos poseen 1.031 células.

Aun con tan pocas células *C. elegans* posee los mismos tipos de tejidos básicos que posee el ser humano, posee órganos, aparatos y sistemas: un aparato digestivo con faringe e intestino, un aparato reproductor con gónadas, receptáculo de esperma, útero y vulva y un aparato muscular, y todas sus actividades están coordinadas por su sistema nervioso. También posee comportamientos complejos: locomoción, puesta de huevos, búsqueda de alimento, reacciones de orientación frente a estímulos químicos y térmicos, defecación, cópula, e incluso comportamiento social, aprendizaje asociativo y memoria, entre otros.

Rápidos y prolíficos. *C. elegans* es una "máquina" muy eficiente de poner huevos: su ciclo de vida se completa en cuatro días; un huevo pasa por varios estadios larvarios y entre el tercer y cuarto día el organismo pone alrededor de 300 huevos. Para estudios biológicos esto es un regalo de la naturaleza, de enorme importancia para estudios genéticos y fisiológicos, en los que es necesario analizar numerosos organismos y a lo largo de varias generaciones. Con este gusano se pueden tener siete u ocho generaciones por mes, 90 generaciones en un año.



A la izquierda se ve un gusano transgénico que porta el gen que codifica para una determinada proteína fusionada a la proteína fluorescente verde. A la derecha se ve otro gusano transgénico con el mismo gen, pero en este caso no se observa fluorescencia porque la expresión de este gen ha sido interferida por ARN - Autora: Jessica Vasale/Laboratory of Craig Mello/ Fuente: www.hhmi.org

Duros de matar. *C. elegans* es un organismo robusto, vive en un amplio rango de temperaturas y de acidez (pH). Además, una característica nada menor, se lo puede dejar sin alimento y congelar sin que se muera. Si no hay alimento o están hacinados ingresarán en una forma de resistencia, denominada larva *dauer,* retomando el ciclo vital cuando las condiciones son favorables. Por otra parte, se los puede mantener congelados a -80ºC durante décadas lo cual permite tener bancos de gusanos en el congelador, sin necesidad de alimentación y mantenimiento continuo. Cuando se los necesita se los descongela y los gusanos se recuperan vivos.

Transparencia total. *C. elegans* es transparente en todos los estadios de su ciclo de vida, lo que permite visualizar, con técnicas de microscopía óptica, diferentes procesos biológicos *in vivo* (en el organismo vivo).

Investigaciones

Para determinar su estructura el gusano fue seccionado en 8.000 cortes y cada uno de los cortes fue analizado al microscopio electrónico, permitiendo obtener la ultraestructura del organismo completo. Esta tarea titánica, emprendida por John White, permitió establecer las conexiones celulares y las alrededor de 5.000 sinapsis que conectan a las neuronas del gusano, y posteriormente construir un exhaustivo atlas del gusano, nible para toda la comunidad de científicos en el sitio: www.wormatlas.org.

Con respecto a la visualización de los procesos biológicos John Sulston y Bob Horvitz fueron los científicos más destacados en emprender este enorme desafío, gracias al cual hoy conocemos el linaje celular completo, es decir de dónde viene, de quién es hija cada célula, y adónde va, en qué se transforma, además del desarrollo y el origen de cada órgano de *C. elegans.*

Apoptosis

Estudiando el linaje celular del gusano, Sulston, Horvitz y sus colaboradores, después de una paciente observación de sus células bajo un microscopio (desde la etapa de embrión hasta el animal adulto) encontraron que, aunque cada gusano hermafrodita generaba 1.090 células, el animal adulto estaba formado por sólo 959 células. Exactamente 131 células del embrión del gusano estaban programadas para morir, a menudo a los pocos minutos de su nacimiento.

Estos estudios dieron lugar al descubrimiento de los genes responsables de activar este proceso, denominado apoptosis. Este mismo fenómeno, ocurre también en los seres humanos y los mismos genes, para ser más precisos los genes humanos equivalentes a los del gusano, en término científicos denominados los genes ortólogos, son los responables del fenómeno.

Gusanos verde flúor

Años más tarde, en el 2008, gracias a la transparencia y a la facilidad para realizar estudios genéticos, Martin Chalfie visualizó que la unión del gen que produce la proteína fluorescente (1) verde (conocida como GFP por sus iniciales en inglés) en una medusa, con genes de *C. elegans* (o de otra especie, por ejemplo humanos) funcionaría como un informante o trazador fluorescente de los procesos que ocurren en el interior de un ser vivo. Por generar gusanos transgénicos fluorescentes Chalfie recibió el premio Nobel en Medicina en el año 2008.

Genética amigable

Brenner eligió a *C. elegans*, además de por la sencillez y la transparencia, porque era amigable para la genética, es decir resulta fácil analizar la función de los genes utilizando organismos mutantes (2) en los que han sido eliminados o alterados los genes de interés.

El valor de la genética para la biología ha sido históricamente enorme: permite ver qué le pasa a un organismo sin un gen (y consecuentemente sin una proteína, la que es sintetizada, o producida, con las instrucciones de dicho gen); equivale a ver qué le pasa a una máquina cuando le sacamos alguna pieza.

C. elegans es fácilmente mutagenizable por diferentes agentes químicos, siendo esta una herramienta fundamental para la genética tanto directa como reversa. La genética directa se basa en la genética clásica en la que se estudia a partir del fenómeno observable el gen que lo produce: así, si se quiere estudiar la locomoción se puede generar gusanos mutantes, elegir los mutantes que posean defectos en la locomoción y luego buscar dónde, en el genoma, se encuentra el gen dañado que ocasiona ese defecto, y averiguar qué información contiene. La genética reversa es más reciente y es el camino inverso, va del gen a la función, es decir se elimina un gen determinado y se estudia qué cambios ocurren en el organismo debido al gen eliminado.

C. elegans en Uruguay

En el laboratorio de la Cátedra de Inmunología del Departamento de Biociencias de la Facultad de Química se comenzó a estudiar en *C. elegans* después de muchos años de trabajar con gusanos planos (platelmintos), parásitos que causan enfermedades de importancia sanitaria y económica en Uruguay, como la hidatidosis causada por *Echinococcus granulosus* y la fasciolosis causada por el saguaypé, con los cuales no es posible, al menos por ahora, hacer estudios genéticos u obtener grandes cantidades de material.

Lo que se investiga son vías metabólicas, que están presentes tanto en los platelmintos parásitos como en *C. elegans* y ausentes en mamíferos, que pueden constituir blancos farmacológicos para atacar las infecciones de estos parásitos.

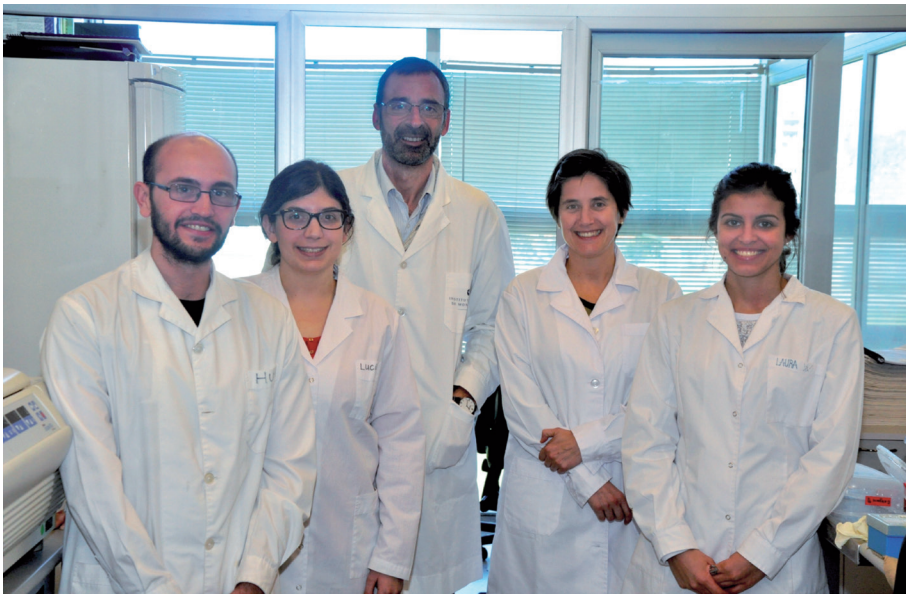
Estas investigaciones se continúan en el laboratorio de Biología de Gusanos, sito en el Institut Pasteur, creado este año como una Unidad Asociada Mixta del Institut Pasteur y de la Facultad de Química, Universidad de la República.

Además se investiga la función de las selenoproteínas humanas hasta ahora desconocida y algunos aspectos del metabolismo del selenio, un elemento traza tanto en humanos como en *C. elegans*. Para ello, entre otras investigaciones, se han generados algunos gusanos transgénicos fluorescentes para poder ver cuáles células del gusano expresan la selenoproteína T.

A futuro se busca impulsar el uso de *C. elegans* para bioensayos que permitan monitoreo ambiental. Esto es posible debido a que se puede utilizar como organismo informante "todo terreno" para el estudio de calidad de aguas, residuos y sedimentos analizando su vida media, progenie y comportamiento.

Existen dos centros de genética de *C. elegans* que generan organismos *knock out* (sin un gen determinado) a pedido, volviendo la genética reversa de uso rutinario para este organismo. Por si esto fuera poco, se descubre a finales de 1998 que en *C. elegans* es posible interferir la expresión de los genes por ARN de doble hebra, fenómeno denominado interferencia de ARN o ARNi.

El ARN es el "intermediario" entre el ADN y la proteína sintetizada a partir de la información del ADN: son copias funcionales del gen utilizadas para la síntesis de proteína. El ARNi destruye las copias funcionales de un gen (ARN) sin destruir el gen. La eliminación de copias funcionales por ARNi puede ser regulada lo cual es útil por ejemplo para estudiar un gen esencial que, si lo eliminaramos, el organismo no sería viable.



Hugo Bisio, Lucía Otero, Gustavo Salinas, Inés Carrera, Laura Romanelli
Laboratorio de Biología de Gusanos - Unidad Asociada Mixta del Institut Pasteur y de la Facultad de Química, Universidad de la República

Experimentalmente, esto se logra fácilmente en *C. elegans* simplemente sumergiendo gusanos en ARN de doble hebra, alimentándolos con bacterias interferentes que portan la información para interferir o microinyectando ARN interferente en las gónadas de gusanos.

Esta es otra poderosa herramienta de genética que, más allá de ser útil a los biólogos, es un mecanismo de defensa de los organismos frente a las infecciones virales. Andrew Fire y Craig Mello recibieron el premio Nobel en medicina 2006 por este descubrimiento.

Finalmente el gusano es muy amigable a la transgénesis, lo cual sirve no solamente para introducirle un gen con información para una proteína fluorescente sino también para lograr que el gusano exprese una proteína humana que puede ser responsable de una enfermedad neuro-degenerativa como la de Huntington y estudiar los mecanismos que pueden estar involucrados en la agregación de esta proteína que lleva a la enfermedad.

Una comunidad abierta

Además de la enorme cantidad de herramientas de que se dispone para el estudio de *C. elegans*, entre las que se cuenta el genoma completamente secuenciado, la *wormbase* (www.wormbase.org), el *wormatlas* (www.wormatlas.org), los consorcios que generan mutantes, existe una comunidad de investigadores abierta y dispuesta a compartir reactivos, cepas y conocimiento. Esto refleja, en alguna medida, la visión de la ciencia de Brenner como el resultado del trabajo de una red abierta de científicos compartiendo todo y colaborando entre sí para obtener conocimiento.

Son muchas las razones por las cuales importa estudiar a este gusano. Queremos resaltar un aspecto histórico que no nos parece menor. Los humanos compartimos una gran parte de la información genética y procesos con este pequeño organismo; la razón de ello es que compartimos un ancestro común con el gusano, que ya era muy sofisticado. Cuando estudiamos cómo funcionan estos organismos, aprendemos sobre nosotros, al tiempo que es inevitable sentirnos conectados de una manera profunda con otros seres vivos. Desde un punto de vista práctico, *C. elegans* es utilizado para estudiar numerosas enfermedades humanas, entre ellas las neurodegenerativas como las enfermedades de Alzheimer, Huntington y Parkinson, y para comprender fenómenos biológicos como el envejecimiento y la fertilidad.

Notas

1. La fluorescencia es la emisión de luz de determinada longitud de onda por una sustancia (en el caso la GFP) luego de haber absorbido luz de longitud de onda mayor a la emitida.

2. En el ámbito de la genética, se llama mutación a cualquier alteración producida en la doble cadena de ADN que compone el genoma de un organismo. Se llama también mutante al organismo cuyo genoma ha sufrido una mutación.

***Gustavo Salinas** es Profesor Agregado del Departamento de Biociencias de la Facultad de Química, Universidad de la República, Uruguay, y responsable del Laboratorio de Biología de Gusanos de la Unidad Mixta Instituto Pasteur - Facultad de Química.*