

La mosca y tú (conócete a ti mismo)

Enrique Reynaud

Cuando me preguntan ¿qué es lo que haces en el laboratorio?, estoy en problemas.

Para la mayoría de la gente la respuesta es absurda: estudio el cerebro de las moscas.

El primer problema es que la mayor parte de la gente cree que las moscas ni siquiera tienen cerebro, de ahí que sean insultos comunes: cerebro de chorlito (un pájaro, presumiblemente estúpido), cerebro de alcornoque (árbol del corcho) y mucho menos común cerebro de mosquito, que es un insecto díptero, lo que lo hace pariente cercano de las moscas, por lo que comparte muchas características con ella. De la frecuencia de uso de estos insultos podemos asumir que la gente cree que es más inteligente un árbol de corcho que un mosquito. La gente piensa que me estoy burlando, pero no, realmente estudio el cerebro de las moscas.

Una vez que se logra cruzar esta primera barrera psicológica, aparece el segundo problema: casi nadie se puede imaginar el tamaño del cerebro de una mosca; en general se lo imaginan ridículamente pequeño. Esto genera otra serie de problemas, ya que vivimos en una sociedad donde más es mejor; entonces, cuando alguien se imagina un pequeñísimo cerebro de mosca, se imagina algo patéticamente inútil (más que lo novios de Paquita la del Barrio).

Al igual que los novios de Paquita, la inutilidad depende del punto de vista de quien esté observando. Para Paquita, sus novios en algún momento no eran tan inútiles, de otra manera nunca habrían sido sus novios. Se volvieron inútiles cuando la perspectiva de Paquita cambió. De la misma forma, desde la perspectiva de la mayoría de las personas, el cerebro de un insecto tan pequeño y despreciable como una mosca no es algo útil. Espero, en estas líneas, cambiar su perspectiva y que se den cuenta de que estudiar el cerebro de las moscas no es estar papándolas.

Permítanme aclarar que no estudio a las moscas panteoneras, grandotas y zumbonas; estudio a la mosca de la fruta, llamada *Drosophila melanogaster*, esa mosquita que todo mundo ha visto rondar en su frutero.

El primer concepto que me gustaría dejar claro es que las moscas y los humanos tienen los mismos conflictos existenciales. Si nos ponemos a pensar en cuáles son nuestros problemas cotidianos más importantes, nos daremos cuenta de que nuestras necesidades son, a pesar de lo que queremos creer, extremadamente básicas. Los humanos tenemos que decidir a diario qué se come y qué no, dónde y cuándo tenemos que orinar y defecar; tenemos que



decidir quién es una buena pareja para reproducirnos y dedicamos una buena parte de nuestra vida y energía para conseguirla; tenemos que decidir dónde vamos a vivir y cuándo es el momento para reproducirnos; tenemos que decidir quién es amigo o quién es enemigo, o, más primitivamente aún, quién no nos va a comer y quién sí. Si ustedes lo piensan, las moscas tienen exactamente los mismos problemas: tienen que ver qué comen y dónde y cuando excretan sus desechos; tienen que decidir si la mosca o mosco que se encuentran en el basurero son o no de la misma especie o del mismo sexo; dedican una gran parte de su tiempo y recursos al cortejo; tienen que decidir dónde poner su huevos y si hay suficientes recursos para hacer y poner más huevos; tienen que evitar que se las coman las lagartijas y otros depredadores, etc.

Lo interesante es que las moscas tienen estos problemas y muchos más en común con los humanos y los resuelven exactamente con el mismo tipo de maquinaria: el sistema nervioso, un grupo de neuronas interconectadas entre sí de manera estereotípica para cada especie que le permite integrar la información proveniente tanto del medio ambiente externo como del estado interno de organismo, y en función de esta evaluación e integración generar una respuesta apropiada a las condiciones del medio y de mantener la *homeostasis* del organismo, o sea, su equilibrio fisiológico.

En la biología existe un principio fundamental que establece que la estructura determina la función y viceversa. Este principio es universal en los sistemas biológicos y se aplica en todas las escalas de descripción que uno quiera utilizar. Se aplica en el sentido de que la estructura tridimensional (la relación entre sí) de los átomos en las proteínas y otras biomoléculas determinan la función de éstas, es decir, en qué tipo de reacciones están involucradas o catalizan. Así mismo, la forma y estructura de las células corresponde con la función que llevan a cabo, por ejemplo: los espermatozoides son capaces de nadar gracias a su cola y de penetrar al óvulo gracias a las enzimas que tienen

guardadas en el granulo acrosomal; las células musculares son capaces de contraerse gracias a su estructura elongada y a las proteínas que contienen que, finalmente, son motores microscópicos montados sobre rieles (miosina y actina respectivamente) y que se encuentran muy ordenados, de manera casi cristalina a lo largo de la fibra muscular. Otro ejemplo, de los muchos que se podrían dar, son los osteoblastos que están diseñados para secretar grandes cantidades de matriz extracelular, la cual se calcifica dando origen a los huesos, los cuales son moldeados de manera exquisita para que tengan la forma (estructura) necesaria para su función (piensen en la delicadeza y refinamiento del estribo y el martillo del oído, o en la robustez y dureza de fémur o del cráneo). No podría, aunque quisiera, hacer una lista extensiva de la relación estructura-función en los sistemas biológicos, ya que finalmente eso es lo que es la biología. Basta decir que este principio tan central también se aplica a la estructura más compleja conocida por el hombre: el cerebro, tanto el nuestro como el de los animales.

Otro principio fundamental que tengo que exponer es el hecho de que la estructura de los sistemas biológicos está determinada genéticamente; es decir, el nivel, el momento y el lugar de la expresión de un gen, y por lo tanto de su producto o productos, son capaces de determinar la identidad, estructura y función de una célula. Es por esta razón que todos los cerebros humanos se parecen estructural y arquitectónicamente, y por esta razón la mayoría de los humanos respondemos de una manera similar a estímulos similares. El principio de que los genes regulan la estructura de los organismos se reveló cuando se identificaron los *genes maestros*. Estos son genes que se expresan temprano durante el desarrollo y regulan a su vez la expresión de otros genes, desencadenando así a una cascada de expresión genética que tiene como consecuencia la diferenciación de una célula o grupos de células que constituyen a un órgano. Uno de los ejemplos más dramáticos que existen es el gene denominado

eyeless de la mosca *Drosophila melanogaster* o su homólogo en humanos denominado *pax6*. Cuando este gen se expresa en cualquier célula indiferenciada arranca una cascada genética que culmina con la construcción de un ojo. Lo interesante de esto es que, primero, una cascada de regulación genética más temprana hace que *eyless* (o *pax6*) se exprese donde y cuando se tiene que expresar, tanto en la mosca como en el humano, con la consecuencia que los ojos aparecen donde deben, cuando deben y cuantos deben (en la mosca, en el humano y en los otros organismos); segundo, la falta de la expresión de *pax6* (o *eyless*) causa que los ojos y estructuras relacionadas falten, tanto en moscas como en humanos; y, tercero, la expresión de *eyless* (*pax6*) donde y cuando no se debe, causa la aparición de ojos supernumerarios (esto sólo se ha hecho en moscas). El mecanismo de determinación del ojo está conservado, hasta donde se sabe, en todos los animales que tienen ojos (pulpos, insectos, mamíferos, aves, peces, etc.). Esto se demostró de manera dramática al expresar el gen *pax6*, que proviene del humano, en distintas estructuras de moscas transgénicas, lo que causó que a la mosca le salieran ojos perfectamente diferenciados en lugares donde normalmente no los tienen (patas, alas y antenas).

La idea central que quiero transmitir con este ejemplo es que la expresión génica regulada espacio-temporalmente a lo largo del desarrollo, determina la estructura de los órganos y la de las células que los constituyen y, de esta manera, la expresión génica determina de manera más o menos indirecta la función de los órganos. Asimismo, la maquinaria genética y bioquímica que determina la estructura de los organismos está conservada a lo largo de la escala filogenética. Este principio se aplica también al desarrollo y determinación de la estructura del cerebro y del sistema nervioso, la cual a su vez determina la forma en que el organismo va a responder a su medio ambiente. El corolario de esta idea es que los genes, al determinar la estructura del sistema nervioso, determinan el comportamiento.

Los genes determinan el comportamiento

Como decía al principio, estoy en problemas. La frase “Los genes determinan el comportamiento” es una de las más polémicas que existen, porque atenta contra uno de los valores más queridos en la sociedad occidental, el libre albedrío. Decir que los genes determinan el comportamiento es decir que existen unas entidades, los genes, sobre las cuales no tenemos control, que nos limitan la libertad y nos obligan, nos determinan, a hacer o a dejar de hacer cosas sin importar nuestra voluntad. Esta idea es terriblemente chocante para aquellos que fueron educados en la tradición judeo-cristiana, que básicamente establece que somos libres de decidir qué hacemos y qué no hacemos en función de una serie de reglas enunciadas por la sociedad que definen qué está bien y qué está mal, por ejemplo, los diez mandamientos; esto implica que, dadas estas reglas, nosotros estamos en libertad de hacer bien o mal y que somos absolutamente responsables de las consecuencias de nuestros actos. La determinación genética del comportamiento implica que no necesariamente somos responsables de nuestras acciones, ya que los genes, esas entidades amorales, nos obligan a hacer o dejar de hacer algo. Esta idea es interesante porque en cierta medida nos quita responsabilidad sobre nuestras acciones pero, por otro lado, nos quita libertad. Pensar que existe un mecanismo molecular que nos determina a ser como somos y a comportarnos como nos comportamos, atenta de una manera fundamental contra muchas de las creencias de la cultura occidental y contra muchos de los fundamentos de la sociedad. Esto causa que, de manera totalmente irracional, la mayoría de las personas rechacen tal perspectiva. Otra de las implicaciones de la existencia de la predeterminación genética es que no todos somos iguales. Esto superficialmente suena a fascismo y tiene connotaciones muy desagradables, ya que recuerda al darwinismo social. Sin embargo, si lo analizamos cuidadosamente, es un hecho indiscutible: no todos compartimos copias idénticas de los mismos genes y no todos tenemos

las mismas capacidades o habilidades, las cuales están profundamente determinadas por el fondo genético de cada individuo. Por eso habemos humanos de distintos colores, tenemos orejas de distintas formas, ojos de distinto color, etc. Desde el punto de vista social es muy importante enfatizar que si bien somos genéticamente heterogéneos, es decir, no somos genéticamente idénticos los unos a los otros, todos somos iguales ante la ley. Esto significa que sin importar raza, color, credo o genotipo todos tenemos los mismos derechos y obligaciones ante la sociedad y nadie debe ser discriminado en función de su apariencia o genotipo. Curiosamente, a la mayoría de las personas no les cuesta trabajo entender que la constitución genética puede causar predisposición a ciertas enfermedades, no les causa mucho conflicto pensar que un gen los puede predisponer a tener enfermedades del corazón o a tener cáncer, incluso les es muy fácil pensar que pueden ser discriminados en función de su componente genético, negándoseles por ejemplo un seguro o un trabajo porque tienen una mayor probabilidad de que les dé una enfermedad. Sin embargo, rechazan inmediatamente la posibilidad de que los genes influyan en su comportamiento. Por otro lado, existe una multitud de evidencias que muestran que éste es el caso. Veamos dos ejemplos: 1) El comportamiento es especie específico; es decir, distintas especies de animales se comportan de distinta manera. Un ejemplo de esto es que los gatos “saben” de manera innata cómo enterrar sus heces fecales, cosa que los perros no hacen. 2) Distintos componentes genéticos determinan el comportamiento, y patrones de comportamiento específicos se transmiten de manera familiar.

Esto es extremadamente obvio en las razas de perros: en general, las razas puras de estos animales presentan patrones específicos de comportamiento; los labradores, por ejemplo, gustan de buscar y traer cosas, y lo hacen espontáneamente sin que nadie se los enseñe; de igual manera, los collies son pastores natos que arrear a prácticamente cualquier otro animal, principalmente borregos, pero también

pueden arrear pollos, caballos y vacas. Como dijimos antes, estas razas de perro lo hacen de manera innata; lo bonito de estos ejemplos es que perros híbridos entre dos razas presentan patrones de comportamiento que se segregan, es decir se heredan siguiendo las leyes de Mendel (se comportan mendelianamente), de manera que los hijos de una camada híbrida se van a comportar de manera distinta. Un ejemplo interesante de una mutación puntual que afecta el comportamiento es la del gen de la narcolepsia, una enfermedad genética cuyo síntoma es que los afectados se duerman de manera espontánea en las situaciones menos oportunas. Esta enfermedad afecta a los humanos y también tiene una incidencia muy alta en los perros *Doberman*. En éstos se descubrió que la narcolepsia es un carácter que se hereda mendelianamente y, gracias al análisis genético de familias de perros narcolépticos, se pudo identificar el gen cuyas mutaciones causan esta enfermedad. Como era de esperarse, una vez que se identificó el gen de la narcolepsia perruna, se buscó el homólogo en humanos narcolépticos y se descubrió que éstos tenían mutaciones equivalentes en el mismo gen. En humanos existen muchos ejemplos de mutaciones genéticas que alteran el comportamiento normal de sus portadores. Los ejemplos más dramáticos son las enfermedades neurodegenerativas, como el mal de Huntington o el de Parkinson, en el que una mutación única (es decir, la modificación de un aminoácido específico en una proteína) causa la muerte específica de algunos tipos neuronales, alterando de manera deletérea el comportamiento.

Otras mutaciones son más sutiles aún; por ejemplo, en Pakistán, existen unas familias que tienen mutado un solo gen de un canal iónico. Los portadores de esta mutación son normales en casi todos los aspectos de su vida cotidiana, con la única excepción de que son incapaces de sentir dolor (cualquier tipo de dolor). Sus niños tienen una infancia trágica: se cortan, se queman o se les rompen los huesos y no les duele, casi siempre se comen un tercio de su propia lengua antes de los cuatro años y nunca apren-

den a evitar conductas riesgosas. Existen otras mutaciones menos dramáticas, como la del gen del daltonismo, que altera la capacidad de discernir entre el verde y el rojo. Estos ejemplos hacen pensar que genes que alteran la percepción sensorial tienen que tener un impacto en la forma como el individuo reacciona o se comporta con respecto a estímulos provenientes del medio ambiente. En este momento algunos puristas estarán pensando que tengo un error conceptual al hablar de genes que afectan algún comportamiento específico, cuando en realidad podrían no estar realmente involucrados en un proceso específico, sino más bien tener este efecto de manera indirecta. Esto podría ser análogo a un transistor quemado en una televisión: obviamente el transistor no es el responsable de que la televisión genere la imagen, es sólo una parte necesaria para que la televisión funcione, pero no es responsable de generar la imagen. Esta idea tiene un problema, como ya mencioné antes: el sistema nervioso integra la información proveniente del medio ambiente y del estado interno del organismo y, en consecuencia, produce un comportamiento o respuesta fisiológica específicos; esto significa que cualquier cambio o mutación que altere la percepción de los estímulos, tanto internos como externos, o el funcionamiento de cualquier componente del sistema nervioso, tiene el potencial de alterar una o varias conductas específicas, aunque sea de manera indirecta. Un ejemplo hipotético sería una mutación en el receptor de feromonas de un insecto macho, que le podría cambiar la especificidad a éstas.

El sistema nervioso del insecto sería exactamente igual al de un insecto no mutante; sin embargo, el cambio de especificidad del receptor le transmitiría información errónea al sistema nervioso central y cambiaría el comportamiento del organismo; en este caso dejaría de cortejar a las hembras de su especie y cortejaría a hembras de otra especie que producen la feromona por la cual su receptor si es afín. Desde nuestro punto de vista, y el de las hembras de su especie, el comportamiento de dicho mutante sería totalmente aberrante, sin embargo,

para él, el olor de la otra especie sería extremadamente atractivo. Análogamente, si se alteran o mueren las neuronas encargadas de procesar el estímulo proveniente de las neuronas que expresan el receptor silvestre, el insecto tendrá un comportamiento sexual alterado o inexistente; así podemos ver que dos tipos de mutaciones pueden tener fenotipos equivalentes. Si extrapolamos estas ideas al sistema nervioso de un ser humano, no es difícil imaginar que un cambio en la actividad de un receptor o de alguna otra molécula que altere, aun de manera ligera, la fisiología o excitabilidad de un grupo de neuronas cause un comportamiento “anormal”; de hecho, esto está farmacológicamente demostrado, ya que muchas sustancias neuro-activas cambian el balance químico o la sensibilidad a señales endógenas o exógenas, y de esta manera cambian el comportamiento normal de un sujeto; por eso existen drogas que cambian los niveles de actividad, los patrones de sueño, el umbral del dolor, e incluso causan trastornos del comportamiento como paranoia y alucinaciones. Es obvio que mutaciones en cualquiera de los genes que codifican para los receptores de dichas drogas pueden afectar lo que llamamos comportamiento normal, por esta razón existen casos de patologías hereditarias, tales como: agresividad excesiva, tendencia a tomar riesgos innecesarios, paranoias y esquizofrenias. Por otro lado, este tipo de mutaciones puede también ser asociado a comportamientos o habilidades que nos parecen deseables, tales como la capacidad de análisis matemático o la capacidad musical.

En esta discusión es importante mencionar la plasticidad del sistema nervioso, su complejidad y sus interacciones con el medio ambiente, y por “medio ambiente” me refiero tanto al ambiente externo (temperatura, nutrientes, tensión de oxígeno, pH, etc.), como el interno que incluiría la relación y el estado de otros tipos de células y el genoma del organismo. Se cree que al menos 30% de los genes de los animales están dedicados a construir, mantener y hacer funcionar el sistema nervioso, por lo que podemos asumir que al menos el 30% de los genes podrían influir de

manera directa en el comportamiento. El resto de los genes de un organismo no están directamente relacionados con la estructura y función del sistema nervioso; sin embargo, pueden influir en el comportamiento de manera indirecta al cambiar el estado interno del organismo (por ejemplo alteraciones metabólicas) que, al ser percibido por el sistema nervioso, causa un ajuste en el estado de éste y, por lo tanto, un cambio en el comportamiento característico de ese tipo de organismo. Un ejemplo particularmente dramático de este tipo de interacción metabolismo-comportamiento es el síndrome de Lesch-Nyhan. Normalmente, los ácidos nucleicos, tanto los provenientes de la dieta como los de origen endógeno son metabolizados lo que genera bases nitrogenadas libres. Estas bases se pueden degradar hacia urea y ácido úrico o se pueden reciclar. Una de las enzimas responsable del reciclamiento de las bases purínicas se llama *hipoxantina-guanina fosforibosil transferasa*, el trabajo de esta enzima consiste simplemente en pegarle una ribosa a las bases nitrogenadas libres permitiendo así que estas puedan ser reincorporadas a los ácidos nucleicos. Cuando esta enzima falta el efecto en el comportamiento de los pacientes es particularmente bizarro y trágico: las personas con este síndrome son autodestructivas y se automutilan masticándose los dedos y los labios, además de que son muy agresivas y tienen retraso mental. En estos pacientes, hay un aumento en la síntesis de purinas y una sobreproducción de ácido úrico, lo cual causa que también presenten síntomas de gota. La gota se les puede tratar con fármacos tales como el alopurinol, que inhibe la síntesis de ácido úrico; sin embargo, los síntomas neurológicos no desaparecen, la conexión entre la ausencia de la transferasa y los efectos neurológicos es desconocida. Éste es un caso muy claro en el que la pérdida genética de la actividad de una sola enzima causa un comportamiento aberrante, como la auto-mutilación y agresividad extrema. El sistema nervioso de los animales es plástico: cambia con respecto al tiempo y en función de la experiencia individual. Esto hace que dos organismos con exactamente el mismo componente genético (genotipo) puedan presentar caracterís-

ticas morfológicas, metabólicas o del comportamiento distintas (fenotipo) en medios ambientes distintos. Esto llama a la prudencia al interpretar el efecto de mutaciones genéticas en el comportamiento, ya que la influencia del medio ambiente siempre está presente.

Como resumen de esta sección, es importante hacer énfasis en el hecho de que los genes tienen una influencia enorme en el comportamiento de todos los animales, incluido el humano. El fondo genético característico de una especie determina el comportamiento característico de ésta. Cambios o mutaciones en algunos de estos genes tienen influencia en el comportamiento característico, lo que causa diversidad de comportamiento intra-especie. Si bien la estructura básica del cerebro y el comportamiento de una especie está determinada por sus genes, el medio ambiente puede modificar de manera significativa el comportamiento.

¿Por qué estudiar el cerebro de las moscas?

Quizá estén un poco confundidos, ¿por qué, si me la paso dando ejemplos de perros, gatos y humanos, estudio el cerebro de las moscas? La respuesta es simple: porque es simple.

Si bien estudiar el cerebro de un mamífero o, mejor aún, de un primate es lo más interesante, son modelos extremadamente complicados y caros. Cuesta mucho dinero mantener cualquier tipo de mamífero en condiciones controladas de laboratorio; la opción más barata son los ratones, pero con perros, gatos y changos el costo de manutención y de las instalaciones necesarias para mantenerlos se vuelve estratosférico. En cambio, para mantener un centenar de familias de moscas se necesita más o menos el espacio de un cajón de tamaño regular, y darles de comer es muy barato, ya que sólo comen harina de maíz con azúcar, levadura de panadero y agar. Por otro lado, los modelos de mamífero tienen un ciclo reproductivo muy largo, en ratones dura más de tres meses y en otras especies dura años, por lo que hacer experimentos de genética, en los que hay que cruzar distintos animales, a ve-

ces por varias generaciones, toma mucho tiempo y es técnicamente muy difícil. En cambio, el ciclo reproductivo de las moscas toma sólo diez días a 25°C. Además, es muy fácil hacer mutantes nuevas en la mosca, y es rutinario construir moscas transgénicas: el genoma completo de la mosca está secuenciado y anotado, lo que permite identificar muy rápidamente las mutaciones que se generen en este organismo. Por otro lado, existe una base de datos abierta a toda la comunidad científica de manera gratuita que se llama *Flybase*, en la que se encuentra un mapa físico del genoma de la mosca, toda la secuencia anotada de éste, y herramientas de búsqueda y análisis de secuencia; también se encuentra una descripción de todos los genes que se identificaron en el proyecto del genoma de la mosca, y una descripción de todos los genes en los que se sabe que existen mutaciones, incluyendo el fenotipo de éstas. Dicha base de datos también tiene una lista de todos los “stocks” (familias) de moscas mutantes que existen y está conectada a una moscoteca (colección de stocks en el *Bloomington Stock Center*), en donde las cuidan y reproducen. Cuando un investigador decide que quiere estudiar la función de un gen en específico, sólo tiene que mandar un *e-mail* pidiendo a la moscoteca las familias de moscas que contengan mutaciones en ese gen, y una copia le será enviada por correo. ¿Como se hace esto? Tienen a las moscas en un vial con comida y se les deja poner huevos; este vial se guarda y es la copia o respaldo, los adultos se transfieren a un vial fresco y se mandan por correo. Es interesante pensar que este viaje por correo de las moscas se podría parecer a un viaje interestelar de humanos, ya que el correo es tan lento, que a veces nos llegaran los nietos o tataranietos de las moscas que introdujeron originalmente en el vial enviado. En las moscas se pueden hacer muchos trucos de genética que no se pueden hacer en ningún otro animal; existen cromosomas mutantes que evitan la recombinación con sus homólogos, lo que permite mantener familias de moscas con mutaciones letales recesivas de manera estable, estos cromosomas están marcados con mutaciones que causan fenotipos dominantes, lo que

permite hacer combinaciones de cromosomas y saber el genotipo de la mosca con sólo verlas, lo que significa que no hay que utilizar, como sucede en mamíferos, marcadores moleculares (PCR o *Southern blot*) para identificar a las moscas con el genotipo de interés.

Una de las técnicas genéticas más interesantes que existen en la mosca es el sistema UAS/GAL4. Este sistema permite expresar *in vivo* cualquier gen, ya sea de mosca o de cualquier otro organismo, de manera dirigida y específica a cualquier tipo de células y en cualquier momento del desarrollo de la mosca. Este sistema revolucionó la forma de estudiar el efecto de un gen durante el desarrollo y también la forma de estudiar la función celular en metazoarios. El sistema UAS/GAL4 es fundamental para entender el tipo de experimentos que hacemos en mi laboratorio, y voy a dedicar unos párrafos para explicarles cómo funciona.

GAL4 es una proteína de levadura cuya función es activar la transcripción genética. En levadura, GAL4 es indispensable para que se expresen los genes involucrados en que la levadura pueda comer un tipo especial de azúcar (galactosa). GAL4 sólo puede activar genes que tienen una secuencia reguladora que se llama UAS (*Upstream Activating Sequences*, secuencias activadoras de la transcripción río arriba), y los genes de levadura para la digestión de galactosa tienen esta secuencia. La unión de GAL4 a las UAS es muy específica y GAL4 no puede activar la transcripción de ningún gen que no las contenga. En la mosca no existen genes homólogos a GAL4 y ningún gen de mosca tiene secuencias UAS. Por lo que si hacemos una mosca transgénica que exprese GAL4, no pasa nada, ya que no hay secuencias UAS endógenas. Sin embargo, si hacemos otra mosca transgénica que tenga cualquier gen clonado río abajo de las secuencias UAS (gene efector) y la cruzamos con la mosca que expresa GAL4, la progenie que herede ambos transgenes expresará el gen efector. Un punto muy importante que hay que aclarar es que GAL4 se puede clonar bajo promotores endógenos de la mosca que dirijan la expresión de manera tejido específico de GAL4;

estas líneas se llaman “drivers”. Estas moscas dirigirán a su vez la expresión tejido específico de cualquier gene efector. Para dejar esto más claro, imaginemos que clonamos a GAL4 bajo el promotor del gen *eyeless*, el cual mencioné anteriormente. Esta mosca expresará GAL4 de manera dirigida a las células de los ojos. Esta mosca no tendrá ningún fenotipo, ya que GAL4 no tiene ningún blanco endógeno a quien activar. Si cruzamos este driver *eyeless*-GAL4 con una mosca transgénica que, por ejemplo, contenga el gen de la proteína verde fluorescente de medusa clonado bajo secuencias UAS, tendremos una mosca totalmente normal que va a tener los ojos verdes fluorescentes. Una variación del sistema GAL4/UAS son los “enhancer traps”. En esta variación se clona el gen de GAL4 bajo el control de un *promotor mínimo* (un promotor mínimo es aquel que tiene todo lo necesario para posicionar a la maquinaria transcripcional, pero no es lo suficientemente fuerte para inducir la transcripción; estos promotores son inactivos hasta que queda cerca de ellos un “enhancer” que son secuencias activadoras de la transcripción y generalmente son tejido específicos) en un vector derivado de un *transposon* (los transposones son secuencias de DNA que brincan de un sitio a otro del cromosoma). Esta construcción es silenciosa, pero cuando se le hace “brincar”, con una probabilidad bastante alta “aterriza” cerca de un enhancer de algún gen endógeno de la mosca. El promotor mínimo de la construcción tiene la propiedad de capturar a los enhancers y eso hará que GAL4 se exprese en el patrón espacio-temporal del gene capturado. El encanto de este sistema es que nos permite capturar cualquier tipo de genes y cada uno de ellos tendrá su patrón de expresión espacio-temporal específico. Un dato interesante que no he mencionado es que no se conoce la función de al menos 40% de los genes que se han identificado en los distintos proyectos de secuenciación de muchos organismos distintos. El hecho de que tengamos la capacidad de capturar e identificar *in vivo* el patrón de expresión de esos genes nos puede dar una idea de su posible función.

A estas alturas, se estarán preguntando: ¿cómo es que todo esto sirve para estudiar el cerebro de las moscas y qué relevancia tiene para entender el de los humanos? En este punto sólo falta introducir una herramienta más y las cosas se van a volver un poco más claras. Dicha herramienta es el gen de la cadena ligera de la toxina de tétanos. El tétanos es una enfermedad terrible causada por una bacteria que, cuando se introduce en el organismo, produce una toxina que paraliza al enfermo y si éste no es tratado de manera correcta, eventualmente muere de un paro respiratorio. La toxina de tétanos está constituida por una sub-unidad (cadena) pesada y una sub-unidad ligera. La cadena pesada tiene la función de introducir a la cadena ligera adentro de la célula. La cadena ligera es en realidad la que tiene actividad tóxica. La cadena ligera de la toxina de tétanos es una enzima que corta específicamente a la sinaptobrevina, que es una proteína indispensable para la secreción de neurotransmisores; de ahí que cuando se introduce la cadena ligera de la toxina de tétanos a una neurona, ésta no se muere, solamente es incapaz de excitar a las otras neuronas con las que está conectada. Ustedes ya se podrán imaginar que contamos con una mosca transgénica que tiene el gen de la cadena ligera de la toxina de tétanos clonada río abajo de la secuencia UAS. Si retomamos el ejemplo de la mosca *eyeless*-GAL4, y la cruzamos con la mosca UAS-toxina de tétanos, tendremos entonces no a una mosca de ojos verdes, sino más bien una mosca donde todas las neuronas de sus ojos estarán “apagadas”, y por lo tanto tendríamos una mosca ciega, pero en todos los otros aspectos sería una mosca normal. Si extendemos esta idea al concepto de enhancer trap podemos imaginarnos un experimento genético muy bonito. Podríamos tener una colección de familias de moscas, cada una con una inserción de GAL4 en un lugar distinto del genoma de la mosca. Los sitios de inserción del elemento P pueden ser desconocidos (de hecho eso es lo que pasa cuando hacemos “brincar” un elemento P: no sabemos dónde cae). La cosa se pone interesante cuan-

do cruzamos a un individuo de cada familia con la familia UAS-toxina de tétanos. En este momento les voy a pedir que nos imaginemos un experimento mental: para esto hay que tener en cuenta tres cosas: 1) La toxina de tétanos sólo desactiva neuronas, ningún otro tipo celular. 2) Las inserciones de GAL4 pueden suceder en cualquier gen que se exprese en cualquier tejido. 3) Las neuronas que expresan el mismo tipo de genes tienden a tener una función y un origen ontogenético similar o idéntico. Tomando en cuenta estas tres premisas, nos podemos imaginar tres situaciones distintas cuando cruzamos una inserción aleatoria de GAL4 con UAS-toxina de tétanos. La primera situación sería cuando la inserción de GAL4 ocurre en un gen que se expresa en todos los tejidos (genes de “house keeping”) o de manera generalizada en el cerebro. En este caso las moscas se morirían, ya que todo su sistema nervioso estaría apagado. Éste es el primer nivel de selección y las familias cuyas cruces con UAS-toxina de tétanos es letal no nos interesan, porque no definen circuitos neuronales discretos. El segundo caso sería un gen que se expresa en tejido no neuronal y por lo tanto la expresión de la toxina no causa ningún efecto; estas moscas tampoco nos interesan. El tercer caso es cuando la inserción atrapa un gen que se expresa en un grupo pequeño y definido de neuronas. En este caso las neuronas se apagarían y la mosca perdería alguna función o capacidad. Esas moscas son precisamente las que nos interesan. ¿Qué tipo de fenotipos habría que buscar? Bueno, pues prácticamente cualquier función que les interese. En nuestro caso hemos hecho esta búsqueda de moscas que pierden una función, buscando familias que se vuelvan estériles cuando expresan la toxina de tétanos; también hemos buscado moscas que tengan problemas motrices obvios o que tengan algún defecto físico causado por la expresión de la toxina y, finalmente, hemos buscado moscas que no sientan dolor físico. ¿Por qué escogimos ese tipo de fenotipos? El fenotipo de esterilidad es muy obvio, ya que la función básica de cualquier organismo es reproducirse, de ahí

que sea muy probable que la mayor parte del sistema nervioso esté involucrado en muchos procesos relacionados con la reproducción. La reproducción es un proceso extremadamente complejo que se puede analizar y afectar a muchos niveles distintos; por ejemplo, defectos en el cortejo especie específico de cada organismo harían que sus potenciales parejas los ignoren (o que ellos las ignoren a ellas), evitando que copulen y, por lo tanto, causando esterilidad por cambios en el comportamiento. Otro nivel al que se puede afectar la reproducción es a nivel la liberación de neuropéptidos y hormonas que regulen este tipo de actividad, e incluso en el nivel de control muscular que es necesario para la copulación. En nuestro laboratorio hemos “atrapado” varias líneas de moscas que presentan este fenotipo de esterilidad. Una de las más interesantes “atrapó” a todas las neuronas octopaminérgicas. En la mosca, las neuronas octopaminérgicas se encuentran en un grupo muy bien definido de aproximadamente 20 en el ganglio torácico abdominal (que es la estructura del sistema nervioso central de la mosca que controla la mayoría de los procesos motrices) y otras veinte neuronas en el cerebro (para las cuales no se conoce la función). Cuando estas neuronas son inactivadas sólo las hembras se vuelven estériles. Son estériles no porque no produzcan huevos o porque no copulen, sino más bien porque pierden la capacidad de poner huevos y de guardar espermatozoides en unas estructuras especializadas llamadas espermatecas y receptáculos seminíferos.

En mi laboratorio fuimos capaces de hacer una preparación de oviducto de mosca y pudimos estudiar la función octopaminérgica en la contracción del oviducto y en la ovoposición. La octopamina es una molécula muy interesante, ya que es central para el control de muchos procesos conductuales en invertebrados. La octopamina regula en insectos la alimentación, la conducta agresiva y territorial y el proceso relacionado con el cortejo y la reproducción. La octopamina es el análogo de la adrenalina en invertebrados y, aunque los mamíferos casi no producimos octopamina, ésta es capaz de

unirse y activar nuestros receptores adrenergicos con efectos fisiológicos indistinguibles de la adrenalina.

Otro de los efectos que observamos cuando inactivamos a las neuronas octopaminérgicas fue que las larvas corren más lentamente en estas condiciones. Por esta razón nos pusimos a estudiar cuál es el efecto de la octopamina en la contracción muscular y descubrimos que esta molécula actúa como modulador de la liberación de glutamato, que es el neurotransmisor excitador en las sinapsis neuromusculares de los insectos. Este fenotipo es muy interesante, ya que a pesar de que se libera más glutamato, las larvas corren más despacio, lo que creemos que está sucediendo y estamos tratando de demostrar es que las sinapsis de las neuronas glutamatérgicas se vuelven sobre-excitables en ausencia de octopamina, lo que causa que las sinapsis glutamatérgicas se vacíen de manera crónica generando un estado de depresión sináptica continuo, haciendo que esos músculos se contraigan de manera subóptima. Este fenotipo de lentitud sináptica podría ser un modelo animal para el estudio del síndrome de fatiga crónica de humanos y el síndrome post-polio. Parte del trabajo de mi grupo es validar a este modelo. Otra de las razones para estudiar los efectos de un neuromodulador en la regulación de la sinapsis glutamatérgicas de la mosca es que este tipo de sinapsis es muy similar a las que existen en la corteza cerebral de los mamíferos, incluidos los humanos, y se cree que es ahí donde se hacen los procesos cognoscitivos elevados, como por ejemplo la generación de memoria, la cual muy probablemente se deba a cambios en la fuerza de las sinapsis glutamatérgicas de la corteza. Así, estudiar la sinapsis neuromuscular glutamatérgica de la mosca es una forma indirecta de estudiar los procesos que suceden en nuestra corteza cerebral.

Otra de nuestras líneas de investigación es la búsqueda de moscas que no perciban dolor. Estudiar la percepción, transducción e interpretación del dolor es de extremo interés, ya que a nadie le gusta sufrir dolor. Cada gen que se pueda identificar y que esté involucrado en la

percepción, transducción e interpretación del dolor se vuelve un blanco potencial para diseñar fármacos nuevos que eviten el dolor. En este momento ya contamos con nuestra primera inserción que se vuelve insensible al dolor cuando expresa toxina de tétanos y la estamos caracterizando. Una cosa interesante es que en estas moscas GAL4 se expresa en muy pocas células del sistema nervioso central, y no se expresa en las células del sistema nervioso periférico, lo que nos sugiere que estas neuronas están involucradas en el procesamiento de las señales dolorosas provenientes del sistema nervioso periférico.

En mi laboratorio también estamos utilizando a la mosca como modelo de estudio de enfermedades neurodegenerativas, en particular estamos estudiando al mal de Parkinson y los procesos celulares que causan esta patología. En este momento contamos con moscas transgénicas que expresan, gracias al sistema GAL4/UAS, los genes humanos de alfa-sinucleína y sinfilina-1, que se sabe presentan mutaciones dominantes que causan mal de Parkinson, y hemos demostrado que la expresión de estos genes en el sistema nervioso central de la mosca causa neurodegeneración. Como los productos de estos genes interactúan entre sí, estamos caracterizando si la coexpresión de ambos genes aumenta o reduce el efecto neurodegenerativo, en particular en neuronas dopaminérgicas.

En resumen

La mosca de la fruta *Drosophila melanogaster* es un modelo muy interesante para estudiar procesos neuronales comunes en todos los animales, tales como el dolor y el comportamiento sexual. Asimismo, la mosca es un modelo realista y barato para estudiar enfermedades neurodegenerativas y procesos cognoscitivos elevados, tales como la formación de la memoria. El cerebro de la mosca no es cualquier cosa, tampoco estudiarlo. ●