

EDUARDO DANIEL SPIVAK

LOS BICHOS QUE GANARON EL PREMIO NOBEL

Animales usados en investigaciones premiadas con el Nobel de Medicina o Fisiología, y los humanos asociados con ellos



**LOS BICHOS
QUE GANARON
EL PREMIO NOBEL**

EDUARDO DANIEL SPIVAK

LOS BICHOS QUE GANARON EL PREMIO NOBEL

*Animales usados en investigaciones premiadas con el Nobel de
Medicina o Fisiología, y los humanos asociados con ellos*



 VAZQUEZ
MAZZINI
EDITORES

AZARA
FUNDACIÓN DE HISTORIA NATURAL

Tapa: Medalla del Premio Nobel de Fisiología o Medicina otorgada a Alexander Fleming, 1945. Fotografía: Osama Shukir Muhammed Amin FRCP(Glasg) / Wikimedia Commons. Adaptada. Licencia CC BY-SA 4.0.

Fundación de Historia Natural Félix de Azara

Centro de Ciencias Naturales, Ambientales y Antropológicas

Universidad Maimónides

Hidalgo 775 - 7° piso (1405BDB) Ciudad Autónoma de Buenos Aires - República Argentina

Teléfonos: 011-4905-1100

E-mail: secretaria@fundacionazara.org.ar

Página web: www.fundacionazara.org.ar

Las opiniones vertidas en el presente libro son exclusiva responsabilidad de sus autores y no reflejan opiniones institucionales de los editores o auspiciantes.

Reservados los derechos para todos los países. Ninguna parte de esta publicación, incluido el diseño de la cubierta, puede ser reproducida, almacenada o transmitida de ninguna forma, ni por ningún medio, sea este electrónico, químico, mecánico, electro-óptico, grabación, fotocopia, CD Rom, Internet o cualquier otro, sin la previa autorización escrita por parte de la editorial.

Primera Edición: 2026. Se terminó de imprimir en el mes de septiembre de 2026, en la Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

VAZQUEZ MAZZINI EDITORES

info@vmeditores.com.ar

www.vmeditores.com.ar

Spivak, Eduardo

Los bichos que ganaron el Premio Nobel / Eduardo Spivak. - 1a ed. - Ciudad Autónoma de Buenos Aires : Fundación de Historia Natural Félix de Azara, 2026.

Libro digital, PDF

Archivo Digital: descarga y online

ISBN 978-631-6875-15-0

1. Premio Nobel. 2. Animales de Laboratorio. I. Título.

CDD 590

Índice

De qué se trata este libro, sus inspiradores y dos advertencias preliminares	7
Prólogo	9
1. Antes de empezar con los bichos	15
2. El ratón doméstico	31
3. Huevos, pollos y gallinas	51
4. Salamandras, sapos y ranas	63
5. Erizos de mar	81
6. Calamares	101
7. Las liebres de mar	115
8. Una mosca pequeña y un capítulo muy largo	127
9. Un gusano, aún más pequeño	163
10. El arca de Noé y las cuestiones éticas	179
Agradecimientos	189
El autor	191
Obras citadas y algunas lecturas adicionales en castellano	193
Créditos de las ilustraciones	195

De qué se trata este libro, sus inspiradores y dos advertencias preliminares

Este libro trata de los premios Nobel de Medicina o Fisiología. Pero no de todos: solo de aquellos en los que las investigaciones galardonadas se llevaron a cabo usando animales de laboratorio.

El propósito inicial era dar al eventual lector una idea de quienes son esos animales, como es su vida dentro y fuera del laboratorio, porqué fueron elegidos y qué se descubrió gracias a ellos. Pero, a poco de comenzar a recopilar la información necesaria, la vida de los científicos, que son en definitiva los que recibieron el premio, ganó relevancia. Sus aventuras, en el convulso siglo XX, y cómo, cuándo y porqué se produjo el encuentro con “su” animal, fueron un segundo tema a tratar.

¡Y hubo un tercero! Todos los trabajos de los premiados fueron el último eslabón de una cadena de investigadores que los precedieron. Entonces, también describo aquí algunas de sus historias y sus logros. Algunas veces hay que remontarse a 100 años atrás, otras no tanto, aunque si se escarba mucho se puede llegar a los antiguos griegos. ¡Como pasa con casi cualquier actividad intelectual, ellos fueron el primer eslabón!

En conclusión, el libro trata de los animales, los premiados y sus predecesores. ¡Espero que no sea demasiado!

Los bichos que ganaron el Premio Nobel

La idea de escribirlo surgió de la temprana lectura de “Diez pequeños compañeros de casa”, una breve obra que explicaba las características de un conjunto de animales de bastante mala fama que comparten la vivienda con el ser humano, como la mosca, el mosquito o el piojo, entre otros. Publicado por primera vez en castellano en 1966 por EUDEBA, la Editorial Universitaria de Buenos Aires, se trataba de la traducción del alemán de un libro de 1940 cuyo autor fue el zoólogo austriaco Karl von Frisch.

Por otra parte, las vidas académicas y personales de muchos de los científicos premiados y sus “antepasados intelectuales” tienen detalles interesantes, a veces dramáticos o incluso trágicos, que los humanizan y merecen ser contados. Quizás así se pueda demostrar, al hipotético y desprevenido lector, que muchos de esos señores y señoras tan serios son, en el fondo, seres de carne y hueso. Y aquí también debo reconocer una segunda fuente libresca de inspiración: “Una historia sentimental de las ciencias”, del físico y divulgador científico Nicolás Witkowski.

El autor

Prólogo

Los animales de laboratorio

Los premios Nobel de Medicina o Fisiología, que de ahora en adelante llamaré “los Nobel”, fueron concedidos 113 veces entre 1901 y 2022. No se entregaron entre 1915 y 1918 (a causa de la Primera Guerra Mundial), en 1921 y 1925 (en esos años se declaró desierto) y entre 1940 y 1942 (por la ocupación de Noruega durante la Segunda Guerra Mundial). Lo recibieron 225 individuos: 213 hombres y 12 mujeres que provenían de 29 países (99 de ellos, poco menos de la mitad, de Estados Unidos)

Toda esta gente pertenece a la misma especie animal: *Homo sapiens*. Varios de ellos llevaron a sus laboratorios individuos de otras especies de distinto tamaño y forma, para ser usados en sus experimentos. Incluso, a veces, los criaron cuidadosamente y los mantuvieron durante muchas generaciones. Y en algunas oportunidades esos bichos fueron homenajeados en la solemne ceremonia de Estocolmo: el neurobiólogo Eric Kandel, que recibió el premio en 2000, presentó a “su” liebre de mar *Aplysia californica* como un animal hermoso y talentoso, e ilustró esa parte de su conferencia con una imagen de la babosa con la medalla del Nobel colgando del cuello. Y el biólogo molecular Sydney Brenner declaró en su discurso oficial de 2002, con su característico sentido del humor, que: “sin duda, el cuarto ganador del Nobel este año es *Caenorhabditis elegans*; él merece todo el honor pero, por supuesto, no podrá compartir la recompensa monetaria”. ¡*Caenorhabditis elegans* es un gusanito microscópico!

A cada animal le corresponde un capítulo y será presentado con su nombre vulgar y su nombre científico. Por eso es necesaria la siguiente aclaración.

Los nombres de los bichos

Unas pocas especies animales, por ejemplo las que *Homo sapiens* ha domesticado, como el perro, el gato, el caballo, la vaca, el cerdo y el gallo, tienen un “nombre vulgar” muy preciso que no ofrece lugar a dudas. Pero la mayoría de ellas (son millones) tienen nombres vulgares muy generales como ballena, elefante, mosca, gusano, o estrella de mar. Esas palabras designan desde 2 hasta muchas especies. Además, todos los nombres vulgares varían en los distintos idiomas.

Por la confusión que eso genera, el naturalista sueco Carl Nilsson Linnaeus (Linneo para los amigos que hablan castellano) creó, en el siglo XVIII, un sistema de nomenclatura científica de carácter universal llamado binomial: cada especie tiene un nombre en latín compuesto por dos palabras, como es el caso de *Homo sapiens*. La primera, escrita con mayúscula es el nombre genérico y equivale a un sustantivo; la segunda, escrita con minúscula equivale a un adjetivo. La costumbre editorial, en ciencia, es que ese nombre se presente con el tipo de letra llamado cursiva o itálica. Puede haber un género con varias o incluso muchas especies. El género *Homo* tiene una sola especie viviente pero varias extinguidas que se conocen por sus restos fósiles. Por último la nomenclatura binomial actual incluye al final el nombre del descubridor o del primero en nombrar la especie con este sistema linneano, y la fecha en que publicó su trabajo. Entonces, el nombre científico completo de la especie humana es *Homo sapiens* Linnaeus 1758.

Los nombres de muchas especies han ido cambiando a medida que se descubrían nuevas relaciones entre las mismas y se corregían errores y duplicaciones. Esos cambios complican la vida, sobre todo de los que no son especialistas, pero son inevitables. ¡Y necesarios! Una de las claves para un experimento correcto es disminuir el número de variables; en ese caso usar siempre la misma especie y no confundirla con otra. Cuando cambia de nombre, el autor original de la especie va entre paréntesis.

Mucho más tarde la idea de especie llegó a tener un significado biológico, englobando a todos los individuos que pueden reproducirse entre sí y dar origen a una descendencia fértil. Pero eso vale solo para aquellas que se reproducen por medio del encuentro entre dos sexos. La mayoría de los animales, pero no todos, tienen esa costumbre. A veces dos especies de un mismo género

pueden reproducirse entre sí, dando origen a un híbrido que, generalmente, es estéril. Finalmente, hay variaciones dentro de una misma especie que, cuando alcanzan cierto nivel de diferenciación, se denominan subespecies.

Organismos modelo

Schack August Steenberg Krogh, más conocido como August Krogh, fue un fisiólogo danés que recibió el Nobel en 1920 por sus investigaciones sobre la fisiología de la respiración y el intercambio de gases. Para llevarlas a cabo usó ranas, cobayos, gatos, perros y caballos. Krogh formuló un famoso principio cuando escribió en 1929 (p. 247) que “para un gran número de problemas habrá un animal de elección, o unos pocos de esos animales, con los que se pueda estudiar de la manera más conveniente”¹. Todos esos animales pertenecen a una categoría de seres vivos que se denominan “organismos modelo”, junto a algunas bacterias, protozoos, hongos y plantas. Con ellos se ha logrado la mayor parte del conocimiento sobre la biología en general y la humana en particular (esta última no podría estudiarse de otra forma por razones éticas y prácticas).

Algunos han sido utilizados para investigar sobre uno o pocos asuntos, como el calamar o la liebre de mar, o para comparaciones. Otros, un selecto grupo que incluye el ratón, el pollo, algunos anfibios, la mosca *Drosophila melanogaster* y el gusano *Caenorhabditis elegans*, en cambio, son los que comparten con más frecuencia la vida de los científicos en su lugar de trabajo. Las especies que integran este grupo exclusivo tienen una serie de propiedades tales como:

- tardan poco tiempo en alcanzar la capacidad de reproducirse,
- al hacerlo producen grandes números de descendientes de un tamaño relativamente chico, de modo que no ocupan tanto espacio,
- son poco exigentes en cuanto a sus requisitos vitales como la alimentación y el hábitat y
- la endogamia (cruza entre parientes cercanos) no tiene muchas consecuencias negativas.

1 Krogh, A. (1929). The progress of physiology. American Journal of Physiology 90:243-251.

Los bichos que ganaron el Premio Nobel

Esto último quiere decir que es posible criarlos como clones, de modo de disminuir al máximo la variación genética² entre individuos que complica mucho la interpretación de los resultados de los experimentos.

Del conjunto de animales usados como organismos modelo he elegido 8. Algunos son los más “populares”, otros no tanto. Pero el conjunto asegura un cierto grado de representación de la diversidad zoológica. El orden en que serán presentados es tal que empieza con los animales que son más próximos de los humanos en el “árbol filogenético” (Figura 1). Se trata una representación que se parece un poco a un árbol genealógico en el cual el ancestro más antiguo de una familia se encuentra en el tronco y los últimos descendientes en las ramas más altas. En el caso de los seres vivos, es el resultado de la evolución y fue descrito por Charles Darwin en 1872 (p. 170-171)³, con una hermosa metáfora que incluye la diferencia entre las ramas secas del árbol (los seres extintos) y las florecidas (los sobrevivientes actuales).

Los capítulos son:

- el ratón doméstico
- el pollo (y la gallina y el gallo)
- varias especies de anfibios
- varias especies de erizos de mar
- varias especies de calamares
- la liebre de mar
- la mosca de la fruta
- el gusanito de Sydney Brenner

Y el árbol filogenético que los incluye es el siguiente (Figura 1):

-
- 2 A lo largo del texto aparecerá la palabra clon, que el Diccionario de la Real Academia Española (en adelante, RAE) define como “Conjunto de células u organismos genéticamente idénticos, originado por reproducción asexual a partir de una única célula u organismo o por división artificial de estados embrionarios iniciales”. Deriva del griego *klōn* = retoño o rama. Y también aparecerá una familia de palabras derivada de gen. Gen proviene del griego *génos* = raza, linaje o prole y de allí deriva genética (sustantivo -la disciplina- y adjetivo, génica (adjetivo), genoma y genómica (ambos sustantivos).
- 3 Darwin, C. (1872). *The origin of species by means of natural selection, or the preservation of favoured races in the struggle for life*. London: Murray. 6th ed.: 1-458. <http://darwin-online.org.uk/content/frameset?itemID=F391&viewtype=text&pageseq=1>

Capítulo 1

Antes de empezar con los bichos

Enanos, gigantes y *castells*

Bernard de Chartres fue un filósofo del siglo XII que desempeñó distintas funciones en la magnífica catedral de esa ciudad francesa. Quizás su contribución más famosa a la historia de la ciencia fue una cita que le atribuyó su discípulo, y obispo de Chartres, Jean de Salisbury:

“Decía Bernardo de Chartres que somos como enanos a los hombros de gigantes. Podemos ver más, y más lejos que ellos, no por la agudeza de nuestra vista ni por la altura de nuestro cuerpo, sino porque somos levantados por su gran altura”.

Sin embargo, la cita se suele atribuir, erróneamente, al gran físico Isaac Newton que, en una carta remitida en 1676 a Robert Hooke¹, escribió:

“Si he visto más lejos es porque estoy sentado sobre los hombros de gigantes”.

¹ Disponible en <https://digitallibrary.hsp.org/index.php/Detail/objects/9792>

La frase de Bernard, o la de Newton, no importa cual, sirve como una metáfora que describe el hecho de encontrar una verdad a partir de descubrimientos previos. Y es también un homenaje a algunos individuos que vivieron en Europa antes que existiera el Nobel. Sus aportes establecieron las bases de la biología de los siglos XX y XXI, en cuanto a conceptos y los términos que los designan. La denominación de gigantes, claro, no debe ser tomada en forma literal, ni en cuestiones de tamaño o genio. Pero sirve para resaltar que su trabajo tenaz fue llevado a cabo mediante los procedimientos comparativamente simples o incluso precarios que tenían disponibles. Esto último, en mi opinión, es lo que los haría gigantes.

En la actualidad la metáfora de los enanos y gigantes luce “políticamente incorrecta”. Propongo una nueva versión para ilustrar la naturaleza colaborativa y episódica de la ciencia: los “*castells*”, torres humanas erigidas en fiestas de Cataluña por grupos de aficionados especializados.

Con esta imagen en mente, he concebido este capítulo. Pretende ser un esbozo de algunos momentos de la historia de la biología. Aunque no es mi especialidad (lo son los bichos), me tomo el atrevimiento de invadir ese campo. Me resultó necesario y, además, divertido hacerlo.

En primer lugar, me referiré a aquellos individuos que vivieron antes de la existencia de los Nobel y al concepto de “organismos modelo”. Serían los ubicados en la base de la torre y los primeros pisos (¿o los gigantes?). Ellos, además de sus aportes al conocimiento de la vida, inventaron muchos de los términos usuales en biología^{2,3}. La cúspide de la torre sería el que recibió el Nobel y su bicho de elección.

Y en segundo término, la secuencia de descubrimientos y descubridores que condujeron a una de las abreviaturas más populares del momento: ADN. Algunos también recibieron el premio, pero no usaron bichos. A menos que llamemos bichos a sus microscópicos organismos modelo (virus y bacterias), como es bastante usual entre los no especialistas⁴.

2 Siempre tuve curiosidad por el origen de las palabras, la etimología y pido perdón por abusar de este asunto. Jorge Luis Borges consideró entre “Esas personas, que se ignoran, están salvando el mundo” a “El que descubre con placer una etimología”. Así, de paso, rindo homenaje, al poeta y a los etimólogos.

3 La propia palabra biología, en el sentido actual, apareció en 1799. El registro corresponde a Contributions to physical and medical knowledge, principally from the West of England, collected by Thomas Beddoes, M.D. Paternoster-Row, London: printed by Biggs & Cottle, for T. N. Longman and O. Rees. 1799. (p. 4).

4 El equivalente en inglés de bicho es bug. Bug se refiere a específicamente a las chinches y otros insectos pequeños como los piojos pero, en una segunda acepción, también a bacterias o virus.

Células, núcleos y cromosomas

Para comenzar ¿Quien fue ese tal Robert Hooke?

Hooke, el corresponsal de Newton, fue considerado uno de los científicos experimentales más importantes de su tiempo. Estaba interesado en innumerables ramas del saber que le valieron el nombre de “Leonardo Inglés”. En 1665 publicó el libro *Micrographía*, en el que describió sus observaciones microscópicas y telescópicas con el añadido de detallados dibujos. Este libro contiene por primera vez la palabra *cell* (célula) que proviene del latín *celle* y que significa celda (por ejemplo, la de los presos, de los monjes y de los panales de las abejas). La usó para designar una estructura que se repite regularmente en el corcho, formada por poros llenos de aire. La idea de estructuras vacías subsistió un largo tiempo y aún hoy está presente en palabras que llevan el prefijo *cytos*, que en griego significa lugar vacío, como citología (la disciplina dedicada al estudio de la célula). En realidad, Hooke había visualizado las paredes celulósicas de las células vegetales. Sin embargo, él imaginó que había estructuras internas dentro de esas paredes que podría descubrir “algún observador cuidadoso si es ayudado por mejores microscopios”. La confusión sobre la definición de célula persistió hasta el descubrimiento de que las células animales carecen de esa pared (Baker, 1988)⁵. En consecuencia el médico y zoólogo alemán Franz von Leydig definió la célula en 1857 como una sustancia blanda que contiene un núcleo definido y está rodeada por una membrana.^{6,7}

Durante el siglo XIX, investigadores europeos establecieron los principios de lo que hoy se llama biología celular. El médico francés Marie François Xavier Bichat demostró, alrededor de 1800, que varios órganos de los animales estaban formados por partes de diferente aspecto, a los que llamó “tejidos”. En la década de 1830, el alemán Theodor Schwann demostró que los tejidos animales (al igual que en las plantas, tal como había dicho su colega Matthias Jakob Schleiden poco antes) están formados por células. Además, el botánico escocés Robert Brown había descubierto que todas las células vegetales presentaban una mancha oscura en su interior que llamó areola o núcleo, aunque no sugirió su función. El núcleo ya había sido mencionado en el siglo XVII por un comerciante holandés aficionado a la óptica llamado Antonie van Leeuwenhoek en los glóbulos rojos del salmón. La gran mayoría de las células animales

5 Baker, J.R., (1988). *The Cell Theory. A Restatement, History and Critique*. Garland Publishing, New York en Wayne, R. (2009). *Plant cell biology*, Academic Press, Burlington, USA, 531 pag.

6 La palabra membrana ya existe en latín en el sentido de piel delgada y también pergamino.

7 Leydig, F., (1857). *Lehrbuch der Histologie des Menschen und der Thiere*. Meidinger, Frankfurt en Wayne, R. (2009). *Plant cell biology*, Academic Press, Burlington, USA, 531 pag.

tienen núcleo; una excepción son los glóbulos rojos de los mamíferos que al madurar lo pierden (¡a diferencia de los peces que lo conservan!).

El botánico suizo Karl Wilhelm von Nägeli llevó a cabo en 1844 experimentos en los que colocaba células vegetales en soluciones⁸ con distintas concentraciones y llegó a la conclusión, al mismo tiempo que su colega alemán Nathaniel Pringsheim, que el límite de las células debía ser una membrana con distinta permeabilidad para diferentes solutos. A mediados de el siglo XIX se empezaron a usar tinturas sintéticas en las preparaciones destinadas a observarse al microscopio y se observó que las diferentes partes de las células se teñían con pigmentos específicos. Otro botánico alemán, Wilhelm Friedrich Philipp Pfeffer, usó diferentes tinciones para comprender la naturaleza de esas membranas e inventó, en 1877, el término membrana plasmática para enfatizar su permeabilidad diferencial.

La sustancia que existe entre el núcleo y la membrana fue bautizada como citoplasma por el anatomista, embriólogo, fisiólogo, zoólogo y botánico suizo Rudolph Albert von Kölliker en la década de 1860, combinando el prefijo *cytos* con la palabra griega *plasma* (materia modelable), que proviene del verbo *plassein*, que significa modelar. El mismo Kölliker, entre 1880 y 1888, anotó la presencia de unos gránulos en células musculares de insectos y llegó incluso a la conclusión de que presentaban membrana. En 1884 también fueron observados por el patólogo e histólogo alemán Richard Altmann, quien más tarde las describió como “elementary organisms”, posiblemente parásitos. El nombre de mitocondria con el que se lo conoce hoy se debe al médico alemán Carl Benda. Este fue uno de los primeros microbiólogos en estudiar la estructura interna de las células y en 1889 denominó así a unos gránulos que aparecían con gran brillo con ciertas tinciones, formando cadenas⁹. Las mitocondrias y todas las estructuras del interior de la célula que se fueron descubriendo luego, como el sistema de Golgi (descubierto por el italiano Bartolomeo Camillo Emilio Golgi, más conocido como Camillo Golgi, Nobel de Medicina de 1906 como veremos luego), el retículo endoplasmático, las vacuolas, y otros, se denominan actualmente orgánulos.

8 Una solución es una mezcla de dos o más sustancias químicas que tiene dos componentes: un soluto (el que es disuelto en el otro) y un solvente (que disuelve al soluto). En el caso del azúcar disuelto en agua, el azúcar es el soluto y el agua es el solvente. La concentración de una solución nos indica la cantidad de soluto presente en una cantidad de solución. Una membrana permeable que separa dos soluciones de distinta concentración puede (o no) ser atravesada por el soluto y eso depende de su tamaño y del de los poros de la membrana

9 Por ello los bautizó con los términos griegos *mitos* = tejido, originalmente hilo y *chondrion* = granos pequeños.

La división de una célula en dos, cada una con su núcleo, fue observada en la primera mitad del siglo en algas y otros vegetales. Hacia 1873 ya había sido visualizada en tejidos de rana, conejo y gato y nematodos, esto último por parte del zoólogo alemán Otto Bütschli. El ya mencionado Karl Wilhelm von Nägeli describió en 1842 unos gruesos filamentos que se observaban cuando las células de las plantas se dividían. Por otra parte, Eduard Strasburger, botánico alemán nacido en Varsovia (Polonia), autor de un tratado sobre la ciencia de las plantas que sigue en uso luego de 100 años, estudió los procesos de división celular en organismos uni y multinucleados animales y vegetales. En particular, los cambios de esos filamentos y, a partir de ellos, bautizó en 1875 las fases de la división celular con los nombres que aún llevan.

El médico alemán Walther Flemming descubrió en 1878 que se podían teñir unas estructuras existentes en el interior del núcleo que parecían una maraña de fibras. La llamó cromatina. Las células morían al teñirse pero en una preparación las encontró en diferentes etapas de crecimiento y división. Así relacionó la cromatina con los filamentos de Strasburger que fueron denominados cromosomas por el anatomista y patólogo alemán Wilhelm von Waldeyer-Hartz en 1889¹⁰.

El material biológico que usó Flemming para estudiar la mitosis en vivo y en preparaciones coloreadas fueron las branquias y las aletas de salamandras debido al gran tamaño de sus cromosomas. Sin embargo, no alcanzó a ver como ellos se separaban en mitades idénticas antes de distribuirse en los “núcleos hijos”. Él fue quien denominó en 1882 a todo el proceso de cambios nucleares con el nombre de mitosis¹¹. Flemming es considerado el fundador de la citogenética, la especialidad que se abocó al estudio de los cromosomas, aunque la relación entre cromosomas y genes se estableció más adelante.

En 1887 el zoólogo, citólogo, embriólogo y biólogo marino belga Édouard Van Beneden contó el número de cromosomas de células de diferentes especies y concluyó que cada una de ellas tiene un número constante y característico. También descubrió que los espermatozoides y los óvulos (que son las llamadas células germinales o gametas) tienen la mitad de cromosomas que las células de los tejidos no vinculados con la reproducción (las “células somáticas”)¹². Por consiguiente dedujo que al unirse en la fecundación para formar la

10 Cromosomas significa literalmente “cuerpos coloreados”: en griego *khroma* = color v *soma* = cuerpo.

11 Mitosis viene del griego *mitos* =hilo y el sufijo *-osis* = formación, impulso o conversión

12 Hamoir, G. (1992). The discovery of meiosis by E. Van Beneden, a breakthrough in the morphological phase of heredity. *International Journal of Developmental Biology* 36: 9-15.

primera célula del nuevo animal (llamada desde entonces cigoto¹³), se recuperaba el número original de cromosomas. Él describió el proceso de reducción del número de cromosomas en la formación de los gametos en el gran gusano nematodo *Parascaris equorum* en 1883.

El mecanismo involucrado fue aclarado en detalle por el gran biólogo y evolucionista alemán August Weismann en 1890 y su compatriota, el botánico Friedrich August Körnicke, le dio en 1905 el nombre actual de meiosis¹⁴. El aporte más conocido de Weismann es su hipótesis de la continuidad de las células germinales entre generaciones por oposición a las células somáticas que desaparecen al morir sus dueños.

Espermatozoides, óvulos y embriones

El holandés Anton van Leeuwenhoek y Nicolas Hartsoeker, un físico y matemático de su misma nacionalidad, habían descubierto los espermatozoides en 1678. El primero pensó inicialmente que eran animales parásitos del semen y de allí su nombre¹⁵, pero después creyó que cada uno tenía un embrión preformado; el segundo es creador de un famoso dibujo en el que se ve ese embrión, llamado “homúnculo”. La idea del parasitismo fue retomada en el siguiente siglo, incluso por un gran naturalista: el sacerdote italiano Lazzaro Spallanzani.

Con mejores lentes, el francés Jean-Baptiste Dumas, uno de los fundadores de la química orgánica, y el fisiólogo suizo Jean-Louis Prévost observaron en 1824 espermatozoides en animales adultos de distintas especies, pero no en inmaduros, ancianos, o estériles (como los mulos). Vieron que eran producidos en los testículos, y que luego de penetrar la mucosidad que rodea al óvulo, se ponían en contacto estrecho con el mismo. En 1827, Karl Ernst von Baer, el “padre de la embriología” estableció la naturaleza celular del óvulo en el interior del folículo ovárico de los mamíferos.

Schwann, por su parte, había sugerido que óvulos y espermatozoides eran células. Poco después, el ya dos veces mencionado Kölliker describió el desarrollo de los espermatozoides dentro de los testículos, descartando definitivamente la idea del supuesto parasitismo. Sin embargo, sostuvo que los espermatozoides no tenían contacto físico con el óvulo y que solo excitaban a estos últimos, iniciando así el desarrollo del embrión. La hipótesis de Schwann fue

13 Cigoto viene del griego *zygōtós* = uncido, unido y deriva de *zygoûn* = uncir, unir.

14 Meiosis viene del griego *meion* = menos y *osis*.

15 Espermatozoide viene del griego *spérma*, -atos = semilla y *zôion* = animal, o sea: animales de las “semillas”.

finalmente confirmada por el alemán Karl Gegenbaur en 1861, quien demostró que el huevo, incluso de las aves, es una célula. En realidad, en este último caso se refería a la yema. El óvulo de una dinosauria debe haber sido una de las células animales más grandes que haya existido.

Controversias sobre los embriones

El “homunculo” visualizado en la Holanda del siglo XVII fue la representación de una de las dos teorías que trataron de explicar el origen de un embrión: la preformación. En pocas palabras, se trata de que el embrión existe en las células reproductivas de la generación anterior, ya sea en el espermatozoide (como dibujó Hartsoeker) o en el óvulo; o sea, había una sub-teoría “machista” y otra “feminista”. Pero en cualquiera de las dos, solo es necesario que el nuevo ser se “desarrolle”, lo cual es una manera de decir que se desenrolle.

La teoría opuesta se basaba en la dificultad de hallar ese embrión preformado (pocos creyeron en la existencia del homúnculo) y proponía que el embrión surgía de estructuras indiferenciadas: la epigénesis. Esa palabra, que significa “a continuación del origen”, cobró relevancia a partir de las observaciones del fisiólogo alemán Caspar Fiedrich Wolff, primero en plantas (en 1759) y luego en animales.

Hacia fines del siglo XIX surgió una controversia adicional, relacionada con la anterior. Algunos zoólogos observaron que si se dividía un embrión de dos células, una sola de ellas podía originar un organismo completo; otros que cada una de las dos podía hacerlo. Entonces había dos tipos de desarrollo: uno rígido, llamado “en mosaico” y otro más flexible, llamado “de regulación”. En cierta forma, éstos se vinculan con la preformación y la epigénesis, respectivamente. Los dos tipos de desarrollo se estudiaron principalmente (pero no solo) en dos de los organismos modelos que analizaré en sendos capítulos: anfibios y erizos de mar.

La interpretación actual del desarrollo es una síntesis de ambas teorías. ¡Pero eso es otro asunto!

Genes, desarrollo y evolución

En 1859 se publicó la primera edición del libro “El origen de las especies por medio de la selección natural, o la preservación de las razas favorecidas en la lucha por la vida” en el cual Charles Darwin presentó su teoría de la evolución biológica. Esa teoría tenía aún un aspecto no resuelto: ¿como era posible que los caracteres seleccionados por el ambiente sean heredados por

la descendencia? Pocos años después, tuvo lugar el nacimiento de la genética, que iba a subsanar ese déficit. Gregor Mendel, un fraile y maestro que vivía en la Abadía de Santo Tomás, en Brno (antes llamado Brünn) en la actual República Checa, es reconocido por sus investigaciones sobre la herencia de características morfológicas, especialmente en plantas. Presentó sus trabajos en las reuniones de la Sociedad de Historia Natural de Brno en 1865, y los publicó posteriormente con el título (traducido) de “Experimentos sobre hibridación de plantas” en 1866. Allí propuso la existencia de unas unidades de la herencia biológica que denominó “factores”. Sin embargo, su trabajo permaneció relativamente ignorado durante más de 30 años y las razones pueden ser varias. Se supone que una de ellas fue la falta de apoyo de von Nägeli, una autoridad científica en ese momento, con el cual mantuvo una intensa correspondencia. Y otra, quizá más relevante, fue que los detalles de la estructura y funcionamiento de las células se comenzaron a conocer recién durante el último tercio del siglo XIX.

Los trabajos de Mendel fueron “redescubiertos” recién en 1900 y uno de los responsables fue el botánico holandés Hugo Marie de Vries, quien además propuso la existencia de cambios heredables de los “factores” de Mendel. A esos cambios los llamó mutaciones. Era entonces el momento de identificar la naturaleza material de los factores. En 1902 el citólogo (especialista en células) norteamericano Walter S. Sutton anunció que los cromosomas se comportaban como los factores de la herencia propuestos por el fraile. Junto a los descubrimientos del alemán Theodor Heinrich Boveri sobre el comportamiento de los cromosomas en la división celular se estableció entonces la teoría cromosómica de la herencia. La teoría de Sutton-Boveri permaneció controvertida hasta 1915 cuando los aportes de Thomas Hunt Morgan le dieron sustento experimental. Volveré sobre estos últimos tres biólogos más adelante al tratar de erizos de mar y moscas; incluso Morgan recibió el Nobel de 1933.

La comparación del pequeño número de cromosomas y el gran número de caracteres (y por lo tanto factores) hereditarios sugirió que cada cromosoma debía incluir muchos de esos factores, cada uno de los cuales controla una característica. Entretanto, la palabra gen acuñada en 1909 por el botánico danés Wilhelm Ludwig Johannsen reemplazó al término mendeliano “factor”.

Ahora quedaba por resolver cual era la estructura de los propios cromosomas y su composición química.

ADN, microbios y Nobel

Esa tarea demandó medio siglo y es la historia del ácido desoxirribonucleico o, más familiarmente, del ADN. El punto culminante tuvo lugar en 1953, cuando se publicó un breve artículo en la revista *Nature* en el que se propuso un modelo para la estructura de esa “macromolécula”, conocido como la “doble hélice”¹⁶. O sea dos cadenas de moléculas paralelas y enrolladas en espiral. Los autores fueron el norteamericano James Watson y el británico Francis Crick, ambos laureados con el Nobel en 1962 junto a Maurice Wilkins. La contribución clave a ese descubrimiento de la química inglesa Rosalind Franklin no fue reconocida con el premio. Es interesante conocer la “prehistoria” de las investigaciones sobre el ADN. La mayor parte de los experimentos que precedieron al modelo de 1953 fueron llevados a cabo usando bacterias, virus y levaduras como modelos experimentales. Pero al comienzo hubo dos bichos verdaderos: un pez y un detalle poco elegante de *Homo sapiens*.

El médico suizo Friedrich Miescher, luego de su graduación, se mudó a Tübingen, en Alemania, para trabajar en el laboratorio del bioquímico Felix Hoppe-Seyler. Su interés era investigar sobre los “ladrillos” con los que se construye la vida. En particular, sobre otro tipo de macromolécula involucrada en todos los procesos vitales: las proteínas¹⁷. Ejemplos de proteínas son las enzimas, que intervienen en las reacciones químicas del metabolismo, los receptores de señales químicas (por ejemplo de señales en el cerebro), algunas hormonas y los anticuerpos. La estructura molecular de las proteínas se puede describir como largas cadenas formadas por la unión de 20 tipos distintos de unidades menores (moléculas relativamente pequeñas), los aminoácidos.

En 1869 Friedrich aisló una sustancia gelatinosa a partir del núcleo de glóbulos blancos procedentes del pus que abundaba en una clínica cercana a su lugar de trabajo. Eligió ese material porque era abundante y fácil de conseguir. Además los glóbulos blancos son células aisladas y tienen un núcleo grande que era posible separar del resto de los componentes celulares. Esa sustancia enigmática difería de las proteínas que también había en el núcleo por varias propiedades, entre ellas por ser rica en fósforo. Por su ubicación la llamó “nucleína” un término que aún subsiste en la denominación del ácido desoxirribonucleico. El artículo en el que publicó su descubrimiento en 1871

16 Watson, J. D, Crick, F. H. C. (1953). Molecular structure of nucleic acids. *Nature* 171: 737-738.

17 Dahm, Ralf. (2005). Friedrich Miescher and the discovery of DNA. *Developmental Biology* 278: 274–288.

tuvo un título poco atractivo: “Sobre la composición química de las células del pus”¹⁸.

Más tarde obtuvo considerables cantidades de nucleína purísima a partir de espermatozoides de salmón. La ciudad natal de Friedrich, Basilea, está ubicada sobre el río Rin; por allí pasaba la migración anual de salmones (bautizado por Linneo *Salmo salar* en 1758) hacia sus áreas de reproducción¹⁹. La gran industria del salmón proveyó de abundantes peces al investigador que, a partir de 1871, comenzó a usar su esperma con el cual desarrolló numerosos y sofisticados métodos de aislamiento de nucleína. Ese fue quizá el momento en que estuvo más cerca de conocer su papel en los genes²⁰.

Al comienzo de la década de 1880, el médico alemán Ludwig Karl Martin Leonhard Albrecht Kossel, más conocido como Albrecht Kossel por razones prácticas, logró eliminar las proteínas asociadas con la nucleína y obtener por separado los distintos tipos de bases nitrogenadas que son uno de los componentes de la nucleína: adenina, citosina, guanina, timina y uracilo²¹. Kossel concluyó que en ellos también estaba presente un azúcar, pero no pudo precisar cuál. Por estos trabajos, Kossel recibió el Nobel en 1910. El término ácido nucleico fue creado en 1889 por Richard Altmann, el ya mencionado descubridor de las mitocondrias. En ese momento, no se diferenciaba el ADN del ARN, el ácido ribonucleico.

En la década de 1920, mientras sus vecinos neoyorkinos bailaban el Charleston, un bioquímico nacido en Lituania y llamado (en su nuevo país) Phoebus Aaron Theodore Levene resolvió varios interrogantes sobre los ácidos nucleicos junto a sus colegas del Instituto Rockefeller de Investigaciones Médicas. Así se supo que había dos tipos de moléculas formadas por un conjunto de unidades (los nucleótidos), cada una de las cuales estaba formada por una de 4 bases nitrogenadas y una molécula de azúcar y unidas entre sí por medio de moléculas de fosfato (que incluyen átomos de fósforo). Esos dos tipos son el ADN y el ARN que difieren entre sí en una de las 4 bases y el tipo de azúcar (timina *versus* uracilo y desoxiribosa *versus* ribosa, respectivamente). Los experimentos se realizaron con timo (ADN) y levadura (ARN) lo cual llevó al error inicial de considerar al primero típico de animales y al segundo de vegetales.

18 Miescher, F. (1871). Ueber die chemische Zusammensetzung der Eiterzellen. Medicinisch-chemische Untersuchungen 4: 441-460.

19 Este pez desapareció del río Rin durante la primera mitad del siglo XX.

20 A lo largo de su extensa carrera científica, Miescher publicó solo 9 “papers” y unos pocos manuscritos de sus conferencias. La mayor parte de sus resultados e ideas se conservan por medio de cartas enviados a amigos y colegas.

21 Esas bases son moléculas formadas por átomos de carbono (4 o 5), hidrógeno (5 o 6), nitrógeno (2 o 5) y oxígeno (0, 1 o 2) unidos y formando de anillos.

En 1938 le llegó el turno a la biofísica de reemplazar a la bioquímica. William Thomas Astbury (el primer científico que se definió como biólogo molecular) y Florence Ogilvy Bell ²², de Universidad de Leeds, en el Reino Unido, propusieron que el ADN (todavía llamado ácido timonucleico) debía de ser una de fibra periódica, al encontrar un espaciado regular de los nucleótidos lo largo de la molécula²³.

Los pasos siguientes se dieron con bacterias (organismos unicelulares en los que el ADN no está contenido en un núcleo limitado por una membrana) y virus²⁴ (¿organismos? compuestos de proteínas y ácidos nucleicos, y capaces de reproducirse solo en el seno de células vivas específicas, utilizando su metabolismo). En 1944 se demostró en forma concluyente que el ADN es el material con que están constituidos los genes usando como modelo experimental una bacteria: el neumococo. Los responsables fueron del canadiense residente en Estados Unidos Oswald Avery y sus colaboradores Maclyn McCarty y Colin MacLeod. Este trabajo fue descuidado por la Fundación Nobel, que más tarde expresó su arrepentimiento público por no haber concedido a Avery el Nobel.

En 1949, André Boivin y sus alumnos de la Facultad de Medicina de Strasbourg, Francia, Colette y Roger Vendrely descubrieron que el núcleo de las células reproductivas contenía la mitad de ADN del de las demás células de cuerpo, lo cual es paralelo a la reducción del número de cromosomas en la meiosis²⁵.

Un año después, Erwin Chargaff encontró que si bien la composición las bases del ADN varía entre especies, la proporción de adenina y timina, así como la de citosina y guanina era constante²⁶. Y en 1953, Rosalind Franklin y Maurice Wilkins demostraron que el ADN tiene una estructura helicoidal regularmente repetida usando análisis de rayos X.

22 La BBC describió a Florence Bell como, la “nueva dama oscura del ADN” que ayudó a que comprendiéramos de qué estamos hechos (<https://www.bbc.com/mundo/noticias-60434089>), quizás en relación con Rosalind Franklin. Bell tenía entonces solo 24 años.

23 Astbury, W. T.; Bell, F. O. (1938). X-Ray Study of Thymonucleic Acid. *Nature* 141 (3573): 747-748

24 La palabra virus la usó por primera vez el holandés Martinus Beijerinck en 1898 para referirse a una sustancia infecciosa que atravesaba filtros que detenían las bacterias. Viene del latín en el cual significa veneno.

25 Boivin, A.; Vendrely, R.; Vendrely C. (1948). The deoxyribonucleic acid of the cell nucleus, which is responsible for hereditary characteristics; analytical arguments. *Comptes Rendues de la Academie de Sciences*, 226 (13):1061-1063.

26 Vischer, E.; Chargaff, E. (1948). The Separation and Quantitative Estimation of Purines and Pyrimidines in Minute Amounts. *Journal of Biological Chemistry* 176: 703-714. Chargaff, E. (1950). Chemical specificity of nucleic acids and mechanism of their enzymatic degradation. *Experientia* 6: 201-209.

Una vez publicado el famoso artículo de Watson y Crick, y el siguiente del mismo año en el cual introdujeron por primera vez el concepto de “información genética”²⁷, comenzó una avalancha de investigaciones en la nueva disciplina: la biología molecular. Entre las preguntas que surgieron se destacaron las relativas a la función de los genes, en que consiste su “información” y como se regula su actividad.

Conviene retroceder algo más de una década. En 1941 los estadounidenses George Wells Beadle y Edward Lawrie Tatum habían demostrado que cada gen es responsable de la producción de una enzima. Por ese descubrimiento recibieron el premio Nobel de 1958 junto a Joshua Lederberg. Por otra parte, en 1957, Matthew Meselson y Franklin Stahl demostraron que, cuando el ADN se duplica, las dos cadenas de nucleótidos que lo forman se separan, sirviendo cada una de ellas como plantilla para la síntesis de la cadena duplicada. La propiedad de “autoreplicarse” del ADN, o sea de calcarse a si mismo en forma idéntica o con algunas variaciones (mutaciones) explica la herencia entre generaciones y sería el aspecto que le faltó a Darwin en su teoría. Además, la existencia esos pequeños cambios del ADN hace que cada gen puede tener distintas formas que originan variantes de una característica del organismo. Es el fundamento de los experimentos de Mendel. Esas distintas formas se llama alelos²⁸.

En 1956 y 1957, Crick expuso sus ideas teóricas acerca de la función de los genes, incluyendo una ilustración que ahora es clásica en charlas y conferencias. Recién la publicó en 1970²⁹, cuando formalizó lo que llamó “el dogma central de la biología molecular”. En ese momento, ya se conocía la existencia de un ARN, el “ARN mensajero” (ARNm) que llevaba la información desde los genes hasta los ribosomas³⁰, donde se sintetizan las proteínas³¹ y que la secuencia de nucleótidos del ARNm determina la

27 Watson, J. D., Crick, F. H. C. (1953). Genetical implications of the structure of deoxyribose nucleic acid. *Nature* 171: 964-967.

28 Alelo viene, claro está, del griego *allélōn* = uno a otro, unos a otros.

29 Crick, F. H. C. (1970). Central dogma of molecular biology. *Nature* 227: 561-563.

30 Los ribosomas son estructuras de las células formadas por ARN y proteínas, en los que ocurre la síntesis proteica (la traducción). Fueron observados por primera vez a mediados de la década de 1950 por el biólogo celular rumano-estadounidense George Emil Palade, en células de ratas y pollos, usando un microscopio electrónico. Albert Claude, Christian de Duve y Palade recibieron conjuntamente el Nobel de Fisiología o Medicina en 1974 por el descubrimiento de esas partículas y su separación.

31 Brenner, S., Jacob, F., Meselson, M. (1961). An unstable intermediate for carrying information from genes to ribosomes for protein synthesis. *Nature* 190: 576-581.

secuencia de aminoácidos de la proteína por medio del código genético³² (Figura 2a). El modelo de Crick consiste en la existencia de un flujo de la información genética desde el ADN hasta las proteínas, intermediado por el ARNm³³.

La secuencia de unidades (nucleótidos) en la molécula de ADN contiene la información necesaria para la síntesis de ácidos ribonucleicos, además del ARNm: ARN ribosómico (ARNr), ARN de transferencia (ARNt) y otros. Esa síntesis se llama transcripción. Con la intermediación del ARNm, ARNr y ARNt, un gen dirige la síntesis de una cadena de aminoácidos que forma un polipéptido. Esta cadena es el esqueleto de las proteínas y esa síntesis se llama traducción (Figura 2a).

Debo confesar, respetuosamente, que el uso de la palabra dogma en ciencia no me parece apropiado, al menos si se consideran las dos primeras acepciones de la misma del Diccionario de la RAE³⁴. Además, en ciertas condiciones, el flujo se revierte en parte. Algo que Crick ya había imaginado.

También en 1961. los franceses François Jacob y Jacques Monod, del Instituto Pasteur de Paris, publicaron su descubrimiento: era posible activar y desactivar un gen en bacterias. Hoy, esta posibilidad se representa por una elocuente metáfora: los genes se encienden o apagan ¡tal como una lámpara eléctrica! Ellos propusieron que hay genes efectores, responsables de la síntesis de las enzimas que actúan en distintas funciones celulares, y genes reguladores, responsables de la síntesis de proteínas que activan y desactivan a los efectores. Y los identificaron experimentalmente. Además, postularon que en el ADN de cada gen efector hay dos regiones: una región que codifica la proteína específica (por ejemplo una enzima) y otra que controla a la primera, que hoy se conoce como promotor (Figura 2b). Las proteínas reguladoras se unen al promotor y, al hacerlo, encienden o apagan al efector.

32 Crick, F. H., Barnett, L, Brenner, S, Watts-Tobin, R. J. (1961). General nature of the genetic code for proteins. *Nature*. 192 (4809): 1227–1232.

33 Cobb M (2017) 60 years ago, Francis Crick changed the logic of biology. *PLoS Biol* 15(9): e2003243. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2003243>

34 1. Proposición tenida por cierta y como principio innegable; 2. Conjunto de creencias de carácter indiscutible y obligado para los seguidores de cualquier religión; 3. Fundamento o puntos capitales de un sistema, ciencia o doctrina.

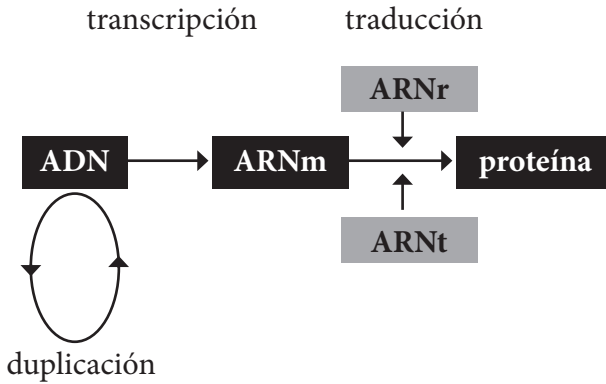


Figura 2a. Flujo de la información genética según Crick en un esquema que contiene su propia duplicación.

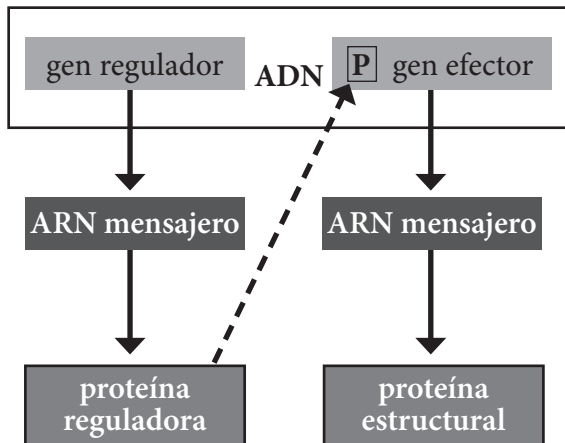


Figura 2b. Síntesis simplificada del funcionamiento de los genes. P es el promotor.

Jacob y Monod ganaron del Nobel de 1965 junto a su compatriota André Lwoff. Las hipótesis de los franceses se probaron en todos los tipos de células y a partir de entonces todo el sofisticado mecanismo de regulación génica fue gradualmente descubierto.

Algunos puntos adicionales sobre los genes son:

- Algunos genes codifican más de una cadena de aminoácidos (polipéptido) y una proteína puede ser codificada por el conjunto de diferentes genes.
- Muchos genes se encuentran constituidos por regiones codificantes, que se transcriben (exones) interrumpidas por regiones no codificantes (intrones) que son eliminadas en el procesamiento del ARN llamado *splicing*.
- Algunos genes han dejado de ser funcionales como consecuencia de procesos de mutación u otros fenómenos de reorganización pero persisten en los genomas de los seres vivos. Al dejar de tener función, se denominan pseudogenes.
- Todas las células de un animal tienen, en principio, todos los genes. Muchos de ellos siempre se expresan (esto es, se transcriben y traducen); otros se expresan solo en ciertos tipos celulares, pero están desactivados en otros. Esa expresión de un gen particular está regulada por otros genes.
- El conjunto de genes de una especie se denomina genoma. Ese término fue creado en 1920 por Hans Winkler, botánico la Universidad de Hamburgo, pero su uso cobró relevancia a conocerse en detalle la secuencia completa de nucleótidos del ADN de un individuo, que comenzó con un virus en la década de 1970.

En resumen: el funcionamiento de los seres vivos es llevado a cabo por un único conjunto de mecanismos básicos a nivel molecular y celular, y por los genes que llevan las instrucciones para que estos funcionen. Todos los animales, en particular, sean parientes “lejanos” o “cercaños”, también comparten mecanismos y genes que hacen posible armar un adulto a partir de una única célula. Por esa razón los resultados obtenidos a partir de los organismos modelo pueden servir para entender como funciona el *Homo sapiens*. Pero, además están los genes específicos de cada tipo de animal, que son responsables de sus diferencias.

Capítulo 2

El ratón doméstico

El ratón de laboratorio es un mamífero y, por lo tanto, el más parecido a un ser humano entre todos los organismos modelos que integran este repertorio de ganadores del Nobel. Todos los mamíferos tienen, se supone, un antepasado común que debe haber vivido hace más de 100 millones de años. Desde entonces el grupo de animales con pelo y mamas se diversificó enormemente, dando origen a formas tan distintas como el murciélago y la ballena. Una estimación basada en la comparación de los respectivos genomas indica que las ramas de los ratones y de los humanos de este frondoso árbol de la vida se separaron hace unos 75 millones de años. O dicho de otro modo, en ese momento el ancestro común de ambos, representado por el punto B de la figura 1, correteaba por el mundo sin conocer su importante destino.

Por supuesto que hay otros mamíferos que hicieron grandes aportes a la ciencia, como el conejo, la rata, el perro, el gato y algunos monos. Pero el ratón es el más convocado. Por ejemplo, en el año 2010 se publicaron 60000 artículos de investigación en revistas especializadas basados en experimentos realizados con ratones, en tanto que 20000 fueron basados en ratas y 20000 en otros mamíferos.

Esto se debe a que es fértil, prolífico y pequeño, tiene un corto período de gestación, es económico para mantener y resistente a enfermedades. Además, presenta variaciones que se heredan pero es tolerante a la endogamia lo cual permite obtener líneas puras. O sea, linajes que mantienen constantes sus ca-

racteres a través de las generaciones. Su peor propiedad es el fuerte olor a orina que inunda los bioterios (que es una manera elegante de llamar a sus criaderos en la jerga de los laboratorios).

Se trata, realidad, de una variante sofisticada del ratón doméstico cuyo nombre científico es *Mus musculus* Linnaeus 1758. O sea que quien lo bautizó fue el mismísimo Linneo. *Mus*, en latín, quiere decir ratón (de allí viene la palabra inglesa *mouse*) y *musculus* es el diminutivo de *mus* y significa ratoncito. Entonces para el naturalista sueco, se trata del “ratón ratoncito”, lo cual no deja de ser curioso y simpático. Dentro de la clase de los mamíferos, pertenece al orden de los roedores junto a ratas, conejos, cuises, liebres y carpinchos.

Este pequeño roedor doméstico es un animal nocturno muy ágil y alerta que puede vivir durante meses comiendo semillas secas. Ha sido transportado por los humanos alrededor del mundo y es raro encontrar alguien que no haya convivido con uno de ellos en su casa, sin haberlo invitado. Se cree que *Mus musculus* es originario de las estepas de Asia central y que de allí se dispersó hacia Europa, por un lado, y hacia China, Japón y el sudeste de Asia, por el otro.

Pero no todo es tan sencillo con él. A medida que los individuos se adaptaron a las distintas geografías, fueron cambiando en su forma y hábitos. Así se diferenciaron 4 subespecies a lo largo de los últimos 600.000 años que son (abreviadamente): 1) *M. m. domesticus* del oeste de Europa y el Mediterráneo, que luego invadió América y Oceanía a medida que estas regiones fueron colonizadas, 2) *M. m. musculus* del noreste de Europa y Asia (al norte del Himalaya hasta la costa del Pacífico), 3) *M. m. bactrianus* desde Irán hasta Myanmar, y 4) *M. m. castaneus* del sudeste de Asia, Indonesia, Malasia y el sur de China.

Mascotas de bolsillo, desde el lejano oriente a Massachusetts

Si bien está documentado el uso de ratones en experimentos realizados en Europa durante los siglos XVII y XVIII, la historia del que ahora se encuentra en los laboratorios es más reciente. Comenzó con la cría de individuos de distintas subespecies usados como “mascotas de bolsillo” en China y Japón hacia el 1700. En esos países, la relación de la gente con los ratones puede calificarse de relativamente amistosa, y estas mascotas llegaron a ser populares. Desde allí se importaron las variedades favoritas a Europa y se empezaron a criar híbridos (producto de la cruce de varias subespecies). Su difusión mundial como animal de compañía tuvo lugar a lo largo del siglo XIX y en la Inglaterra victoriana se compraban, vendían y premiaban, al punto que se fundó el Club Nacional de Ratones en 1895. ¡Aún existe! Su página web oficial, que incluye un muestrario de las variedades de distintos colores es <https://thenationalmouseclub.co.uk/>



Figura 3. Logotipo del National Mouse Club, el curioso club nacional del ratón de Inglaterra, Gregor Mendel intentó usarlos por primera vez para estudiar la herencia, debido a las variaciones del color de su piel. Las mutaciones espontáneas que originan diferentes coloraciones de la piel habían sido detectadas a lo largo de la historia y existen antiguas referencias de China de ratones con manchas blancas y oscuras, albinos y amarillos. Pero el monje pronto tuvo que cambiar el organismo modelo por indicación de su obispo, a quien no le parecía apropiado que criara en su celda estas olorosas criaturas que, además, “copulan y tienen sexo”. Comenzó entonces a experimentar con las inocentes arvejas, que en España llaman guisantes, y formuló sus famosas leyes de la herencia.

Recién en 1902, el biólogo francés Lucien Cuénot publicó una demostración de la herencia mendeliana en ratones. Cruzando animales con pelaje usual y otros albinos observó que la descendencia seguía el mismo patrón que las arvejas de Mendel. Esta fue la primera evidencia de que las leyes de Mendel también eran válidas para los animales y fue un estímulo para que el estadounidense William Ernest Castle decida estudiar la herencia en ratones en la Universidad de Harvard. Usando las mascotas de bolsillo como su organismo modelo se convirtió en el “padre” de la genética de los mamíferos.

En 1909 su alumno Clarence Cook Little crió la descendencia de un par de ratones de color marrón claro a lo largo de más de 20 generaciones. Así creó la primera línea pura de ratones, una cepa que se designó DBA por las iniciales de su pigmentación en inglés: *dilution, brown, nonagouti*.

Little y Castle trabajaron en cooperación con la señora Abbie Lathrop. Abbie tenía una pequeña granja en Granby, cerca de Harvard, donde criaba pequeños animales como hurones, cobayos, ratas y ratones que estaban de moda como mascotas. Sus ratones fueron los primeros en ser usados en un laboratorio cuando Castle le hizo su pedido inicial en 1902, y ayudaron en el avance del estudio del cáncer. Ella no era una científica de formación, pero sí una mujer de empresa e investigadora autodidacta que criaba su animales de forma metódica y cuidadosa. Así, fue coautora de 10 trabajos científicos con el patólogo Leo Loeb de la universidad de Pennsylvania que aparecieron en

Los bichos que ganaron el Premio Nobel

revistas prestigiosas. Entre otras cosas, juntos demostraron por primera vez la relación entre hormonas y cáncer de mamas (en ratones). La producción de ratones de laboratorio continuó luego de la muerte de Abbie y en 1929 Little fundó el Laboratorio Jackson en el pequeño pueblo de Bar Harbor, en el Nordeste de Estados Unidos.



Figura 4. Abbie Lathrop. Ilustración del Springfield Sunday Republican (1913).

Little había sido presidente de la Universidad de Maine en 1922 y de la Universidad de Michigan en 1925. En esta última, su apoyo a la eugenesia (una filosofía que implica un mejoramiento de los rasgos hereditarios por medio de métodos selectivos en humanos), el control de la natalidad y la eutanasia generaron controversias. En 1929 abandonó Michigan para dedicarse a su investigación en el Laboratorio Jackson. Para ello contó con el apoyo financiero de la industria del automóvil, uno de cuyos principales donantes era el Sr. Jackson. En 1968 se dio el nombre de Little a un edificio de la Universidad de Michigan, pero en 2018 su nombre fue retirado luego de un pedido de docentes y alumnos que cuestionaron la propuesta de “sancción, identificación y esterilización de los individuos improprios (*unfit*) y la identificación de razas inferiores y superiores” promovidas por la eugenesia en la primera parte del siglo XX.

La genética de los ratones

En Harvard se establecieron rápidamente programas de cruza con los cuales se crearon las cepas “modernas”, incluso las más conocidas y usadas en la actualidad en investigación científica. El Laboratorio Jackson cuenta hoy con 8.000 cepas genéticamente definidas de donde provienen unos 3 millones de ratones cada año. Muchas cepas son homocigotas para todos los genes (o sea, los genes que provienen de la madre y del padre son idénticos), obtenidas por cruzamientos entre hermanos durante muchas generaciones. Algunas de ellas tienen colores característicos que sirven como indicadores externos de su constitución genética, incluyendo agutí, negro y albino y se identifican con una combinación específica de números y letras como, por ejemplo C57BL/6J. Se trata de una cepa creada en 1921 por Little a partir de la hembra 57 de su criadero, que descendía de los ratones de Miss Abbie; BL es por black, ya que su piel es marrón oscuro, casi negra, el 6 porque es la subcepa más popular de las sobrevivientes y la J por Jackson. En 2011 alrededor del 83% de los ratones de laboratorio usados en Estados Unidos provenían de la cepa C57BL/6. La cepa B6 albina se originó a partir de ratones C57BL/6J que llevan una mutación en el gen que codifica la enzima tirosinasa. Los homocigotos para ese gen (los dos cromosomas del par que lleva ese gen tienen la misma variante mutada) carecen de pigmento en la piel, pelo y ojos. Se la conoce como B6(Cg)-Tyr /J.



Figura 5. Izquierda: Cepa C57BL/6J; Derecha: Cepa B6(Cg)-Tyr /J

La siguiente etapa fue establecer el “mapeado genético” del ratón, es decir ubicar las posiciones de los genes en sus correspondientes cromosomas. Para hacer eso se estudia la proporción de la descendencia que hereda dos genes simultáneamente. Se dice que esos genes están “ligados”. Cuanto más próximos están en el cromosoma, más probable que se hereden juntos. En los ratones esa tarea dio comienzo con el trabajo de John Burdon Sanderson Haldane y sus colaboradores en el que establecieron la ubicación próxima de dos de ellos en el cromosoma 7. Eso ocurrió apenas dos años después de primer reporte de

ligamiento en la precursora *Drosophila melanogaster* (la mosquita que recién trataré en el capítulo 8; ¡habrá que esperar!). El mapa genético creció lentamente en los siguientes 50 años y se fue completando entre 1960 y 1980 (en el cromosoma 7 se detectaron 3 genes en 1935, 8 en 1954 y 45 en 1982).

La revista Nature publicó en 2002 el resultado de un trabajo de 222 científicos de 46 instituciones que integraban un consorcio internacional dedicado a la secuenciación del genoma completo del *Mus musculus* y su comparación con el recientemente establecido genoma humano¹. El del ratón es aproximadamente un 14% más pequeño que el humano (2500 millones de pares de bases comparados con los 2900), pero el 90% de ambos pueden partirse en regiones correspondientes que reflejan que el orden de los genes se ha conservado en relación con el hipotético antepasado común de ambas especies. En un nivel más detallado, el 40% de los nucleótidos del genoma humano coincide con el de ratón. Ambas especies contienen alrededor de 30000 genes que codifican proteínas y los ratones muestran importantes innovaciones genéticas relacionadas con actividades particulares como la reproducción, inmunidad y olfato.

Debut en Estocolmo de la mano de un español y un italiano

El sexto Nobel de Medicina, que se entregó en 1906, fue el primero compartido por más de un científico. Lo recibieron dos especialistas europeos en el estudio descriptivo de órganos, tejidos y células: dos hombres de microscopio. Fueron el español Santiago Ramón y Cajal y el italiano Camillo Golgi². Don Santiago fue homenajeado por haber descubierto que el tejido nervioso estaba compuesto por células individuales, las neuronas. Ese descubrimiento tuvo lugar mediante la observación del sistema nervioso de ratones lactantes. Estos tienen menos células y, por lo tanto, son más fáciles de individualizar. Camillo Golgi proponía que el tejido nervioso era continuo, es decir, negaba la existencia de las neuronas. Sin embargo, él ideó un método extraordinario para teñir esas células, que fue el que usó Don Santiago. ¿Entonces, por qué recibió el Nobel si estaba equivocado? ¡Justamente por la técnica que inventó! Hay un aspecto notable en la personalidad de Ramón y Cajal: no solo era médico e investigador, sino también deportista, ajedrecista, fotógrafo y artista. Esta última fue su primera vocación y, de hecho, los dibujos que realizó de

1 International Human Genome Sequencing Consortium (2001). Initial sequencing and analysis of the human genome. Nature 409: 860–921

2 Su nombre completo fue mencionado en el capítulo 1: Enanos y gigantes

sus preparaciones microscópicas han merecido exposiciones. Un verdadero espíritu renacentista.

Esta es una oportunidad para mencionar las principales características de una neurona, tal como se observan con un microscopio e introducir unos términos aparecerán en varios bichos que fueron nobelizados (capítulos 3, 4, 6, 7). Tienen, como toda célula un núcleo ubicado en el llamado “cuerpo” o *soma* y dos tipos de prolongaciones, las dendritas y los axones. Por las prolongaciones, hoy lo sabemos, se trasladan impulsos eléctricos entre neuronas y entre ellas y otras células. Una neurona recibe esos impulsos por medio de sus dendritas o directamente en el cuerpo, los conduce por el axón y sus ramificaciones, y los transmite a otra célula por medio de un tipo de unión intercelular llamada sinapsis. La sinapsis se establece entre las ramificaciones del axón y las dendritas o el cuerpo.

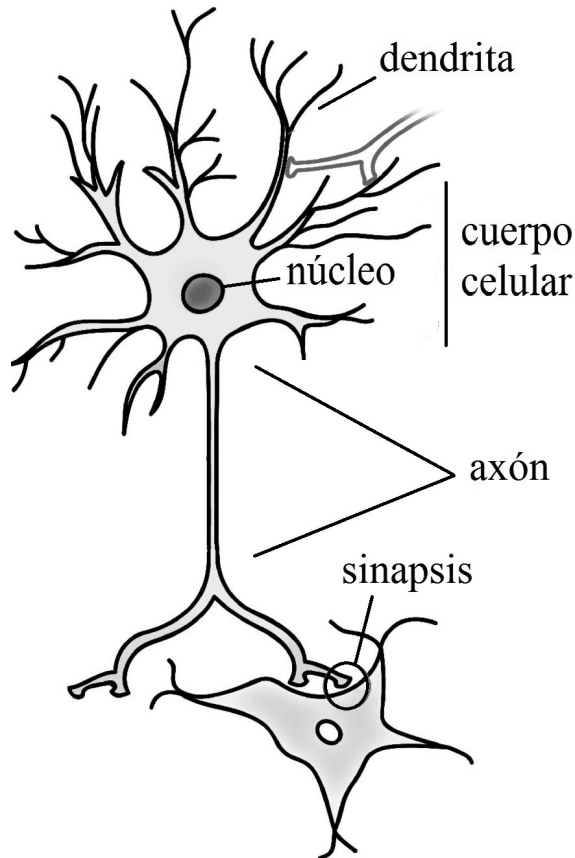


Figura 6. Esquema de una neurona y sus prolongaciones.

Es interesante destacar que el anatomista Wilhelm von Waldeyer-Hartz³ aprendió castellano para conocer en detalle los estudios que llevó a cabo Ramón y Cajal usando el método de Golgi, se convirtió en su amigo y publicó sus conclusiones en alemán en una revista prestigiosa. Esto contribuyó a su divulgación en la comunidad científica internacional; el español escribió que Waldeyer apoyó su teoría con el prestigio de su autoridad pero no contribuyó a ella con observaciones personales sino que hizo una “corta exposición brillante de las pruebas objetivas e inventó el afortunado término neurona”.

El comienzo de la inmunología y la penicilina

El médico y bacteriólogo alemán Paul Ehrlich comenzó a trabajar en el campo de lo que hoy se llama inmunología en 1890, usando ratones. Luego de alimentarlos con dosis crecientes de ricino, un potente tóxico, comprobó que se convertían en ratones “a prueba de ricino”. O sea, se volvían inmunes al veneno. Eso sucedía a los pocos días del tratamiento y duraba varios meses. Luego demostró que la inmunidad se podía transmitir de la madre al feto por medio de la circulación de la sangre durante la preñez y por medio de la leche durante la lactancia. Ehrlich recibió el Nobel de 1908 junto con Ilya Ilyich Metchnikov, en reconocimiento por su trabajo en inmunidad. Así, *Mus musculus* participó de un nuevo galardón. El trabajo de este ratón como auxiliar en pruebas de laboratorio continuó, y tuvo el privilegio de ser usado para demostrar el efecto curativo de la penicilina en varios tipos de infecciones. Así, reapareció en el Nobel de 1945 de la mano de Alexander Fleming, Ernst Chain y Howard Florey. El primero recibió el premio por el descubrimiento del antibiótico, los dos últimos por sus experimentos en los que inyectaron ratones blancos con estreptococos virulentos. La mitad de ellos sirvieron de control y la otra mitad recibieron penicilina. Todos los ratones control murieron y la gran mayoría de los protegidos con penicilina, sobrevivieron.

3 Fue el creador de la palabra cromosoma. Ya mencionado en el Capítulo 1: Enanos y gigantes.

Reproducción, desarrollo y ciclo de vida⁴

Antes de continuar con los premios es necesario conocer algunos aspectos de la reproducción y el ciclo de vida de estos animales. Ya veremos porqué.

Los ratones copulan de noche y sus cuidadores se dan cuenta de ello al ver el depósito blanco y sólido que se forma en la vagina. El nacimiento tiene lugar entre 19 y 21 días más tarde. ¿Qué ocurre en el útero materno en ese período? El desarrollo del embrión se conoce con mucho detalle y para describirlo los científicos usan una serie de estadios establecidos por el investigador suizo Karl Theiler⁵. Durante los primeros días la célula original se divide para originar una esfera de células. Alrededor del día 6 esta esfera se implanta en la pared del útero, al tiempo que sigue aumentando el número de células y a los 10 días comienza una reorganización espacial de las mismas. En el día 16 los esbozos de todos los órganos del embrión ya están presentes y de allí en adelante su tarea principal consiste en crecer hasta el momento del parto. Las camadas están formadas por hasta una docena de crías con un peso aproximado de 1 g cada una. A las 3 semanas son destetadas, a las 6 semanas alcanzan la madurez sexual y pueden vivir hasta 2 o 3 años en condiciones óptimas. Un ratón adulto pesa entre 30 y 40 g.

El largo camino al Nobel 2007 empieza en una cuestión de potencia

Quiero volver a la primera parte del ciclo de vida de un nuevo ratón para explicar con un poco de detalle que ocurre con las células y los genes durante el desarrollo de un embrión. La primera célula de un animal contiene todos los genes heredados de sus padres y puede originar todos los tipos de células del adulto. Esta característica se llama “totipotencia” y la célula se puede describir como “célula madre maestra”. Como ya expuse en el capítulo 1, la mayoría de las células del adulto también tienen todos los genes (hay algunas excepciones) a pesar de tener formas y funciones diferentes. Se las llama “células diferenciadas”, por oposición a las que permanecen “indiferenciadas”.

La primera célula se divide en 2, cada una de ellas en 2, y así sucesivamente (4, 8, 16, 32, 64, 128, etc.) y al principio son todas iguales. La totipotencia per-

4 El término «ciclo de vida» (que figurará en todos los capítulos) es una metáfora usada por los biólogos para representar la sucesión de eventos que ocurren en la vida de un organismo, desde el cigoto al momento en que se reproduce. Se suele ilustrar con un círculo (no en este caso).

5 Theiler K. (1989). *The House Mouse: Atlas of Embryonic Development* Springer, 187 pag.

manece solo durante las primeras divisiones y comienza pronto a restringirse la capacidad de originar todas y cualquier célula del adulto. Las siguientes generaciones de células son también muy versátiles y, como conservan la potencialidad de transformarse en muchos tipos de células (pero no en todos), se conocen como “células madre pluripotentes” (entre los amigos, se las llama ES, por *embryonic stem cells*, que quiere decir células madre embrionarias). El embrión temprano, en el caso del ratón antes de implantarse en el útero materno, está formado principalmente por esas células madre pluripotentes.

Leroy C. Stevens y C. C. Little, del Instituto Jackson, descubrieron un aspecto muy importante de las células ES en los primeros estadios de desarrollo del embrión a partir de estudios de teratocarcinomas (un tipo de tumor) de ratones en 1954. Al dividirse, ellas originan, por una parte, células que se diferencian rápidamente y, por otra, células que permanecen indiferenciadas como lo eran sus “madres”.

La diferenciación de las células pluripotentes es gradual y comienza cuando algunos de sus genes se “encienden” y otros se “apagan”. Así pueden transformarse en “células madre multipotentes” que pueden originar diferentes “familias” de células estrechamente relacionadas. Por ejemplo, la sangre tiene células multipotentes que darán lugar a células sanguíneas de distinto tipo, pero no a neuronas. Finalmente, las células multipotentes son las “madres” de las células que están diferenciadas. O sea, que están especializadas para una función como, por ejemplo, las células nerviosas, musculares, óseas o sanguíneas, entre otras. Al mismo tiempo pierden la posibilidad de originar otras. El camino parecía ser unidireccional y se lo podría representar así:

totipotencia $\Rightarrow$ pluripotencia $\Rightarrow$ multipotencia $\Rightarrow$ especialización

Aparentemente no habría posibilidad de revertir ese camino. Por mucho tiempo los biólogos creían que las células especializadas perdían todas las posibilidades alternativas que tenían sus antepasadas. Era solo un viaje de ida.

Se sabía que unas pocas células madres multipotentes permanecen dispersas en el cuerpo del adulto y conservan la posibilidad de dividirse un gran número de veces. Así pueden, en varios tejidos, reemplazar las células especializadas que van muriendo. Pero nunca se había visto una célula especializada “retroceder” y transformarse en una célula madre. Unas pocas excepciones se descubrieron en algunos invertebrados, en particular medusas. La explicación propuesta para la pérdida de potencia era que los genes que

se apagan en las células especializadas son inactivados o suprimidos definitivamente.

Una hermosa metáfora del desarrollo que sintetiza esta visión la propuso el biólogo inglés Conrad Hal Waddington cuando lo comparó con un paisaje de picos y valles e imaginó que una célula madre era una bolita que se deja rodar en la cima de una montaña. A medida que desciende, se especializa y se dirige hacia un cierto valle. La bolita (y la célula que representa) no puede trepar la montaña y volver a ser célula madre, tampoco puede cruzar las colinas que separan los valles y transformarse en otro tipo de célula. Pero voy a retomar un poco más adelante el tema a partir de la primera palabra de un párrafo anterior: **¡aparentemente!**

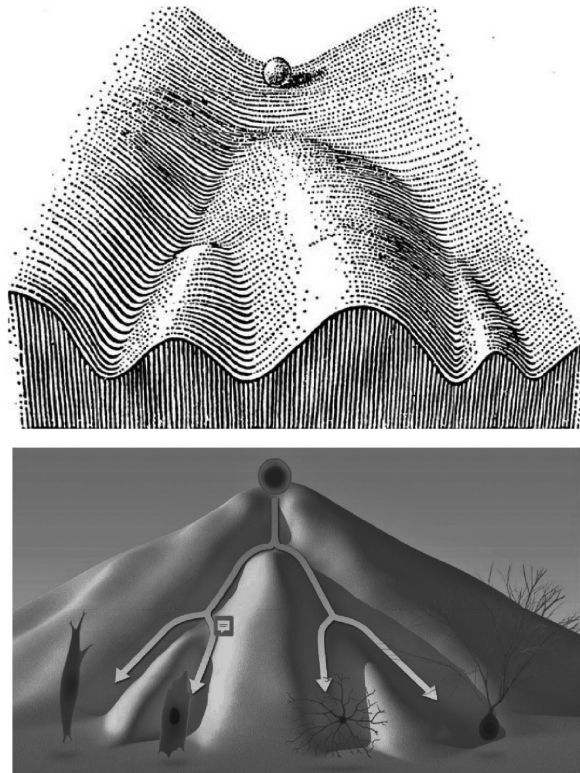


Figura 7. El paisaje de Waddington en sus versiones original y modernizada.

¡Los genes de los ratones se pueden manipular!

A partir del conocimiento detallado del desarrollo embrionario del ratón de laboratorio se pudo dar el gran salto en la investigación sobre el funcionamiento de los genes: la manipulación genética. En la década de 1960, Beatrice Mintz, del Fox Chase Cancer Center de Estados Unidos, desarrolló el primer ratón quimérico⁶.

El procedimiento consistió en un agregado de dos embriones en el estado de ocho células que se implantó en el útero de una “madre adoptiva”. Los ratones resultantes se desarrollaron normalmente y sus tejidos eran una mezcla de células derivadas de los dos embriones donantes. En 1974, ella publicó junto a Rudolf Jaenisch la primera evidencia de la integración de ADN extraño en el ADN de embriones tempranos de ratones. Jaenisch era un médico nacido en Alemania que optó por la investigación y llegó a ser profesor de biología del Instituto de Tecnología de Massachusetts (conocido como MIT, por sus siglas en inglés) en 1984. Fue un pionero en el desarrollo de animales transgénicos y se enfocó en la creación de ratones modificados genéticamente para estudiar el cáncer y enfermedades neurológicas.

El experimento de Jaenisch y Mintz consistió en inyectar ADN de un virus (que causa leucemia en monos) en embriones tempranos de ratón que implantaron en el útero de madres “adoptivas”. Estas habían sido “seudo-preñadas” por medio de un apareamiento previo con un macho estéril y eran receptivas a los embriones. Con este procedimiento demostraron la presencia de secuencias de ADN viral en ratones sanos adultos obtenidos a partir de la implantación de los embriones infectados. Estos ratones fueron los primeros mamíferos transgénicos en la historia. Sin embargo, no lograron que la modificación se transmita a la descendencia.

Por otra parte, Martin Evans, uno de los tres ganadores del Nobel en 2007, desarrolló en la década de 1970 un procedimiento exitoso para extraer células ES del embrión y cultivarlas en medios artificiales. Más tarde demostró que era posible insertar un gen alterado en esas células antes que se diferencien y que ese cambio se presentaba luego en todas las células del organismo adulto, incluso las reproductivas.

6 Una quimera, según el Diccionario de la RAE es: 1) un monstruo mitológico con cabeza de león, vientre de cabra y cola de dragón; 2) aquello que se propone a la imaginación como posible o verdadero, pero no lo es y 3) en biología, un organismo que resulta de la unión de células genéticamente distintas.

La técnica que usó se puede resumir en los siguientes 4 pasos:

1. extracción de embriones en los estadios previos a la implantación,
2. cultivo *in vitro* de las células ES en medios relativamente simples,
3. manipulación microquirúrgica, incluso aquellas que son necesarias para transferir un gen extraño, en este caso de un virus (¡o desactivar uno propio como veremos muy pronto!),
4. reimplantación de embriones modificados en el útero de una madre adoptiva.

A partir de entonces el desarrollo continúa normalmente hasta el nacimiento y fue posible encontrar ADN del virus en el genoma de algunos de los ratones-bebé que luego transmitieron a sus propios hijos (Figura 8). Este resultado, publicado en la revista *Nature* en 1986⁷, abrió un camino extraordinario de investigación. Además de la contribución a la medicina, los animales transgénicos, ¡que de eso se trata!, se pueden utilizar en ciencia básica para investigar el desarrollo embrionario y su regulación a nivel molecular, manipular de forma específica la expresión génica *in vivo* y conocer la función de genes específicos.

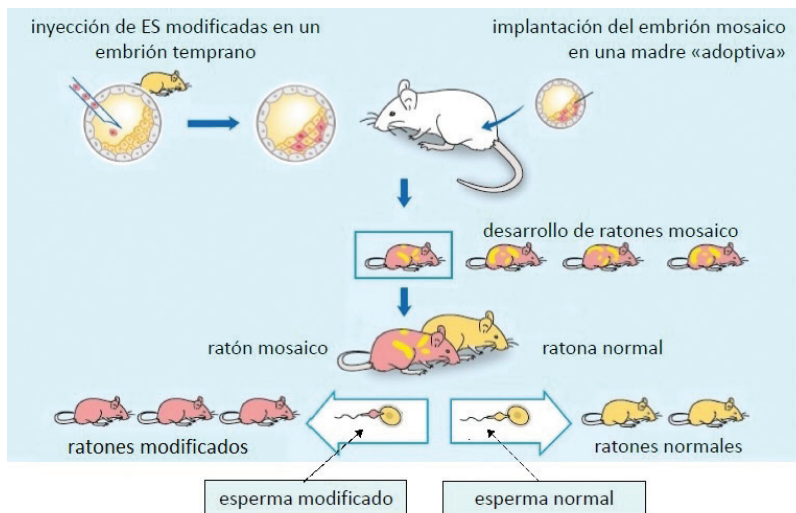


Figura 8. Obtención de ratones modificados genéticamente con el procedimiento de Evans (ES significa células madre embrionarias pluripotentes).

7 Robertson, E., Bradley, A., Kuehn, M., Evans, M. (1986). Germ-line transmission of genes introduced into cultured pluripotent cells by retroviral vector. *Nature* 323: 445–448

El ratón knockout

Un procedimiento clásico de la fisiología consiste en analizar que función se altera cuando “algo” no está (por ejemplo una glándula). Así se puede empezar a conocer el papel de ese “algo” cuando si está. ¡Sólo que esta vez se trata de un gen!

La técnica de Evans sirvió para que 1989, junto a Mario Capecchi y Oliver Smithies, crearan el primer ratón ‘knockout’⁸. Lograron desactivarle un gen durante la fase embrionaria para analizar su función. Los tres investigadores compartieron el Nobel en 2007⁹ por el conjunto de sus trabajos sobre células madre y modificaciones genéticas en modelos animales (Figura 9). De esta manera la pequeña mascota cumplió 100 años de colaboración con los Nobel.



Figura 9. Mario R. Capecchi, Sir Martin J. Evans y Oliver Smithies.

- 8 La técnica que conduce a la eliminación de una función de un gen en un ratón, u otros seres vivos, se denominó knockout, haciendo uso metafóricamente del término que describe una de las formas de obtener el triunfo en muchos deportes, como el boxeo, que significa significa “fuera de combate”.
- 9 The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2007 • <http://nobelprize.org> 11 pag.

¿Pero como es eso de desactivar un gen en las células ES? Capecchi y Smithies descubrieron como encontrar una secuencia específica entre los millones de pares de bases que constituyen el ADN y alterarla de una manera premeditada. El procedimiento que ellos desarrollaron mejora el usado para crear ratones transgénicos ya que en ese caso no era posible controlar exactamente donde terminaba el cambio y cuantas copias del gen se incorporaban.

A comienzos de la década de 1980, el grupo dirigido por Mario en la Universidad de Utah, en Estados Unidos, descubrió que secuencias de ADN inyectadas directamente en el núcleo de una célula de mamífero podrían ser incorporadas en los genes del receptor. Sus experimentos le sugirieron el uso de esta técnica para hacer cambios específicos en cualquier gen de un mamífero. Y Oliver, nacido en Inglaterra pero entonces en la universidad de Madison-Wisconsin, también en Estados Unidos, usó este método para introducir ADN alterado en células humanas cultivadas en el laboratorio.

Ambos eligieron un gen en particular para crear cambios dirigidos, ya que era relativamente sencillo detectar una inserción exitosa usando un medio de cultivo especial. El gen en cuestión codifica una proteína con un nombre larguísimo, y permitiéndome un abuso de confianza, la mencionaré solo por sus siglas: *Hprt*. En 1987 Oliver logró reparar un gen *hprt* defectuoso en células ES cultivadas inyectando un nuevo fragmento de ADN de un gen *hprt* intacto. Ese mismo año, Mario logró insertar una secuencia de ADN en el gen *hprt* que le permitía a las células que la contenían sobrevivir en un medio de cultivo que tenía un antibiótico específico (neomicina); de esta forma podía seleccionarlas. En la publicación correspondiente sugirió que la técnica podría usarse para crear ratones genéticamente modificados.

Sin embargo, pocas células incorporaban el ADN en la manera deseada y fue necesario agregar otra secuencia de ADN al gen a insertar. Esta nueva secuencia provenía de un virus y las células que lo contenían no podían crecer en un medio con una adecuada sustancia antiviral.

Con estas dos secuencias de ADN agregadas al fragmento a insertar se logró un procedimiento de selección que permitía descartar las células que tenían inserciones producidas al azar, que ocurren con una frecuencia miles de veces mayor que aquellas provocadas intencionalmente (Figura 10).

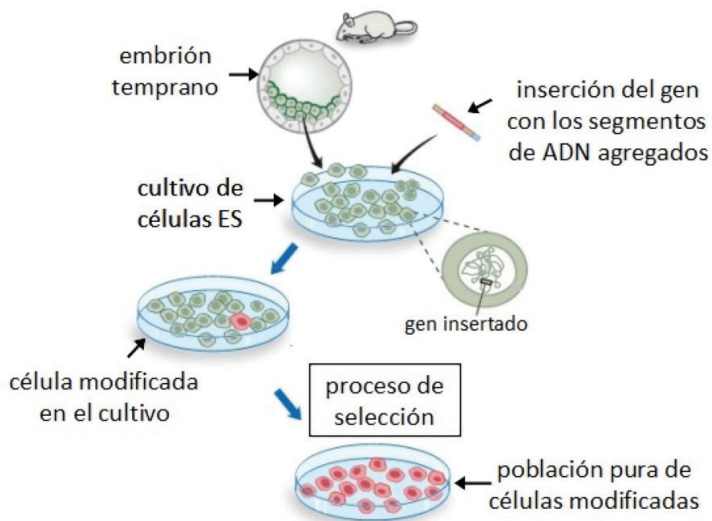


Figura 10. Modificación genética de células ES (células madre embrionarias) pluripotentes, su cultivo y selección.

A continuación, se repitió el proceso desarrollado por Evans y sus colegas en 1986 (Figura 8).

Los resultados publicados por Mario y su equipo en 1988, en la revista *Nature*¹⁰, hacen posible dirigir los cambios hacia un blanco específico. Hoy se han modificado más de 10000 genes, creando muchos tipos de ratones knockout, pero también activando genes (knock-on), alterando su función o remplazándola por otro gen (knock-in). La técnica es ahora tan precisa que es posible encender o apagar el gen insertado en un tejido determinado.

Un niño de la calle

Dejando de lado la biología por unos minutos, en mi opinión la dramática historia de vida de Mario Capecchi merece una mención especial. El sufrió en carne propia las devastadoras consecuencias de la Segunda Guerra Mundial, al igual que otros europeos contemporáneos que recibieron el

¹⁰ Mansour, S. L., Thomas K. R., Capecchi, M. R. (1988). Disruption of the proto-oncogene int-2 in mouse embryo-derived stem cells: a general strategy for targeting mutations to non-selectable gene. *Nature* 336: 348–352.

Nobel. Su madre, Lucy Ramberg, poeta y profesora de La Sorbona era norteamericana, pero vivía con su pequeño hijo en Italia. Ella fue arrestada en 1940 y encarcelada en el campo de concentración de Dachau. Mario quedó al cuidado de una familia de campesinos, a la cual su padre había dejado dinero previendo que ocurriera esa eventualidad. Al acabarse el dinero, un año después, fue abandonado y vivió en la calle varios años formando parte de pandillas de niños vagabundos. Por suerte, Lucy sobrevivió al campo de concentración, lo buscó y lo encontró en 1946 enfermo de tifus en un hospital. Mario y Lucy emigraron a Estados Unidos, donde los acogió la familia materna. Allí estudió y trabajó desde entonces. Es un fabuloso ejemplo de superación de la adversidad.

Marcha atrás en el ciclo de vida del ratón

Mus musculus volvió a participar del Nobel en 2012, esta vez colaborando con Shinya Yamanaka, investigador de la Universidad de Kyoto y uno de los dos ganadores del premio de ese año. ¡El ratoncito había regresado al Japón luego de un siglo y medio! Shinya compartió el Premio con John Bertrand Gurdon¹¹, quien trabajó con un sapo (habrá que esperar al capítulo 4 para conocer a este caballero británico).

Como expliqué un poco antes, las células de los tejidos de la mayoría de los animales adultos no pueden regresar a su estado embrionario. Se podría decir entonces que la diferenciación es irreversible (Figura 7). ¡Pero no es así siempre!

Shinya fue el primero en lograr que células “maduras” de un ratón reviertan su desarrollo y vuelvan a ser células madres pluripotentes. En su laboratorio había comenzado a estudiar las células madre pluripotentes obtenidas de embriones tempranos de ratón con el fin de entender como ellas retienen la pluripotencia, o sea como evitan especializarse. Así, pudo identificar en esas células unos genes cuya función es regular la actividad de otros que consideró asociados con la pluripotencia. Entonces seleccionó 24 de esos genes y los insertó, con la ayuda de un virus, de a uno por vez en células especializadas de la piel del ratón llamadas fibroblastos. ¡No pasó nada! Pero cuando insertó todos a la vez, algunas de las células cambiaron su forma y crecieron sus núcleos. Eran muy parecidas a las células madres del embrión. Luego de laboriosos experimentos, su equipo logró una conclusión sorprendente: se requería la actividad de solo 4 genes para que esas células de la piel recupe-

11 The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2012 • <http://nobelprize.org> 7 pag.

ren la pluripotencia. A esas células las llamó “células madres pluripotentes inducidas” (iPS por sus siglas en inglés) y cuando las inyectó en un embrión en desarrollo observó que podían diferenciarse nuevamente en todos los tejidos del adulto (Figura 11). Publicó sus hallazgos en 2006¹² y desencadenó el comienzo de numerosas investigaciones en todo el mundo. El resultado de este “boom” de experimentos fue mejorar la técnica y refinar el procedimiento de introducción de los genes responsables de la pluripotencia en las células diferenciadas.

Un año más tarde, Shinya logró reprogramar células de la piel humana y generar iPS, abriendo la posibilidad de su uso en medicina. La técnica iPS significa el acceso a una fuente ilimitada de células madre que anteriormente se basaba solo en células recolectadas del embrión, aunque éstas continúan siendo de gran interés. Eso es de particular utilidad para investigaciones con células humanas, ya que los embriones son difíciles de obtener y muchos consideran éticamente cuestionable su uso.

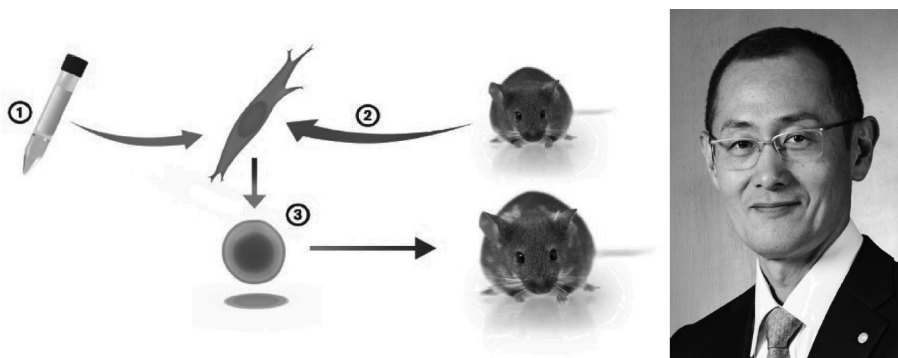


Figura 11. El experimento de Shinya Yamanaka. Introdujo los cuatro genes (1) en fibroblastos provenientes de un ratón (2) logrando que se des-diferencien y formen iPS (3) y a partir de ellos, las incorporó en un embrión con el procedimiento representado en la figura 8.

En 2007 el laboratorio del ya mencionado Rudolf Jaenisch del MIT fue uno de los tres primeros en describir la reprogramación de células obtenidas de la cola de ratones en iPS y a partir de allí mostró los beneficios terapéuticos de su uso en el tratamiento de la anemia falciforme y la enfermedad de Parkinson en ratones.

12 Takahashi, K., Yamanaka S. (2006). Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*, 126(4): 663–676.

Los ratones genéticamente modificados no recibieron medallas en Suecia pero merecían un monumento. ¡Lo tuvieron en Siberia!



Figura 12. Monumento al ratón de laboratorio en Novosibirsk, Rusia. Fotografía de Anna Gorbunova.

Capítulo 3

Huevos, pollos y gallinas

A diferencia del ratón, que es bienvenido en los laboratorios pero no en las casas, este organismo modelo es recibido con agrado en ambos lugares en las diferentes etapas de su vida: huevo, pollo o polla, gallina y gallo. Por una parte, es el animal de granja más común en todo el mundo y la principal fuente de proteína animal para la humanidad; por otra parte hizo posibles importantes descubrimientos a lo largo de toda la historia de la biología. No tiene todas las propiedades de los clásicos organismos modelos, dado que por su tamaño relativamente grande es difícil tener muchos individuos a la vez en un laboratorio. ¡Pero el gran tamaño es, en ocasiones, una ventaja para trabajar!

El nombre científico de este ave es *Gallus gallus domesticus* (Linnaeus, 1758), una subespecie de *Gallus gallus* (Linnaeus, 1758). Si se observa con cuidado, el nombre de Linneo y la fecha de su primer bautismo en el mundo de la ciencia están entre paréntesis. Eso se debe a que Linneo lo nombró de una manera un poco diferente en 1758: *Phasianus gallus* (en realidad, en 1748 lo había llamado *Gallus gallus*, pero eso no se tiene en cuenta por razones burocrático/científicas). El que recuperó el nombre del género (*Gallus*) fue el naturalista francés Mathurin Jacques Brisson tan solo dos años después.

El momento en que fue domesticado el que era su ancestro salvaje fue motivo de controversias durante casi dos siglos. Charles Darwin sostenía que el

ave doméstica descendía del gallo rojo de la jungla (otra subespecie de *Gallus gallus* que vive en islas del sur de Indonesia) por su parecido y porque los descendientes de una cruce de ambos eran fértiles. Además propuso que la domesticación tuvo lugar en India. Los arqueólogos en cambio, en base a restos óseos, consideraron que ocurrió en China hace 9000 años. El genoma completo de *Gallus gallus* fue secuenciado por primera vez en 2004¹. Un reciente estudio comparativo de ese genoma entre muchas poblaciones de la especie llegó a la conclusión que los pobladores de algunos lugares del sud de China y lo que es ahora Myanmar, Birmania, Tailandia, Malasia, Laos e Indonesia domesticaron una subespecie llamada *Gallus gallus spadiceus* (Bonnaterre, 1791) hace unos 9500 años (Figura 13). Migrantes y comerciantes la llevaron luego a través de Asia a todo el mundo.



Figura 13. *Gallus gallus spadiceus* macho, Kaziranga, Assam, India.

Dos momentos del ciclo de vida del *G. g. domesticus* fueron utilizados en experimentos científicos: embriones y adultos. Antes de mencionar algunos de esos trabajos, es conveniente conocer algo de ese ciclo. El único ovario de la gallina está ubicado cerca del infundíbulo, una especie de embudo que con-

1 International Chicken Genome Sequencing Consortium (2004). Sequence and comparative analysis of the chicken genome provide unique perspectives on vertebrate evolution. Nature 432: 695–716

tinua con un largo conducto tubular llamado oviducto. Este último consta de tres regiones (magnum, istmo y útero) y finaliza en la vagina. La fertilización del óvulo ocurre en el infundíbulo y el desarrollo embrionario, que tiene lugar a lo largo del oviducto, implica dos tareas. Por un lado, la multiplicación de las células a partir del cigoto, que es una célula muy grande y muy rica en sustancias nutritivas: la yema. Y por otro, la construcción de las envolturas del huevo a partir de glándulas del propio oviducto: primero se deposita una capa rica en una proteína que se llama albúmina (la clara), luego una cáscara blanda y por último la cáscara calcárea (Figura 14). Al cabo de 20 días, la gallina pone el huevo con el embrión aún incipiente, más la clara y la cáscara (también puede poner huevos sin fertilizar, y por lo tanto sin embrión, que son los usualmente usados como alimento). Durante las siguientes 50 horas continúan dividiéndose las células y comienza su reorganización de modo tal que ya es visible un mínimo embrión y un conjunto de membranas extraembrionarias que lo protegen. En los siguientes 4 días su forman todos los órganos del pollito pero la incubación continúa hasta el día 21 después de la puesta. En ese momento se produce la eclosión. Para alcanzar la madurez y la capacidad de dar origen a una nueva generación, las pollas necesitan unos 40 días adicionales.



Figura 14. Sistema reproductor de una gallina.

Pollos y gallinas, virus y cáncer, transcriptasa inversa y oncogenes

Las contribuciones de los adultos al desarrollo de la ciencia incluyen los trabajos del químico francés Louis Pasteur, quien inoculó pollos con la bacteria del cólera aviar proveniente de cultivos viejos y produjo la primer vacuna atenuada de laboratorio. Pero a comienzos del siglo XX el pollo se convirtió en una excelente herramienta que hizo posibles grandes avances en el estudio de la inmunidad y el cáncer. Para eso, hay que trasladarse a los Estados Unidos.

Peyton Rous trabajaba en el Instituto Rockefeller de Nueva York en 1911 cuando publicó su observación acerca del efecto de exponer a una gallina sana a un filtrado libre de células de un tumor maligno de otras aves, llamado sarcoma. Su conclusión fue que la infección de un virus aviar puede inducir sarcoma. En otras palabras, descubrió que el cáncer podía ser transmitido por un virus que ahora se conoce como el Virus de Sarcoma de Rous o RSV por sus siglas en inglés. Su hallazgo fue recibido con escepticismo y considerado como una curiosidad de las aves, quizás por el contexto histórico en el que tuvo lugar.

En efecto, hacía relativamente poco tiempo se había descrito el proceso de división celular y se había observado que las células tumorales se dividen de una manera similar a las normales, de las que difieren en su capacidad de invadir tejidos sanos. En una fecha todavía reciente se había descubierto que existían partículas que causan infecciones que son invisibles con el microscopio óptico y que pasan de largo inclusive en filtros que retienen bacterias².

Aunque Rous fue nominado por el Comité Nobel en 1926 (y en muchos años posteriores), finalmente recibió el merecido premio en 1966 a los 87 años de edad. Fue el premiado más longevo en Fisiología o Medicina³, y compartió el galardón con Charles Brenton Huggins por su descubrimiento de la dependencia de células normales y cancerosas de hormonas y su inmediata aplicación práctica para el tratamiento del cáncer de próstata y mamas en humanos. Huelga decir que este último no usó gallos ni gallinas en sus experimentos.

El descubrimiento de Rous fue el inicio de una serie de investigaciones que condujeron a varios Nobel. Hubo que esperar 60 años para ello. Primero fue necesario comprender que eran los virus, su estructura (proteínas y ácidos nucleicos) y su diferencia con las células, luego descubrir que los ácidos nucleicos de los virus podían ser ADN o ARN (como el RSV) y, finalmente, la herética propiedad de los virus con ARN de fabricar ADN, con lo que vulneraban el

2 Ver nota 24 del Capítulo 1: ADN, microbios y Nobel.

3 <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1966/summary/>

Dogma⁴. Esta propiedad (que permite hacer lo opuesto de lo que caracteriza a las células) se debe a la existencia de una enzima llamada transcriptasa inversa. Debido a ella, los virus con ARN se llamaron retrovirus; el RSV es uno de ellos.

La transcriptasa inversa fue descubierta en 1970 por Howard Temin de la Universidad de Wisconsin–Madison en el RSV y aislada por David Baltimore del MIT a partir del virus de la leucemia de ratones y del RSV. Por esos descubrimientos compartieron el Nobel en 1975 junto a Renato Dulbecco, un virólogo italiano nacionalizado estadounidense⁵.

En 1969, George J. Todaro y Robert J. Huebner habían propuesto la hipótesis del “oncogen”. Los oncogenes fueron originalmente definidos como genes virales cuya actividad puede conducir al desenfrenado crecimiento celular característico del cáncer. Un año después Steve Martin, entonces tesista y hoy profesor de la Universidad de California en Berkeley, anunció el aislamiento de un mutante de RSV que tiene un gen específicamente requerido para transformar las células normales del pollo en cancerosas. Ese fue el primer oncogen conocido, bautizado como v-src (la v es de virus, src es una familia de genes presentes en las células).

John M. Bishop y Harold Varmus, de la Universidad de California en San Francisco, propusieron que en realidad los virus como RSV capturan genes que están presentes en las células. En efecto, ellos identificaron un grupo de genes que controlan el crecimiento y la división celular de, en este caso, el pollo; mutaciones de estos genes conducen a la transformación de esas células en tumorales, originando el cáncer. Fueron bautizados “proto-oncogenes”. Por el descubrimiento del origen celular de los oncogenes retrovirales, ambos recibieron el Nobel en 1989⁶.

Dejando de lado los estudios sobre el cáncer y visitando brevemente el campo de la inmunología, vuelven a aparecer adultos de *Gallus gallus domesticus* en escena. Descubrimientos efectuados en pollos permitieron dividir la respuesta inmune en dos tipos: la humoral, mediada por anticuerpos y la celular. Bruce Glick extirpó un órgano de las aves, cuya función era entonces desconocida, llamado “Bolsa de Fabricius” o bursa. Los pollos sin bursa no podían ser inducidos a formar anticuerpos. Por esa razón, dedujo que la bursa era responsable de fabricar las células que los producen. Las células de la bursa se llamaron células B para diferenciarlos de las células T, producidas por el

4 Concepto ya mencionado en el Capítulo 1, El ADN, las bacterias y algunos Nobel

5 <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1975/summary/>

6 <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1989/summary/>

timo, que son las encargadas de la inmunidad celular. En los mamíferos, que no tenemos bursa, las células B son producidas por la médula de los huesos.

El embrión de pollo también ha sido una herramienta muy útil para el estudio de la inmunidad y el cáncer. Dado que hasta el día 14 de incubación el sistema inmunológico no es funcional, es posible trasplantar tejidos y cultivar virus. La membrana corioalantoidea, un tejido extraembrionario muy próximo a la superficie del huevo (Figura 15), es accesible al retirar una pequeña porción de la cáscara. Eso permitió observar “en vivo” muchas características de las células tumorales como el crecimiento, la invasión de los tejidos adyacentes, la vascularización de los mismos y su remodelación. Más tarde, sirvió como una plataforma para el análisis molecular del cáncer.

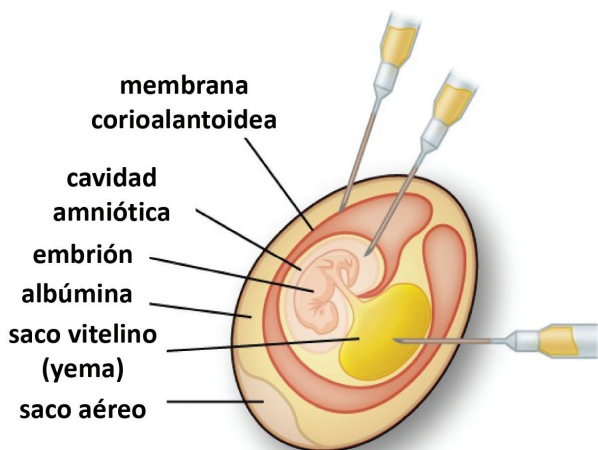


Figura 15. Esquema de un huevo embrionado de aproximadamente 14 días con las posiciones en las cuales se inoculan virus.

¡Pero el huevo fue primero!

La curiosidad sobre lo que ocurre en el interior del huevo durante la incubación es muy remota. El comienzo de las investigaciones sistemáticas sobre el desarrollo del pollo en particular y de los animales en general puede situarse alrededor del 350 AC. En ese tiempo, Aristóteles (¡cuando no!) observó los cambios del embrión de pollo en distintos momentos después de la puesta. Fueron los eventos fundacionales de la disciplina que hoy se conoce como embriología o biología del desarrollo. Nuevas contribuciones tuvieron lugar en el siglo XVI, llevadas a cabo por científicos europeos, como William Harvey, que describieron la

aparición de tejidos y nuevas estructuras a partir de una sustancia indiferenciada. Él incluso observó el desarrollo del corazón, y dio los primeros pasos para entender como es circulación sanguínea. Todo eso se logró sin usar el microscopio. Con el uso de ese instrumento, en el siglo XVII, Marcello Malpighi fue el primero en presentar una evidencia visible de la constitución detallada y la complejidad de un embrión temprano de pollo mediante el microscopio en su tratado "*De ovo incubato*". Ese profesor de la ya entonces antigua universidad italiana de Bologna detectó la existencia de tejidos embrionarios, es decir, de las primeras capas definidas de células que luego formarán los tejidos definitivos (Figura 16).

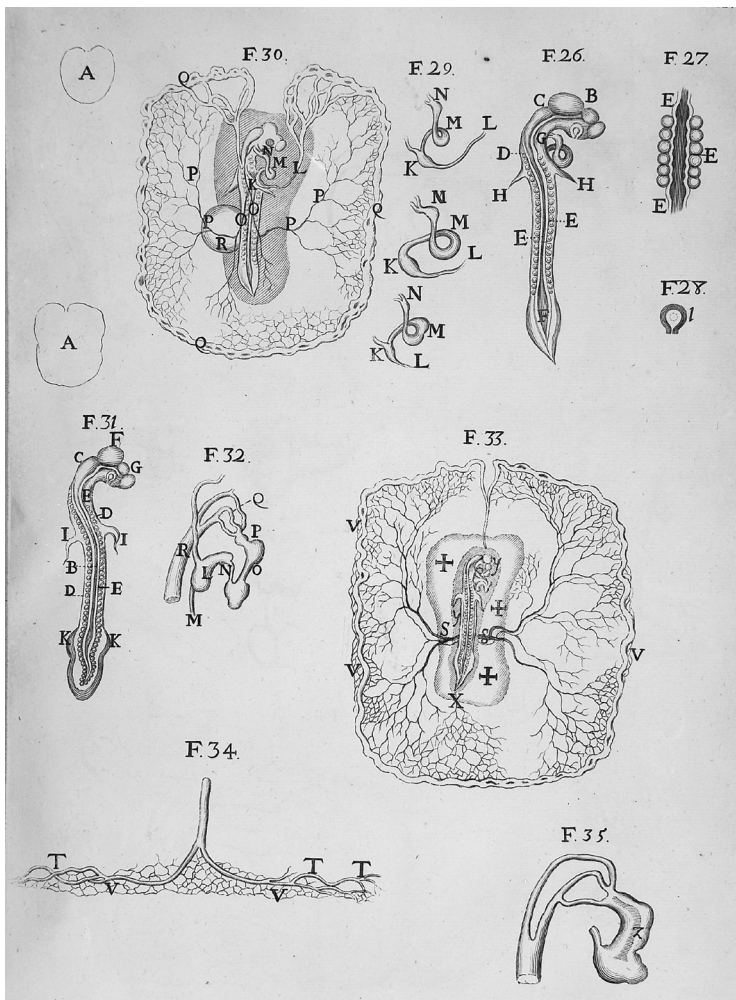


Figura 16. Esquemas del desarrollo embrionario del pollo debidos a Malpighi.

El uso del embrión de pollo como modelo de investigación para comprender aspectos básicos del desarrollo animal fue promovido por Frank R. Lillie en Estados Unidos. Este zoólogo estadounidense fundó, en la Universidad de Chicago, el grupo más conocido y exitoso de estudios experimentales sobre ese modelo y fue autor de un libro fundamental sobre el tema, publicado por primera vez en 1908. Se llamaba, como era de esperarse “El desarrollo del pollo”⁷. Al laboratorio de Lillie llegó, en 1932, Viktor Hamburger desde Alemania. Para poder tener una referencia del momento del desarrollo en que se encuentra un embrión, Viktor definió, en colaboración con Howard L. Hamilton, una serie de 46 estadios luego de la puesta del huevo. Ese trabajo se publicó en 1951⁸ y sigue siendo una referencia para quienes trabajan en este tema. En 1976, Hefzibah Eyal-Giladi y sus colegas de la Universidad Hebrea de Jerusalén, en Israel, desarrollaron un método manual para extraer huevos del conducto genital sin dañar a la gallina y pudieron establecer 14 estadios del desarrollo (I-XIV) que preceden a la puesta⁹.

Embriones, exilio y longevidad

Viktor trabajaba en la Universidad de Freiburg, en el laboratorio de Hans Spemann, en el desarrollo de embriones de anfibios (para saber más sobre Spemann, ganador del Nobel en 1935, hay que esperar al próximo capítulo). En Chicago, se entrenó en las técnicas de ablación y trasplante de estructuras en embriones de pollo. Al año siguiente se enteró que había sido despedido de su trabajo como consecuencia de las “leyes de limpieza de las profesiones” promulgadas por el gobierno Nazi, y que su única alternativa era permanecer en los Estados Unidos. Eso hizo: trabajó dos años más en Chicago y en 1935 se estableció en la Universidad Washington, en Saint Louis, donde pasó el resto de su vida dedicado al estudio del desarrollo del sistema nervioso del pollo y su relación con las estructuras periféricas que inerva.

En 1947 llegó Rita Levi-Montalcini a Saint Louis, desde su Italia natal. Rita provenía de una familia judía intelectual de Turin y, junto con su prima Eugenia Sacerdote, estudió medicina en la Universidad local donde fue compañera

-
- 7 Lillie, F. R. (1908). *The Development of the Chick. An Introduction to Embryology*. New York, Henry Holt, 514 pag.
 - 8 Hamburger, V.; Hamilton, H.L. (1951). Stages in the development of the chick embryo. *Journal of Morphology* 88: 49-92.
 - 9 Eyal-Giladi; Kochav. S. (1976). From cleavage to primitive streak formation: a complementary normal table and a new look at the first stages of the development of the chick. I. General morphology. *Developmental Biology* 49: 321-337.

de dos futuros Nobel, Salvador Luria y Renato Dulbecco, también judíos. Se recibió de médica en 1936, y se especializó en neurología y psiquiatría. Las leyes raciales de Mussolini le impidieron seguir la carrera académica. Salvador y Renato emigraron a Estados Unidos y Eugenia a la Argentina. Rita permaneció en Italia y en 1940, sentada en el suelo de un vagón de ganado leyó un trabajo de Viktor de 1934.

Resuelta a repetir esos experimentos, instaló un sencillo laboratorio en su dormitorio, obtuvo huevos fertilizados de una granja local, y fabricó una incubadora y sus propios instrumentos microquirúrgicos. Era tiempos de guerra, persecución y escasez; una vez concluidos los experimentos y extraídos los embriones, ¡ella comía el resto de los huevos! Y así, enfrentando el continuo riesgo de ser descubierta, pudo completar sus experimentos e incluso publicarlos en Bélgica. La interpretación de sus resultados fue un poco diferente de la de Viktor y éste la invitó a Saint Louis cuando terminó la guerra, considerando que sería bueno proseguir sus investigaciones en conjunto.

El uso de embriones de pollo permitió avances continuos en el conocimiento del desarrollo del sistema nervioso. El primer trabajo del dúo Levi-Hamburger, sobre el desarrollo de los ganglios espinales, es uno de los más importantes de la neuroembriología. Ambos lo diseñaron y discutieron los resultados pero Rita se ocupó del trabajo experimental y el primer análisis de los datos, en tanto que Viktor de escribirlo.

A fines de la década de 1950 descubrieron un factor esencial para el crecimiento y la supervivencia de ciertas neuronas, sin el cual ellas mueren. Ese hallazgo fue el colofón de un largo trabajo que se pudo llevar a cabo luego de lograr con éxito el “co-cultivo” de sarcoma (como vimos, es un tipo de tumor) de ratón y tejido nervioso de embrión de pollo. Para ello contaron con la ayuda de Hertha Meyer, una especialista en cultivo de tejidos. Hertha era alemana, y cuando los nazis llegaron al poder, se mudó a Turin donde la conoció Rita. Su estadía en Italia fue breve, ya que emigró de nuevo a causa del crecimiento del fascismo; finalmente llegó a Rio de Janeiro donde se integró al instituto dirigido por el Profesor Carlos Chagas. Rita viajó a Brasil en 1952 acompañada (en secreto) por dos ratones portadores de sarcoma. Allí se entrenó en cultivar células fuera del cuerpo. Pronto descubrió que pequeños fragmentos de sarcoma colocados en la cercanía de ganglios sensoriales de embriones de pollo de 6/7 días producían un impresionante crecimiento de las neuronas de estos últimos (Figura 17). Esto sugirió que los tumores producían una sustancia que estimulaba el crecimiento de los nervios. A su regreso a Saint Louis en 1953, Rita estableció sus propios cultivos experimentando con otros tumores.

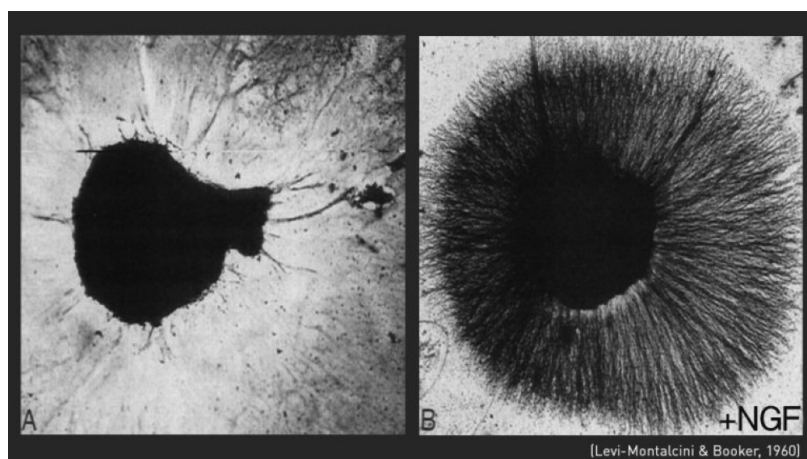


Figura 17. La famosa imagen de un ganglio sensorial de embrión de pollo cultivado en ausencia (izquierda) y presencia (derecha) del factor de crecimiento nervioso.

Esa sustancia fue identificada y bautizada con el nombre de “factor de crecimiento nervioso” o NGF por sus siglas en inglés (Figura 18). Para ello se contó con el aporte de un bioquímico, Stanley Cohen, que se unió al grupo en 1952. El NGF fue el comienzo de una serie de estudios que condujo al descubrimiento de una gran familia de factores del crecimiento que son reguladores claves durante el desarrollo normal y en enfermedades (incluso el cáncer). Entre ellos el “factor de crecimiento epidérmico” o EGF por parte de Stanley.

Rita y Stanley obtuvieron el Nobel de 1986 por su descubrimiento de los factores de crecimiento¹⁰. Viktor, en cambio, no lo recibió y eso fue motivo de quejas por parte del mundo de la neurociencias al considerar que él estuvo presente desde el origen de la línea de investigación, 50 años atrás. De hecho, antes del premio Viktor y Rita reconocían la importancia de sus contribuciones independientes y conjuntas al trabajo que condujo al descubrimiento del NGF (Figura 18).

¹⁰ <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1986/summary/>



Figura 18. Viktor Hamburger, Rita Levi-Montalcini y Stanley Cohen.

Lo que es indiscutible es que se trató de un laboratorio de longevos: ¡Viktor vivió 101 años, Stanley 98 y Rita 103! Para finalizar, hay unos datos adicionales y curiosos. Por un lado se encontraron altos niveles de NGF en gente recientemente enamorada, que descendían a sus valores originales al cabo de un año. Por otro lado se sugirió que el NGF puede contribuir a la longevidad y a un aumento de la capacidad mental. Rita Levi-Montalcini, ha estado tomando NGF diariamente, como gotas oculares, y sostenía que a sus 100 años su cerebro estaba más activo que 4 décadas antes. Sus últimos artículos fueron publicados pocos meses antes de su fallecimiento, en su casa de Roma.

Capítulo 4

Salamandras, sapos y ranas

Salamandras, axolotes, sapos y ranas son los integrantes más conocidos de un grupo de animales vertebrados llamados anfibios. Los primeros vertebrados vivían en el agua, como los peces actuales. La “conquista” del ambiente terrestre fue posterior y, en la mayoría de los anfibios, la reproducción y las primeras etapas de la vida aún tienen lugar en el ambiente acuático. El desarrollo embrionario no ocurre en el interior de las madres (salvo algunas curiosas excepciones) y finaliza en una larva que se mueve, alimenta y respira (por branquias) en el agua. Las larvas de las salamandras son similares a los adultos, pero las de ranas y sapos se parecen al principio más a un pez que a un individuo juvenil o maduro de la misma especie. Son los renacuajos que, llegado un momento, se transforman espectacularmente en una rana o un sapo capaz, en muchos casos, de abandonar el charco en que nacieron y comenzar su vida terrestre.

Las contribuciones de los anfibios a la ciencia más tempranas tuvieron lugar en la Italia del siglo XVIII. Allí, Luigi Galvani, profesor de la Universidad de Bologna, llevó a cabo sus famosos experimentos sobre los efectos de la electricidad en los músculos de las patas de ranas (usó las especies comunes en su región). Con ellos formuló su hipótesis de la existencia de electricidad intrínseca en los tejidos animales involucrada en procesos como la conducción nerviosa y contracción muscular. Así sentó las bases de la electrofisiología. Al mismo tiempo, el sacerdote y naturalista Lazzaro Spallanzani, que era profesor de la Univer-

sidad de Pavia, estudió la fecundación de las ranas, demostrando que ocurría fuera del cuerpo materno, y la regeneración de patas en las salamandras.

El comienzo de la embriología experimental

Durante la mayor parte del siglo XIX el conocimiento de las primeras etapas de la vida animal aumentó de manera muy intensa gracias a detalladas y metódicas observaciones. Pero hacia fines de ese siglo se comenzaron a hacer experimentos que consistían en alterar el desarrollo y observar las consecuencias. Una breve revisión de la historia de la embriología permite conocer el contexto en el cual tuvo lugar esta novedad.

La vieja controversia entre preformación y epigénesis¹, aún dividía a los embriólogos. En términos contemporáneos se discutía si las “instrucciones para construir” un animal estaban rígidamente establecidas o bien si eran el resultado de interacciones a lo largo del desarrollo del embrión, respectivamente. Sin embargo, los fundamentos de ambas teorías eran entonces solo especulativos.

Para establecer una fecha para el comienzo del nuevo enfoque experimental del desarrollo es razonable elegir el año 1888. Fue entonces cuando el alemán Wilhelm Roux publicó su observaciones acerca de la primera división celular del cigoto de la rana verde comestible que él conocía como *Rana esculenta* Linnaeus, 1758. Esta rana se llama hoy *Pelophylax kl. esculentus* (Linnaeus, 1758), que es un híbrido (por eso su nombre lleva las letras kl) entre dos especies cercanas de *Pelophylax*. A diferencia de muchos híbridos entre especies, este puede ser fértil.

Al destruir una de las dos células que resultan de esa división con una aguja caliente y observar el desarrollo de la otra, encontró que siempre obtenía solo medio embrión. Se trataba de la mitad delantera, la posterior o una de las longitudinales. Este experimento demostraba, aparentemente, que cada una de las células contenía una parte de las “instrucciones”. Un desarrollo rígido. En realidad el resultado no era correcto y se debió al efecto dañino de la célula muerta sobre su compañera. La demostración de que cada una de las dos células de un embrión temprano podía generar un individuo completo cuando se las separaba (o sea, que ambas células tenían todas las “instrucciones”; un desarrollo flexible) llegó en 1892 y su autor fue Hans Driesch. Pero ese embriólogo, también alemán, usó erizos de mar como modelo animal, tal como veremos en el capítulo 5. Hubo que esperar unos años para comprobar que lo mismo ocurre en los anfibios

1 Capítulo 1: Controversias sobre los embriones

Las ranas ayudan a definir la idea de “modelo de investigación”

Las ranas llegaron a la ceremonia solemne que se celebra en Estocolmo en 1920 de la mano del danés August Krogh, muy recordado por su “Principio”, que expliqué en el capítulo 1. Se trataba de dos especies de anfibios muy comunes en Europa: la rana verde *Pelophylax esculentus* (la ex *Rana esculenta* ya mencionada) y la rana común europea *Rana temporaria* Linnaeus, 1758. Con esos bichos, y varios otros, él realizó sus trabajos sobre la fisiología de la respiración y el papel de los capilares sanguíneos por los cuales recibió su Premio². Solo dos años después *Rana temporaria* volvió a Suecia, esta vez en compañía del inglés Archibald Hill y el alemán Otto Meyerhof quienes fueron galardonados por sus estudios de la fisiología del músculo³.

Y más tarde le tocó el turno a las salamandras

Las salamandras son anfibios que mantienen durante toda su vida una cola con la que nadan y tienen generalmente cuatro extremidades similares; algunas conservan las branquias en estado adulto. Ellas participaron en el descubrimiento de la mitosis por Walther Flemming a partir de 1878, uno de los eventos fundamentales de la biología celular cuya historia narré en el capítulo 1.

Estos interesantes animales fueron, y siguen siendo, modelos óptimos para estudiar la regeneración de patas, y el más usado de entre ellos es el axolote. Como su nombre sugiere, se trata de una salamandra mexicana. Aunque es común hallarlo en tiendas de acuarios y laboratorios en todo el mundo, el axolote está en peligro de extinción en su hábitat natural: los lagos alrededor de la ciudad de México.

En 1864 llegaron a París los primeros ejemplares vivos de axolote, y de allí se expandieron por toda Europa gracias, sobre todo, a la aclimatación y difusión lograda por aficionados a los acuarios. El interés científico inicial se enfocó en las particularidades anatómicas, su metamorfosis atípica, y en determinar si el resultado de ella era una larva o un adulto. Luego se usó como modelo en estudios de evolución, tanto a favor como en contra del darwinismo, y sobre la herencia de los caracteres adquiridos. Finalmente, se expandió su uso en la investigación científica sobre el desarrollo, y, especialmente, la regeneración. Actualmente existen líneas transgénicas y un

2 <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1920/ceremony-speech/>

3 <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1922/ceremony-speech/>

gran interés en el estudio de las células madre que lo hacen renacer como un importante animal de laboratorio. Pero todavía al axolote no le tocó el turno de acompañar a un Nobel.

Unas especies europeas de salamandras, que se llaman comúnmente tritones llegaron a la ceremonia de Estocolmo unos años más tarde que las ranas, en 1935, cuando el zoólogo alemán Hans Spemann recibió el Nobel por el descubrimiento del efecto conocido como inducción embrionaria⁴. Los tritones son personajes de la mitología griega en los que la parte superior del cuerpo es de un humano y la inferior de un pez. Es equivalente a una sirena, pero masculino (Figura 19).

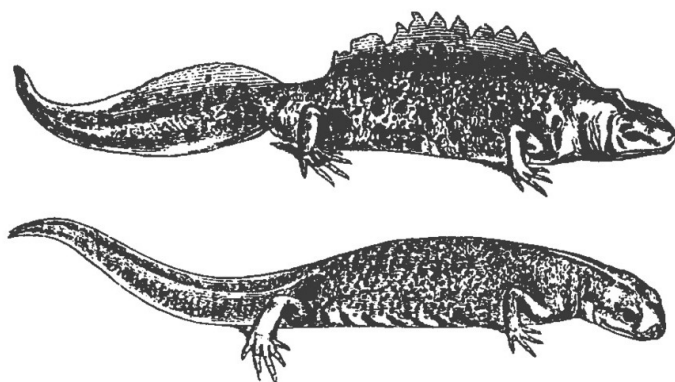


Figura 19. *Triturus cristatus* (Laurenti, 1768). Arriba el macho con su cresta presente en la época reproductiva; abajo la hembra.

Los primeros experimentos de Spemann comenzaron en 1897 y de alguna manera demostraron, con tritones, que las conclusiones del trabajo de Roux con ranas estaban equivocadas, confirmando los ya mencionados hallazgos de Driesch en erizos de mar.

Mediante un cabello de su hija Margrette, que eligió debido a su delgadez, separó con un nudo las dos células iniciales de un embrión de tritón. Esas células permanecieron unidas solo por una zona delgada. Dejó que prosiguiera el desarrollo y observó que aparecían dos embriones, más pequeños que el original, pero completos. Practicando la constricción en el cigoto, obtenía una parte con el núcleo celular y otra sin él. Si dejaba que el núcleo se diviese varias veces y después hacía pasar uno de ellos a la parte “vacía” (sin

⁴ <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1935/ceremony-speech/>

núcleo), obtenía dos embriones de distinto tamaño. El más pequeño era el que recibió el núcleo más tarde (Figura 20). Pero resulta que el cigoto no es una esfera indiferenciada: tiene dos “polos” algo diferentes y, por lo tanto, un “ecuador”. El experimento solo tenía éxito cuando el nudo separaba las mitades del cigoto de modo tal que ambas tuvieran material de los dos polos. Pero si el nudo lo efectuaba a lo largo del ecuador del cigoto, no lograba ese resultado y eso fue una señal de la existencia de distintas regiones en el cigoto.

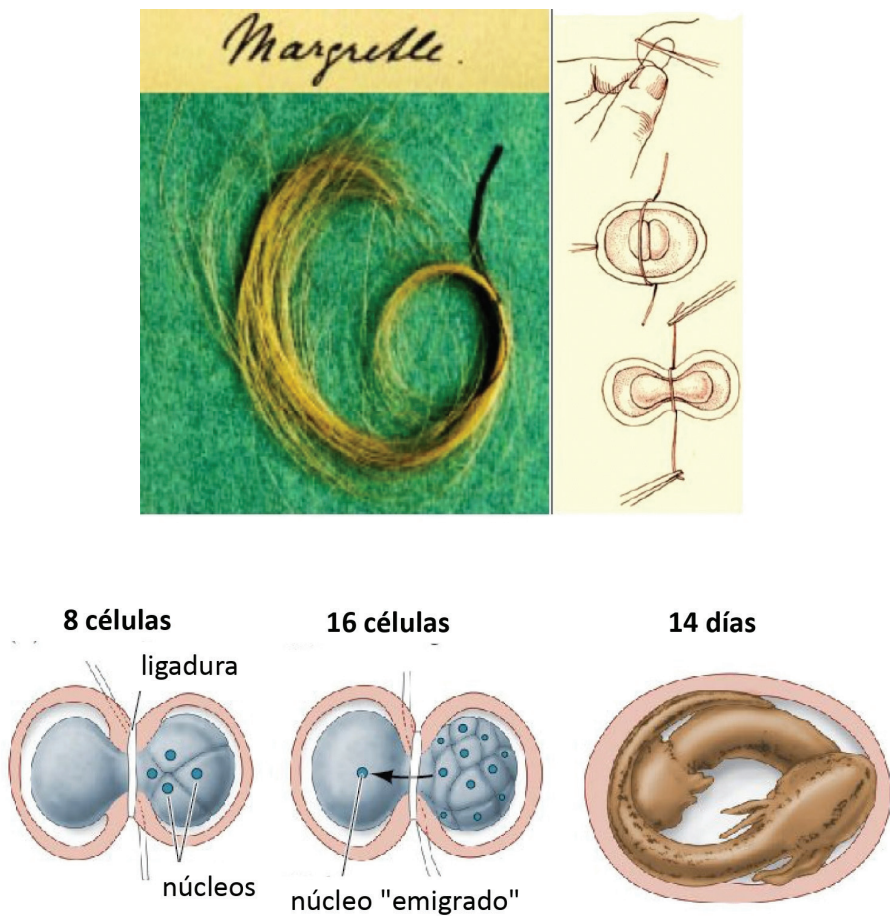


Figura 20. Cabellos de Magrette Spemann, el procedimiento experimental empleado por su papá en 1903 y el resultado del mismo.

Simultáneamente, Spemann estudió otro fenómeno usando primero una rana, que hoy se llama *Pelobates fuscus* (Laurenti, 1768) y que él conocía como *Rana fusca* Meyer, 1795. Se trata de la **inducción** de un tejido por otro durante el desarrollo. Para eso tomaba embriones avanzados que ya tenían formado el cerebro, incluso lo que se llama “copa óptica” a los lados del mismo. Se trata de la parte que inervará el ojo. Cuando extirpaba la copa de un lado, la epidermis de ese lado no generaba el cristalino, que es el lente del ojo. Mientras tanto, el ojo del otro lado se construía normalmente. Llegó a la conclusión que el tejido nervioso de la copa era necesario para que se diferencie el tejido epidérmico y se forme el lente.

Más tarde, el interés de Spemann derivó desde la formación de órganos específicos hacia los fenómenos inductivos que ocurren en las primeras etapas del embrión y que condujeron a la formalización del concepto de “organizador”.

Inducción: hay que organizar el embrión (poner las partes en su lugar)

Entre 1914-1919 Hans Spemann realizó experimentos de constricción en estadios embrionarios más tardíos, llamados gástrula. Las gástrulas son el resultado de desplazamientos de las células que en el caso de los anfibios y otros animales (pero no en todos) consiste en un ingreso al interior de la temprana esfera de células. El resultado es una cavidad interna comunicada con el exterior por un orificio llamado blastoporo. En este estadio, las porciones aisladas del embrión que contenían el lado dorsal del blastoporo formaban embriones más complejos que aquellos que contenían otras partes. Los biólogos usan términos curiosos para nombrar las cosas y a esa parte del embrión la llaman “labio dorsal del blastoporo” o labio dorsal, si hay suficiente confianza.

Spemann describió el labio dorsal del blastoporo como “centro de diferenciación” (1918) y luego como “centro de organización” (1919): este centro actuaría influenciando la diferenciación y organización de células situadas por fuera de él. Eso es un caso evidente de inducción embrionaria. El próximo paso fue usar técnicas de trasplante para examinar directamente si el labio dorsal del blastoporo podía cambiar el destino de otras células (1916), que complementó luego con trasplantes interespecíficos como una manera de reconocer los tejidos del donante y el receptor (1917). Ya había antecedentes de esas técnicas: el embriólogo estadounidense Ross Harrison había logrado trasplantes interespecíficos con éxito entre embriones de *Rana palustris* y *R. sylvatica* en 1903. Con ese procedimiento Spemann comenzó a trabajar con

tres especies de tritones que difieren en la pigmentación de sus huevos: *Triton taeniatus* Linnaeus, 1758 y *Triton alpestris* Laurenti, 1768 (pigmentados) y *Triton cristatus* Laurenti, 1768 (no pigmentados). Los nombres de las tres especies cambiaron y ahora son *Lissotriton vulgaris*, *Ichthyosaura alpestris* y *Triturus cristatus* (el de la Figura 19), respectivamente.

Los primeros resultados de los experimentos de trasplante aparecieron en 1921, pero la única mención del uso del labio dorsal del blastoporo fue incluida como una “postdata”; se trataba de un solo experimento llevado a cabo por su nueva estudiante graduada, Hilde Pröescholdt (luego, de casarse se llamó Hilde Mangold) mientras escribía el artículo. A partir de entonces, ella trató de repetir con éxito ese experimento y, de cientos de embriones quiméricos, solo 5 sobrevivieron; esos 5 datos formaron la base del artículo publicado en 1924 junto a Spemann.

Ese trabajo formó parte de la tesis doctoral de Hilde Mangold y es considerado el fundamento de la obtención del Nobel por parte de su profesor. Ella murió poco después de la publicación conjunta de los resultados en 1924, por un accidente doméstico.

El labio dorsal fue tomado de *T. cristatus* (huevos no pigmentados) e implantado en *T. taeniatus* (huevos pigmentados); las células trasplantadas podían distinguirse por su coloración incluso en la superficie del embrión entero. La mayoría de los embriones murió en estadios de relativamente tempranos y solo uno (Um 132) llegó a un estadio tardío. Los cortes histológicos de los 5 embriones que sobrevivieron mostraron que las células del donante y del receptor se podían distinguir en el interior del embrión. Las células del labio dorsal del blastoporo trasplantadas al lado ventral organizaron a las células vecinas de modo tal que se formaron un segundo sistema nervioso central, los precursores de la musculatura dorsal y hasta otro intestino (Figura 21). La conclusión fue que el pequeño grupo de células que forma el labio dorsal tiene la capacidad de diferenciar las células adyacentes y generar la parte dorsal del embrión. Fue bautizado “organizador primario” y luego “organizador de Spemann-Mangold”.

La baja supervivencia de los embriones trasplantados se debió a infecciones microbianas y al uso de agua de estanques, cuya composición iónica difería de los fluidos intraembrionarios. Pocos años después, un discípulo de Spemann, Johannes Holtfreter, desarrolló un medio de cultivo y un procedimiento de esterilización del instrumental que aumentó la supervivencia de los embriones hasta estadios en los que se reconoce cabeza y cola. Como tantos otros, Holtfreter tuvo que abandonar su país debido a la persecución de los nazis, y finalmente desarrollo una prolífica carrera en los Estados Unidos.

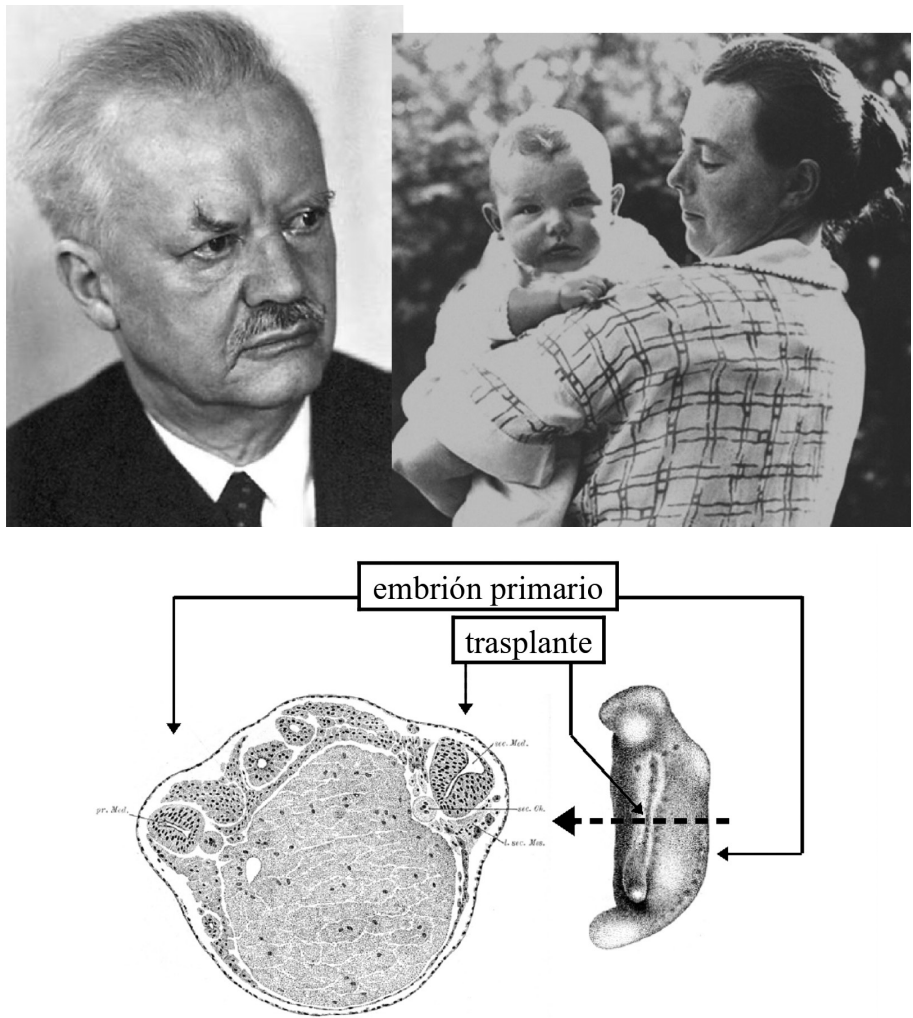


Figura 21. Arriba: Hilde Mangold con su bebé en 1924 y Hans Spemann. Abajo: Fotografías del trabajo original de Spemann y Mangold de 1924. A la derecha el embrión 132 intacto y a la izquierda un corte delgado (visto en microscopio) realizado en la mitad del mismo (línea de puntos) que muestra el desarrollo de la parte dorsal de dos embriones en paralelo (flechas), una de ellos a partir del trasplante.

En 1932 Conrad Waddington, un viejo conocido nuestro⁵, descubrió la ubicación del organizador primario en el embrión de pollo, que es aparentemente

5 Capítulo 3: El largo camino al Nobel 2007 empieza en una cuestión de potencia

muy distinto al de los anfibios dado que no hay una estructura comparable al blastoporo. Ese fue el primer paso, luego se descubrió en la mayoría de los animales, hasta en anémonas de mar y esponjas. Eso no es de extrañar: en 1909 Ethel Browne, una estudiante de postgrado de la Universidad de Columbia, en Estados Unidos, publicó un artículo en el que demostró por primera vez la inducción por medio de trasplantes. El modelo de investigación de quien sería luego experta en embriología de erizos de mar, fue *Hydra*, un animal muy simple pariente de medusas, corales y anémonas de mar.

La historia de la ciencia planteó aquí varias preguntas provocativas sobre las razones por las cuales ni el comité Nobel ni otros embriólogos relacionaron su descubrimiento con el de Spemann y Mangold. ¿Se debió a considerar que *Hydra* estaba muy alejada de los vertebrados o la razón fue que Browne solo era estudiante y además mujer? ¿Tuvo el artículo alguna influencia en el pensamiento de Spemann y Mangold? El primero de ellos nunca lo mencionó aunque se sospecha que si lo leyó⁶.

A lo largo de las décadas siguientes se fue descubriendo **como se organiza el organizador**. Para ello hubo que desandar el desarrollo del embrión hasta llegar al cigoto, y más atrás, hasta el ovocito sin fecundar. El modelo de investigación cambió: las salamandras fueron reemplazadas por una rana sudafricana que se convirtió en estrella, como veremos más adelante. Primero se describió una secuencia de eventos visibles en el embrión que se inicia con una acumulación de ARNm en una región definida del ovocito. El paso siguiente fue el estudio de la biología molecular de la inducción. Es decir, ¿cuales son las proteínas que ese ARNm produce y cuales los genes responsables de su producción? Un equipo dirigido por Edward De Robertis, un profesor de la Universidad de California en Los Angeles, aisló el primer gen específico del organizador. De Robertis es conocido en el mundo académico como Eddie y nació en Montevideo, Uruguay, durante el exilio de su padre, un científico argentino que mencionaré más adelante en este capítulo. Luego fueron hallados distintos genes que se activan sucesivamente, unos a otros, desde el ovocito sin fecundar hasta que hay evidencias físicas del organizador primario, o sea el labio dorsal. Así se pudo descubrir como se regula el desarrollo de los demás tejidos del embrión, particularmente la disposición de los mismos en el eje dorso-ventral del cuerpo (el que va de la panza a la espalda, en nuestro caso). Por último (por ahora), hubo un descubrimiento fundamental para entender muchos detalles de la evolución de los animales del cual participó Eddie: los

6 Lenhoff, H. M. (1991). "Ethel Browne, Hans Spemann, and the Discovery of the Organizer Phenomenon, Biological Bulletin 181:72-80.

mismos genes organizan ese eje dorso-ventral en distintos animales no importa que órganos se ubican en el dorso y cuales en el vientre. Pero eso es otra historia, no nobelizada aún⁷.

El sapo argentino

El zoólogo y paleontólogo alemán Reinhold Friedrich Hensel fue comisionado por la Academia de Ciencias de Berlín para ir al sur de Brasil y coleccionar especímenes de animales cerca de la colonia alemana existente en Porto Alegre. En 1867 publicó la descripción de una especie de sapo encontrado en Rio Grande que bautizó como *Bufo arenarum*. Se trata de un anfibio muy común en Argentina, Chile, Uruguay, sur de Brasil y Bolivia y que habita incluso en ambientes urbanos. Se lo llama “sapo argentino” y, tras haber cambiado recientemente de nombre genérico, la ciencia hoy lo denomina *Rhinella arenarum* (Hensel, 1867) (Figura 22). Durante muchos años fue usado como modelo de investigación en endocrinología por Bernardo Alberto Houssay quien recibió el Nobel en 1947 por sus descubrimientos sobre el papel que desempeñan las hormonas de la hipófisis en la regulación de la cantidad de la glucosa en la sangre. Compartió el honor con los checos (nacionalizados norteamericanos) Carl Ferdinand Cori y Gerty Theresa Cori, la primera mujer en recibir el Nobel en Medicina o Fisiología, que descubrieron el mecanismo de la conversión catalítica del glucógeno.



Figura 22. *Rhinella arenarum* (Hensel, 1867) y Bernardo Houssay.

⁷ Spivak, E. La langosta invertida. Apuntes sobre evolución y desarrollo animal Ciencia Hoy 11(56): 50-57.

Don Bernardo fue el primer argentino y latinoamericano laureado en Ciencias por la Academia Sueca. Su primer trabajo lo había publicado en 1910 y trataba sobre la hipófisis de la “rana criolla” que entonces se llamaba *Leptodactylus ocellatus* (Linnaeus, 1758) y, a partir de 2010, *Leptodactylus latrans* (Steffen, 1815). Continuó con sus trabajos sobre la hipófisis con *Rhinella arenarum* pero luego se interesó por la mayoría de las glándulas endócrinas y en especial en la interacción de las mismas, usando otros modelos animales como los perros. Así descubrió el papel del lóbulo anterior de la hipófisis en la regulación del metabolismo de los hidratos de carbono y en la patogénesis de la diabetes; por esos hallazgos recibió el Nobel. Estuvo alejado de la Universidad entre 1943 y 1955 por su disidencia con los gobiernos de ese momento, y por ese motivo su logro fue poco celebrado en su país entonces.

En 1942, el citólogo Eduardo D. P. De Robertis (el padre de Eddy) trabajaba en el Instituto de Anatomía General y Embriología que dirigía entonces Houssay. También exiliado, primero trabajó en Montevideo, Uruguay, luego en Estados Unidos, y la importancia de su contribución a la ciencia la trataré un poco más adelante; regresó a la Argentina luego de 1955. Pero volviendo al sapo, De Robertis padre descubrió que la inyección de una hormona de la hipófisis llamada gonadotrofina provoca la liberación de espermatozoides en machos de *Rhinella arenarum*. Su colega Carlos Galli Mainini, que trabajaba en un hospital de Buenos Aires, inyectó orina de mujeres embarazadas (que debería contener gonadotrofina) en el saco linfático dorsal de sapos macho. Luego de 2 o 3 horas examinó la orina del sapo al microscopio y allí estaban los espermatozoides. Bautizada en su honor como Reacción de Galli Mainini, proporcionó un modo eficaz y económico de diagnóstico precoz del embarazo usado masivamente en toda América Latina durante varias décadas por su simplicidad y bajo costo, hasta la introducción de nuevos tests inmunológicos en la década de 1960.

Las ranas y los neurotransmisores

La rana verde comestible de Europa, *Pelophylax esculentus*, volvió a aparecer en Estocolmo en 1936. Ella tuvo una parte importante en estudio sobre las bases químicas de la transmisión nerviosa que llevaron a cabo Henry Dale y su amigo Otto Loewi, por el cual ambos recibieron el Nobel⁸.

La historia había comenzado casi 40 años antes cuando Santiago Ramón y Cajal⁹ estableció la neurona como la unidad funcional del sistema nervioso en

8 <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1936/ceremony-speech/>

9 Capítulo 2: Debut en Estocolmo de la mano de un español y un italiano

el año 1889, y continuó cuando el polifacético científico inglés Charles Scott Sherrington inventó en 1897 la palabra sinapsis para definir al espacio entre las neuronas por el cual se transmite el “impulso nervioso” (Figura 6). Sherrington y su compatriota Edgar Adrian recibieron el Nobel en 1932 por sus descubrimientos relacionados con las funciones de las neuronas¹⁰.

En un principio la idea que prevaleció para explicar como se transmitía el impulso entre neuronas era la sinapsis eléctrica, o sea (en términos actuales) el paso de la excitación eléctrica directamente de una a otra. Todo el asunto de la conducción nerviosa a lo largo de una neurona lo veremos más adelante, pues se usó otro animal para entenderlo: el calamar (capítulo 6). En 1877, cuando dominaba la teoría de la transmisión eléctrica, el fisiólogo alemán Emil Du Bois-Reymond propuso una hipótesis diferente, aunque no la pudo fundamentar en evidencias empíricas. Consistía en que los nervios podrían estimular los músculos por medio de sustancias químicas. Son las que ahora conocemos como neurotransmisores, moléculas que se producen de un lado de la sinapsis, atraviesan ese espacio y actúan del otro lado. La adrenalina y la acetilcolina fueron los primeros neurotransmisores que se descubrieron.

En 1904 Thomas Elliott había observado que los efectos de algunos compuestos de la sangre (como la hormona adrenalina) sobre los tejidos eran muy similares a los de la estimulación los nervios del sistema nervioso simpático¹¹. Propuso que cuando los nervios simpáticos se estimulaban liberaban una sustancia (en este caso la adrenalina) por sus terminaciones nerviosas que afectaba a los órganos del cuerpo. Y al año siguiente John Langley, fisiólogo de la Universidad de Cambridge en Inglaterra, propuso el concepto de receptores específicos que unen sustancias transmitidas (o también drogas) a las células iniciando efectos biológicos o inhibiendo funciones. Estos receptores fueron entidades hipotéticas hasta la década de 1960.

Vuelvo a Dale y Loewi. El primero, inglés, descubrió la acetilcolina hacia 1914 y observó que su efecto sobre los órganos del cuerpo era similar a la estimulación del sistema nervioso parasimpático. Otto Loewi, por otra parte, había nacido en Alemania y consiguió trabajo en Austria, donde experimentó con las ranas hasta que lo echaron los nazis por ser judío; como en otros casos ya mencionados, emigró a los Estados Unidos. Sin embargo no existían pruebas del papel de los neurotransmisores en el funcionamiento de los nervios

10 <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1932/ceremony-speech/>

11 El sistema nervioso autónomo inerva los músculos involuntarios de los órganos internos. Se reconocen varios subsistemas, entre ellos dos de efectos opuestos: el simpático (activación) y el parasimpático (regreso al estado de equilibrio y conservación después de la activación).

hasta 1921, cuando Loewi publicó el primero de una serie de artículos en los que describía sus experimentos con ranas. En ese año también propuso el concepto de transmisión neuro-hormonal, o sea de neurotransmisores que actúan en la sinapsis entre un nervio y una glándula endócrina.

Cambiamos de rana pero no de tema. El Nobel de 1970 fue compartido por tres investigadores de diferentes naciones por sus “descubrimientos sobre los neurotransmisores y el mecanismo de su almacenamiento, liberación e inactivación”¹² Se trata del norteamericano Julius Axelrod, el sueco Ulf von Euler y el alemán Bernard Katz (que también escapó de los nazis por ser judío, trabajó en Australia y se radicó en el Reino Unido). Los dos primeros trabajaron con la adrenalina y sus modelos animales fueron ratas y gatos, principalmente.

El biofísico Katz (¡que en alemán significa gato!), en cambio usó a *Rana temporaria*. También participó en los estudios con el axón gigante del calamar, pero eso es otra historia que se narra en el capítulo 6. En esa rana descubrió, en colaboración con el británico Paul Fatt, unas proteínas de la membrana celular¹³ que funcionan como receptores de la acetilcolina. Ellos propusieron que, al ser estimulados por la acetilcolina, dichas proteínas permitirían el paso de iones¹⁴ (serían unos hipotéticos “canales iónicos”; unos ínfimos tubos rellenos de agua con un sistema de compuertas que permite o impide el paso de iones) y la creación de una corriente eléctrica que, finalmente, provoca la contracción muscular. Con el mejicano Ricardo Miledi, entre otros, demostró con ese mismo modelo que la acetilcolina no era liberada en forma continua, sino en pequeños paquetes o cuantos, y que cada uno producía una pequeña señal en la fibra muscular.

La localización física de esos cuantos fue lograda con el advenimiento del microscopio electrónico. Se trata de un gran número de vesículas en las terminaciones nerviosas, que fueron bautizadas como vesículas sinápticas por el argentino De Robertis y el norteamericano Henry Stanley Bennett en 1954. Pero en esas investigaciones citológicas “colaboraron” las ratas y no las ranas (Figura 23).

Los Nobel dedicados al estudio de la conducción nerviosa prosiguieron, pero el modelo experimental cambió y por eso la historia continuará más adelante. Sin embargo, la rana verde tuvo una nueva oportunidad de participar de la ceremonia 55 años más tarde. En 1976, los alemanes Erwin Neher y Bert Sakmann publicaron un trabajo en el que probaron la postulada existencia de

12 <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1970/summary/>

13 La historia del descubrimiento de la membrana celular está resumida en el capítulo 1: Células, núcleos y cromosomas.

14 Los iones son átomos o agrupaciones de átomos que adquiere una carga eléctrica (positiva o negativa) por pérdida o ganancia de uno o más electrones.

canales iónicos, que no había sido demostrada empíricamente, mediante una técnica llamada “patch-clamp”. Esos canales, entre otras funciones, permiten la generación de potenciales de acción (este concepto se desarrolló usando calamares y se explicará en el capítulo 6) en las neuronas, que son la base de la conducción de información por las mismas.

Con esa técnica pudieron medir exactamente la apertura y el cierre de un canal iónico en la membrana y explicar la selectividad de un canal por uno u otro tipo de ion. Las investigaciones las efectuaron sobre canales iónicos asociados con el receptor de la acetilcolina en la sinapsis neuromuscular, la más estudiada entonces entre todas las membranas biológicas. Específicamente, en aquellos aislados en la membrana de músculo desnervado de la rana verde *Pelophylax esculentus*. Por sus descubrimientos, Erwin y Bert recibieron el Nobel de 1991¹⁵.

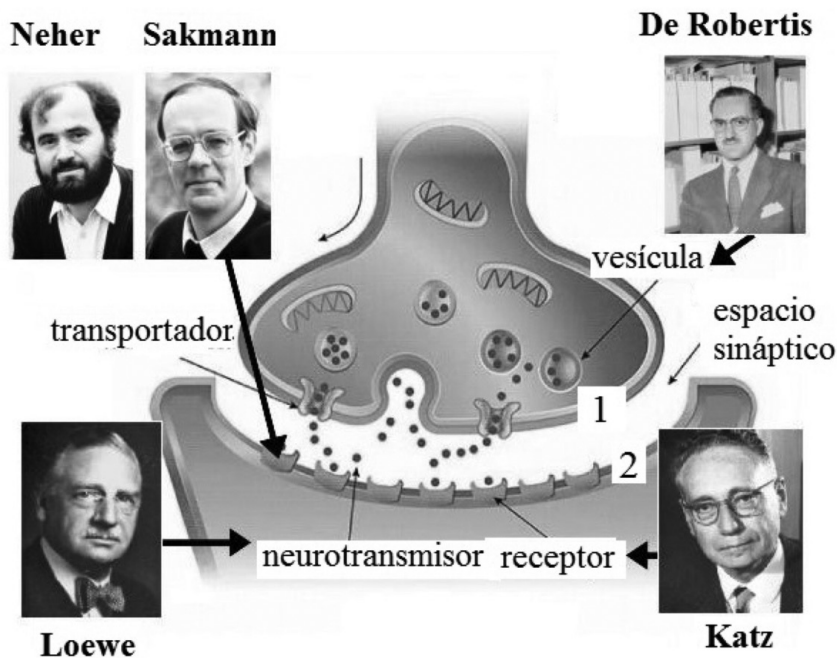


Figura 23. Esquema de una sinapsis química y los aspectos descubiertos a lo largo de buena parte del siglo XX, en particular con aquellas en las que el neurotransmisor es la acetilcolina. Están representados los Nobeles Loewe (1936), Katz (1970), Neher y Sakmann (1991), que trabajaron con ranas. Además, el investigador De Robertis quien observó y describió las vesículas sinápticas (pero usando ratas). El 1 señala la membrana celular de la terminación de un axón, llamada presináptica y el 2 la membrana celular de una dendrita, llamada postsináptica.

¹⁵ <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1991/summary/>

***Xenopus laevis*, una nueva estrella internacional**

Lancelot Thomas Hogben fue un científico y pensador inglés, polifacético, médico de formación, fisiólogo, zoólogo autodidacta, además de divulgador científico, estadístico y militante político contra el racismo y la utilización de la genética para justificarlo. Entre otros trabajos, aisló la hormona melanocito estimulante responsable del cambio de color de las ranas con Julian Huxley y J. B. S. Haldane. Hogben introdujo a la rana de uñas africana” *Xenopus laevis* (Daudin, 1802) como modelo para la investigación biológica cuando él y su familia fueron a vivir a Ciudad del Cabo, Sudáfrica, en una zona con gran diversidad biológica, donde empezó a usarla en experimentos (Figura 24). Sus estudios de endocrinología dieron lugar a un test de embarazo (equivalente a la Reacción de Galli Mainini) relativamente fiable, de gran importancia clínica y social durante algunas décadas.



Figura 24. *Xenopus laevis* (Daudin, 1802) de Chimanimani, Manicaland, Zimbabwe. Se ven las uñas, que le dan su nombre.

El descubridor de la especie fue el extraordinario zoólogo francés François Marie Daudin, quien describió en el siglo XVIII numerosas aves, reptiles anfibios y un par de invertebrados a pesar de la limitación que le causaba la parálisis de sus piernas. La bautizó *Bufo laevis*. Esta rana es nativa del sur de África donde habita en lagunas de aguas estancadas, cubiertas de algas, en planicies y en arroyos en regiones áridas; solo sale del agua cuando migra. Hay poblaciones introducidas en California, Chile y Gran Bretaña y probablemente muchos otros lugares.

Los machos adultos pesan alrededor de 60 g y miden 5 a 6 cm de largo, las hembras, más grandes, pesan unos 200 g y su largo es de 10 a 12 cm. El apareamiento ocurre hasta 4 veces por año, sobre todo de noche. La hembra libera varios centenares de huevos durante unas 3 o 4 horas, y los adhiere a plantas u otros objetos sumergidos. Los huevos fecundados tras el *amplexo* o abrazo

sexual son al principio unas esferas que, al cabo de unas 20 horas, comienzan a transformarse en renacuajos. Esa transformación dura unos 4 días y los renacuajos son unos activos nadadores que se alimentan filtrando partículas de agua. La metamorfosis tiene lugar 6 a 8 semanas después de la puesta de los huevos y dura de 4 a 5 días en los cuales reabsorben la cola y completan sus cuatro extremidades. La madurez reproductiva tiene lugar 10 a 12 meses después y la duración de la vida en condiciones naturales es de hasta 15 años. No es exigente en cuanto a la comida; se alimenta de insectos vivos o muertos y residuos orgánicos. En cautiverio, a 25°C, maduran en 60 días y pueden llegar a vivir 20 años.

Xenopus laevis se usa muchísimo como modelo de investigación, sobre todo en embriología de vertebrados. Eso se debe a la facilidad de su cría y a los pocos cuidados que requiere, pero sobre todo porque las hembras son prolíficas y los huevos son transparentes, lo que hace fácil observar el desarrollo del embrión. Gracias a eso, el embriólogo holandés Pieter D. Nieuwkoop desarrolló un sistema de nomenclatura para los 66 estadios de su desarrollo, desde el cigoto (estadio 1) hasta la madurez sexual (estadio 66). Lo publicó por primera vez en 1956 en colaboración con su compatriota Jacob Faber y se sigue usando¹⁶.

En 1984 un equipo de investigación formado por el argentino Andrés Carrasco, William McGinnis, Walter Gehring y el ya mencionado Edward De Robertis identificó en Basilea, Suiza, el primer gen regulador del desarrollo de los vertebrados en *Xenopus laevis*. Se trataba del homeobox. Anteriormente se había identificado, y comprendido su función, en otro modelo animal, pero invertebrado: la mosca *Drosophila melanogaster*. La importancia del descubrimiento del homeobox en la mosca la comentaré en el capítulo 8, pero su hallazgo en la rana fue una demostración clave de la uniformidad de los mecanismos del desarrollo embrionario en los animales. Una conclusión evolutiva fue que ese mecanismo ya estaba presente en el antepasado común de la mayor parte de los animales actuales, que debe haber vivido hace más de 500 millones de años (Figura 1, A). El genoma completo de *Xenopus tropicalis*, una especie muy cercana y más apropiada para estudios genéticos que *Xenopus laevis*, se secuenció en 2010¹⁷.

16 Nieuwkoop, P.D.; Faber J. (1967). Normal Tables of *Xenopus laevis* (Daudin). North Holland Publishing Co, 2nd Ed., 252 pag.

17 Rokhsar, D. S. *et al.* (2010). The Genome of the Western Clawed Frog *Xenopus tropicalis*. Science 328(5978): 633–636.

Clones: de *Xenopus laevis* a Dolly

En el año 2012, *Xenopus laevis* acompañó a John B. Gurdon a la recepción del Nobel que se le concedió junto a Shinya Yamanaka¹⁸ por el descubrimiento de la reprogramación de células maduras que les devuelve la potencialidad embrionaria.

A comienzos de la década del 1960 se pensaba que la diferenciación celular era irreversible, como mencioné antes¹⁹. A medida que las células del embrión se dividen, se diferencian para formar los distintos tipos, como las epidérmicas, musculares, sanguíneas o nerviosas. Pero una vez ocurrido esto **no habría** vuelta atrás, el camino contrario estaba prohibido.

La historia de John Gurdon, un auténtico *gentleman*, es interesante. Cuando tenía 29 años él presentó ante sus colegas su descubrimiento de la factibilidad de volver atrás en el desarrollo. Su hipótesis consistía en que el núcleo de cada célula del cuerpo contiene toda la información genética necesaria para producir varios tipos distintos de células. Y la demostró con un experimento relativamente simple (Figura 25). Primero destruyó el núcleo de la célula inicial de *Xenopus laevis* con luz ultravioleta. Luego insertó el núcleo de una célula ya diferenciada del intestino de un renacuajo. Si esa célula especializada hubiera perdido segmentos del material genético, el desarrollo del huevo trasplantado no podría continuar. ¡Pero si lo hizo y obtuvo una rana adulta!

Al principio esta técnica inventada por un investigador joven, llamada clonación, originó muchas dudas y poco entusiasmo en la comunidad científica. Pero luego fue aceptada y se comenzó a usar en otras especies animales con algunas modificaciones. El ejemplo más famoso fue la oveja Dolly en 1997. O sea, las células contienen toda la información genética original y los genes son “activados” donde y cuando corresponda. La hipótesis alternativa, descartada en el experimento de John Gurdon era que esa información genética se había perdido en parte durante la diferenciación²⁰.

18 Capítulo 2: Marcha atrás en el ciclo de vida del ratón

19 Capítulo 2: El largo camino al Nobel 2007 empieza en una cuestión de potencia y Marcha atrás en el ciclo de vida del ratón

20 Estas dos alternativas fueron esbozadas en los comentarios sobre Roux, Driesch y Spemann de este capítulo.

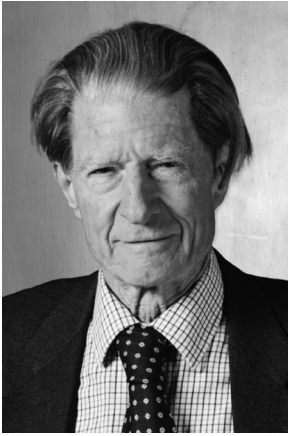
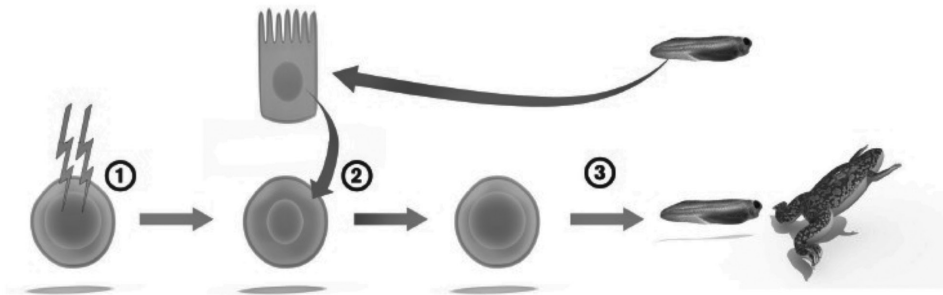


Figura 25. John Gurdon y su experimento inicial. Destruyó el núcleo del cigoto o primera célula de una rana (1) y lo reemplazó con un núcleo de una célula ya diferenciada de un renacuajo (2) El cigoto se desarrolló como un renacuajo normal que dio origen a una rana (3).



Pero había un problema: los genes solo se activaban cuando eran transferidos a una célula embrionaria sin núcleo. ¿Sería posible “reprogramar” el núcleo de una célula diferenciada en su propio lugar? La respuesta la dio finalmente Shinya Yamanaka con sus ratones²¹.

²¹ Capítulo 2: Marcha atrás en el ciclo de vida del ratón

Capítulo 5

Erizos de mar

Los animales que traté en los capítulos anteriores diferían en su aspecto pero tenían varias cosas en común. Entre ellas la columna vertebral, razón por la cual se los llama vertebrados. A partir de ahora le toca el turno a animales sin vertebras. Un famoso naturalista francés que tenía el imponente nombre de Jean-Baptiste Pierre Antoine de Monet, Chevalier de Lamarck, los bautizó en 1801 como “invertebrados”.

El primero de los invertebrados asociados a importantes descubrimientos en biología que voy a considerar aquí serán los erizos de mar. Se trata de seres con una forma semiesférica, una cubierta rígida pero con 5 hileras de espinas móviles, a veces largas (Figura 26) y una “boca” con dientes en su superficie inferior. Claro que hay variaciones en cuanto a forma y simetría, pero no es el caso considerarlas aquí. Todos ellos pertenecen a un grupo de animales marinos llamados equinodermos, cuyos representantes más conocidos son las estrellas de mar.



Figura 26. Morfología de un erizo de mar. En la imagen (vista lateral) se observan las hileras de espinas; a la izquierda, arriba, (detalle de la superficie inferior), se ven espinas y la boca con sus dientes, rodeada por los “pies tubulares” con los que se desplazan.

Desarrollo indirecto y larvas

Los ratones y los pollos se parecen bastante cuando nacen a lo que serán como adultos; eso se llama “desarrollo directo”. Sin embargo, muchos animales son muy diferentes del adulto al nacer, al punto que es difícil identificar ambas etapas de la vida como pertenecientes a la misma especie. Es el “desarrollo indirecto”, en el cual se distinguen dos fases, larva y adulto. La transición entre ellas se llama metamorfosis, que implica un cambio de forma. Los anfibios tienen dos fases a lo largo de su vida, y metamorfosis, pero los cambios entre ellas son “relativamente suaves”. Aunque difieren en muchos detalles, renacuajos y ranas tienen columna vertebral y similares sistemas nerviosos. Algo similar sucede con algunos insectos, como grillos, langostas y chinches. En cambio muchos otros, como los adultos de mariposas, escarabajos, moscas y abejas surgen de la gran transformación de un gusano¹.

¹ Spivak, E. (2015). Larvas y metamorfosis. *Ciencia Hoy* 25 (145): 25-31.

El ciclo de vida típico de la mayoría de los erizos de mar empieza cuando los adultos liberan óvulos y espermatozoides en el agua de mar. Allí, cerca de los padres, tiene lugar la fecundación y comienza el desarrollo del embrión. Luego de la multiplicación y organización espacial de las células de ese embrión, surge un individuo pequeño, transparente, que vive en el plancton alimentándose de algas unicelulares o, eventualmente, de las reservas maternas. Es la larva *pluteus*.

La primera descripción detallada de esa larva se debe al zoólogo y fisiólogo alemán Johannes Müller, quien la recolectó en 1846 en el Mar del Norte, cerca de la isla de Helgoland. Sin saber todavía de que se trataba, bautizó el espécimen como *Pluteus paradoxus* (Figura 27). Un año después publicó los resultados de un meticuloso estudio en el cual, además, describió el desarrollo de la larva y su metamorfosis hasta llegar a un adulto: una estrella de mar de brazos frágiles u ofiura, llamada hoy *Piura albida* Forbes 1839. Entretanto, *Pluteus paradoxus* designa hoy a una especie de hongo de sombrero.

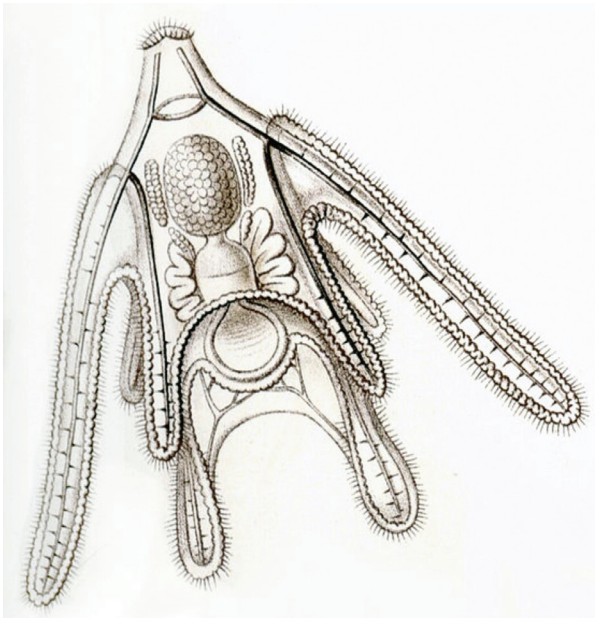


Figura 27. *Pluteus paradoxus* (en este caso la larva de una estrella de mar) dibujada por Ernst Haeckel, *Kunstformen der Natur* (1904).

En ese trabajo Müller también mencionó otras larvas similares que, cuando adultos, son erizos de mar. Hoy las larvas de las ofiuras y los erizos, en general, se llaman pluteus. ¡Es difícil entender por qué bautizaron como pluteus a esa larva, ya que la palabra en latín se refiere a un artefacto militar romano!

Pero volvamos a lo nuestro. La metamorfosis de la pluteus de un erizo de mar es muy “abrupta” o “radical”, al igual que en la mayoría de los equinodermos y de muchos otros invertebrados marinos (Figura 28).

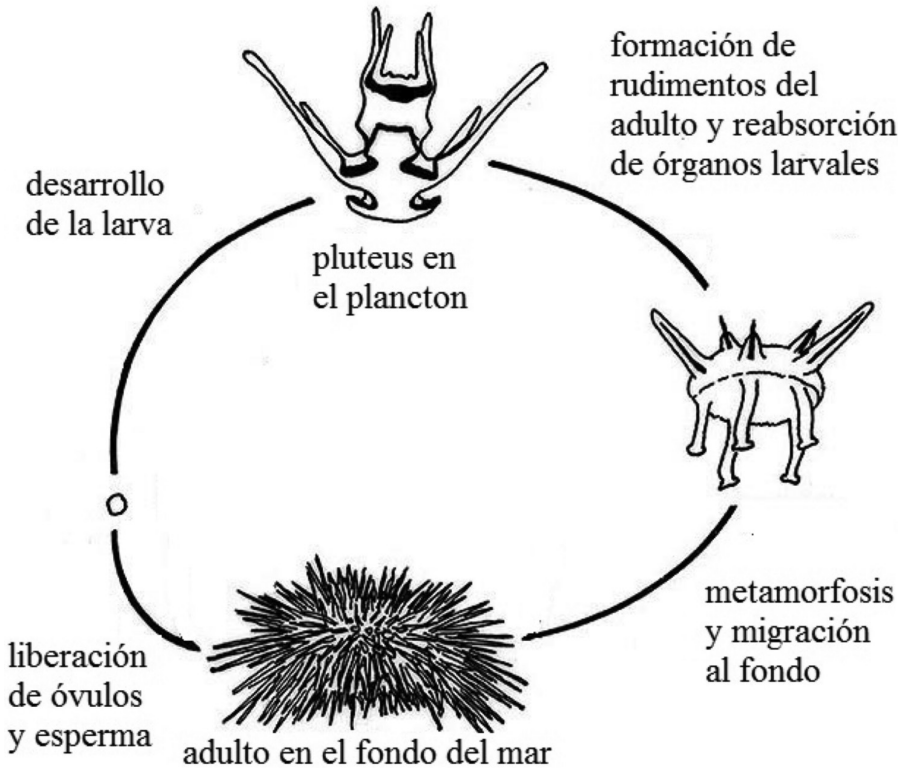


Figura 28. Esquema del ciclo de vida típico de un erizo de mar

Solo un pequeño grupo de células de la larva, que permanecen indiferenciadas, dará origen al adulto que vive en el fondo marino; el resto de las mismas son reabsorbidas. ¡Es como un segundo nacimiento! Eric Harris Davidson, el gran biólogo evolutivo y del desarrollo, del cual hablaré cerca del fin de este capítulo, y sus colaboradores, han bautizado en 1995 a este tipo de desarrollo como “desarrollo indirecto máximo”.

El desarrollo indirecto de los invertebrados marinos trae una consecuencia para su empleo como modelos de investigación: es difícil completarlo en el laboratorio y hay que obtener el material del ambiente en que viven. Por lo

tanto, no es posible lograr una uniformidad genética como la que caracteriza a los ratones, pollos y *Xenopus*. A pesar de ello, ya desde los primeros estudios sobre la etapas más tempranas de la vida de los erizos de mar se pudo percibir que esos minúsculos seres del plancton eran un modelo extraordinario para estudiar el desarrollo de un embrión en vivo.

Primeros estudios

Los estudios fundacionales se llevaron a cabo en Europa durante el siglo XIX. Un año clave fue 1847, y los protagonistas fueron cuatro o quizás cinco: el erizo comestible europeo *Echinus esculentus* Linnaeus, 1758, una especie de gran tamaño, con un diámetro de unos 15 cm en la madurez, que está sobreexplotado y en peligro, posiblemente otra especie de erizo del Mediterráneo, dos científicos franceses, y uno estonio.

Ese enero de ese año la Academia de Ciencias de Paris publicó una nota de Adolphe Dufossé, del cual no se conocen muchos datos excepto que era médico y profesor en Marsella. Allí describió la fecundación de huevos de *Echinus esculentus* cuando se los colocaba con agua de mar que contenía semen, y el posterior desarrollo del embrión y la larva. Sin embargo, él todavía no comprendía el papel del semen en ese proceso. Por el contrario, su punto de vista era el de un “ovista”², opinaba que el óvulo contenía el embrión y que el semen solo era necesario para iniciar su desarrollo. Lo importante es que su trabajo dejaba en claro lo útil que sería este modelo debido a la simplicidad de una fertilización externa exitosa y a la naturaleza transparente de los embriones.

Ese mismo año, el naturalista Alphonse Derbès obtuvo su Doctorado en Ciencias en la Universidad de Paris y publicó un notable y minucioso artículo sobre la diferenciación de sexos, las células sexuales y su maduración, la fecundación y el desarrollo del embrión y la larva de *Echinus esculentus*. Las descripciones y las ilustraciones son minuciosas y esencialmente correctas, salvo pocos detalles.

Dufossé filtró el semen antes de exponerlo a los óvulos y observó que unos pocos espermatozoides, a veces uno solo, eran suficientes para lograr el desarrollo y que este no ocurría si no había ninguno. Su conclusión era que para la fertilización eran necesarios los espermatozoides pero no el líquido seminal, lo cual hoy en día resulta obvio pero fue una novedad entonces. Sin embargo, Derbès nunca pudo establecer cual era su exacto papel.

2 Capítulo 1: Controversias sobre los embriones.

Por último, Karl Ernst von Baër, el extraordinario y polifacético naturalista nacido en la actual Estonia, considerado el “padre de la embriología”, quedó fascinado, en sus propias palabras, por sus experimentos sobre la fertilización de erizos de mar en Génova y Trieste. Vayamos entonces a Italia.

El Vesubio y la embriología experimental

Entre el mar y el volcán Vesubio se extiende la ciudad de Nápoles que, ya en el siglo XIX, era un destino turístico para las gentes acomodadas del frío norte de Europa. Allí el zoólogo alemán Anton Dohrn fundó en 1872 la Stazione Zoologica di Napoli (hoy Stazione Zoologica Anton Dohrn, en su honor) de la cual fue el primer director. Él era un discípulo de Ernst Haeckel, el extraordinario e influyente científico del siglo XIX, introductor de las obras y teorías de Charles Darwin en Alemania, inventor de palabras como “ecología” y, además, exquisito artista ilustrador. Durante su carrera universitaria Dohrn pasó períodos de investigación a la orilla del mar en Alemania, Escocia e Italia. A partir de su experiencia, concibió el proyecto de cubrir el mundo con una red de estaciones de investigación biológica marina, similares a las estaciones de ferrocarril, donde los científicos podían detenerse, recolectar material, realizar observaciones y experimentos.

La Stazione Zoologica (Figura 29) fue asiduamente visitada por jóvenes científicos, también discípulos de Ernst Haeckel. Entre ellos estaban los hermanos Oskar y Richard Hertwig y el suizo Hermann Pol quienes estudiaron la fertilización de los huevos de un erizo de mar del mediterráneo. Se trata de una especie de unos 7 cm de diámetro, con pocas pero largas espinas, también llamado castaña de mar. Su nombre científico actual es *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) pero en ese tiempo se llamaba *Toxopneustes lividus* y antes *Echinus lividus*.

El resultado de sus observaciones, publicado por el primero de ellos en 1876 constituye un evento muy significativo de la historia de la biología: allí resolvió cual es el papel de los espermatozoides, que había quedado pendiente de los estudios de Duffosé y Derbès. En efecto Oskar vió no solo como el espermatozoide entraba en el óvulo sino también que los núcleos de ambas células reproductivas se fusionaban dando origen al único núcleo del cigoto³.

3 Hertwig, O. (1876). Beiträge zur Kenntniss der Bildung, Befruchtung und Theilung des thierischen Eies. Morphologisches Jahrbuch 1:347–434

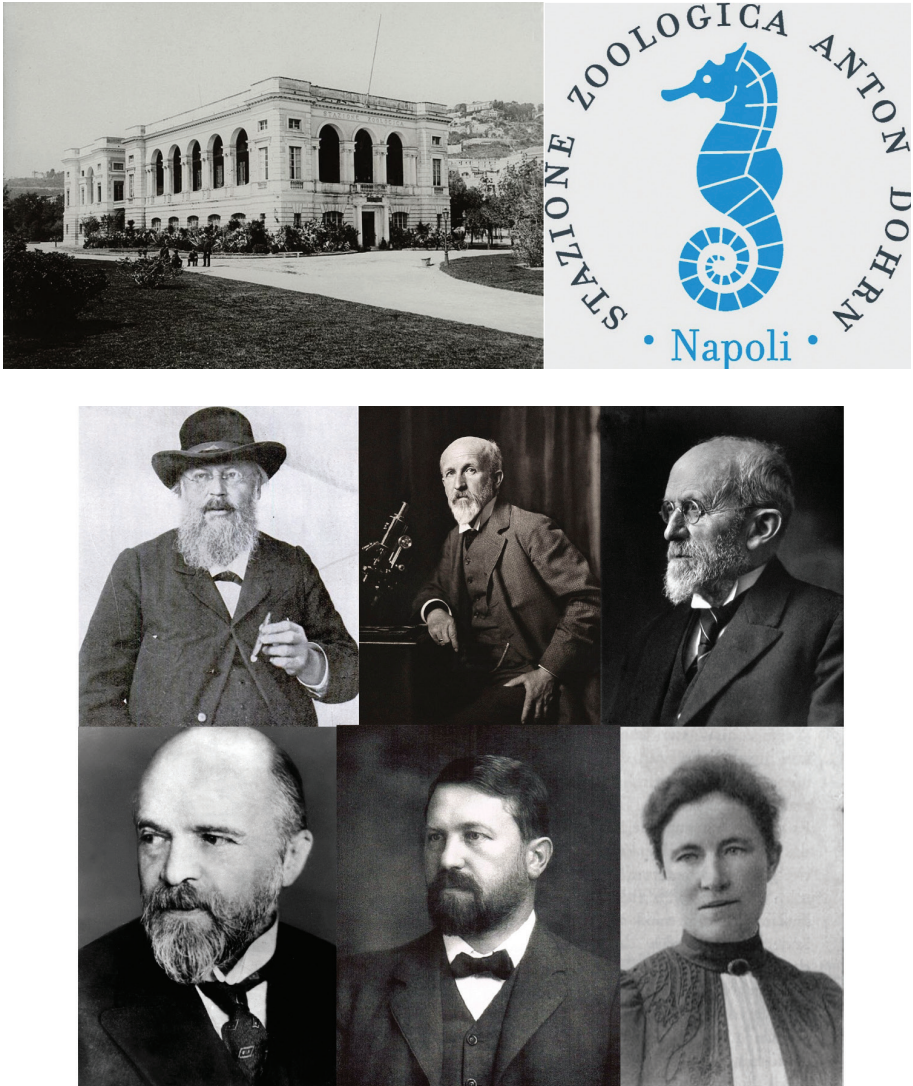


Figura 29. La Stazione Zoologica en la década de 1890, logotipo actual y sus primeros visitantes del norte de Europa. De izquierda a derecha y de arriba abajo: Anton Dohrn (fundador), Oskar Hertwig, Richard Hertwig, Hans Driesch, Theodor Boveri y Marcella O'Grady.

Unos años después trabajó en Nápoles el biólogo y filósofo Hans Driesch, otro discípulo de Haeckel (Figura 29). En la primavera de 1891 Driesch llevó a cabo experimentos con embriones de dos células del erizo de mar verde *Psammechinus microtuberculatus* (Blainville, 1825) con el fin de comprobar el resul-

tado de los estudios de Roux de 1888 con ranas⁴. Los embriones del animal, que entonces se llamaba *Echinus microtuberculatus*, tenían una particularidad, que ya había señalado Hertwig en sus trabajos: las dos células eran fáciles de separar con solo agitar el agua donde se desarrollaban.

El resultado fue diferente al de Roux, ya que cada una de las células dio origen a un embrión completo, y luego a una larva, también sana. Cuando hizo lo propio con el estadio de 4 células tuvo el mismo resultado, aunque las larvas eran más pequeñas. Hubo que esperar hasta 1903 para verificar que en los anfibios podrían reproducirse esos experimentos⁵. Entonces: ¿no hay ningún caso de desarrollo “en mosaico” en los animales? La respuesta es que si lo hay, como veremos en el capítulo 7.

En enero de 1888, un científico de 25 años llamado Theodor Boveri llegó por primera vez a la Estación de Nápoles. Theodor se había doctorado en la Universidad de Munich y allí continuó su vida académica como becario en el laboratorio de Richard Hertwig. Luego volvió a Nápoles 8 veces; la última en 1914, un poco antes de morir. Por lo menos 20 de sus numerosas publicaciones se basaron en investigaciones realizadas allí con huevos de erizos de mar. En 1889 publicó los primeros resultados de los experimentos que consistían en fertilizar óvulos enucleados (a los que se retiraba el núcleo) de una especie con esperma de la misma o de otra especie que tenga diferencias visibles en los embriones y larvas. Las especies utilizadas fueron *Psammechinus microtuberculatus* y el erizo de mar púrpura *Sphaerechinus granularis* (Lamarck, 1816). El objetivo era verificar si el núcleo o el citoplasma eran los portadores de los factores hereditarios. Si bien los resultados permitieron demostrar el papel del núcleo, provisto en este caso solo por los espermatozoides, en el desarrollo del embrión (pero sobre todo al comienzo), quedó en evidencia que también existía un papel del citoplasma.

A partir de 1897, Theodor fue acompañado a Nápoles por la bióloga norteamericana Marcella O'Grady (Figura 29). Con ella compartió el trabajo el resto de su vida aunque no figuró como co-autora; ¡una muy cuestionable costumbre de la época! Marcella había llegado a la Universidad de Würzburg en Alemania en 1896 para pasar un año sabático en el instituto que dirigía Boveri, pero se quedó para siempre. A pesar que inicialmente él la recibió con cierta frialdad, un año después se casaron.

Entre 1902 y 1904 ambos llevaron a cabo experimentos de polispermia. Cuando se coloca un exceso de esperma con los óvulos, dos espermatozoides

4 Capítulo 4 El comienzo de la embriología experimental.

5 Capítulo 4. El primer experimento de Spemann con el cabello de su hijita.

pueden entrar en uno solo de ellos (dispermia). El cigoto resultante se divide y origina 3 o 4 células pero las mitosis son irregulares y la mayoría de esas células reciben distinto número de cromosomas. Como ya vimos, si se separan las cuatro células que resultan de las primeras dos divisiones en un huevo fecundado normalmente, cada una de ellas originará un embrión normal (aunque puede ser más pequeño). Pero si se separan las tres o cuatro células producidas por la primera división de huevos dispérmicos, a veces alguna (pero nunca todas) se desarrolla dando lugar a embriones normales. Este resultado no podría explicarse solo por el número de cromosomas presentes ya que estos podían estar en exceso, sino porque los distintos cromosomas difieren entre sí en cuanto a sus efectos en el desarrollo. O sea, demostraron que solamente aquellas células embrionarias que tenían una dotación completa de cromosomas podían dar origen a un embrión normal.

Theodor y Marcella también usaron otro modelo experimental, como se verá en el capítulo 7, pero además propusieron una hipótesis extremadamente original en ese momento, en base a sus descubrimientos sobre los cromosomas y la mitosis: que las células cancerosas derivan de células con un defecto irreparable en sus cromosomas, que cambian su metabolismo.

Dos suecos y dos Albertos coinciden en Nápoles

El embriólogo sueco Sven Otto Hörstadius continuó las investigaciones sobre el desarrollo de los erizos de mar. En su país no podía trabajar en invierno, porque en esa estación esos animales no se reproducen en las aguas del mar del Norte. Entonces el también viajó a Nápoles. Allí efectuó, en 1922 y 1924, un número de elegantes experimentos tratando de comprender los procesos por los cuales las células indiferenciadas del embrión son “instruidas” para originar un tipo celular específico en la larva.

El primero consistió en dividir meridionalmente y por la mitad embriones de erizos de 8 células, obteniendo dos pequeñas larvas. A continuación hizo lo mismo pero ecuatorialmente, lo que dio como resultado dos larvas deformes.

En el siguiente experimento usó embriones de 64 células, cuando el embrión ya se halla dividido en tres partes y cada una de ellas dará lugar a determinados órganos. Hörstadius separó estas tres partes y las volvió a unir en combinaciones diferentes. En términos actuales, hizo un procedimiento de “*cut and paste*” de células, para el cual se necesitaba mucha pericia y paciencia. Algunas combinaciones dieron lugar a morfologías normales y otras a malformaciones y esto no dependía de las partes que eran combinadas sino de un par de gradientes opuestos entre los polos del embrión que se establecen

en la célula fecundada⁶. La idea de gradiente era que la cantidad máxima de una molécula se localiza en el polo y que disminuye al alejarse de él. Fue una evidencia precursora del importante concepto embriológico de “gradientes morfogénéticos”.

Poco después del final de la Segunda Guerra Mundial, el embriólogo italiano Alberto Monroy dejó su puesto de la Universidad de Palermo para incorporarse a la Stazione Zoologica que en ese momento pasaba por una severa crisis financiera e institucional. Allí dirigió el laboratorio de fisiología, donde contactó con Hörstadius y otro embriólogo sueco llamado John Runnström.

Los erizos de mar fueron el modelo animal para que Monroy se dedicase al estudio de la fertilización y desarrollo temprano, que eran sus grandes áreas de interés. Su enfoque se centraba en la convicción que la solución de muchos problemas de la biología del desarrollo debía provenir de la bioquímica. La compartía con otro visitante asiduo de Nápoles, el belga Jean Brachet, que había demostrado la presencia del ARN en el citoplasma y su papel en la síntesis de proteínas. Brachet, líder de la especialidad denominada entonces “embriología química”, también estableció que la formación de nuevos ribosomas y el traslado de nuevo ARNm del núcleo al citoplasma preceden a la diferenciación celular.

Monroy trabajó arduamente con la especie *Paracentrotus lividus* en colaboración con su esposa Anna Oddo y muchos colegas. Aunque volvió a la Universidad de Palermo, en 1976 retornó a Nápoles como nuevo director de la Stazione Zoologica en otro momento muy difícil para esa institución consagrándose a la recuperación de la misma y a la consolidación de la Biología del Desarrollo en Italia.

En la década de 1940, se había renovado el interés por el problema de la fertilización gracias a los trabajos de Runnström y el norteamericano Albert Tyler. Los dos Albertos (Monroy y Tyler) demostraron en 1963 que en los erizos de mar la activación de la síntesis de proteínas luego de la fertilización se debe a la formación de complejos de ribosomas que están ausentes en el huevo no fertilizado. Diversos experimentos con embriones normales y óvulos enucleados permitieron proponer que durante el desarrollo del óvulo en el ovario se forman ARNms que se conservan en su interior. Sin embargo, la interacción de esos ARN con los ribosomas no es posible hasta después de la entrada del espermatozoide. Esta hipótesis es la base del concepto de “genes maternos” sobre el cual volveremos en el capítulo 8. En palabras de Monroy de 1977 la fertilización puede considerarse como “un proceso que activa el uso

6 Capítulo 4, Experimentos tardíos de Spemann de inducción embrionaria en Inducción: hay que organizar el embrión (poner las partes en su lugar).

de la información guardada en los óvulos. Después de la fertilización el huevo recupera la capacidad de sintetizar ADN perdida por el óvulo”⁷.

De la partenogénesis artificial al uso del oxígeno por las células (y el primer Nobel para un erizo de mar)

Los dos descubrimientos más importantes en el comienzo del estudio de la fertilización animal fueron posibles gracias a los erizos de mar. El primero fue la fusión de los núcleos del óvulo y el espermatozoide por Hertwig en 1876. El segundo fue la inducción de partenogénesis artificial por Jacques Loeb en 1899. La partenogénesis es el desarrollo de un animal a partir de un óvulo no fecundado, como ocurre con los zánganos en el interior de una colmena de abejas. Si bien la unión de una célula masculina y otra femenina es el procedimiento más común en la reproducción de los animales, y el responsable de su éxito evolutivo, la partenogénesis no es un fenómeno tan raro. Incluso hay animales que solo se reproducen de esa manera. Se ahorran así el trabajo de buscar pareja, aunque su variabilidad genética es, por fuerza, menor.

Antes de describir el hallazgo de Loeb, vale la pena conocer a la persona y su obra (Figura 30). Nació en Alemania, donde estudió y comenzó sus investigaciones. Como muchos de sus compatriotas, también trabajó en Nápoles. En 1892 se trasladó a Estados Unidos donde fue profesor en Chicago, California y Nueva York. Si bien nunca recibió el Nobel, a pesar de varias postulaciones, fue en su tiempo un científico muy renombrado, e incluso popular. Era además de la opinión, no del todo común en su tiempo, que los fenómenos biológicos podrían ser explicados por las leyes de la química y la física.

Sus experimentos sobre partenogénesis artificial los llevó a cabo con dos especies de erizos de mar que viven en cada una de las costas de Estados Unidos. Se trata de *Arbacia punctulata* (Lamarck, 1816), del Atlántico, con la que trabajó en el Laboratorio de Biología Marina de Woods Hole, Massachusetts (conocido como MBL), y de *Strongylocentrotus purpuratus* (Stimpson, 1857), del Pacífico, con la que hizo lo propio en la Estación Marina Hopkins de la Universidad de Stanford, California.

Estudiando el efecto de los iones sobre los huevos descubrió que tratando a los óvulos no fertilizados con una solución de $MgCl_2$ lograba, al volverlos a poner en agua de mar, que algunos de ellos completasen el desarrollo embrionario y llegasen al estadio de larva. Según sus palabras de 1899, “. . . el huevo

7 Monroy, A. (1977). Embriología. In Enciclopedia del Novecento, v. II, pp. 442-465. Enciclopedia Italiana, Roma

no fertilizado del erizo de mar contiene todos los elementos esenciales para la producción de una larva perfecta. Todo lo que el espermatozoide tiene que llevar dentro del huevo para el proceso de fertilización eran iones para suplementar la falta de uno o contrarrestar el efecto de otras clases de iones en el agua de mar, o ambos. El espermatozoide puede sin embargo llevar además un número de enzimas u otro material” (1899). ¡Una verdadera conmoción: los machos ya no son imprescindibles! Más adelante modificó su explicación del papel de los espermatozoides, como responsables de una ruptura transitoria de la superficie del óvulo. ¡Seguía equivocado!

El descubrimiento de Loeb fue el que motivó a Otto Warburg, doctor en química y medicina por las Universidades de Berlín y Heidelberg (Figura 30), respectivamente, a usar los huevos del erizo de mar para estudiar los procesos bioquímicos que controlan la división celular. Warburg estaba interesado en comprender como las células cancerosas se multiplican sin control, pero comprendió que primero debía entender como se controla la división de las células normales. Los huevos del erizo de mar parecían ideales para encarar ese problema, sobre todo gracias a que Loeb logró activarlos químicamente. El lugar que encontró para hacerlo fue la Stazione Zoologica de Nápoles y la especie fue el erizo negro del mediterráneo *Arbacia lixula* (Linnaeus, 1758) (que él conocía como *Arbacia pustulosa*).



Figura 30. Jacques Loeb (izquierda) y Otto Warburg (derecha)

En base a sus observaciones propuso que el consumo de oxígeno por una célula (la respiración celular) era proporcional a su actividad. En 1908 publicó

sus resultados acerca de un rápido aumento del consumo de oxígeno de los huevos a partir de la fertilización o la activación partenogenética, que atribuyó erróneamente al alto gasto energético del comienzo del desarrollo embrionario. Luego se demostró que no era la activación del desarrollo en sentido estricto sino el incremento de la actividad de una enzima⁸ el responsable del elevado ingreso de oxígeno desde agua de mar que lo rodea. En realidad ese precoz aumento del consumo de oxígeno es característico solo de los equinodermos. Sus posteriores investigaciones incluyeron la descripción de la enzima responsable del fenómeno que él había observado en los erizos. Sus estudios iniciales y las observaciones posteriores le valieron el Nobel de 1931 por el “descubrimiento de la naturaleza y el modo de acción de la enzima respiratoria”⁹.

Arbacia lixula fue el primer equinodermo nobelizado, pero es necesario reconocer a un ignoto precedente. Ilya Metchnikov, el ya mencionado Nobel de 1908¹⁰, gustaba viajar a Mesina (Italia) como tantos colegas del norte de Europa en el siglo XIX. En una de sus estadías, en 1883, tras introducir espinas de rosa en larvas de estrellas de mar observó una acumulación de células móviles del tipo de las amebas en torno a estos cuerpos extraños. Intuyó que actuaban como “agentes de defensa” contra el invasor. Así describió el proceso de ingestión de partículas por algunas células, como los glóbulos blancos de la sangre, que bautizó fagocitosis, y profundizó en el papel del mismo en la inmunidad (la razón de su premio).

Otto Warburg fue luego nominado muchas veces, pero nunca logró recibir un segundo premio. Quizás lo que sigue lo explique un poco. En anteriores capítulos mencioné varios casos de científicos que sufrieron las consecuencias del nazismo y la Segunda Guerra Mundial en sus vidas y carreras, y aún faltan otros por destacar. El de Warburg fue excepcional: su madre era protestante y su padre, de origen judío, se había convertido. Cuando los nazis llegaron al poder, los judíos fueron forzados a dejar sus puestos profesionales pero hubo excepciones. Ese fue su caso, ya que debió abandonar la docencia pero se le permitió seguir con sus investigaciones ya que el régimen lo consideró “medio judío”. Las críticas que hizo al gobierno en 1941 lo privaron brevemente de su empleo pero pronto lo recuperó al ser re-clasificado como “un cuarto de judío”. Una farsa en medio de la tragedia. Warburg era un adicto al trabajo y esa podría ser la razón por la cual continuó investigando en su laboratorio de

8 Una enzima llamada NADPH oxidasa que necesita hierro para actuar.

9 <https://www.nobelprize.org/press-room/>

10 Capítulo 2: El comienzo de la inmunología y la penicilina.

Alemania durante ese siniestro período sin cuestionar el trato que los nazis dieron a colegas y parientes judíos.

***Strongylocentrotus purpuratus* y la regulación génica**

El erizo de mar más famoso en la actualidad, al punto de haber sido el primero cuyo genoma fue secuenciado (en 2006¹¹), es *Strongylocentrotus purpuratus* (Figura 31). Conocido como erizo púrpura del Pacífico, vive en la zona entre mareas y bosques de *kelp* de la costa oeste de Norteamérica. A pesar haber permitido extraordinarios descubrimientos, todavía no visitó Estocolmo en el papel de modelo animal de investigación. Igualmente, merece la pena ser tomado en cuenta, y contar su historia que, lógicamente, comenzó en el Instituto Tecnológico de California (CalTech).



Figura 31. *Strongylocentrotus purpuratus*, la gran estrella del erizo-firmamento contemporáneo.

11 Sea Urchin Genome Sequencing Consortium (2006). The genome of the sea urchin *Strongylocentrotus purpuratus*. Science 314: 941–952.

Albert Tyler, que ya mencioné por sus trabajos en colaboración con Alberto Monroy, era profesor del CalTech. Había estudiado en Nueva York, donde se interesó en el trabajo de Thomas Morgan (al cual me he de referir en el capítulo 8) y cuando Morgan se mudó a California, él fue de la partida junto a otros estudiantes e investigadores. Allí trabajó sobre el desarrollo y la diferenciación de embriones en muchos organismos marinos, incluso los erizos de mar, y fue un precursor del uso de técnicas inmunohistoquímicas. Las especies utilizadas en la costa del Pacífico fueron el erizo pintado *Lytechinus pictus* (Verrill, 1867) y *Strongylocentrotus purpuratus*.

Al CalTech se incorporaron en 1971 Eric Davidson (Figura 32) y Roy Britten.



Figura 32. Eric Davidson

Eric se había doctorado en la Universidad Rockefeller, de Nueva York, trabajando en la síntesis de ARN y la expresión de los genes en el desarrollo temprano de *Xenopus laevis*. Su personalidad era polifacética: además de biólogo del desarrollo, teórico de la evolución y de la EvoDevo (la convergencia de ambas disciplinas), era futbolista y músico folclórico. Roy era un biólogo molecular de la Institución Carnegie, conocido por descubrir la presencia de muchas secuencias de ADN repetidas que no se traducen a proteínas en el genoma de las células eucariontes de animales, plantas, hongos y muchos organismos unicelulares¹².

Ambos habían sido los autores de una teoría que explicaba como se regula la síntesis de proteínas en esas células y que se publicó en 1969 en la revista

12 Las células de animales, plantas, hongos y muchos organismos unicelulares tienen un núcleo rodeado por una membrana doble y se las conoce como eucariontes, las de las bacterias y algunas algas carecen de esa membrana nuclear y se las llama procariontes.

Science. La idea era que las secuencias del genoma que suministran la información sobre como se deben expresar los genes son tan importantes como aquellas que son responsables de la síntesis de proteínas. Aunque esas numerosas secuencias que no fabrican proteínas descubiertas por Roy fueron consideradas “chatarra” durante mucho tiempo, el dúo propuso que las claves de la regulación residirían en ese material genético aparentemente inútil¹³.

En California, Eric se interesó en el desarrollo de invertebrados marinos, en especial el de *Strongylocentrotus purpuratus*. El ciclo de vida de este erizo se conoce en detalle. El cigoto se divide en dos al cabo de 2 horas y luego de un día ya es una pelotita de 64 células. El reordenamiento de esas células dura un par de días más, y al cabo de unos 5 días desde la fecundación eclosiona una larva pluteus. El tiempo que resta hasta la maduración de los órganos reproductivos, luego de la metamorfosis, es de unos 50 días¹⁴. Por otra parte, Eric codirigió el grupo de 240 investigadores que secuenciaron el genoma del erizo en 2006 y caracterizaron los genes que lo componen dos años más tarde.

Con ese modelo Eric dio origen a una larga línea de investigación que condujo a su último interés: las redes regulatorias de genes que son las responsables de fenómenos biológicos complejos, como la transformación de una única célula, el cigoto, en un organismo multicelular formado por tejidos, órganos y sistemas. Con su grupo, Eric diseñó una estrategia de investigación para detectar las interacciones de los genes involucrados en los eventos claves del desarrollo inicial del erizo de mar y determinar como la actividad de cada gen afectaba la capacidad de otro en la parte del embrión donde se expresa y fabrica una proteína

El modelo propuesto de la existencia una red de conexiones se describió primeramente en 2002¹⁵ y se fue ampliando desde entonces. En base al mismo se descubrió que los mecanismos de regulación de procesos tales como la dife-

13 Britten y Davidson (Britten R., Davidson, E. H. (1969). Gene regulation for higher cells: a theory. Science 165: 349–57) postularon un mecanismo basado en la existencia de 4 clases de secuencias de ADN:

- 1) un sitio sensor que se activa por estímulos externos (como hormonas) cuyo efecto es trasladado desde la membrana celular al núcleo por medio de reacciones químicas,
- 2) un gen integrador regulado por el sensor y que es responsable de la síntesis de un ARN activador,
- 3) un sitio receptor al cual se une el ARN activador,
- 4) un gen productor o estructural estimulado por el receptor que se transcribe como ARNm y luego se traduce a una proteína. La figura 2 del capítulo 1, propuesta en bacterias, es coherente con esa propuesta hipotética.

14 El ciclo de vida de un erizo como *Strongylocentrotus* está ilustrado en la figura 28.

15 Davidson, E. H. et al. (2002); A Genomic Regulatory Network for Development. Science 295: 1669–1678.

renciación de un tipo celular específico están formados por circuitos de genes que son notablemente similares aunque los genes de cada circuito difieran. Las ilustraciones de los trabajos recuerdan a los circuitos eléctricos. Más tarde se encontró el mismo tipo de regulación en otros animales sugiriendo que se trata de un mecanismo universal que permite explicar la evolución de los animales.

En 2012, su laboratorio ideó el primer modelo computacional de una red regulatoria de genes, constituido por 50 genes que funcionaban como interruptores (encendido - apagado). Una vez establecido el estado inicial de cada interruptor, el resultado final predicho por el modelo coincidía con resultados del desarrollo normal o genéticamente manipulado de un erizo de mar. Se trata de una herramienta nueva y poderosa para comprender como funcionan esas redes regulatorias.

El ciclo celular y un nuevo Nobel para los erizos

En cambio, el honor de ser el segundo erizo de mar en la historia del premio le tocó a su tocayo del Atlántico, *Arbacia punctulata*.

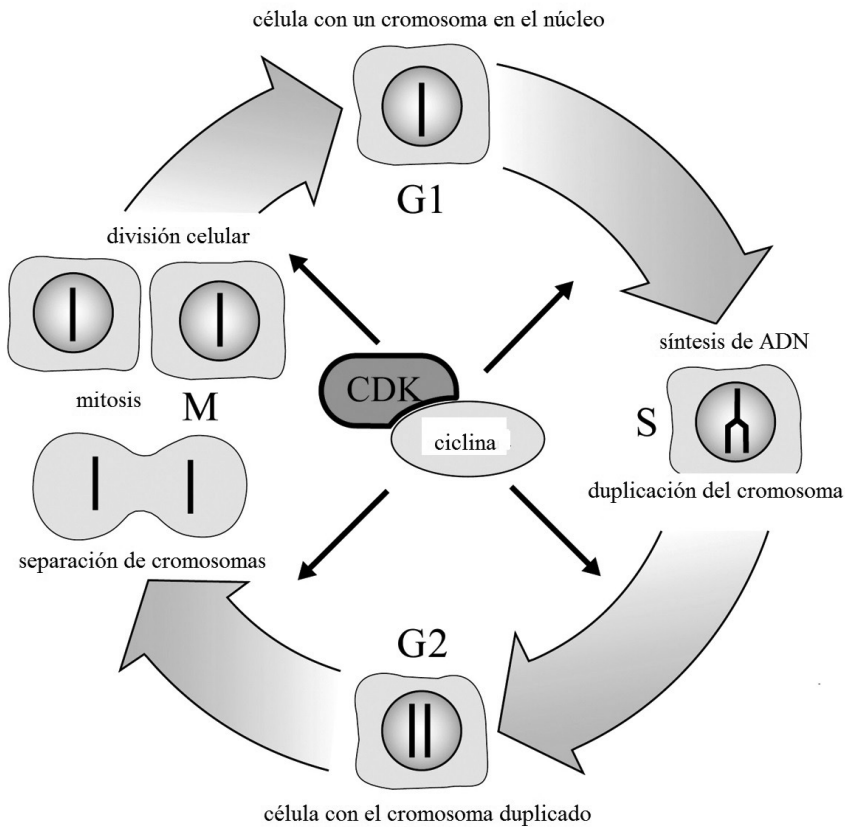
El bioquímico inglés Richard Timothy (Tim) Hunt trabajaba en el verano de 1982 en el MBL, de Massachusetts, con esa especie. Su investigación estaba orientada a conocer como se regula el “ciclo celular”. Este concepto describe los eventos que ocurren durante la multiplicación de las células. Luego que una célula se divide en 2 por medio del proceso de mitosis, las “hijas” pasan por un período de crecimiento (fase G1, G es por *growth*, crecimiento en inglés), más tarde el ADN de cada una se duplica (fase S, por síntesis de ADN), después ambas crecen otro poco (fase G2) y por último vuelven a dividirse (fase M, por mitosis) (Figura 33). Los períodos de crecimiento y duplicación, en su conjunto, se denominan interfase. La duración del ciclo varía mucho, una célula humana en rápida multiplicación tarda unas 24 horas (11+8+4+1), pero una célula embrionaria unos 30 minutos. La razón de este último hecho es que al comienzo del desarrollo las células no crecen, al contrario, se achican luego de cada división, y el ciclo tiene solo breves fases S y M.

En el transcurso de una serie de experimentos usando óvulos de *Arbacia punctulata*, Tim descubrió una proteína que llamó ciclina. Encontró que las ciclinas empiezan a producirse tras la fecundación del óvulo y sus niveles aumentan durante la interfase, después de lo cual descienden abruptamente antes de terminar la mitosis en cada división celular. Asimismo, demostró la presencia de ciclinas en las células de los vertebrados, donde también regulan el ciclo celular. Él y otros mostraron a continuación que las ciclinas se unen y activan a una familia de proteínas, conocidas hoy como quinasas dependientes

de ciclinas (CDK, por *protein dependent kinases*) (Figura 33), una de las cuales había sido ya identificada por Paul M. Nurse como un regulador crítico del ciclo celular .



Figura 33. Tim Hunt y el ciclo celular.



Tim recibió el Nobel 2001 junto a Leland Hartwell y Paul Nurse por sus descubrimientos de los reguladores clave del ciclo celular. Pero no todo son premios en la vida, y a él le tocó enfrentar a la comunidad científica por un asunto que no tiene relación con los erizos ni con las ciclinas. En junio de 2015, tras unas palabras machistas pronunciadas ante periodistas científicas en Corea del Sur, se desató una campaña en su contra que condujo a su renuncia como doctor honorario del University College de Londres y del comité del que era miembro de la Royal Society de esa ciudad.

Capítulo 6

Calamares

A lo largo del siglo XX el Nobel fue concedido 6 veces por investigaciones que permitieron conocer como funciona el sistema nervioso: en 1906 (capítulo 2), 1932, 1936 y 1991 (capítulo 4), en 1963 (este capítulo) y en 2000 (capítulo 7). Los organismos modelo con los cuales se logró una parte importante de los avances que premió la Academia Sueca fueron moluscos: varias especies de calamares, cuyo papel explicaré ahora, y una especie de babosa marina que lleva el curioso nombre de “liebre de mar”, a la cual dedicaré el siguiente capítulo.

Los moluscos constituyen un excelente ejemplo del fenómeno evolutivo conocido como radiación adaptativa: han adquirido una enorme diversidad de formas y hábitos de vida a partir de un conjunto de elementos estructurales comunes. No es trivial reconocer esos elementos comunes entre los calamares, sepias y pulpos (cefalópodos), los caracoles y babosas (gasterópodos), las almejas, mejillones, vieiras y ostras (bivalvos), y los otros grupos de moluscos. Es necesario un estudio comparativo de la anatomía y sobre todo del desarrollo embrionario y larval para identificarlos. Un rasgo clave es la diferencia entre la parte dorsal y la ventral del cuerpo. La primera puede fabricar hacia el exterior una conchilla y hacia el interior un reborde (el manto) que limita una cavidad por donde circula agua y aloja las branquias (la cavidad del manto). La segunda posee numerosos y

potentes músculos y se conoce como “pie”. Claro que hay moluscos sin conchilla como los pulpos y babosas, y otros en los cuales está muy reducida e interiorizada como en los calamares. Y también hay moluscos en los cuales por la cavidad del manto circula aire y no tienen branquias. Pero todo eso es otra historia y es mejor concentrarse en los que aquí interesa: como hacer para ir a Estocolmo.

Los calamares

Los moluscos cefalópodos son activos depredadores marinos y como tales tienen eficientes sistemas de órganos (digestivo, respiratorio, circulatorio, excretor y -en especial- nervioso) que permiten un elevado metabolismo¹. En efecto, ¡las dos partes de cuerpo más evidentes son la cabeza y el pie: una cabeza con pies, que confusión de términos y formas! En realidad, lo que se llama cabeza incluye la gran cavidad del manto que mencioné más arriba, usada tanto en la respiración como en la movilidad, y lo que se llama pie está dividido en un número de brazos o tentáculos.

Además, la mayoría de los cefalópodos tienen cuerpos blandos, con la conchilla reducida en el interior de la “cabeza” o sin ella. Esa carencia se compensa con notables estrategias defensivas como la capacidad de camuflarse o la de engañar a sus depredadores con una nube de la famosa tinta. Pero quizás lo más llamativo sean sus comportamientos complejos que se asocian con un sistema nervioso muy sofisticado.

Los calamares son nadadores y se desplazan por medio de sus aletas y de una “propulsión a chorro” que consiste en la expulsión súbita de agua de su cavidad del manto (Figura 34). No usan sus 10 brazos para avanzar a diferencia de sus parientes, los pulpos, que habitan los fondos del mar y “caminan” por medio de sus 8 brazos. Eso sí: en ambos, los brazos son estructuras prensiles, muy flexibles y capaces de movimientos sutiles y precisos.

1 La palabra cefalópodo provienen de dos vocablos del griego antiguo: *kephalé* (céfalo = cabeza) y *pous*, *podós* (podo = pie).



Figura 34. Litografía de *Loligo forbesii* Steenstrup, 1857

Un calamar hembra puede originar cientos de óvulos, el macho produce espermatozoides que almacena en un “paquete”. Cuando copulan, el macho introduce el paquete de espermatozoides en la cavidad del manto de la hembra, donde están los óvulos. Ella luego expulsa una masa gelatinosa de huevos fecundados que generalmente esconde. En unas semanas nacen los calamarcitos que son similares a sus padres pero más pequeños, tal como acontece en los desarrollo directos. Al principio los bebés se alimentan de plancton, y luego crecen y cambian su hábito alimentario. La mayoría de las especies costeras, que constituyen un valioso recurso pesquero, tienen una vida intensa pero breve. Alrededor de un año luego de su nacimiento copulan y mueren poco después del nacimiento de sus crías.

Hay varios géneros de calamares, y cada uno de ellos tiene pocas o numerosas especies. Las más espectaculares de ellas son el calamar gigante *Architeuthis dux* Steenstrup, 1857, que pesa hasta 275 Kg, y el calamar colosal del Océano Antártico *Mesonychoteuthis hamiltoni* Robson, 1925 que es algo más corto pero más macizo y alcanza los 490 Kg. Se trata de los invertebrados más grandes del mundo real (o sea, dejando de lado el kraken, calamar mitológico que come barcos; Figura 35).

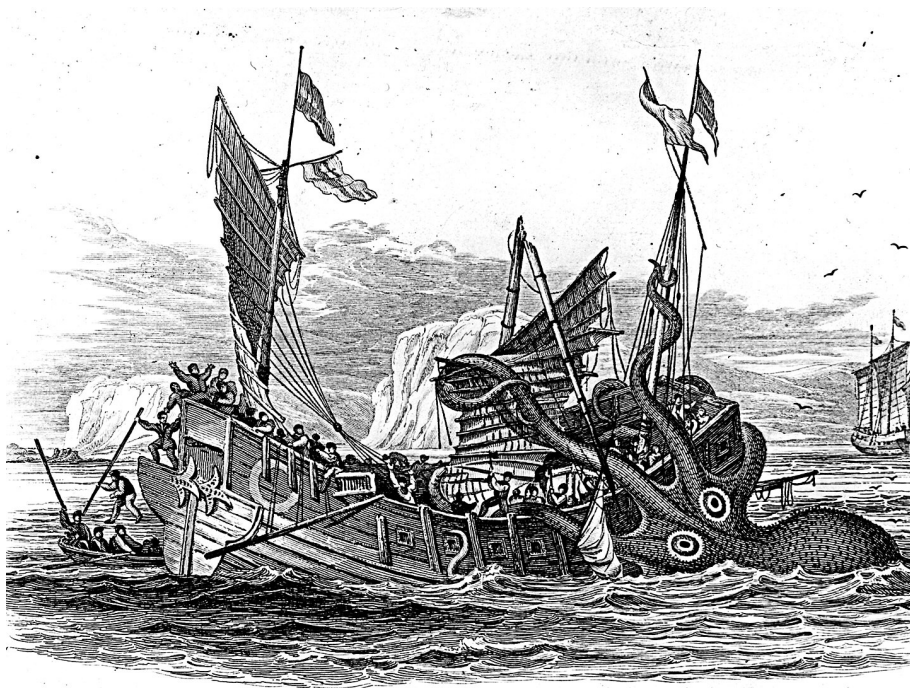


Figura 35. Un calamar gigante atacando una nave mercante dibujado por el naturalista Pierre Dénys de Montfort en base a relatos de marineros a principios del siglo XIX.

El género más representativo y ampliamente distribuido, que además es objeto de intensa pesca comercial, recibe el nombre científico de *Loligo* (Figura 34). Fue descrito formalmente por Lamarck en 1798, aunque ese nombre, que viene del latín *loligo* y quiere decir calamar (lo cual no es una sorpresa), ya había sido usado antes, por ejemplo por Linnaeus en 1758.

El sistema nervioso del calamar

Al igual que ocurría con los erizos de mar, los calamares del género *Loligo* (y los pulpos u *Octopus*) usados como modelos de investigación no se crían en el laboratorio sino que se obtienen del ambiente marino. Su principal contribución a la biología tuvo lugar en el ámbito de las neurociencias. Por eso, es necesario considerar sobre todo la organización del sistema nervioso de los moluscos en general y los cefalópodos en particular.

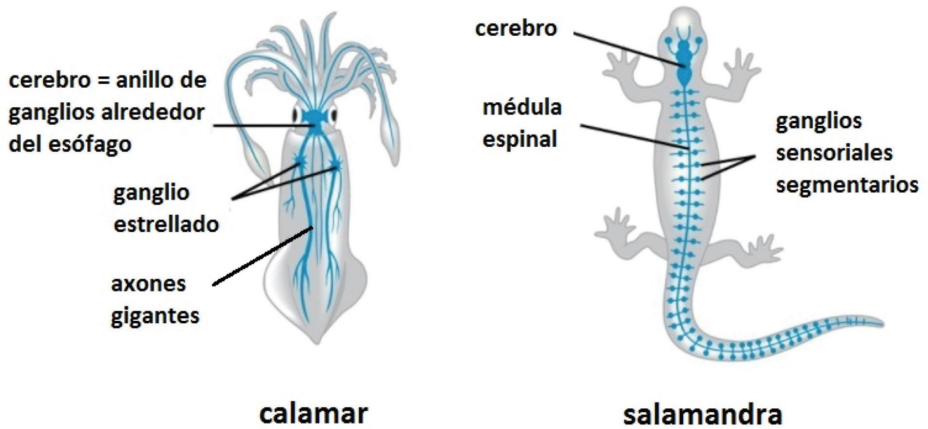


Figura 36. Comparación de los sistemas nerviosos del calamar y de los vertebrados.

En los vertebrados se puede reconocer un cerebro que concentra las funciones de integrar y coordinar la información procedente de los sentidos con las actividades de músculos y glándulas. Esa información fluye desde las diferentes partes del cuerpo por medio de nervios segmentarios, vía la médula espinal, o por nervios cerebrales directamente (Figura 36, derecha). En todos los moluscos, en cambio, hay varias concentraciones de neuronas ubicadas en diferentes partes del cuerpo, llamadas “ganglios”. Son “cerebros parciales” que controlan la actividad muscular de cada región del cuerpo y están unidos entre sí por nervios llamados “cordones nerviosos” (Figura 36, izquierda). Si bien hay un ganglio principal ubicado en la cabeza, las funciones de integración y coordinación se encuentran relativamente separadas.

Sin embargo, en los moluscos con comportamientos más complejos, y los cefalópodos son el máximo exponente de ello, los cordones se acortan, muchos de los ganglios se aproximan y se reúnen en un anillo que rodea al esófago que por analogía puede ser considerado un “cerebro”. En pulpos y calamares quedan excluidos de ese anillo los llamados ganglios “estrellados”. Estos ganglios controlan la musculatura corporal que permite los rápidos movimientos, en particular los vinculados con la propulsión a chorro y los cordones que los unen con el cerebro incluyen varios “axones gigantes” de hasta 1 mm de diámetro (Figura 36, izquierda).

El axón gigante del calamar

En 1909, el biólogo norteamericano Leonard Worcester Williams publicó un libro sobre la anatomía del calamar de la costa este de su país que, en ese momento, se llamaba *Loligo pealeii* y hoy *Doryteuthis pealeii* (Lesueur, 1821). Allí describió por primera vez los axones² gigantes aunque sin mucho detalle ni sugerencias sobre su función. Sin embargo, él estaba convencido que esas fibras excepcionalmente anchas eran de origen nervioso. Tres años después, murió en un accidente en el ascensor de la Escuela Médica de Harvard y su trabajo quedó en el olvido por 25 años. Su viuda alquilaba habitaciones a estudiantes de Harvard y entre ellos estaba Kenneth Stewart Cole, el pionero en la aplicación de la física a la biología, que pudo acceder a la Tesis Doctoral de Williams. Ya volveré a mencionarlo pronto.

El hallazgo de Williams fue “redescubierto” por John Zachary Young. JZ, como lo llamó el mundo académico, fue un carismático zoólogo y neurofisiólogo inglés. Su lugar de trabajo fueron las Universidades de Oxford y Londres, pero, a partir de 1928, pasó sus veranos haciendo sus experimentos en la Stazione Zoologica de Nápoles de la que tanto escribí en el capítulo anterior. A tal punto llegó su “vicio” que siguió con sus viajes a Nápoles y sus investigaciones después de jubilado. La Stazione lo premió con una medalla de oro y en 1991 fue nombrado ciudadano honorario de esa ciudad.

En su primer visita, con solo 21 años, trabajó con Enrico Sereni quien estudiaba varios aspectos de la fisiología del pulpo. Ambos investigaron la regeneración de los nervios en ese inteligente animal, y en él JZ descubrió un órgano adherido al ganglio estrellado. Lo llamó “cuerpo epistelar” y pensó que era una glándula. Sin embargo, 25 años más tarde se descubrió que se trata de un órgano fotoreceptor (sensible a la luz) extraocular. Enrico, además de fisiólogo, era comunista y al año siguiente apareció muerto en su baño por causas desconocidas. ¡JZ atribuyó el hecho a su militancia en los tiempos del fascismo!

2 El término axón fue definido en el capítulo 2: Debut en Estocolmo de la mano de un español y un italiano. Luego, mencionado en el capítulo 4: Las ranas y los neurotransmisores.

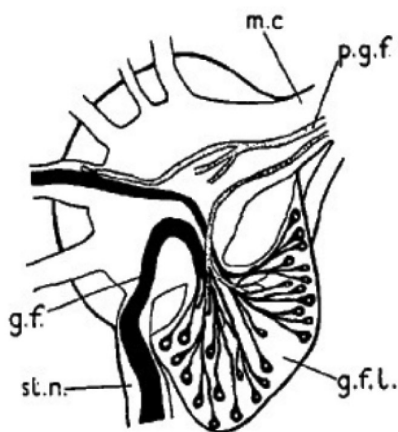
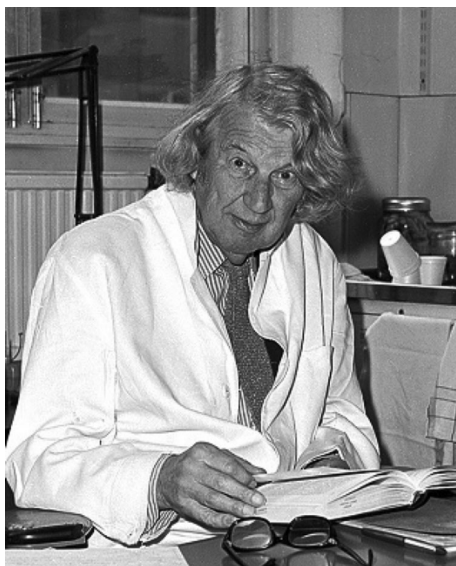


Figura 37. JZ Young y su esquema del ganglio estrellado del calamar *Loligo*, dibujado en 1936. El significado de las abreviaturas es el siguiente: g.f.l., lóbulo de las fibras gigantes (las “gotas” negras con un punto blanco son los cuerpos celulares y núcleos -respectivamente- de las neuronas que confluyen para formar esas fibras), p.g.f., fibra gigante preganglionar dentro del nervio palial (m.c.), g.f., fibra gigante postganglionar dentro del nervio estrellado (st.n.).

Buscando el cuerpo epistelar en los calamares, JZ encontró las fibras gigantes descritas por Williams, y al principio no podía creer, según sus propias palabras, que fueran fibras nerviosas. Primeramente pensó que esos largos tubos formados por células fusionadas eran vasos sanguíneos. Cuando regresó a Oxford continuó estudiando esas estructuras durante varios años principalmente en el Laboratorio Marino de Plymouth usando el calamar *Loligo forbesii* Steenstrup, 1857 (Figura 34). Se trata de una especie muy común en las costas europeas del Atlántico y el Mar Mediterráneo; es largo, alcanza una longitud de hasta 90 cm, y delgado. Sus características aletas forman un rombo alargado y ocupan 2/3 del cuerpo; su nombre común es “calamar veteadado”, y es un importante recurso pesquero. No encontró células sanguíneas en el interior de los tubos pero observó que al galvanizarlos con un simple electrodo³ causaba la contracción del manto.

3 El verbo galvanizar figura en el Diccionario de la RAE con 4 definiciones. La última dice así: Estimular músculos o nervios mediante la aplicación de corrientes eléctricas. Dehía

En 1936 publicó su descripción de lo que ahora se conocen como axones gigantes. Los largos tubos tienen 0.5 a 1 mm de diámetro y se originan de numerosas neuronas pequeñas (entre 300 y 1500) de la parte posterior del ganglio estrellado, cuyas prolongaciones se fusionan. JZ estaba convencido que serían de gran interés para los fisiólogos interesados en la transmisión eléctrica. La comprobación de que esas fibras eran en realidad axones la efectuó en el MBL de Massachusetts. En efecto, cuando eran estimuladas producían una contracción coordinada de los músculos del manto y la expulsión del poderoso chorro de agua que usan en la locomoción y escape. Es interesante señalar que las reacciones de escape de peces y anfibios también están relacionadas con axones de un diámetro especialmente mayor, hecho que había sido destacado por Williams en su precursor trabajo.

En Woods Hole, JZ pudo acceder a innovaciones tecnológicas, como osciloscopios, con las cuales pudo medir los cambios en la actividad eléctrica de la superficie del axón gigante a lo largo del tiempo. Eso lo logró en colaboración con Haldan Hartline (que ganaría el Nobel de 1967 junto a Ragnar Granit y George Wald por sus descubrimientos sobre los procesos fisiológicos del ojo vinculados con la visión)⁴. Luego de esa estancia allí, JZ no volvió a ocuparse del axón gigante sino que se dedicó a trabajos experimentales en fisiología animal y zoología. Dejó que otros continúen su trabajo: los norteamericanos Kenneth Cole y Howard Curtis en Woods Hole, por un lado, y los ingleses Alan Hodgkin y Andrew Huxley en Plymouth, por otro, lograron medir los cambios en el interior del axón. Para eso disponían de microelectrodos (0.1 mm de diámetro) y de un método experimental usado por los electrofisiólogos que se llama “pinza de voltaje” (en inglés *voltage clamp*). Dos propiedades del calamar, el gran tamaño de sus fibras nerviosas (Figura 38) que inervan el manto permite, la introducción de un microelectrodo y la facilidad para obtener el material lo hicieron posible. ¡Una enorme tarea para un gran biólogo será estudiar, algún día, el axón gigante del calamar gigante!

haber estado en primer lugar ya que homenajea a Luigi Galvani (capítulo 4). De hecho, el experimento de JZ emula al que Galvani llevó a cabo usando ranas.

4 <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1967/summary/>

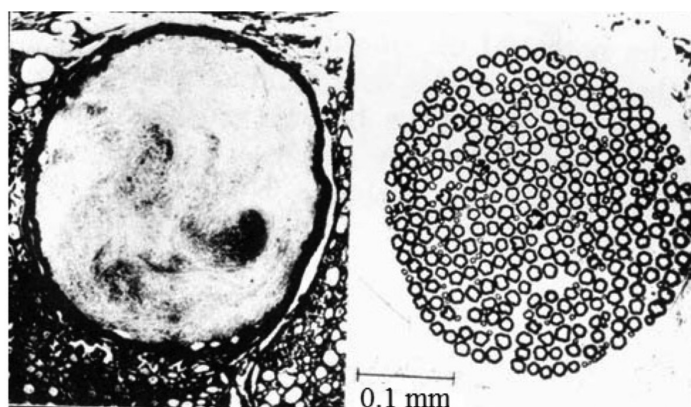


Figura 38. Comparación entre el axón gigante del calamar *Loligo* (izquierda) y un vervio de conejo de igual diámetro (derecha), formado por muchos axones pequeños.

El potencial de acción y el axón gigante

El papel de la electricidad en el sistema nervioso fue observado por primera vez en ranas por Luigi Galvani a fines del siglo XVIII que por esa razón ha sido llamado el “padre de la electrofisiología”. En el siglo siguiente, el físico italiano Carlo Matteucci demostró que existe una diferencia de potencial⁵ entre ambos lados de las membranas celulares (o sea entre el interior y el exterior de la célula) que puede producir una corriente eléctrica. Su trabajo inspiró, a su vez a Emil du Bois-Reymond que descubrió el “potencial de acción” en 1843⁶. ¿De que se trata eso?

Se llama potencial de acción al cambio operado en la diferencia de potencial eléctrico a través de una membrana de una neurona, axón o fibra muscular, que se propaga a lo largo de la misma. Es un cambio local y transitorio, pero rápido y drástico (dura 1 milésima de segundo), de modo tal que el interior de la célula pasa de 70 milivoltios negativos cuando está en reposo a 40 milivoltios positivos. Luego se recupera la situación original, más lentamente (unos 4 milésimas de segundo). En un axón, esa “perturbación” se va despla-

5 La diferencia de potencial es una magnitud física que denota el impulso que necesita una carga eléctrica para que pueda fluir por el conductor de un circuito eléctrico. Se mide en voltios (V), una unidad que es un homenaje a Alessandro Volta. Por ejemplo, la diferencia entre los dos extremos de una pila AA es 1.5 V. Hay una diferencia de potencial entre el interior y el exterior de una célula debida a la diferente concentración de iones, y se mide en milivoltios (mV).

6 Mencionado en el capítulo 4: Las ranas y los neurotransmisores

zando hasta llegar a la sinapsis (Figura 6), y esa es la manera como se transmite el “impulso nervioso”. La velocidad con la que se desplaza el potencial de acción (y por lo tanto el impulso nervioso) fue medida en 1850 por un amigo de Bois-Reymond, el médico y físico Hermann von Helmholtz.

Entre 1902 y 1912 el fisiólogo Julius Bernstein, también alemán, propuso que el potencial de acción era el resultado de un cambio en la permeabilidad de la membrana del axón a los iones. En 1907 el francés Louis Lapicque sugirió que para generar un potencial de acción es necesario superar un valor umbral y que entonces el mismo se “dispara” totalmente: esa es la ley del “todo o nada”.

La hipótesis de Bernstein recién pudo ser confirmada por Kenneth Cole y Howard Curtis en 1939 en el MBL. Kenneth había llegado allí por primera vez en el verano de 1924 para trabajar en biofísica con los huevos de los erizos de mar *Arbacia*, y nunca dejó de volver. En 1938 expuso a Alan Hodgkin sus métodos para preparar el axón gigante del calamar, y juntos midieron el potencial de reposo del mismo. Alan era un graduado de la Universidad de Cambridge, en el Reino Unido, que había hecho la mayor parte de su trabajo previo en el laboratorio de Plymouth. Tenía entonces una beca para trabajar en Nueva York y ese mismo año conoció a Andrew Huxley, otro alumno de Cambridge apenas tres años menor. Andrew era descendiente e integrante de una familia notable en ciencia y literatura desde los tiempos de Darwin. Juntos formaron una asociación científica muy productiva que concluyó con un Nobel compartido (Figura 39).

Al año siguiente, Kenneth y Howard refinaron su tecnología lo suficiente como para ser capaces de insertar microelectrodos cuidadosamente dentro del axón. Por otra parte, Alan regresó a Plymouth y junto a Andrew pudieron hacer lo mismo, usando métodos algo diferentes. Los datos que obtuvieron los ingleses fueron lo suficientemente precisos como para formular una ecuación biofísica del potencial de acción. Pero poco después de su hazaña científica, Hitler invadió Polonia y comenzó la Segunda Guerra Mundial. En los siguientes años Alan y Andrew trabajaron en el diseño de máscaras de oxígeno para los aviadores y mejoramiento de armas, respectivamente.

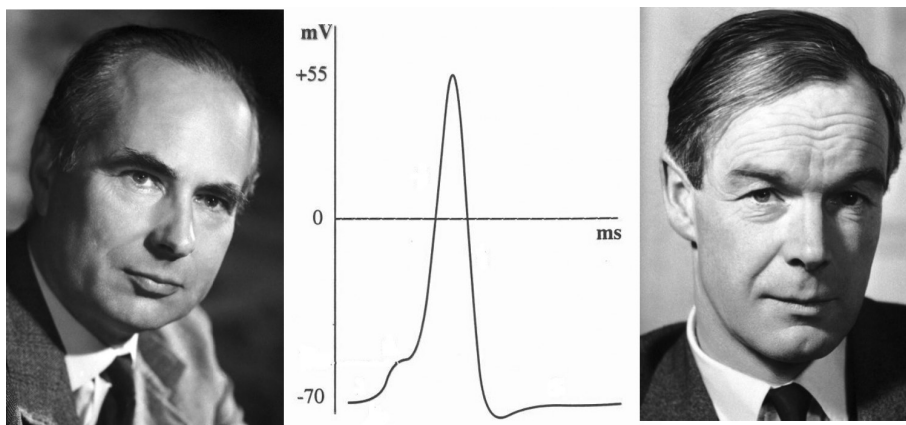


Figura 39. Huxley (izquierda), Hodgkin (derecha) y el potencial de acción del axón gigante del calamar. Representa la diferencia de potencial en milivoltios (mV) en función del tiempo en milisegundos (ms).

Después de la guerra ambos continuaron sus experimentos con recursos más sofisticados y demostraron que los iones potasio son importantes en la reversión del potencial de acción a su estado de reposo. En 1949, Alan y Bernard Katz⁷ refinaron la hipótesis de Julius Bernstein al considerar que la membrana del axón puede tener diferentes permeabilidades para distintos iones y demostraron que el cambio en la diferencia de potencial entre el exterior y el interior de la neurona que permite el ingreso de iones sodio origina el potencial de acción.

Toda esta línea de trabajo culminó en los 5 trabajos firmados por el trío Hodgkin, Katz y Huxley. En ellos, aplicando la técnica de “pinza de voltaje”, determinaron que la permeabilidad del axón al sodio y al potasio depende del voltaje y el tiempo. Así pudieron describir cuantitativamente el potencial de acción. El modelo conocido como de “Hodgkin y Huxley” incluía hipotéticos canales por donde pasan esos iones, que existirían en distintos estados: abierto, cerrado e inactivado. Esas hipótesis fueron confirmadas por Erwin Neher y Bert Sakmann veinte años más tarde⁸ (capítulo 4).

⁷ Nobel 1970, mencionado en el capítulo 4: Las ranas y los neurotransmisores

⁸ Nobel 1991, mencionado en el capítulo 4: Las ranas y los neurotransmisores

Hodgkin y Huxley fueron dos de los tres galardonados con el Nobel de 1963 por su modelo del potencial de acción. El tercer galardonado fue el neurofisiólogo australiano John Carew Eccles⁹. Kenneth Cole no lo recibió aunque su nombre fue mencionado en las respectivas Conferencias Nobel y está claro que su trabajo fue una contribución necesaria para los descubrimientos acerca de los mecanismos de transmisión de los impulsos nerviosos. Esto replica la situación narrada en el capítulo 3 sobre el papel de Hamburger en la investigación acerca del factor de crecimiento nervioso y cuestiona la costumbre de otorgar los premios en ciencia a individuos.

Eccles fue discípulo de Sherrington en Oxford y más tarde gran amigo del filósofo vienés Karl Popper. Eccles conoció a Popper en Nueva Zelanda, donde este último estaba exiliado (del nazismo, claro), y trabajaron en conjunto; uno de los resultados más conocidos de esa cooperación fue el libro “El yo y su cerebro”¹⁰. Eccles también tuvo un papel en el descubrimiento y descripción de las bases químicas y eléctricas del funcionamiento del sistema nervioso pero su modelo de investigación fue sobre todo el gato. En un principio fue un defensor de la hipótesis de la sinapsis eléctrica en contraposición de la química, pero más tarde reconoció su equivocación y la mostró con orgullo como un ejemplo de como debe funcionar el conocimiento científico: no avanzar confirmando nuevas leyes, sino descartando leyes que contradicen la experiencia. Así lo había propuesto Popper.

Los logros fueron grandiosos pero los científicos todavía no podían conectar la actividad de las neuronas con el comportamiento animal. Metafóricamente, habían caracterizado el alfabeto con el cual está escrito el lenguaje de las neuronas pero no ese lenguaje. Para eso no era útil el calamar y se necesitaba otro modelo (capítulo 7).

Pasado, presente y futuro de la investigación científica en cefalópodos

Un análisis del número de publicaciones científicas que tratan de investigaciones sobre estos fascinantes bichos muestra resultados interesantes. Los valores quinquenales fueron entre 1 y 10 entre 1900 y 1955, de 80 a 120 entre 1956 y 1970 en el auge de la electrofisiología basada en el axón gigante, un dramático descenso entre 1971 y 1990 (no más de 10) y una recupera-

9 <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1963/ceremony-speech/>

10 Publicado originalmente en 1977. Popper, K. R.; Eccles, J. C. (1993). *El yo y su cerebro*, Barcelona : Labor, 667 pag.

ción entre 1991 y 2000 (alrededor de 30). En el nuevo siglo los valores se incrementaron muchísimo, llegando a unos 800 por década que abarcan estudios de acuicultura, comportamiento y, más recientemente, genética. El primer genoma publicado fue el del pulpo *Octopus bimaculoides* en 2015, en tanto que el del primer calamar correspondió a *Euprymna scolopes*, de Hawai, en 2019¹¹.

11 Rokhsar D. S, et al (2015). The octopus genome and the evolution of cephalopod neural and morphological novelties. *Nature* 524: 220–224. Spencer V Nyholm S. V. et al. (2019). Symbiotic organs shaped by distinct modes of genome evolution in cephalopods. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA* 116(8):3030-3035

Capítulo 7

Las liebres de mar

Los gasterópodos son el grupo de moluscos que incluye a los caracoles, los arquitectos de la naturaleza, con sus conchas dorsales cónicas o enrolladas en espiral. Del lado ventral, se ubica el potente pie muscular con el cual, la mayoría de ellos, reptan¹. También hay gasterópodos sin concha, como las babosas. Se propone que la concha se ha perdido a lo largo de la evolución en varios linajes del grupo como consecuencia de adaptaciones a ambientes y modos de vida particulares.

*Aplysia*² es un género de gasterópodos marinos llamado comúnmente “liebre de mar” debido a los dos tentáculos que sobresalen de su cabeza, llamados rinóforos, y que recuerdan las largas orejas de las liebres. La primera mención de *lepus marinus*, es decir liebre de mar, aparece en la *Historia Naturalis* del naturalista romano Plinio el Viejo, escrita en el siglo I DC. El nombre actual del mismo fue propuesto por Linnaeus en 1767, aunque en su trabajo figura como *Laplysia* (que se luego interpretó como *L'Aplysia*). Existen 37 especies que miden desde 2 hasta 70 cm de largo y llegan a pesar casi 16 kg.

Las aplisias viven en fondos marinos y son herbívoras. Tienen una concha plana pequeña e interna que recubre sus vísceras y dos expansiones laterales

1 La palabra gasterópodo también está formada por dos palabras originarias del griego antiguo: *gastēr* (estómago o vientre) y *pous-podós* (pie, como ya expliqué con cefalópodo).

2 El nombre proviene del griego *Aplytos* que significa sucio.

de la superficie dorsal (el manto): los parapodios (Figura 40). Éstos protegen el cuerpo y los órganos respiratorios externos, llamados branquias, hacia los cuales canalizan una corriente de agua. Por lo tanto, cumplen con una función que corresponde a la concha en la mayor parte de los caracoles. Unas pocas especies usan los parapodios para nadar.

La mayoría de las aplisias segrega una tinta oscura cuando son molestadas y probablemente a causa de eso se las bautizó como “sucias” (Figura 41, izquierda). La tinta no es tóxica para los humanos, aunque puede manchar las manos y ensuciar la ropa. Contiene sustancias que espantan a los escasos depredadores que se le animan, y además en ella se acumulan toxinas de las algas que constituyen su dieta.

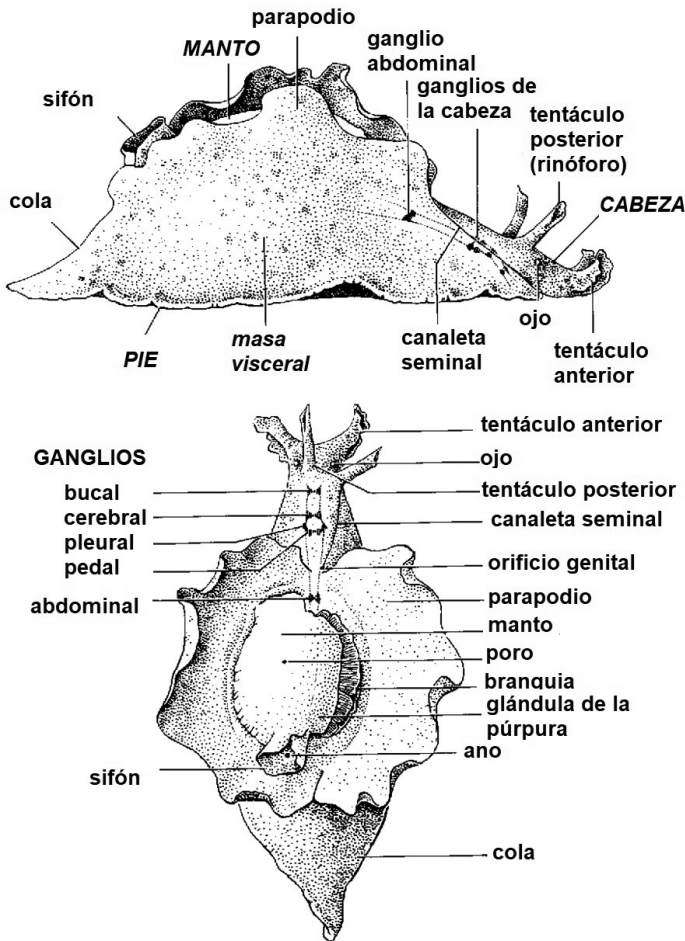


Figura 40. Esquemas de una *Aplysia* en vista lateral (arriba) y dorsal (abajo), señalando las partes del cuerpo que se mencionan en el texto, incluido el sistema nervioso.



Figura 41. *Aplysia californica* segregando su tinta (izquierda) y formando una cadena de individuos en cópula (derecha).

Estos animales, como muchos otros caracoles, son hermafroditas, y tienen genitales masculinos y femeninos. En primavera y verano se forman agregaciones de individuos para copular, alternando el papel de macho y hembra según la ocasión. Con frecuencia se forman cadenas y círculos de individuos copulando juntos, en los que un mismo ejemplar ejerce de macho, introduciendo su esperma en el ejemplar contiguo, y a la vez, es inseminado por el que viene detrás, y así sucesivamente (Figura 41, derecha). El resultado de esas orgías de babosas son unas tiras de millones de huevos fecundados que depositan en el fondo del mar.

Del Pacífico al Báltico

La heroína que llegó a Estocolmo es la especie *Aplysia californica* Cooper, 1863. Fue descubierta en una playa cerca de Santa Bárbara, California, Estados Unidos y bautizada por el naturalista James Graham Cooper. Esta liebre de mar vive a lo largo de la costa oeste de Estados Unidos, a partir de Oregon, y alcanza el norte de México, principalmente en la zona entre mareas, pero también en aguas más profundas hasta un máximo de 20 m. Su longitud alcanza 75 cm y su peso los 7 Kg, pero no es la especie más grande dentro del género (Figura 42).



Figura 42. *Aplysia californica* Cooper, 1863

Arnold Kriegstein, discípulo de Eric Kandel (uno de los ganadores del Nobel de 2000), consiguió criar *A. californica* en el laboratorio desde el embrión hasta el estado adulto. Durante su crecimiento la liebre de mar pasa primero por una etapa larval en la que es un ser microscópico transparente, como ocurre en los erizos de mar y en muchos gasterópodos marinos. La larva nada libremente en el agua, alimentándose de algas unicelulares, hasta la metamorfosis. La siguiente etapa es una babosa juvenil que cambia su dieta y reptas en el fondo marino; es una versión diminuta del adulto. Arnold observó ejemplares juveniles silvestres y advirtió que descansaban a menudo sobre una especie de alga roja llamada *Laurencia pacifica* Kílím 1941. En efecto, las larvas necesitan asentarse allí, de donde extraen las sustancias químicas necesarias para que se produzca la metamorfosis.

El sistema nervioso de *Aplysia*

El sistema nervioso se compone de 5 pares de ganglios (Figura 40). Tres de ellos forman un anillo alrededor del esófago e incluyen el par principal, los “ganglios cerebrales”. Los otros dos pares son periféricos y se alojan en la parte anterior y posterior del cuerpo, respectivamente. Los ganglios de uno o dos de esos pares se fusionan, y así en los trabajos científicos se habla de 8 o 9 unidades. Pero lo realmente importa es que esos ganglios tienen relativamente pocas

neuronas (entre 10000 y 20000)³ y muchas de ellas son de gran tamaño, tienen vivos colores y son accesibles desde la superficie de los mismos. Se trata posiblemente de las células somáticas más grandes del reino animal, y solo los óvulos son mayores. Además, cada una de ellas tiene una ubicación fija en el ganglio y es reconocible por su aspecto. El primer científico en proponer que muchas neuronas eran “únicas” fue el alemán Richard Goldschmidt en 1908 en el estudio de un ganglio del gusano nematodo *Ascaris*, gran parásito del intestino (ya lo volveremos a ver a Goldschmidt en el capítulo 8 y a los nematodos en el 9). Todos los animales de la especie de *Ascaris* que estudió tenían la misma cantidad de células (162) ubicadas en la misma posición dentro del ganglio.

También en *Aplysia* cada neurona pudo ser identificada y, además, recibió un nombre. La R2, que forma parte del “ganglio abdominal” (Figura 43) mide más de 1mm de diámetro, es tan grande como el cerebro de una *Drosophila melanogaster* (capítulo 8) o como una docena de *Caenorhabditis elegans* enteros (capítulo 9). Ese gigantismo celular está relacionado con la poliploidía: tienen muchos juegos de cromosomas en vez de 2 en cada núcleo. Una célula R2 tiene cerca de 600000 copias de cada cromosoma.

El número de neuronas periféricas (externas a los ganglios) no se conoce pero se estima en unas 50000 como mínimo. Eso incluye neuronas sensoriales que reciben información de los órganos de los sentidos, neuronas motoras que contactan con células musculares e interneuronas que conectan las anteriores. Es una cifra muy exigua si se la compara con los nervios periféricos de ser humano.

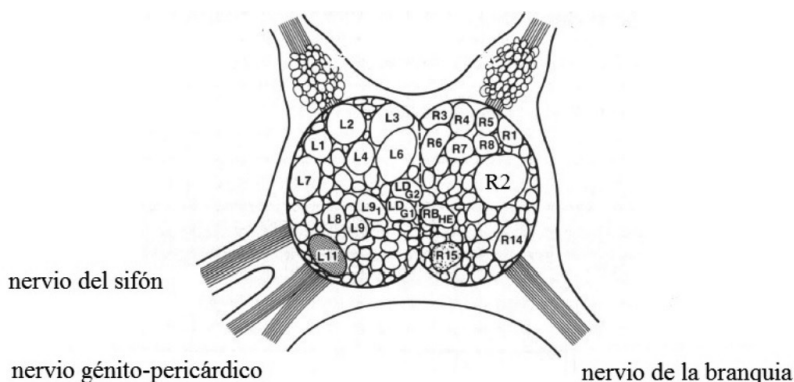


Figura 43. Esquema de los dos ganglios abdominales fusionados con la ubicación de las neuronas individuales. Éstas se designan con números precedidos por L (izquierda) y R (derecha). La célula de mayor tamaño es R2.

3 El “ganglio cerebral” de la mosca *Drosophila melanogaster* tiene 10 veces más neuronas, el cerebro humano miles de millones.

Las características más notables de las enormes “neuronas ganglionares” habían comenzado a estudiarse en *Aplysia depilans* Gmelin 1791 del Atlántico Oriental y el Mar Mediterráneo. Esta especie fue descrita por el médico alemán Johann Friedrich Gmelin, quien supervisó entre 1788 y 1793 la decimotercera edición de la obra de Linneaus y la enriqueció con numerosas modificaciones y añadidos. Vive en profundidades de 1,5 a 10 m, pero no en la zona entre mareas; los individuos miden hasta 40 cm y pesan hasta unos 400 g. Se llama así porque la tradición indica que al comerla se produce la pérdida del pelo; por otra parte, una antigua leyenda cuenta que el emperador romano Tito fue envenenado por su hermano con una *Aplysia* aunque no consta que primero haya quedado calvo.

Las investigaciones sobre *A. depilans* fueron llevadas a cabo en Francia por dos emigrados: Ladislav Tauc, que llegó desde la actual República Checa en 1949 y trabajaba en París, y Angélique Arvanitaki, que arribó desde Egipto y trabajaba en Marsella. Junto al esposo de Angélique, Nick Chalazonitis, formaron un trio de neurofisiólogos que lograron los primeros registros intracelulares de neuronas gigantes de la liebre de mar en 1955. En ese momento, sus trabajos se vieron eclipsados por la marea de publicaciones sobre el gigante axón del calamar⁴ (capítulo 6).

Claro que *Aplysia*, un herbívoro con relativamente pocas neuronas, no puede competir en “inteligencia” con los cefalópodos, activos cazadores con gran capacidad para los aprendizajes complejos. Pero era exactamente lo que querían los neurocientíficos de comienzos de la segunda mitad del siglo XX: un organismo que presente comportamientos estereotipados pero aprendidos y que puedan ser explicados en términos de la biología molecular de neuronas y sinapsis individuales.

Las bases celulares del comportamiento de *Aplysia californica* habían comenzado a ser estudiadas por Felix Strumwasser, del Instituto de Tecnología de California, en la década de 1960. Con esas “pocas” neuronas él comprobó que la liebre de mar es capaz de encontrar la particular comida vegetal que forma su dieta, evadir los depredadores, dormir y despertar con un ciclo diario similar al nuestro, copular con otros individuos pero solo en verano y otoño, realizar una variedad de tareas aprendidas y probablemente migrar. ¡Gracias a esas neuronas, esos bichos son capaces de aprender, como la mayoría de los animales en mayor o menor grado! Y, además, esa *Aplysia* logró integrar el grupo de las celebridades zoológicas y conocer Estocolmo junto a su jefe, Eric Kandel.

⁴ Capítulo 6: El potencial de acción y el axón gigante

El Nobel de 2000: homenaje a la neurobiología

Eric compartió el premio con Arvid Carlsson y Paul Greengard⁵, que reconoció el conjunto de sus trabajos, y fue otorgado por los estudios sobre los procesos químicos involucrados en las conexiones de las neuronas entre sí y con las células musculares. Es decir, en la sinapsis. Específicamente, tal como sostuvo la Academia Sueca, “por sus descubrimientos sobre la transducción⁶ de señal en el sistema nervioso”. Carlsson y Greengard no usaron a *Aplysia* como modelo experimental, pero es pertinente dedicarles unos renglones.

El sueco Arvid Carlsson descubrió que la dopamina es un neurotransmisor en el cerebro y que tiene mucha importancia en nuestra capacidad para controlar los movimientos. Un logro adicional fue la observación de que la enfermedad de Parkinson es causada por la falta de dopamina en ciertas partes del cerebro y su consecuencia el desarrollo de un remedio eficiente (L-dopa) para esta enfermedad.

El norteamericano Paul Greengard descubrió como la dopamina, y otros neurotransmisores ejercen su acción en el sistema nervioso. Todo neurotransmisor liberado en la membrana presináptica de la terminación de un axón actúa primero sobre un receptor de la membrana postsináptica de otra neurona⁷. Este receptor dispara en esa segunda neurona una secuencia de reacciones químicas que afecta unas proteínas clave que regulan varias funciones de dicha neurona. Esa secuencia se describe con la poética metáfora de una “cascada” de reacciones. ¿De que manera son afectadas esas proteínas clave? Su forma cambia por la adición o remoción de unas moléculas que contienen fósforo; se llaman “grupos fosfato”. Así se pudo identificar el mecanismo químico completo por medio del cual los neurotransmisores transportan sus mensajes de una neurona a otra.

De Viena a Nueva York, y del psicoanálisis a la neurobiología

La Viena del primer tercio del siglo XX era, según dicen, el polo intelectual y artístico de Europa. Allí nació Eric Kandel en una familia de la numerosa clase media judía. Pero las cosas cambiaron y a los 9 años debió emigrar debido a la persecución de los nazis. Su destino fue Nueva York, donde cursó sus estudios

5 <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2000/summary/>

6 transducción: transformación de un tipo de señal en otro distinto (por ejemplo: eléctrica y química)

7 Capítulo 4, figura 23

secundarios en una buena escuela pública de su barrio, Brooklyn. Sus intereses eran, según cuenta en su autobiografía⁸, la historia, la escritura, las muchachas y el fútbol. Luego de egresar pasó, becado, a Harvard donde obtuvo un grado académico en historia europea de los siglos XIX y XX. Allí también comenzó su interés por el psicoanálisis al punto que decidió que dedicaría su vida a esa profesión.

Para ser psicoanalista lo mejor era estudiar medicina y especializarse en psiquiatría. Logró ingresar a la escuela de medicina de la Universidad de Nueva York en 1952. Cuando estaba en la última etapa de su carrera, Eric se interesó, además, por la biología de la mente, algo raro para los psicoanalistas de aquella época. Por esa razón tomó un curso en la Universidad de Columbia, donde luego fue postdoctorando. Allí supo de los trabajos de Stephen Kuffler, un médico vienés que se hizo fisiólogo y que fue uno de sus tres grandes “héroes neurobiológicos” junto a los Nobeles Bernard Katz y John Eccles. ¡Kuffler estudiaba las dendritas de neuronas de cangrejos de río y langostas pero de una forma novedosa: las podía ver y tomar registros de su actividad directamente! Fue así como Eric percibió la utilidad de los invertebrados en neurobiología.

Trabajó en los Institutos Nacionales de Salud de Estados Unidos entre 1957 y 1960, tratando de comprender los mecanismos celulares y moleculares del aprendizaje y la memoria. Inicialmente, su método fue el registro de la actividad intracelular de las neuronas y su modelo el hipocampo, una parte del cerebro de los vertebrados particularmente importante para los recuerdos. El tema de los recuerdos era la conexión con el psicoanálisis, su primera pasión como estudiante.

Se trataba de un sistema complejo y una tarea difícil. Era el momento de buscar un modelo que permita un enfoque diferente que él llamó “reduccionista”. En sus propias palabras: “Yo quería un sistema que sirviera para el estudio del aprendizaje del mismo modo que el axón gigante del calamar había servido para estudios del potencial de acción o la sinapsis neuromuscular de la rana para estudiar la transmisión sináptica”⁹. Era una audacia en aquel tiempo pretender hacer inferencias a partir de “cerebros simples” al complejo de los mamíferos y sobre todo al humano, y los científicos veteranos trataron de disuadirlo. Pero Eric estaba convencido que los mecanismos básicos de la memoria debían haberse conservado a lo largo de la evolución animal.

Comenzó entonces una búsqueda que incluyó crustáceos, moscas, el ya mencionado gusano nematodo *Ascaris* (que volverá a aparecer en el capítulo

8 Kandel, E. R. (2007). En busca de la memoria : nacimiento de una nueva ciencia de la mente. Buenos Aires : Katz, 569 pág.

9 <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2000/kandel/biographical/>

9) y concluyó con *Aplysia*. Así fue como, luego de completar su residencia médica, obtuvo una beca postdoctoral en 1962 para ir a trabajar al laboratorio de Ladislav Tauc en París.

No fue simple encontrar un comportamiento apto para dar los primeros pasos en el estudio de la memoria: muchos relacionados con la alimentación, la locomoción, la expulsión de la tinta y, sobre todo, la reproducción eran demasiado complejos e involucraban en general varios ganglios. Se concentró entonces, con sus colegas, solo en aquellos gobernados por el ganglio abdominal (Figura 43), que contiene unas 2000 células y controla la respiración, el ritmo cardíaco, la postura de huevos y el reflejo de retracción de la branquia.

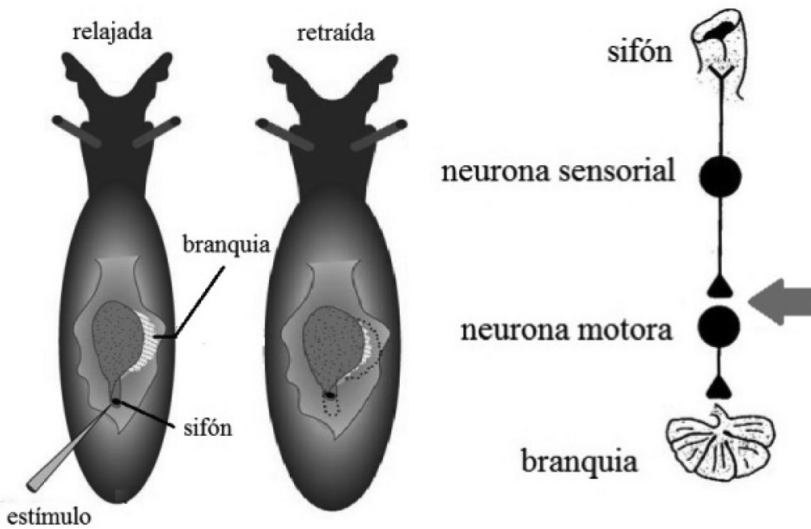


Figura 44. Reflejo de retracción de la branquia y el sifón en *Aplysia* y esquema de un reflejo simple (la flecha indica la sinapsis entre la célula sensorial y la motora).

En 1968 eligió este último reflejo: cuando se toca levemente el sifón, una parte de la cavidad del manto por la cual se expulsa el agua, éste y la branquia se retraen al interior de la misma como una forma de protección. Un reflejo simple consta de neuronas sensoriales que reaccionan frente a un estímulo y neuronas motoras que generan la respuesta muscular (Figura 44, derecha). En la mayoría de los reflejos existen también neuronas intermedias que relacionan los otros dos tipos.

Ese mismo año, Eric logró estimular una neurona individual y generar una contracción muscular que causaba la retracción de la branquia. Fue la primera de las 6 neuronas motoras del ganglio abdominal que intervienen en el reflejo activando los músculos del parapodio. Luego se identificaron las 6 células sensoriales del sifón que perciben el estímulo y por último un par de neuronas intermedias.

A partir de allí el trabajo se enfocó en el nivel neuronal y en particular en la sinapsis. El Nobel le fue otorgado por los descubrimientos acerca de las modificaciones en la eficiencia de las sinapsis y de los mecanismos moleculares involucrados. Demostró, usando a *Aplysia* como modelo experimental, que los cambios en el funcionamiento de la sinapsis son importantes en la memoria y el aprendizaje.

Eric encontró que ciertos estímulos originaban una “amplificación” del reflejo de protección de la branquia de *Aplysia*. Este refuerzo del reflejo podía permanecer por días y semanas, de modo que se origina una especie de aprendizaje. Y luego mostró que el aprendizaje se debe a una amplificación de la sinapsis que conecta las neuronas sensoriales con las motoras que activan los grupos musculares de los parapodios.

Inicialmente mostró que estímulos débiles originan una forma de memoria de “corto plazo” que dura desde minutos hasta horas. El mecanismo de este tipo de memoria es que unos “canales iónicos”¹⁰ particulares son afectados de una manera tal que más iones calcio entran en la terminación nerviosa. Esto conduce a un incremento en la liberación de neurotransmisores en la sinapsis y en consecuencia a la amplificación del reflejo. Este cambio se debe a la adición de fosfato a ciertas proteínas de los canales iónicos, el mecanismo molecular propuesto por otro de los galardonados en el 2000: Paul Greengard.

Un estímulo más poderoso y aplicado un tiempo más largo origina una memoria de “largo plazo” que puede permanecer semanas. Ese fuerte estímulo origina un incremento de los niveles de una pequeña molécula que actúa como un “mensajero intracelular”; la adenosina monofosfato cíclico o cAMP, para los amigos. El resultado es, a su vez una “cascada” de señales moleculares que llegan al núcleo de la neurona y causan un cambio en el número de proteínas de la sinapsis: algunas aumentan y otras disminuyen. El resultado final es que la superficie de la sinapsis aumenta y por lo tanto hay una mayor duración de su función. Al contrario de lo que ocurre con la memoria de corto plazo, la de largo plazo requiere la formación de nuevas proteínas.

¹⁰ Capítulo 4: Las ranas y los neurotransmisores

En pocas palabras, Eric demostró que ambos tipos de memoria en *Aplysia* están localizadas en la sinapsis. En la década de 1990 mostró que los cambios de la función sináptica en los ratones eran del mismo tipo que los que había detectado en la liebre de mar. Los mecanismos fundamentales que él reveló por medio de esa especie también serán aplicables a los seres humanos.

Capítulo 8

Una mosca pequeña y un capítulo muy largo

Los insectos son el grupo de animales más numeroso en especies. Una lista muy sucinta de nombres comunes de insectos incluye libélulas, saltamontes, grillos, langostas, cucarachas, chinches, pulgones, piojos, pulgas, mariposas, polillas, abejas, avispas, hormigas, escarabajos, gorgojos, tijeritas, moscas, mosquitos y tábanos. Pero cada uno de esos nombres vulgares representa decenas, centenas o miles de especies.

Todos los insectos tienen el cuerpo formado por unidades que se suceden a lo largo de una línea imaginaria que va de la cabeza a la cola y que los zoólogos llamamos “eje anteroposterior”. Esas unidades son los “segmentos”, que se agrupan en tres regiones: cabeza, tórax y abdomen (Figura 45). Los tres segmentos posteriores a la cabeza, que forman el tórax, llevan un par de patas cada uno y por esa razón a estos animales también se los llama “hexápodos”, que quiere decir 6 pies. Además muchos insectos tienen dos pares de alas en los segmentos que corresponden al segundo y tercer par de patas. Esos dos pares pueden ser iguales, como en las abejas, o diferentes como en los escarabajos. Hay insectos sin alas: unos nunca las tuvieron, otros las perdieron a lo largo de la evolución, como ocurrió en las pulgas y piojos.

También hay insectos en los cuales las alas del segundo par están muy reducidas, y funcionan como estabilizadores del vuelo denominados “halterios”¹. El resultado es que esos insectos parecen tener solo un par de alas, o sea una a cada lado del cuerpo, y por eso se los llama “dípteros” que quiere decir dos alas. No son simpáticos y se los asocia con la suciedad (las moscas) o las picaduras (los tábanos y los mosquitos). Los mosquitos transmisores de enfermedades matan muchísima más gente en el mundo que tiburones y leones juntos.

Este capítulo trata de un díptero: *Drosophila melanogaster*. Es una pequeña mosca, llamada comúnmente mosca del vinagre o mosca de la fruta, que se convirtió en uno de los modelos más usados en investigación en genética y embriología desde comienzos del siglo XX.

El género *Drosophila* fue bautizado por el naturalista sueco Carl Frederick Fallén, en 1823 y el nombre que eligió es poético, ya que en griego significa literalmente “amante del rocío”. Se han descrito más de 1500 especies, aunque se estima que son varios miles. Una de ellas es *Drosophila melanogaster* Meigen, 1830 descrita a partir de especímenes de Austria. Johann Wilhelm Meigen fue un entomólogo alemán pionero en la investigación de los insectos dípteros (Figura 45). La palabra *melanogaster*, que usó para diferenciarla de otras especies significa panza negra². O sea, *Drosophila melanogaster* quiere decir “amante del rocío con panza negra”. Un comienzo poético y un final no tanto, en mi opinión.

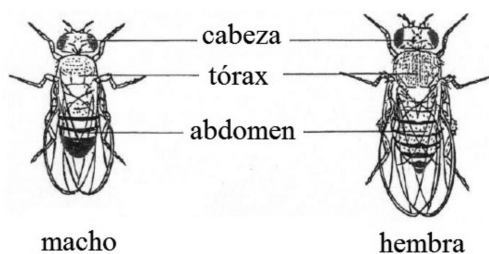


Figura 45. Esquema de *Drosophila melanogaster*

En tiempos de Meigen la descripción de una especie nueva era muy concisa, de modo que podría aplicarse a varias distintas. Su colección de dípteros y dos volúmenes con sus excelentes acuarelas fueron llevadas al Museo de Histo-

- 1 En el Diccionario de la RAE no figura la palabra “halterio”. Solo reconoce el femenino “haltera”, para designar una barra con pesos en los extremos que se usa en la halterofilia, o sea el levantamiento de pesas. Con un poco de imaginación, el halterio se parece a una haltera.
- 2 La palabra *melanogaster* está formada por dos términos griegos: *melas*, *melanos* (negro) y *gastēr* (estómago, vientre, o también panza).

ria Natural de Paris en 1839. Allí hay un macho y dos hembras con la etiqueta que dice *Drosophila melanogaster*; el macho fue disecado y fue designado espécimen tipo de la especie.

Luego la mosca ha sido descripta muchas veces y recibió distintos nombres (sinónimos) en diferentes sitios. Algunos investigadores proponen que se originó en el África Sub-Sahariana, que debe haber llegado a Europa y Asia hace entre 10 y 15000 años atrás y recientemente a América y Australia. A medida que aumentaron los viajes humanos, *Drosophila melanogaster* llegó a colonizar todos los continentes e islas.

Su hábitat natural está asociado con la presencia de frutos en descomposición así como toda clase de materia vegetal. Allí convive con numerosos microorganismos, que constituyen su principal fuente de alimentos, y otros pequeños animales incluyendo otras especies del género con las cuales interactúa. Se ha pensado que todas las poblaciones del mundo deberían ser genéticamente similares debido a su asociación con la especie humana y sus migraciones. Sin embargo, al estudiarlas en su medio natural se llegó a la conclusión opuesta y se la ha dividido en diferentes subespecies asociadas con distintos hábitats o climas.

El ciclo de vida

El ciclo de vida de *Drosophila melanogaster* se caracteriza por grandes cambios corporales, como ocurre en escarabajos, mariposas, abejas, avispas y hormigas.

Y aquí están los detalles: (Figura 46).

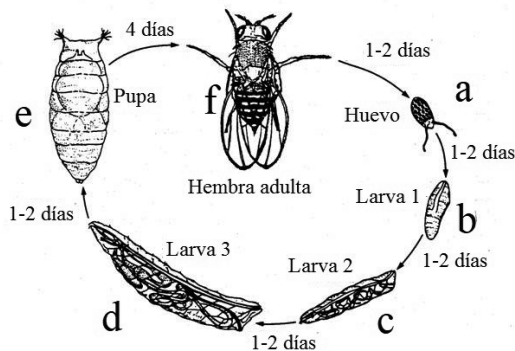


Figura 46. Ciclo de vida de *Drosophila melanogaster* y la duración de las etapas en el laboratorio a 25°C aproximadamente y con buen alimento.

Machos y hembras se reconocen, tanto en cuanto a la especie como al sexo, por medio de feromonas³ que producen ellas. Durante la cópula el macho transfiere espermatozoides a la hembra, que los almacena en unos órganos especiales llamados “espermatecas”. Los ovocitos maduran en el ovario y, finalmente, cada uno de ellos se encuentra formando un “folículo ovárico” junto a 15 células nutritivas y una lámina de células (llamada epitelio folicular,) que envuelve el conjunto. La fecundación ocurre en el útero y al cabo de 15 minutos el cigoto comienza a dividirse.

Los huevos miden aproximadamente 0,5 mm, son blancos, ovoides y se- mejan un minúsculo grano de arroz. El embrión está rodeado por dos mem- branas, una interna delgada y otra externa llamada “corion” que, en el extremo anterior, se extiende formando dos delgados “filamentos respiratorios” (Figura 46a). Estos permiten el intercambio de gases de los huevos con el aire, ya que sobresalen del sustrato en que fueron enterrados por la hembra: frutas en des- composición, otros restos vegetales o un medio artificial de cultivo.

El desarrollo del embrión en el laboratorio, a 25 °C, dura alrededor de un día (Figura 46a). A pesar de ser un evento continuo, para facilitar su estudio ha sido dividido en 17 estadios por José Antonio Campos-Ortega y Volker Har- tenstein en 1985⁴. Al cabo de ese tiempo eclosiona una primera larva. Tiene la forma de un gusanito blanco, con una estructura relativamente simple si se compara con las larvas de otros insectos como las mariposas: carece de patas, su cabeza es pequeña y solo tiene unas “mandíbulas” en el delgado extremo anterior (Figura 46b). El cuerpo es blanco pero cuando se observa con detalle la superficie ventral se ven una hilera de “dentículos” microscópicos que son la evidencia externa de la naturaleza segmentada del mismo.

Luego de otro día se transforma en una segunda larva, mediante un pro- ceso llamado “muda” o ecdisis (Figura 46c). La muda es una característica del crecimiento de todos los insectos y demás artrópodos⁵, así como de otros animales (como veremos en el próximo capítulo), cuyo cuerpo está envuelto en una cutícula más o menos rígida que limita su tamaño. Por esa razón, perió- dicamente se despojan de la cutícula luego de fabricar una nueva por debajo,

3 Feromona es una sustancia química cuya liberación al medio por un organismo, influye en el desarrollo o en el comportamiento de otros miembros de la misma especie

4 Campos-Ortega, J. A.; Hartenstein, V. (1985). *The Embryonic Development of Drosophila melanogaster*. Springer-Verlag, Berlin, 227 pág.

5 Los artrópodos son el grupo de animales con el mayor número de especies. La palabra significa “patas articuladas” y proviene de dos términos griegos: *árthron* = articulación y *pous-podós* = pies. Incluye todos los insectos, crustáceos (por ejemplo langostinos y can- grejos), arácnidos (por ejemplo, arañas, escorpiones y garrapatas) y miriápodos (cienpies). Y muchos organismos extintos.

inicialmente blanda y plegada, pero que luego se estira y endurece. Así, crecen de una manera discontinua.

La segunda larva es, entonces, más grande y 24 horas más tarde también muda originando una tercera larva, la mayor de las tres. Las larvas se alimentan del substrato en que fueron depositados los huevos; la tercera (Figura 46d) emerge del substrato y se ubica en un lugar seco y limpio donde comienza su transformación en pupa (Figura 46e).

La pupa es un estado de aparente reposo, Externamente se va oscureciendo progresivamente y en su interior se produce la metamorfosis que la transformará en una mosca adulta, también conocida como “imago”. Muchas estructuras larvales desaparecen pero otras (como el sistema nervioso, ovarios o testículos) se preservan, aunque se modifican.

La mayoría de las partes nuevas del adulto se forman a partir de unos grupos de células indiferenciados que estaban presentes en lugares específicos de las larvas. Son los “discos imaginales” y los “histoblastos”, que crecen durante el desarrollo de la larva y se diferencian en la pupa (Figura 47). Los primeros tienen la forma de lágrima minúscula y originan las alas, las patas, los ojos, los apéndices de la boca y los conductos genitales. Los histoblastos originan parte de la epidermis de los segmentos del abdomen y los órganos internos del adulto (por ejemplo, estómago, intestino, corazón). La pupa se transforma en adulto al cabo de 3 o 4 días, cuya vida se extiende unas 10 semanas (Figura 46f).

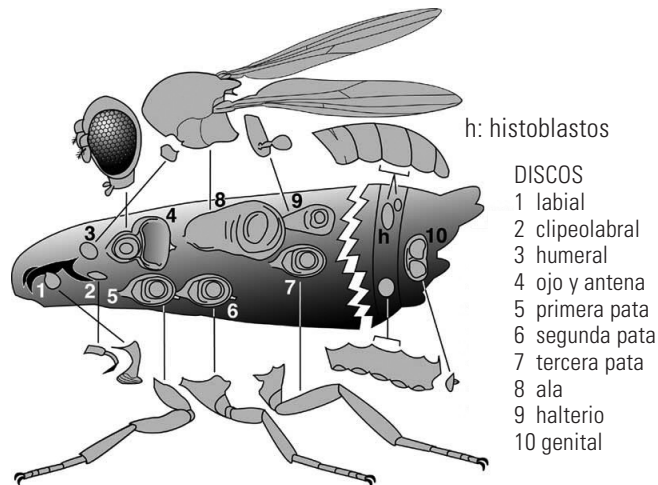


Figura 47. Ubicación de los 10 discos imaginales y los histoblastos en el tercer estadio larval de *Drosophila melanogaster* (figura central, se representa solo un lado pero del otro es igual). La imagen de la larva está dividida y no incluye la mayoría de los segmentos del abdomen. Por fuera, se ilustran las piezas del adulto que originan los discos e histoblastos.

Un modelo experimental muy exitoso

El Nobel se otorgó a los siguientes científicos que usaron *Drosophila melanogaster* en sus investigaciones:

- en 1933 a Thomas H. Morgan por establecer el papel de los cromosomas en la herencia.
- en 1946 a Hermann J. Müller por el uso de la irradiación con rayos X para producir mutaciones en un organismo vivo.
- en 1995 a Edward B. Lewis, Christiane Nüsslein-Volhard y Eric F. Wieschaus por su contribución al descubrimiento del control genético del desarrollo embrionario temprano.
- en 2011 a Bruce A. Beutler y Jules A. Hoffmann por su éxito en definir la inmunidad innata.
- en 2017 a Jeffrey C. Hall, Michael M. Rosbash y Michael W. Young por sus contribuciones al conocimiento de los mecanismos moleculares que controlan el ritmo circadiano (día/noche).

Las principales razones que hicieron de ella uno de los animales de laboratorio más usados son:

- Su cuidado y cultivo requieren poco equipamiento, espacio y dinero, aunque se haga en gran escala,
- Puede ser anestesiada fácil y seguramente con éter, dióxido de carbono o enfriamiento,
- Su morfología es fácil de reconocer una vez que está anestesiada,
- Tiene un tiempo de generación corto de modo que en pocas semanas pueden estudiarse varias generaciones,
- Las hembras son muy fecundas,
- Machos y hembras son fáciles de distinguir y las hembras vírgenes fáciles de aislar, lo que facilita los cruzamientos,
- La larva madura tiene cromosomas gigantes en las glándulas salivales, llamados “politénicos”, y engrosamientos llamados “puffs” que indican las regiones en que los genes se transcriben y por lo tanto están activos,
- Tiene solo 4 pares de cromosomas, uno de los cuales incluye los cromosomas sexuales,

- El desarrollo desde el huevo fertilizado hasta el animal maduro está estudiado en detalle,
- Se identificaron numerosos mutantes, algunos de ellos fáciles de distinguir morfológicamente, se conoce su genoma completo⁶ y existen técnicas de investigación genéticas específicas para la especie.

La historia de la llegada de *Drosophila melanogaster* a los laboratorios es algo confusa, pero es seguro que este evento tuvo lugar en Estados Unidos. Se piensa que el entomólogo norteamericano Charles William Woodworth fue el primero en criar estas mosquitas en cautiverio y en cantidad, cuando trabajaba en la Universidad de Harvard en 1900 y 1901. También fue el responsable de sugerir a los primeros genetistas de esa universidad usarlas como herramienta de investigación.

En su autobiografía Thomas H. Morgan cuenta que Woodworth presentó este organismo a William E. Castle. Se trataba del embriólogo que comenzó a investigar en genética en Harvard luego del “redescubrimiento” de las leyes de Mendel⁷. Su modelo inicial fue el conejillo de indias, pero luego empleó las mosquitas para sus trabajos sobre los efectos de la endogamia.

Por otra parte, el ictiólogo William J. Moenkhaus había llevado ejemplares a su laboratorio de la Universidad de Indiana en 1903 y convenció al entomólogo Frank E. Lutz de su utilidad en el estudio experimental de la evolución. Lutz, que entonces trabajaba en el laboratorio de la Institución Carnegie en Cold Springs Harbor, Long Island, descubrió que algunos ejemplares tenían los ojos blancos, al contrario que los ojos de la gran mayoría que eran rojos. Crió esos mutantes y, aparentemente, entregó ese cultivo a Thomas H. Morgan, que en ese momento estaba buscando un material barato para criar en el pequeño espacio que disponía en la Universidad de Columbia. Sin embargo, Morgan, en una carta de 1935 comentó, respecto de la donación de Lutz, “si fue así, lo he olvidado”.

Por último, Alfred Sturtevant, uno de los discípulos de Morgan escribió que algo del primer material usado fue recolectado en tiendas de comestibles que existían en Woods Hole, Massachusetts. En resumen, no se sabe como obtuvo Morgan, en algún momento del año 1908 sus primeras moscas.

6 Adams M. D. et al. (2000). The genome sequence of *Drosophila melanogaster*. Science 287 (5461): 2185-2195.

7 Capítulo 1: Enanos y gigantes.

Un zoólogo ecléctico que se convertirá en genetista, y su alumna

Thomas Hunt Morgan se doctoró en la Universidad Johns Hopkins de Baltimore, Estados Unidos en 1890. Su trabajo de tesis fue un estudio morfológico del desarrollo de un grupo particular de artrópodos, los picnogónidos, también llamados “arañas de mar”. Al año siguiente fue nombrado Profesor Asociado de Biología en el Bryn Mawr College, una universidad para mujeres del estado de Pennsylvania que fue la primera de Estados Unidos en ofrecerles carreras de postgrado. Sucedió a Edmund Beecher Wilson, llamado “primer citólogo de América”, un pionero en usar características embrionarias para establecer relaciones evolutivas entre los distintos grupos animales.



Figura 48. Thomas H. Morgan y su alumna Nettie Stevens

Allí, Thomas fue director de la tesis doctoral de Nettie Stevens, quien había llegado en 1900 y se doctoró en 1903 (Figura 48). Stevens había trabajado en la Stazione Zoologica de Nápoles y además en el Instituto Zoológico de la Universidad de Würzburg con Theodor Boveri en 1901 y 1902. En 1904, ella obtuvo una beca de investigación postdoctoral y pudo dedicarse a la investigación en Bryn Mawr hasta su temprana muerte, colaborando a menudo con Morgan; también volvió a trabajar con Boveri durante 1908. En 1905 Nettie publicó su inmenso trabajo sobre el desarrollo de los espermatozoides en insectos y, particularmente sobre el papel del cromosoma Y en la determinación del sexo.

El modelo más exitoso con el que trabajó ella fue el pequeño gorgojo de la harina *Tenebrio molitor*. Con él propuso que los cromosomas siempre existían en pares (¡ahora sabemos que no es siempre así!) y que en los machos Y es la pareja del cromosoma X descubierto en 1890 por Hermann Henking. También contradujo la idea de X como determinante el sexo propuesta por Clarence Erwin McClung, que era errónea, y sostuvo que el sexo está determinado por una única diferencia entre dos clases de espermatozoides: los que poseen el cromosoma X y los que poseen el cromosoma Y. Un óvulo fecundado por un espermatozoide portador de X producía una hembra y si era portador de un cromosoma Y, daba lugar a un macho.

En 1908 Nettie publicó un trabajo sobre las células sexuales de ciertos dípteros con los resultados de la disección y examen de alrededor de doscientos individuos incluyendo a *Drosophila ampelophila* que, en realidad, es un “sinónimo” de *Drosophila melanogaster*. O sea es la misma especie con otro nombre, hecho bastante común en zoología y que fue oportunamente corregido. Ella describió allí las tres parejas de cromosomas del macho como iguales a las de la hembra, y los cromosomas sexuales como una pareja claramente desigual. Supuso que el mayor de los dos cromosomas era el cromosoma presente por duplicado en la hembra. Sin embargo, reconoció que no pudo observar claramente los cromosomas sexuales de los machos, por lo que no se atrevía a afirmar si se trataba de un caso XO (ausencia de Y como en otros insectos) o XY. Hoy ya no hay dudas (Figura 49).

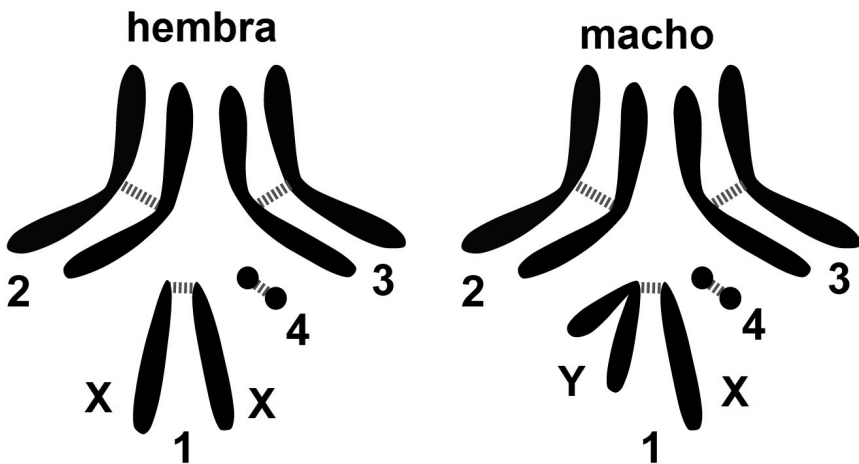


Figura 49. Los 4 pares de cromosomas en *Drosophila melanogaster* tal como se ven con el microscopio en la segunda fase de la división celular (mitosis) en una hembra (izquierda) y en un macho (derecha). Los pares de cromosomas se denominan 1 (ya sea XX o XY), 2, 3, y 4.

Edmund Wilson descubrió independientemente ese mecanismo el mismo año que Stevens, cuando ya trabajaba en la Universidad de Columbia, en Nueva York. Él se llevó gran parte del crédito, aparentemente por ser profesor, vivir más tiempo y tener un cromosoma Y.

Morgan, pionero del estudio de la regeneración

Volviendo a Morgan, en sus estadías en la Stazione Zoologica de Nápoles en 1884, 1885 y 1900 se había puesto en contacto con científicos de la talla de Anton Dohrn y Hans Driesch⁸ con quienes comprendió la importancia del enfoque experimental en los estudios biológicos y, sobre todo, embriológicos. Hasta poco tiempo atrás, el enfoque predominante en embriología, que era el principal interés al comienzo de su carrera, era el descriptivo.

Hacia 1895, se interesó en la regeneración de partes del cuerpo perdidas que presentan muchos animales, luego de percibir las dificultades del trabajo experimental que presentaban las primeras etapas del desarrollo embrionario. La regeneración está presente en diferentes grandes grupos zoológicos, tanto invertebrados (esponjas, cnidarios, platelmintos, anélidos, crustáceos, insectos, moluscos y equinodermos) como vertebrados (peces y anfibios). Morgan fue especialmente inspirado por el trabajo de Lazzaro Spallanzani⁹, que experimentó con una variedad de organismos, incluyendo planarias (unos famosos gusanitos bizcos), lombrices de tierra, cangrejos ermitaños y peces, y replicó muchos de los trabajos de su predecesor.

El 1901 había publicado más de 30 artículos sobre el tema y un libro que se llamó, justamente “Regeneración” en el que presentó, por una parte, el trabajo experimental que realizó y supervisó y, por otra, sintetizó y criticó el trabajo de sus predecesores. Al revisar un gran número de fenómenos regenerativos, estableció una terminología científica específica que todavía se usa hoy en día y destacó las importantes similitudes entre esos fenómenos y el desarrollo embrionario.

En 1904 Thomas Morgan llegó al departamento de zoología de la Universidad de Columbia, en Nueva York, donde ya estaba Edmund Wilson, y continuó con sus trabajos aunque con la perspectiva pesimista de que “nunca comprenderemos el fenómeno del desarrollo y la regeneración”.

8 Capítulo 1: Espermatozoides, óvulos y embriones. Capítulo 5: El Vesubio y la embriología experimental

9 Capítulo 4: Inicio

El cuarto de las moscas de la Universidad de Columbia

Morgan comenzó a cultivar *Drosophila melanogaster* probablemente en 1908 en su pequeño laboratorio (¡5 x 7 m, con 8 escritorios!), el “fly room” o cuarto de las moscas (Figura 50). En los primeros trabajos la especie también era mencionada como *Drosophila ampelophila* y su finalidad no era todavía estudiar genética sino la evolución biológica.



Figura 50. El cuarto de las moscas de la Universidad de Columbia en 1920 (arriba; ¿para qué serían las bananas?) y Thomas Morgan trabajando allí (abajo).

En efecto, su estudio de la regeneración le hizo plantearse una pregunta clave. La teoría propuesta por Charles Darwin para explicar el origen de nuevas especies era la selección natural de pequeñas variaciones continuas y al azar. ¿Como se podría haber adquirido la capacidad de regenerar por medio de un proceso lento y gradual cuando la regeneración es útil para un animal solo si la parte perdida se recupera en una generación? Su conclusión fue que la aparición de esa capacidad por medio de pequeños cambios no serviría en la “lucha por la existencia”. Por lo tanto rechazaba la idea de Darwin de las pequeñas variaciones continuas. Por el contrario, apoyaba la idea de Hugo Marie de Vries¹⁰ de la existencia de variaciones discretas, las mutaciones.

Con la mosquita, Morgan quería ver si podía inducir mutaciones por medio de cruces endogámicos, o sea entre parientes próximos. Trabajó meses en ello, sin obtener resultados, hasta que un día empezaron a aparecer mutantes en sus cultivos, empezando por un patrón atípico del tórax. Pero fueron los mutantes de ojos blancos que recibió o encontró en 1909¹¹ los que cambiaron la dirección de sus investigaciones; a partir de entonces se desarrolló la teoría cromosómica de la herencia. Al mismo tiempo se comprendió un fenómeno que contradecía aparentemente los resultados esperados al aplicar las leyes de Mendel: la herencia ligada al sexo.

Vamos por partes. Como muchos en su época, Morgan era escéptico acerca de la teoría propuesta por Boveri y Sutton que proponía que los cromosomas eran la sede material de la herencia. Él criticaba el sesgo de algunos científicos de asociar fenómenos como la herencia de caracteres con estructuras conocidas como, por ejemplo, los cromosomas. En 1910 publicó un artículo explicando las razones por las cuales era reacio a aceptar esa teoría¹².

Sin embargo cuando comenzó a criar los mutantes de ojos blancos vió como ese carácter se heredaba a lo largo de sucesivas generaciones. Primero Morgan detectó que los ojos blancos aparecían solo en los machos. Cuando cruzó esos machos con hembras de una línea pura de ojos rojos descubrió que todas las hembras que descendían de esos cruzamientos tenían los ojos rojos. Luego cruzó esas hembras de la segunda generación con los machos originales de ojos blancos para ver si la herencia del color de los ojos seguía el patrón predicho al aplicar la primera ley de Mendel: es decir, si aparecía una mosca de ojos

10 Capítulo 1: Genes, desarrollo y evolución

11 No se sabe si lo obtuvo él mismo por primera vez o si lo dió un colega, aunque eso es lo que menos importa ahora

12 Morgan, T. H. (1910). Chromosomes and heredity. *The American Naturalist* 44: 449–496

blancos por cada tres de ojos rojos. La proporción esperada se confirmó, pero, entre todos los “nietos”, solo los machos presentaban ojos blancos (Figura 51).

Morgan sabía, a partir de los resultados de Nettie Stevens, que las hembras de *Drosophila melanogaster* y de otros insectos tienen dos cromosomas X en tanto que los machos tienen uno solo, a veces acompañado por un cromosoma desigual, llamado Y. En base a los resultados propios y de su discípula, él dedujo que el cromosoma X contenía un factor que controlaba el color del ojo y que se presentaba en dos variantes: rojo y blanco (que en realidad es ausencia de color). Los ojos blancos de todos los machos de la primera generación de su experimento se debían a que ellos tenían la variante “ojos blancos” de ese factor en su único cromosoma X. En cambio, las hembras tenían ojos rojos porque si bien tenían la variante “ojos blancos” en uno de sus cromosomas X, tenían la variante “ojos rojos” en el otro (Figura 51).

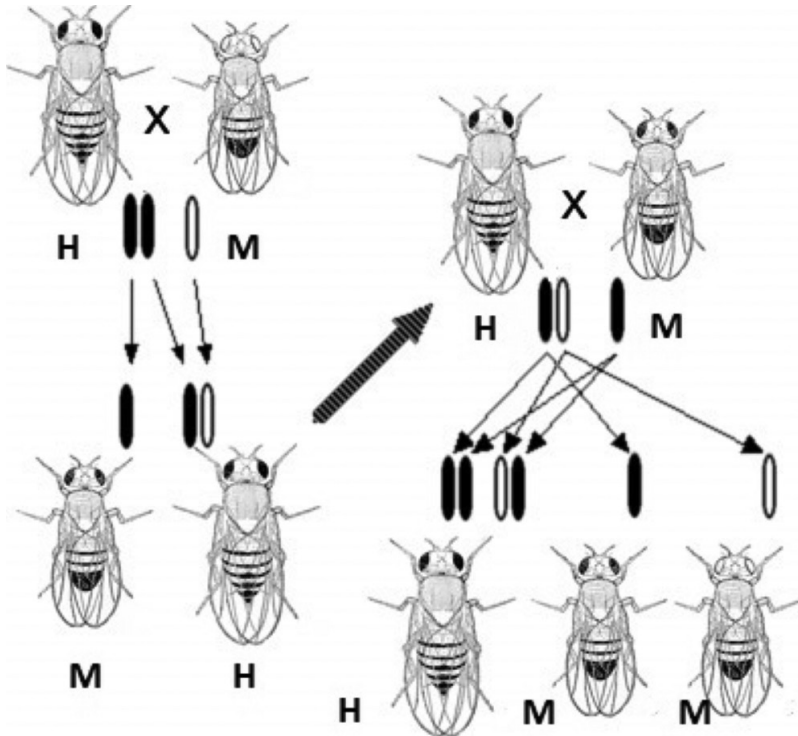


Figura 51. La herencia ligada al sexo del color de los ojos en *Drosophila melanogaster*. Las barras representan los cromosomas X. Las hembras (H) tienen dos cromosomas X, los machos (M) uno solo; los Y no están dibujados. Las barras negras corresponden a los ojos rojos, las blancas a los blancos. Las X del dibujo representan matrimonios.

En nuevos cruzamientos de esas hembras con machos de ojos blancos, obtuvo hembras de ojos blancos, que contenían la variante “ojos blancos” en ambos cromosomas X. Cuando cruzó machos de ojos rojos con hembras de ojos blancos, el resultado fue que la mitad de la descendencia tenía los ojos de un color y la mitad del otro. Todas sus observaciones las resumió en otro artículo, que también apareció en 1910¹³.

En resumen: además de mostrar que la herencia de una característica puede diferir entre los sexos, pero sin violar la primera ley de Mendel, Morgan llegó a la conclusión que los cromosomas llevaban los factores hereditarios. Esta extraordinaria comprobación de la teoría de Boveri y Sutton la hizo explícita en un breve trabajo que publicó en 1911¹⁴.

Pronto detectó muchos otros mutantes. Uno de ellos, el “rudimentario”, que causa defectos en el desarrollo de las alas, se debe a un factor que se comporta como el de “ojos blancos”. Era entonces la oportunidad de cruzar moscas con las dos mutaciones. Observó que las hembras que tenían ambas mutaciones en uno de sus cromosomas X y ambas versiones “salvajes” (o sea normales) en el otro producían 4 tipos de huevos: salvaje/salvaje, salvaje/blanco, salvaje/rudimentario y blanco/rudimentario. Esto demostraba que era posible la recombinación de genes que estaban localizados en el mismo cromosoma (Figura 52) y resolvió una de las dificultades más serias para aceptar que los genes Mendelianos se ubican en los cromosomas.

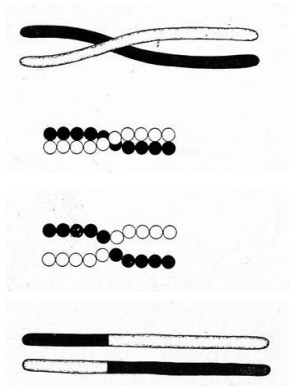


Figura 52. Esquema que muestra la hipótesis de Morgan de la recombinación de genes entre cromosomas.

13 Morgan, T. H. (1910). Sex Limited Inheritance in *Drosophila*. Science: 120–122.

14 Morgan, T. H. (1911). Random Segregation Versus Coupling in Mendelian Inheritance.” Science: 384.

Todos estos resultados fueron el núcleo de una de las contribuciones más importantes de Thomas Morgan: la comprobación de la teoría cromosómica de la herencia. En ella propuso que cada cromosoma contiene un conjunto de pequeñas unidades llamadas genes (adoptó el término de Wilhelm Johannsen¹⁵) que tienen ubicaciones específicas en él.

Thomas Morgan permaneció en Columbia hasta 1928 atrayendo a su “*fly room*” a un conjunto de estudiantes muy brillantes como Alfred Henry Sturtevant, Calvin Blackman Bridges y Hermann Joseph Muller (Nobel 1946) (Figura 53). Más tarde sus discípulos demostrarían que la disposición de los genes en el cromosoma es lineal (van uno a continuación de otro como las perlas de un collar) y pudieron construir mapas de su distribución a lo largo de los mismos estudiando muchos mutantes diferentes. Calvin se ocupó de mantener una colección de mutantes producidos por el grupo y proveer ejemplares de ellos a todo aquel que las necesitara. En 1915 Morgan, junto a Sturtevant, Muller y Bridges, colocó una de las piedras basales de la genética en el libro “Los mecanismos de la herencia Mendeliana”¹⁶. En 1928 Morgan, Sturtevant, Bridges y la colección de mosquitos mudaron al Instituto de Tecnología de California (Caltech). En 1933 Morgan recibió el Nobel por sus dos contribuciones fundamentales a la ciencia: las evidencias empíricas de la teoría cromosómica de la herencia y la consolidación de la experimentación rigurosa como herramienta para comprender los fenómenos biológicos¹⁷. Y como prueba de una poco común generosidad, compartió el dinero del premio con Bridges y Sturtevant!

Al año siguiente se publicó la primera lista de mutantes disponibles en la colección, que ascendía a 572 variantes. En 1948 la responsabilidad de esa colección fue asumida por Edward B. Lewis, discípulo de Sturtevant (y por lo tanto, “nieto científico” de Morgan) de quien hablaré luego. Lewis llevó a cabo esa tarea hasta su jubilación. En 1986 la colección, compuesta por 1675 variantes, se mudó al Departamento de Biología de la Universidad de Indiana en Bloomington. Allí se encuentra ahora; en 2019 el número de variantes ya alcanzó las 76191 y durante ese año distribuyó 204,672 “subcultivos”.

15 Capítulo 1: Genes, desarrollo y evolución

16 Morgan, T. H., Sturtevant, A. H., Muller, H. J., Bridges, C. B. (1910). *Mechanisms of Mendelian Heredity*. New York: Henry Holt and Company.

17 <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1933/summary/>

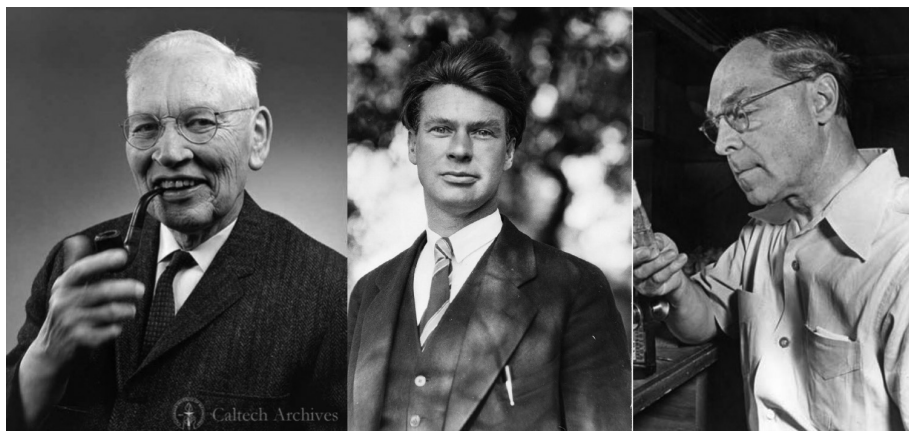


Figura 53. Los discípulos de Morgan. De izquierda a derecha: Sturtevant, Bridges y Muller.

Producción de nuevas mutaciones

Las mutaciones que estudió Thomas Morgan eran espontáneas. Herman Muller, descubrió a fines de 1926 que el número de mutaciones que se observan en las moscas de la fruta se incrementa cuando estas son expuestas a los rayos X. A más radiación, más mutaciones. Esas mutaciones inducidas ocurrían al azar, no era posible dirigirlas para lograr una característica determinada.

Cuando publicó su trabajo, hacía varios años había abandonado el Cal-Tech y trabajaba en la Universidad de Austin, en Texas, Estados Unidos. Allí había formulado los principios que rigen las mutaciones espontáneas que, según él expresó, eran el resultado de “accidentes fisicoquímicos ultramicroscópicos, caprichos de la agitación térmica, que ocurren a nivel molecular o submolecular”¹⁸. Además, que la mayoría de ellas son letales, o causan graves defectos, y recesivas. Un alelo (una variante de un gen¹⁹) es “recesivo” cuando se expresa solo si está en ambos cromosomas pero no si en uno de ellos está la versión “dominante”. El alelo “ojos blancos” de *Drosophila melanogaster* es recesivo en tanto que el rojo es dominante. Así, en el experimento de Morgan las hembras de ojos blancos tienen ambos alelos “ojos blancos”; en cambio las hembras de ojos rojos que pueden originar machos de ojos blancos tienen un alelo “ojos blancos” y otro “ojos rojos”. Un repaso de géne-

¹⁸ <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1946/muller/lecture/>

¹⁹ Capítulo 1: El ADN, las bacterias y algunos Nobel

tica: las primeras se definen como homocigotas recesivas, las segundas como heterocigotas. Los heterocigotos son aquellos individuos en los que un gen se presenta en dos variantes diferentes, uno en cada cromosoma. Por último, las hembras de ojos rojos que NO pueden engendrar machos de ojos blancos son homocigotas dominantes.

Hermann había descubierto en *Drosophila melanogaster* un método para mantener mutaciones en cultivos heterocigotos, de modo que puedan estudiarse fácilmente. Ese método se basa en los llamados “cromosomas balanceadores”. Sirven como una herramienta genética para evitar la recombinación genética entre los dos cromosomas de un par (homólogos) durante la meiosis. La mosquita es el único organismo multicelular en el cual más del 95% de las mutaciones en genes esenciales pueden ser mantenidas así efectivamente.

Por otra parte, Hermann fue viajero y algo aventurero: después de una estadía en Alemania, trabajó como genetista en Moscú, hasta que se vio afectado por los debates científico-ideológicos en torno a la genética del periodo estalinista liderados por Trofim Lysenko. Al salir de la Unión Soviética pasó por España, donde la Guerra Civil Española se encontraba ya iniciada, y ayudó a organizar los servicios médicos del bando republicano. Luego trabajó en la Universidad de Edimburgo y regresó a su patria en 1940, recalando finalmente en la Universidad de Indiana.

Él advirtió sobre los riesgos del uso indiscriminado de radiaciones (y más tarde de la energía atómica) para la salud humana y profetizó que podía, incluso, aumentar el riesgo de padecer cáncer si este resultara de mutaciones somáticas. Por sus hallazgos sobre la inducción de mutaciones recibió el Nobel de 1946²⁰. Ese tipo de procedimiento experimental, junto a la posibilidad de mantener poblaciones de mutantes, tuvo mucha relevancia en las investigaciones que llevaron a Estocolmo a los próximos ganadores. Para referirme a ellos, debo retroceder unos cuantos años.

La importancia de los monstruos

¿Que es un monstruo? La primera acepción del Diccionario de la RAE es “Ser que presenta anomalías o desviaciones notables respecto a su especie”. Imaginemos un ser que en lugar de los brazos tiene piernas, o al revés: las partes en el lugar incorrecto. Ese sería un “monstruo homeótico” según el criterio

20 <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1946/summary/>

del zoólogo inglés William Bateson, uno de los redescubridores de los trabajos de Mendel y, además, inventor de la palabra “genética”.

En 1894, 7 años antes de ese “redescubrimiento”, Bateson publicó un libro con un título bastante largo: “Materiales para el estudio de la variación, tratado con especial consideración sobre la discontinuidad en el origen de las especies”²¹. Él era partidario de cambios cualitativos importantes como material para la selección natural que propuso Darwin al explicar el origen de las especies. En ese libro, investigó y describió muchas monstruosidades naturales en un intento de comprender las modalidades de la evolución. Entre ellas se destacaba la adquisición por parte de un órgano de características propias de otro órgano; para definir ese tipo de fenómeno natural acuñó el término “homeosis”. En ese contexto mostró ejemplos de transformaciones relacionadas con el número de partes de un organismo y/o con sus reemplazos, una acepción del término homeosis más restringida, que es la usada corrientemente.

Los artrópodos²² son organismos muy útiles para el estudio de la homeosis ya que su cuerpo está constituido por segmentos que se disponen a lo largo de un eje. Los segmentos son en parte similares y en parte diferentes. La variación más visible de ellos se refiere a los apéndices que llevan. Si se toma un langostino, por ejemplo, se pueden ver, desde atrás para adelante, 22 pares de apéndices (el apéndice de la derecha y el de la izquierda de cada par son, en este caso iguales): 6 pares con forma de paletas usados cuando nadan, 5 usados cuando “caminan” por el fondo, 3 algo más cortos usados cuando toman los alimentos, 5 mucho más pequeños con los que manipulan los alimentos y los llevan a la boca, 2 filamentosos de función sensitiva (los llamados “bigotes”) y uno de ojos. Después de comprobar esto, se lo puede comer con la satisfacción del deber cumplido.

En un insecto la cosa es más simple. Como ya expliqué al comienzo del capítulo, los segmentos del cuerpo están reunidos en tres conjuntos: cabeza, tórax y abdomen. En la cabeza hay 5 pares de apéndices: ojos, antenas y 3 pares destinados a la alimentación. El tórax está formado por 3 segmentos, cada uno de los cuales tiene un par de patas: el segundo y el tercero llevan un par de alas cada uno. No hay que olvidar que en algunas especies las alas no existen y que el segundo par de alas de las moscas está muy reducido: son los halterios. El

21 Bateson, W. (1894). Materials for the study of variation: treated with special regard to discontinuity in the origin of species. <https://digital.library.cornell.edu/catalog/chla3111077>

22 Ver nota 5 de este capítulo

abdomen, por último, tiene apéndices reproductivos pero solo en los últimos segmentos.

Y hablando de moscas en 1915, veinte años después de la aparición del libro de Bateson, Calvin Bridges describió en California el primer caso de un mutante homeótico de *Drosophila melanogaster*. Lo bautizó con el nombre “bitórax”. Es un nombre algo desacertado porque el número de segmentos del tórax no cambia. Su característica es que hay alas en el tercer segmento en lugar de los halterios. Bridges estableció muchos cultivos del mutante y las puso a disposición de la comunidad científica (Figura 54).

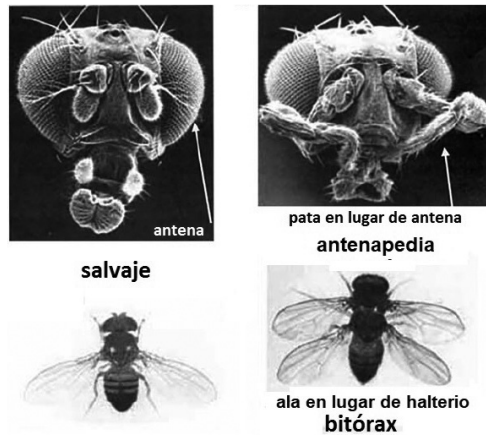


Figura 54. Las primeras mutaciones inducidas en *Drosophila melanogaster*

Otros mutantes homeóticos de *Drosophila melanogaster* fueron descubiertos luego. Por ejemplo, los que desarrollan patas, o bien halterios, en lugar de alas. Con ellos trabajó Richard Goldschmidt, un zoólogo alemán que emigró a Estados Unidos en 1936 cuando fue forzado por los nazis dejar su puesto en un prestigioso instituto de Berlín.

Goldschmidt, un precursor en el estudio combinado de la genética, la embriología y la evolución, pensaba que eran necesarias transformaciones súbitas y grandes para que actúe la selección natural. Quería demostrar la existencia de “macromutaciones del desarrollo” que podrían tener un papel importante en la evolución. Surgirían así organismos monstruosos, pero algunos de ellos se podían adaptar mejor al ambiente que sus parientes normales; por eso los llamó “monstruos con esperanzas”. En ese marco de ideas, postuló que las

transformaciones homeóticas se debían a cambios en grandes regiones cromosómicas, pero esa hipótesis finalmente fue errónea.

Gradualmente fueron descubiertas, y bautizadas, nuevas mutaciones homeóticas de *Drosophila melanogaster* producidas en forma espontánea o inducidas. En 1948, un alumno de doctorado de Edward B. Lewis en el CalTech, llamado Sienchiue Yu, logró inducir una mutación dominante por medio de rayos X. Su efecto era que la antena (presente en la cabeza) se transforme parcialmente en una pata como la del tórax; por eso propuso el nombre, por cierto apropiado, de “antennapedia” para designarla (Figura 54).

Edward Lewis tuvo desde la infancia y a lo largo de su vida dos pasiones: la música (fue un flautista casi profesional) y los animales. Comenzó a experimentar con *Drosophila melanogaster* cuando estaba en la escuela secundaria cuando vio junto Edward Novitski, entonces su compañero y luego colega genetista, un anuncio de la revista Science. Allí se ofrecían cultivos de la mosquita a 1 dólar. Ambos amigos llegaron al CalTech como alumnos graduados. Lewis lo hizo en 1939, estudiando con Sturtevant y se doctoró en 1942. Luego de estudiar también meteorología, trabajó en esa profesión durante la segunda guerra mundial en el Pacífico, y regresó al CalTech en 1946. Ese mismo año se casó con Pamela Harrah, compañera de laboratorio durante su vida, artista plástica y descubridora de la importante mutación “polycomb”, también inducida por rasos X. Allí, en California, desarrolló su brillante carrera que lo condujo a Estocolmo en 1995.

La gran contribución teórica de Lewis fue proponer que las transformaciones homeóticas podían deberse a mutaciones en pocos genes individuales, aun cuando para desarrollar las alas y las patas en su ubicación “correcta” se necesitan cientos de genes activos. Por consiguiente, era razonable suponer que las mutaciones clave tenían lugar en genes “rectores”, los genes homeóticos, que dirigían la actividad de genes subordinados. Fue el comienzo de una línea de investigación muy fructífera que trascendió a la mosquita y abarca ahora a todos los animales.

La caja homeótica o como un embrión pone las cosas en su lugar

Una consecuencia temprana del trabajo de Thomas Morgan y sus discípulos fue la posibilidad de trazar un mapa de la localización de los genes en un cromosoma. Lewis había observado que los genes homeóticos de *Drosophila melanogaster* se encuentran agrupados en dos complejos situados en el cromosoma 3. El primero de ellos es el complejo *antennapedia*, formado por 5 genes que regulan el desarrollo de la cabeza y de los segmentos torácicos

anteriores de la mosca adulta. El segundo es el complejo *bithorax* que incluye 3 genes que regulan el de los segmentos abdominales y torácicos posteriores de la mosca adulta. Inicialmente, él descubrió que el par extra de alas en los mutantes bitórax era debido a la duplicación de la segunda unidad del tórax y que la inactividad del primer gen del complejo *bithorax* fuera del segmento apropiado de la larva hacía que otros genes homeóticos formaran alas en lugar de halterios.

El conjunto de estos dos complejos se denominó inicialmente HOM-C. La separación del complejo homeótico en dos partes es una característica de la mosca de la fruta, y no está presente en otras especies de insectos, incluso en otros dípteros como los mosquitos. El norteamericano Robb Krumlauf y el suizo Denis Duboule demostraron, separadamente, que estos genes homeóticos están dispuestos en un orden preciso en el cromosoma y que este orden se corresponde con el lugar de expresión de los genes en el embrión. Los genes situados en un extremo se expresaban en las regiones anteriores del cuerpo mientras que los situados en el extremo opuesto lo hacían en la región posterior. Eso se llamó colinearidad.

El año 1984 fue muy especial para el conocimiento de los genes homeóticos de *Drosophila melanogaster*, que tuvo extraordinarias consecuencias en la biología del desarrollo animal. Se identificó una secuencia de ADN que se localizaba específicamente en genes de los complejos *bithorax* y *antennapedia*. También en otros genes no relacionados con “poner en su sitio los segmentos” pero que parecían derivar de genes homeóticos. El logro fue simultánea e independientemente alcanzado por dos laboratorios dirigidos por Walter Gehring en Basilea, Suiza y por Thomas Kaufmann en Indiana, Estados Unidos. La secuencia de ADN constaba de 180 pares de bases y codificaba una proteína que contenía una secuencia de 60 aminoácidos. Se los bautizó como “homeobox” (caja homeótica) al gen y “homeodominio” a la proteína, respectivamente. El producto de la mayoría de los genes con homeobox (genes *Hox*) son las llamadas proteínas Hox, aunque algunos codifican otras proteínas que funcionan en la adhesión y comunicación entre células.

Muy pronto se encontraron genes con idénticas secuencias homeobox en otros organismos, particularmente en la mayoría de los animales e incluso los vertebrados (empezando por la rana *Xenopus laevis*²³). Además esas secuencias eran componentes de genes homeóticos que se ordenaban en los cromosomas en grupos y en forma colinear, como ocurría en nuestra mosquita.

23 Capítulo 4: *Xenopus laevis*, una nueva estrella internacional

Lo más sorprendente fue descubrir que los genes ubicados en la misma posición de cada grupo en distintas especies eran más semejantes que aquellos ubicados en distinta posición en la misma especie. Esto significaba que los mismos genes controlan el desarrollo embrionario temprano en una mosca y en un humano. La consecuencia fue la hipótesis de la conservación de esos genes homeóticos, con relativamente pocos cambios, en la evolución animal a lo largo de unos 650 millones de años. En ese momento del pasado, o aún antes, vivió un organismo que podríamos llamar el abuelo de todos los animales actuales (el punto A de la figura 1). Él ya debe haber tenido genes homeóticos.

Hay que ir hacia atrás y estudiar el embrión

Los genes homeóticos se activan en el embrión de la mosquita, antes que se formen los discos imaginales de los apéndices que se observan en la larva. La pregunta que surgió es: ¿cuando y como ocurre eso?

En la década de 1930 se comenzó a estudiar el desarrollo embrionario temprano de *Drosophila melanogaster* a partir de observaciones de huevos vivos. Se crearon técnicas específicas para ello y se describieron las transformaciones del embrión a lo largo del tiempo. Entonces Donald Poulson, un genetista alumno de Sturtevant (o sea, otro nieto científico de Morgan) que trabajó en la Universidad de Yale, pensaba que para entender como los genes actúan era necesario conocer los mutantes que afectan los primeros, y de alguna manera fundamentales, momentos de la vida. Para eso, buscó las mutaciones que se manifestaban en el embrión y examinó sus efectos. Esas mutaciones eran letales, por lo que no podían reconocerse luego. Se preguntaba: ¿cuando y porque los embriones mutantes mueren? ¿Eran genes específicos los responsables de la detención del desarrollo? Si es así, cuales eran esos genes? Y, sobre todo, ¿cual era el efecto de la versión salvaje de esos genes? Así, fue un precursor de una disciplina nueva: la genética del desarrollo.

Entre 1978 y 1981 Christiane Nüsslein-Volhard, de Alemania, y Eric F. Wieschaus, de Estados Unidos, condujeron dos grupos de investigación que compartían un minúsculo laboratorio en el Laboratorio Europeo de Biología Molecular (EMBL por sus siglas en inglés) en Heidelberg, Alemania. El propósito era investigar los genes homeóticos que afectan la segmentación de los huevos de *Drosophila* antes que actúen aquellos relacionados con los apéndices descubiertos por Ed Lewis. Y el procedimiento fue el siguiente (Figura 55):

8. Una mosca pequeña y un capítulo muy largo

1. alimentaron machos con comida que incluía un compuesto químico que induce mutaciones al azar (mutagénico),
2. los espermatozoides (y muchas otras células) tienen nuevas y diferentes mutaciones que surgen al azar,
3. esos machos son cruzados con hembras salvajes,
4. la descendencia de esas hembras lleva distintas mutaciones,
5. los diferentes descendientes fueron entrecruzados separadamente,
6. se establecieron líneas puras de moscas que tenían las nuevas mutaciones,
7. se analizaron los descendientes homocigotos (ambos cromosomas del par que lleva el gen tienen el mismo alelo): algunos huevos no se desarrollaron, pero en otros el desarrollo se inició aunque resultó inviable en diferentes momentos (no originaron larvas o ellas eran deformes y no sobrevivieron).

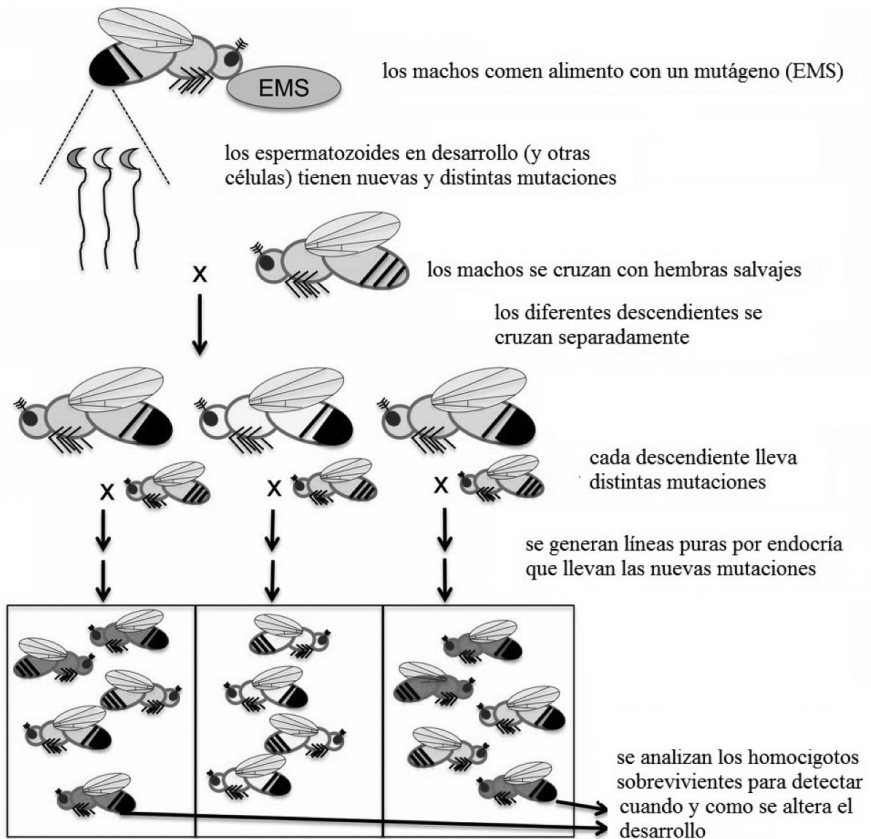


Figura 55. Esquema del procedimiento de generación de mutantes del desarrollo en *Drosophila melanogaster*.

De esta manera esos grupos de investigación llevaron a cabo la colosal tarea de examinar alrededor de 40000 mutaciones distintas. A partir de ellas identificaron los genes responsables del desarrollo temprano del embrión y encontraron que 15 de ellos, si están mutados, causan defectos en la formación de los segmentos. Más tarde se descubrieron 25 genes más y se hizo una clasificación de los genes homeóticos que afectan la organización segmentaria del cuerpo. Se establecieron 3 grandes grupos de genes basados en el tipo de efecto que causa la mutación:

1. los que controlan que se forme el número correcto de segmentos. Las mutaciones de estos genes causan que falten regiones del cuerpo larval formadas por varios de ellos,
2. los que afectan a uno de cada dos segmentos. Las mutaciones originan la ausencia de estructuras de los segmentos afectados,
3. los que afectan la polaridad de los segmentos. Las mutaciones alteran las diferencias que normalmente existen entre la parte anterior y posterior de cada uno de ellos.

Estos tres tipos de genes se expresan en tres olas consecutivas que duran pocas horas y anteceden la expresión de aquellos relacionados con el tipo de apéndice, que describió Ed Lewis.

Pero la historia no empieza con esos tres grupos de genes sino previamente, en el ovocito materno antes de ser fecundado. En efecto, el ADN de algunos genes del ovocito se transcribe y los ARNms resultantes pueden traducirse, antes o después de la fecundación, en las correspondientes proteínas. Son los llamados “genes maternos”. Esos ARNms y/o proteínas se ubican en sitios específicos del ovocito, y permanecen allí en el cigoto. El núcleo de esa primera célula comienza a dividirse pero la célula no lo hace del todo, de modo que durante un tiempo el embrión está formado por una masa de citoplasma con muchos núcleos y con regiones ricas en un tipo de ARNm y/o proteínas, y otras ricas en otro tipo. Por lo tanto, hay una distribución heterogénea de los productos de los genes maternos.

Las mutaciones de los genes maternos fueron estudiadas por Christiane y su equipo a partir de 1977 y producen cambios muy severos en el cuerpo de la larva. Pero son pocos los efectos posibles: se trata de modificaciones en el eje dorso-ventral o en el eje antero-posterior.

En el primer caso, falta el lado ventral y toda la larva presenta el aspecto del lado dorsal. Si fuera un ser humano, tendría dos espaldas pero no panza.

En el segundo caso, se trata de efectos similares a los que presenta el primer grupo explicado en la sección anterior, pero más intensos: faltan grandes regiones del cuerpo. Dentro de estos se identificaron, a su vez, tres grupos, responsables de la existencia de los segmentos anteriores, los segmentos posteriores, y los extremos anterior y posterior del cuerpo de la larva, que no son estrictamente segmentos (Figura 56). Para citar solo un ejemplo, el efecto de una mutación del gen *bicaudal* produce larvas con dos extremos posteriores, ¡casi un palíndromo o capicúa! (Figura 57). Claro está que ese monstruo sin cabeza no sobrevive.

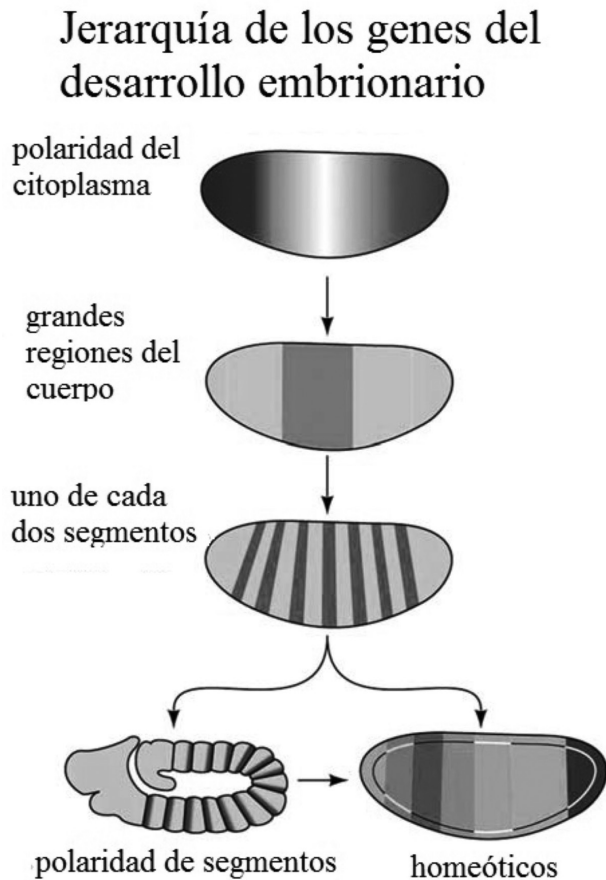


Figura 56. Esquema de la secuencia de activación, llamada jerárquica en el desarrollo de *Drosophila melanogaster*. Los genes de polaridad del citoplasma son maternos, los restantes son embrionarios.

Un resultado muy importante de los trabajos del grupo de Christiane con los genes maternos de *D. melanogaster* fue la confirmación empírica de un modelo teórico formulado por matemáticos interesados en la biología. Alan Turing, un pionero en el campo de la informática, desarrolló en forma teórica el concepto de “morfógeno” en 1951. Se trataba de sustancias con propiedades específicas que forman patrones y que, por medio de interacciones positivas y negativas, establecen estructuras regulares y estables. Inspirado en ese trabajo, y en posteriores modelos matemáticos más eficaces, el embriólogo Lewis Wolpert propuso en 1969 que cambios graduales en la concentración de los hipotéticos morfógenos pueden definir posiciones en el espacio. Altas concentraciones podrían determinar, por ejemplo, el extremo anterior de un embrión en desarrollo, bajas concentraciones el extremo posterior.

Pero faltaba encontrar la o las moléculas que pudiesen tener esas propiedades. Recién en 1988, Christiane y Wolfgang Driever publicaron los resultados de las investigaciones sobre el gen *bicoid*, el primero cuyo producto era una proteína que tiene la función de morfógeno (Figura 57). Ese gen produce un ARNm que se ancla en el extremo anterior del ovocito todavía en formación en la mosca madre. Allí se sintetiza la proteína Bicoid que se difunde hacia el extremo posterior en los primeros momentos del desarrollo del embrión. En las regiones con alta concentración de Bicoid se desarrollan las estructuras de la cabeza, con concentración intermedia las del tórax y con baja concentración las del abdomen. Otros morfógenos fueron descubiertos luego en distintas etapas del desarrollo de *Drosophila melanogaster*.

Por el conjunto de sus descubrimientos sobre la regulación génica del desarrollo embrionario, usando a la humilde mosquita como modelo de investigación, Nüsslein-Volhard y Wieschaus compartieron el Nobel de 1995 con Ed Lewis (Figura 58)²⁴.

24 <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1995/summary/>

8. Una mosca pequeña y un capítulo muy largo

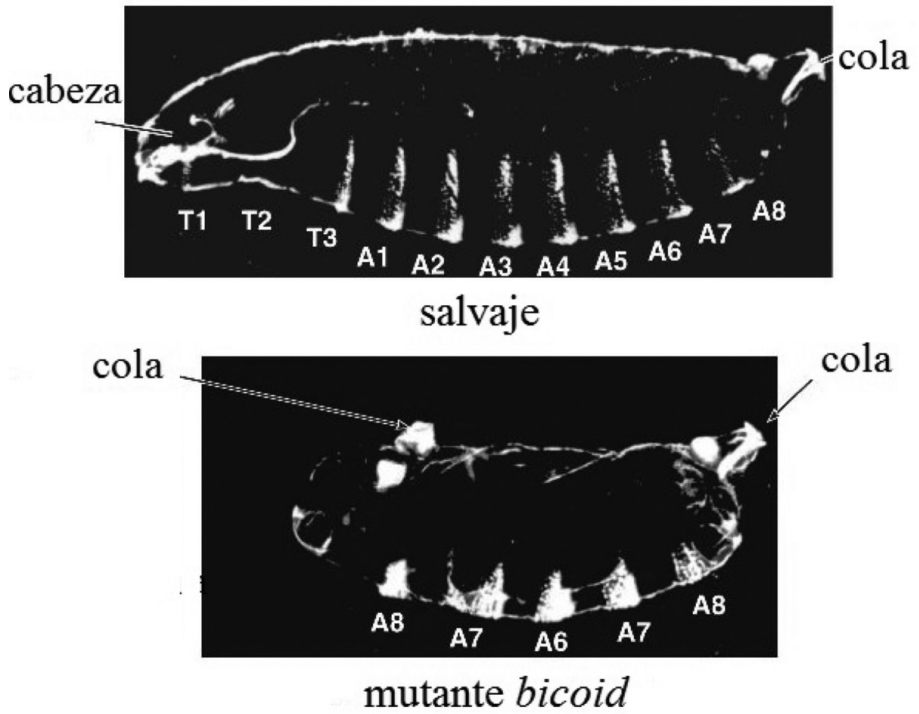


Figura 57. Efecto del gen *bicoid* en el desarrollo del primer estadio larval. El mutante es, obviamente, letal.

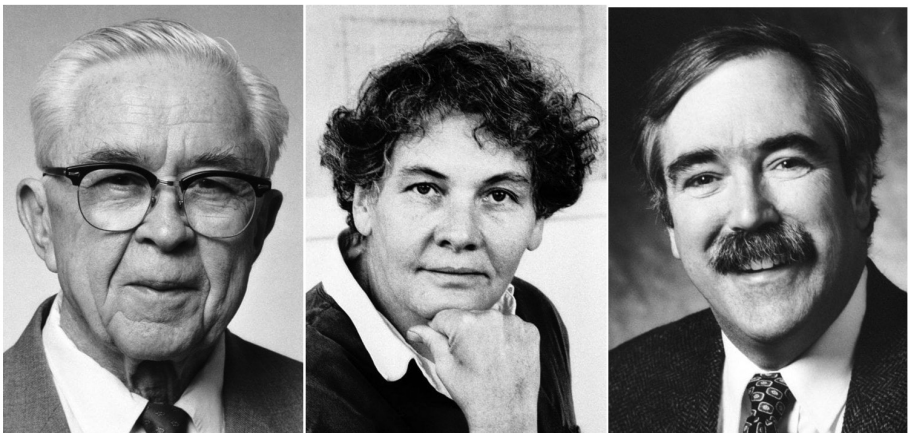


Figura 58. Lewis, Nüsslein-Volhard y Wieschaus.

La mosquita colabora en la comprensión de la inmunidad

El sistema inmune, que protege a los animales de la “invasión” de organismos patógenos, consta de dos “líneas de defensa”. Como ya se ve en la frase anterior, la metáfora de la guerra es una manera usual de describirlo. La primera línea es la inmunidad innata que puede “destruir esos invasores” y “disparar” una respuesta inflamatoria que contribuye a “bloquear su asalto”. Si el “enemigo” logra atravesar esa primera línea, en los vertebrados entra en acción la inmunidad adaptativa o adquirida. Esta segunda línea consiste de respuestas anticipatorias, específicas, basadas en un sistema formado por unas células especiales, los linfocitos. Ellos son capaces de una multiplicación que origina un clon, con memoria inmunológica, y una sintonía fina. Son dos tipos de células, llamadas T y B respectivamente; producen anticuerpos y células asesinas (NK o *natural killers*) que destruyen las células infectadas. La memoria de anteriores patógenos permite un rápido reconocimiento de los mismos en caso de repetirse un “ataque” y un adecuado “combate” de la nueva infección

A partir de 1908 y a lo largo del siglo XX se fueron identificando los distintos componentes del sistema inmune por medio de investigaciones que en muchos casos fueron premiadas con el Nobel. Por ejemplo, en 1919, 1960, 1972, 1980, 1984, 1987 y 1996, en muchos casos con la utilización de mamíferos (como conejos y cobayos) como modelos experimentales. Así se comprendieron muchos aspectos de la inmunidad adaptativa: como son, se construyen y actúan los anticuerpos y las células. Sin embargo, recién en 2011 se premiaron las investigaciones acerca de los mecanismos que disparan la inmunidad innata y que intermedian la comunicación entre esta y la inmunidad adaptativa.

El Nobel de ese año puede dividirse en dos partes. La primera fue compartida por Jules Hoffmann (Figura 59), nacido en Luxemburgo y por el norteamericano Bruce Beutler. Beutler y Hoffmann descubrieron las proteínas que funcionan como receptores que reconocen invasores y activan la inmunidad innata.

Hoffmann hizo su descubrimiento clave en 1996 cuando investigaba con sus colaboradores de Estrasburgo, Francia, donde trabajó desde 1974 hasta 2009. Se trata de como combate las infecciones *Drosophila melanogaster*. Ellos tuvieron acceso a mosquitas con mutaciones en varios genes diferentes incluyendo el denominado *toll*. Christiane



Figura 59. Jules Hoffmann

Nüsslein-Volhard había descubierto previamente que ese gen estaba involucrado en la regulación del desarrollo embrionario. Cuando infectaron las moscas adultas que llevaban una mutación de *toll* con bacterias u hongos, encontraron que estas morían al no poder desarrollar una defensa efectiva. También pudieron concluir que el producto del gen, o sea la proteína Toll que produce el gen no mutado, estaba involucrada en detectar los microorganismos patógenos y que su activación era necesaria para una defensa efectiva contra ellos.

Beutler buscaba un receptor que pudiera unirse con un lipo-polisacárido bacteriano (abreviado como LPS, una molécula compleja que tiene una parte de hidratos de carbono y otra de lípidos). Este compuesto puede causar un *shock* séptico en el organismo infectado, una peligrosa condición que involucra una sobre-estimulación del sistema inmune. En 1998, él y sus colegas del Departamento de Genética del Instituto de Investigación Scripps, en California, descubrieron que los ratones resistentes a LPS tenían una mutación en un gen muy similar al *toll* de la mosquita. Su producto, la proteína similar a Toll (TLR) era el buscado receptor de LPS que, cuando se une a esa molécula, activa las señales intercelulares que causan la inflamación. Cuando hay un exceso de LPS se produce el *shock* séptico. Estos hallazgos mostraron que los mamíferos y *Drosophila* usan similares moléculas para activar la inmunidad innata cuando aparecen microorganismos extraños.

Así, ambos grupos de investigación iniciaron una “explosión” de trabajos en inmunidad innata y alrededor de una docena de TLR diferentes fueron luego identificados en ratones y en humanos.

La segunda parte del Nobel premió al canadiense Ralph Steinman que descubrió en 1973 un nuevo tipo de células del sistema inmune de los ratones y su particular capacidad de activar y regular la inmunidad adaptativa, la segunda parte de la respuesta inmune de los vertebrados. Esas células, que llamó “dendríticas” activan las células T que desarrollan la memoria inmunológica contra muchas sustancias diferentes. La mosquita no colaboró en esa investigación.

El reloj biológico

La vida de la mayoría de los seres vivos se adapta a la rotación de la tierra sobre su eje o, puesto en otros términos, a la alternancia del día y la noche. El primer intento de estudiar científicamente ese problema no lo encaró un biólogo, sino un astrónomo del siglo XVIII llamado Jean Jacques d'Ortous de Mairan. Era conocido que las hojas de una planta tropical del género *Mimosa* (probablemente *Mimosa pudica*) se abrían hacia el sol de día y se cerraban, púdicamente, al atardecer. De Mairan se preguntó que pasaría si las plantas se colocaban en for-

ma permanente en la oscuridad y comprobó que esos movimientos persistían y que ellas parecían tener su propio “reloj biológico”. El ritmo interno de la *Mimosa* fue comunicado en 1729, y su autor sugirió que algo similar ocurría con el ritmo del sueño en las personas confinadas a la cama debido a alguna enfermedad.

Efectivamente, se encontraron muchos otros ejemplos en plantas y animales de relojes que permiten adecuar el funcionamiento del cuerpo a las fluctuaciones del día. Esta adaptación regular fue bautizada con el nombre de “ritmo circadiano”; la palabra circadiano significa “alrededor del día”. En la primera mitad del siglo XX, el botánico alemán Erwin Bünning formalizó un modelo en el cual la respuesta periódica a la luz en las plantas es gobernada por ese reloj interno (llamado endógeno) que sincroniza los ritmos biológicos. Como la duración del día y de la noche cambia a lo largo de las estaciones, es necesario un permanente ajuste de ese reloj. El fisiólogo, también alemán, Jürgen Aschoff encontró que ciertos factores del ambiente (llamados exógenos) pueden influir en ese famoso reloj, ajustando la hora con el calendario. Aschoff llamó a esos factores “*zeitgeber*”, una palabra en alemán que se puede traducir como sincronizador y que es de uso común en la literatura científica.

El reloj de *Drosophila melanogaster*

Cuando una *Drosophila melanogaster* es sometida en el laboratorio a un ritmo de 12 horas de luz y 12 de oscuridad, tiene un máximo de actividad a la mañana cuando se prende la luz y otro a la tarde cuando se apaga. Su comportamiento es anticipatorio, porque la actividad va aumentando gradualmente antes del cambio de fase. Se presume que la función de este reloj es ajustar la conducta de la mosquita antes de los cambios del ambiente como el amanecer y el crepúsculo. Claro que en la vida natural la duración del día y la noche cambia a lo largo del año, lo cual requiere una sincronización del reloj.

Además del ciclo normal de reposo y actividad, la mosquita tiene dos ritmos circadianos particulares que se han aprovechado para comprender su mecanismo de relojería: uno tiene lugar durante el proceso de eclosión del adulto a partir de la pupa y otro durante la reproducción. La existencia del primero de ellos fue descubierta en 1935, independientemente por el zoólogo checo Hans Kalmus y por el propio Bünning. El segundo ritmo es el cortejo previo al apareamiento que involucra un “canto” acompañado de una “danza ritual” en los machos. Fue descrito originalmente en 1967 por Thomas Bennet-Clark y Arthur W. Ewing de la Universidad de Edimburgo, en Escocia. El sonido es producido por la vibración de las alas en pulsos cada 34 milisegundos aproximadamente y percibido por las antenas de la hembra.

Kalmus y Bünning pensaban que la temperatura era el principal factor ambiental que actuaba como sincronizador. El británico Colin Pittendrigh, que trabajaba en la Universidad de Princeton en Estados Unidos, demostró en 1954 que la clave no era la temperatura sino la luz, o su ausencia. El modelo experimental que usó fue un pariente muy cercano de nuestra heroína, la especie *Drosophila pseudoobscura*. Bünning, Aschoff y Pittendrigh son considerados los cofundadores de una nueva disciplina, la “cronobiología” que nació tras un congreso internacional celebrado en 1960 en Cold Spring Harbor, Nueva York. Sin embargo, la naturaleza del reloj interno seguía entonces siendo un misterio.

Genes y relojes

En la década de 1970, Seymour Benzer y su alumno Ron Konopka, ambos en el CalTech, se preguntaron si era posible identificar uno o más genes responsables de controlar el ritmo circadiano de *Drosophila melanogaster*.

Benzer había comenzado su carrera como biólogo molecular en los primeros tiempos de esa disciplina. Trabajó con bacteriófagos (fagos para los amigos), un tipo de virus que infecta bacterias, y con ellos profundizó en el conocimiento de la estructura más fina del gen y de los distintos tipos de mutaciones. Sus descubrimientos con los fagos sirvieron de base para el procedimiento con el cual Francis Crick y Sydney Brenner establecieron el código genético. Es decir, el proceso de traducción de la secuencia de bases del ácido nucleico en la secuencia de aminoácidos de una proteína²⁵.

En 1967, Benzer abandonó la genética de los fagos para investigar las bases genéticas de varios comportamientos. Para ello recurrió a la mosquita: inducía mutaciones (repito lo dicho: estas ocurren al azar, no estaban dirigidas a algo en especial) e iba seleccionando los organismos que diferían de los salvajes en características que podían vincularse a ciertos comportamientos. Así identificó mutaciones relacionadas con la visión, locomoción, función sexual, nerviosa y muscular, sensibilidad al estrés, aprendizaje y memoria.

Profesor y alumno descubrieron los primeros mutantes de *D. melanogaster* que afectaban los ritmos circadianos de actividad y eclosión. Cuando una parte específica del cromosoma X estaba ausente no había ritmo (arrítmico), en una mutación el ritmo se acortaba a 19 horas (período acortado) y en otra se extendía a 29 horas en lugar de las 24 horas del ritmo normal (período alargado). Los tres casos involucraban el mismo lugar del cromosoma X, que Konopka bautizó con el nombre de *period* (abreviado: *per*). Sus resultados fueron

25 Capítulo 1: El ADN, las bacterias y algunos Nobel

publicados en 1971, pero otros investigadores aún sostenían que los genes no podían controlar comportamientos tan complejos.

El biólogo Jeffrey C. Hall, un discípulo del genetista de *Drosophila* Laurence Sandler, pasó una estancia postdoctoral en el laboratorio de Benzer y luego obtuvo un puesto en la Universidad Brandeis, una institución privada de Boston, Estados Unidos. Él y su estudiante Charalambos P. Kyriacou (hoy en Leicester, Inglaterra) descubrieron en 1980 que la actividad de cortejo también es controlada por *per*.

Michael Roshbash, que se graduó en el CalTech y que se doctoró en el MIT de Massachusetts, era también profesor en la Brandeis. En 1984, Konopka, Hall, Roshbash y sus colaboradores reportaron evidencias concluyentes del papel central de *per* en los ritmos circadianos. Simultáneamente, el grupo de Michael W. Young de la Universidad Rockefeller caracterizó el gen, el ARNm en el cual se transcribe, y la proteína que resulta de la traducción del mismo, llamada PER. Young aprendió a trabajar con los mutantes circadianos de *Drosophila* con Ron Konopka y Seymour Benzer y dedicó tres décadas a estudiar los patrones de control genético de los ritmos de la mosquita. En 1986 el grupo de Roshbash mostró que PER está ausente en los mutantes de *per*.

El próximo paso era entender como se generaba y sostenía ese ritmo circadiano. En 1992 Benzer y Rosbash, encontraron que la proteína PER se localiza principalmente en el núcleo de las células. Ese mismo año Rosbash y Hall mostraron que PER se acumula allí durante la noche, aunque no sabían como llegaba, y propusieron que esa proteína bloqueaba la actividad del gen *per*. Se trataría de un proceso por medio de la cual PER podía detener su propia síntesis, y por lo tanto regular su nivel con un ritmo continuo y cíclico. En forma simplificada es así: cuando *per* está activo se fabrica su ARNm en el núcleo y luego es transportado al citoplasma; allí funciona como molde para la producción de PER. Esta proteína se transporta y acumula en el núcleo, donde bloquea la actividad de *per*. Este tipo de proceso regulatorio llamado “retroalimentación negativa” es común en muchos mecanismos biológicos y en otros artificiales. En la vida cotidiana, el llenado del depósito de los inodoros o WC luego de la descarga es un simple ejemplo de ese tipo de mecanismo.

En 1990, Konopka, Rosbash, y su gente identificaron un nuevo gen del cromosoma X que llamaron *Clock* (*Clk*) necesario para el control del ritmo circadiano. Por su parte, Young y los suyos descubrieron en 1994 el gen *timeless* (*tim*) que codifica la síntesis de la proteína TIM, también necesaria para un ritmo circadiano normal. Ellos pudieron demostrar que cuando TIM se une a PER, las dos proteínas podían entrar en el núcleo y bloquear la actividad de

per. Cuatro años más tarde se publicaron los hallazgos de los genes *cycle* (*cyc*), que actúa junto a *Clk*, y *doubletime* (*dbt*).

Los elementos esenciales del modelo actual del “oscilador molecular” que funciona en una célula individual y la convierte en un marcapaso son los siguientes: los productos de la expresión *Clk* y *cyc* son dos proteínas (CLK y CYC) que unidas promueven la expresión de *per* y *tim* y ésta alcanza un pico al fin de la tarde. Así se van acumulando las proteínas PER y TIM en el citoplasma, y ambas moléculas se unen. El máximo de su cantidad ocurre durante la noche, cuando se separan e ingresan en el núcleo reprimiendo la generación de más CLK y CYC (Figura 60). El producto de *dbt* es la proteína DBT que regula la asociación de grupos fosfatos a la proteína PER, lo que aumenta su capacidad de represión. Complicado ¿verdad?, pero funciona. Después de todo, los relojes que usamos para ver que hora es también son complicados y en general funcionan.

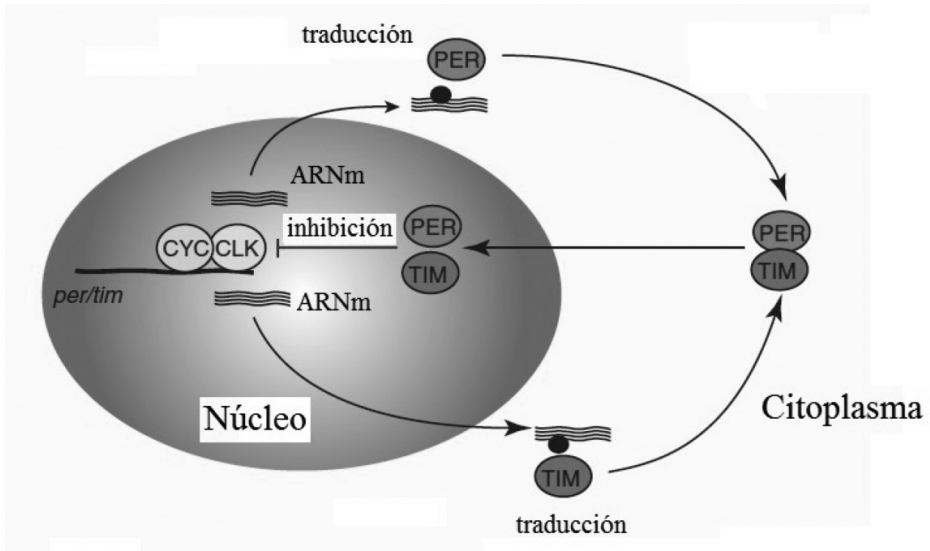


Figura 60. Elementos esenciales del “oscilador molecular” de una célula individual de *Drosophila melanogaster*, que la convierte en un marcapaso.

Rosbash, Hall y Young fueron galardonados con el Nobel de 2017 por haber logrado establecer los mecanismos claves del reloj biológico (Figura 61). En los años siguientes a sus publicaciones, se descubrieron otros componentes moleculares del mecanismo de relojería que explican su estabilidad y funcionamiento. Por ejemplo, otras proteínas necesarias para activar *per* y para el mecanismo por el cual la luz sincroniza el reloj.



Figura 61. De izquierda a derecha, Hall (el del sombrero), Rosbash y Young

El reloj, el cerebro, los genes y la luz

Los notables descubrimientos relatados en la sección anterior permitieron identificar los componentes moleculares del reloj biológico de *Drosophila melanogaster* a nivel celular. El próximo paso sería comprender como los relojes biológicos de las células individuales interactúan para generar los comportamientos relacionados con los ritmos circadianos. El ya mencionado Hans Kalmus había comunicado en 1938 su descubrimiento de la responsabilidad del cerebro en la actividad circadiana; ese mismo año se refugió en Inglaterra huyendo de la ocupación nazi de su país, la entonces Checoslovaquia.

Ron Konopka, el alumno de Benzer, hizo su postdoctorado en la Universidad de Stanford, California, con el pionero de la cronobiología Colin Pittendrigh y regresó al CalTech en 1974. Allí desarrolló una técnica para profundizar el conocimiento del eventual marcapaso cerebral circadiano de la mosquita. Es difícil de imaginar, pero él trasplantó cerebros desde individuos salvajes al abdomen de individuos mutantes arrítmicos. En 1979, publicó los resultados: el mutante trasplantado adquiría la capacidad de comportarse rítmicamente. Los cerebros trasplantados no generaban nuevas conexiones neuronales, por lo cual la señal del marcapaso debía ser una secreción que difundía desde ellos y actuaba sobre las células del cerebro de los mutantes.

Al año siguiente, Konopka anunció el hallazgo de una anomalía en la morfología de un grupo de células neurosecretoras del cerebro asociada con individuos mutantes *per* arrítmicos en *Drosophila melanogaster* y en *Drosophila pseudoobscura*. Su conclusión fue que esas células neurosecretoras debían ser parte del sistema circadiano y que el producto de *per* debía influir en el desarrollo de esas células.

El sistema nervioso central de la mosca consta de aproximadamente 100000 neuronas. Los ritmos circadianos dependen básicamente de la expresión cíclica de los genes del reloj en unas 150 de ellas. La luz es el factor ambiental (*zeitgeber*) que sincroniza esos 150 relojes y los “pone en hora” de acuerdo al tiempo local.

El número y la posición de las neuronas-reloj se determina por medio de la observación microscópica de preparados con tinturas especiales que resalten los productos de los genes específicos como *per* y *tim*. Esas neuronas se encuentran en el cerebro, divididas en dos grupos, las laterales y las dorsales.

Entretanto, hubo progresos en el conocimiento de los genes involucrados en las interacciones entre los distintos marcapasos. En 1998, el grupo de Hall y Roshbash descubrió el gen *crybaby* (*cry*) y la proteína CRY, que él codifica, identificada como el principal sistema sensible a la luz o fotoreceptor. La actividad de *cry* está regulada por el ritmo circadiano e influida por todos los genes citados antes: *per*, *tim*, *clk* y *cyc*. Ese mismo año Hall y Jae H. Park aislaron el gen *pdf* que codifica un neuropéptido que se llama factor dispersante de pigmentos o PDF por sus siglas en inglés²⁶. Al año siguiente descubrieron que *pdf* se expresa solo en un conjunto de pequeñas neuronas ventrales del grupo lateral, bautizado sLN_vs (por *small ventral lateral neurons*; Figura 62). Esto sugirió que PDF es el principal neurotransmisor circadiano.

Estas neuronas sLN_vs cambian con las horas. Los extremos de sus axones se alargan y ramifican de día y se acortan a la noche, aunque no varíe la luz o la temperatura a lo largo del día. También cambian con las horas sus sinapsis: si bien algunas son permanentes, otras son transitorias y se establecen al amanecer, a la mañana o al atardecer. Todo esto nos habla de un sistema formado por circuitos dinámicos de neuronas, tal como se encontró en otros organismos.

26 Ese nombre proviene del efecto que PDF causa en los crustáceos, donde fue descubierto.

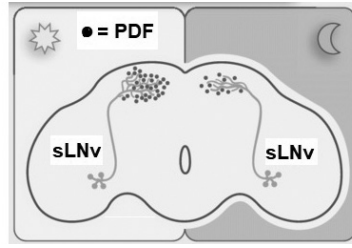


Figura 62. Esquema del cerebro de *Drosophila melanogaster* con la localización de un grupo de neuronas reloj así como la variación circadiana de sus axones (sLNv) y de la producción de PDF.

El punto de vista tradicional era, entonces, que las neuronas laterales eran los principales marcapasos responsables de los ritmos de reposo y actividad, y las dorsales modulaban los detalles más sutiles de esos ritmos. Actualmente existe un panorama más complejo y rico de las relaciones entre anatomía y función de las neuronas-reloj, con la presencia de dos centros oscilatorios distintos, E y M, que corresponden a la tarde (E de *evening*) y mañana (M de *morning*). Y la historia continúa.

Capítulo 9

Un gusano, aún más pequeño

Los animales que tienen el cuerpo envuelto en una cutícula más o menos rígida que limita su tamaño y, por lo tanto, crecen por medio de ecdisis o mudas¹ se reúnen en un “supergrupo” llamado ecdisozoos, que quiere decir “animales que mudan”. Hay 4 grandes grupos de ecdisozoos y el más numeroso de ellos en especies es el de los artrópodos, que incluye a los insectos como *Drosophila melanogaster*. Hay alrededor de un millón de especies de artrópodos ya conocidas, sobre un total estimado de 5 a 10 millones. Le siguen los nematodos; si bien se han descrito “solo” unas 25000 especies de nematodos, su número también sería millonario. Además, son muy abundantes alcanzando, por ejemplo, millones de pequeñísimos individuos por metro cuadrado de suelo terrestre o marino.

El aspecto de la mayoría de los nematodos es el de un gusano: un cilindro delgado y largo, con los extremos puntiagudos. Por debajo de la cutícula, compuesta principalmente por colágeno, se encuentra una capa de músculos, y más adentro un tubo digestivo que recorre todo el cuerpo. Entre los músculos y el tubo digestivo existe una cavidad llena de líquido, con relativamente

1 Capítulo 8: El ciclo de vida. Como comenté en el caso de *Drosophila melanogaster*, al crecer los ecdisozoos se despojan de esa cutícula luego de fabricar una nueva, inicialmente blanda y plegada, pero que luego se estira y endurece.

pocas células, dentro de la cual se alojan los órganos reproductivos: ovarios, testículos y sus respectivos conductos. La uniformidad en su aspecto es contrarrestada por la diversidad de tamaños: desde alrededor de 0,4 mm en algunos nematodos marinos hasta más de 8 m en *Placentonema gigantísima* (parásito de la placenta de ballenas). Una de las especies microscópicas es *Caenorhabditis elegans*, ganador de un solo Nobel, por ahora.

Inicialmente, los nematodos más estudiados por la ciencia eran los parásitos de animales y plantas. Los parásitos humanos más frecuentes son transmitidos por aguas contaminadas con sus huevos como los grandes *Ascaris lumbricoides* (Figura 63) y *Ancylostoma duodenale* que infectan cientos de millones de personas, por picaduras de insectos como las pequeñas especies que causan las filariasis linfáticas, o por comer alimentos contaminados como es el caso de *Trichinella spiralis*. Los parásitos de las raíces de vegetales cultivados, como las especies de *Meloidogyne*, causan enormes pérdidas en las cosechas. Si bien se conocían algunos nematodos no parásitos encontrados en el suelo y en sedimentos, tanto marinos como de agua dulce, a partir de mediados del siglo XX se describieron numerosas especies “de vida libre” en esos ambientes, hasta entonces no conocidas. Este proceso continúa hoy con gran intensidad.



Figura 63. Hembra de *Ascaris lumbricoides*, parásito del intestino de cerdos y humanos. Mide hasta 35 cm de largo; la línea blanca de la foto representa 1 cm.

En los años sesenta de ese siglo una especie de vida libre se convirtió en una nueva estrella del mundo de la ciencia y en el nematodo más “popular”. Había sido descubierto en una muestra de humus en Argelia en 1897, descrito y

bautizado como *Rhabditis elegans* por Émile Maupás². Este zoólogo francés publicó sus observaciones en 1900 como parte de un extenso trabajo sobre los “modos y formas de reproducción de los nematodos”³. Ocurre que estos animales varían en la forma de perpetuarse: a veces hay machos y hembras (en general de mayor tamaño que los machos), pero también existen especies hermafroditas (ambos sexos en el mismo individuo) e incluso que presentan partenogénesis⁴.

En la década de 1940, Victor Nigon, también francés, profundizó las investigaciones sobre la reproducción y el proceso de determinación del sexo en los pequeños nematodos de vida libre (no parásitos) conocidos como rabdítidos, incluido el aún conocido como *Rhabditis elegans*. En marzo de 1944 llevó los ejemplares de este gusano recolectados en el jardín de su casa en Bergerac a Paris, donde finalizó su tesis doctoral interrumpida por la segunda guerra mundial.

Por otra parte Nigon y Ellsworth C. Dougherty, de la Universidad de California en Berkeley (Estados Unidos), describieron una especie norteamericana muy similar a *Rhabditis elegans*, a la cual llamaron *Rhabditis briggsae*. Las dos especies fueron separadas del género *Rhabditis* y agrupadas, junto a otras en otro género que fue bautizado *Caenorhabditis* en 1952⁵, adquiriendo así sus nombres actuales: *Caenorhabditis elegans* y *Caenorhabditis briggsae*.

En la primera mitad del siglo XX se publicaron varios trabajos sobre la reproducción, desarrollo, muda y citogenética de los rabdítidos. El punto de partida de su uso en la investigación genética puede ubicarse simbólicamente en 1948, cuando Dougherty y Hermione G. Calhoun⁶ publicaron una breve nota en la revista *Nature* exponiendo las ventajas de los mismos. Dougherty y Nigon siguieron colaborando y describieron el primer mutante morfológico de *Caenorhabditis briggsae*. Durante la década siguiente, Dougherty desarrolló

2 *Rhabditis* viene del griego *rhábdos*, que quiere decir rama o vara; habría que preguntarle a Maupás cual era su concepto de elegancia.

3 Maupás, É. (1900). Modes et formes de reproduction des nematodes. Archives de Zoologie Expérimentale et Générale. 8: 463–624.

4 Capítulo 5: De la partenogénesis artificial al uso del oxígeno por las células (y el primer Nobel para un erizo de mar)

5 *Caeno* también viene del griego y se utiliza para denotar “reciente”.

6 Dougherty, E. C.; Calhoun, H. G. (1948). Possible Significance of Free-living Nematodes in Genetic Research. *Nature* 161: 29

técnicas para obtener cultivos axénicos⁷ de esos nematodos en placas de agar. Es decir, sentó las bases para mantener poblaciones puras en el laboratorio.

Estas ventajas permitirían a Sydney Brenner, cuya vida y personalidad trataré en detalle más adelante, elaborar su primera propuesta de investigación en la Universidad de Cambridge. Inicialmente, había considerado a *Caenorhabditis briggsae* como el organismo a utilizar en sus experimentos, pero luego de visitar a Dougherty en California, eligió *Caenorhabditis elegans*. Posiblemente eso se debió a diferencias en el crecimiento y comportamiento entre ambos que hacían a *Caenorhabditis elegans* más fácil de cultivar y manipular. En octubre de 1963 un cultivo axénico de una cepa originalmente recolectada en Bristol (Reino Unido) por un experto en nematodos parásitos de vegetales, viajó desde Estados Unidos al laboratorio de Brenner por avión. Esa cepa fue designada N2.

Esos gusanos fueron los antepasados del “ganador” del Nobel en 2002, que compartió con Brenner, John E. Sulston y H. Robert Horvitz (estos últimos dos también de Cambridge) por sus investigaciones sobre la regulación del desarrollo de los órganos y la muerte celular programada.

La breve vida del gusanito

La reproducción de *Caenorhabditis elegans* está a cargo de hermafroditas que se fecundan a sí mismos y machos ocasionales que pueden fecundar a los primeros (Figura 64). Si bien los hermafroditas tienen cuerpo de hembras, las células germinales originan hasta 350 espermatozoides en el último estadio inmaduro y solo óvulos en los adultos. El cambio es irreversible y el número de espermatozoides es el que limita el número de huevos fertilizados. En el laboratorio, aproximadamente 1 de cada mil individuos se desarrolla como macho espontáneamente, pero esa proporción puede aumentar con temperaturas más altas. Cuando un macho insemina a un hermafrodita, su esperma es más abundante que el propio (se acumula en la espermateca⁸ del segundo) y la descendencia aumenta hasta más de mil huevos. La mayoría de los hijos de un hermafrodita autofecundado son también hermafroditas y genéticamente idénticos: son clones. El cruzamiento entre un hermafrodita y un macho permite entonces un cierto grado de variabilidad genética.

7 Un cultivo o un microorganismo que se desarrolla en un ambiente donde no hay ningún otro organismo vivo, según el Diccionario de la RAE

8 Capítulo 8: El ciclo de vida.

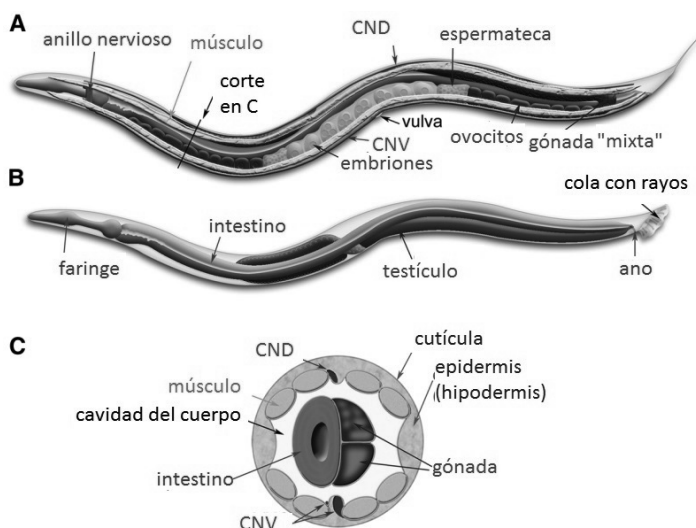


Figura 64. Anatomía de *Caenorhabditis elegans*. A: Hermafrodita; B: Macho; C: corte del cuerpo de A en el sitio indicado. CND y CNV: cordón nervioso dorsal y ventral.

De la eclosión de los huevos surgen unos minúsculos individuos similares a sus padres llamados larvas o juveniles. Es el primero de cuatro estadios necesarios para llegar a la etapa adulta; o sea, mudan 4 veces. En promedio, el tiempo de este proceso es de apenas dos o tres días, y la vida del adulto en el laboratorio, a una temperatura constante de 20 °C es de dos a tres semanas. Como muchos otros nematodos relacionados, el segundo estadio larval puede entrar en una vía alternativa de desarrollo en el caso de sobrepoblación o falta de alimento. Esta vía consiste en un tercer estadio larval modificado, llamado *dauer* (duración en alemán), que puede sobrevivir sin alimentos varios meses y que resiste la deshidratación y otros estreses ambientales. Este tipo de letargo se conoce como diapausa y finaliza cuando las condiciones ambientales son favorables; entonces el ciclo se reinicia mudando a un cuarto estadio normal (Figura 65). En otras palabras, *Caenorhabditis elegans* tiene el secreto de la longevidad o, al menos, tiene mecanismos que le hacen posible alargar su vida.

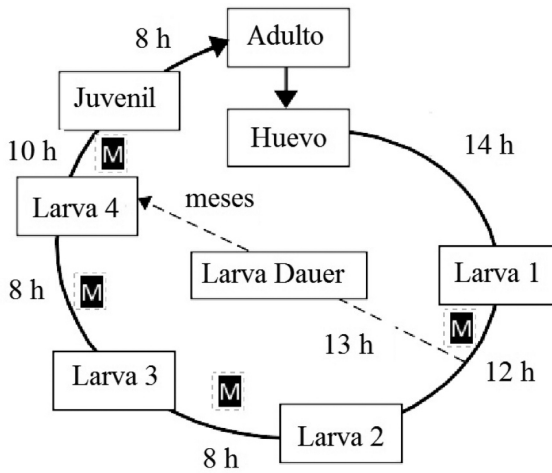


Figura 65. Ciclo de vida de *Caenorhabditis elegans* cultivado en el laboratorio a 22 °C. La M indica una muda.

Otro nematode había sido usado como modelo

Algunos de los grandes nematodos parásitos de animales, que se llaman as-
cáridos, permitieron descubrir ciertos principios básicos de la biología celular
en las últimas décadas del siglo XIX, que son ahora del “dominio público”. Entre
ellos la división celular: en 1879 Walther Flemming describió la mitosis en ani-
males utilizando para ello células de salamandras caracterizadas por sus grandes
cromosomas. Y poco después Édouard Van Beneden hizo lo propio con la meiosis
en *Parascaris equorum*⁹. Este gusano de hasta 50 cm de longitud (que en esos
tiempos se llamaba *Ascaris megalocephala*) vive en el largo intestino de los caba-
llos. El gran tamaño de los espermatozoides con forma de ameba y el reducido
número de cromosomas (dos pares en las células somáticas) que tienen esos pa-
rásitos fueron sus ventajas, ya que facilitaban la observación. Theodor Boveri y
su esposa Marcella O’Grady visualizaron a partir de 1888 la fertilización, división
celular y desarrollo embrionario temprano de esa especie y sus descubrimientos
condujeron, nada más y nada menos, a la teoría cromosómica de la herencia¹⁰.

Marcella no figuró como coautora de los trabajos pero participó activamente
en los mismos, como anticipé en el capítulo 5. Ella se había formado en Estados

9 Capítulo 1: Células, núcleos y cromosomas; Capítulo 4: Y más tarde le tocó el turno a las salamandras.

10 Capítulo 5: El Vesubio y la embriología experimental.

Unidos como asistente del zoólogo Edmund Wilson, quien estudió el desarrollo de otro gusano marino muy distinto (que pertenece al grupo de los anélidos o gusanos segmentados, tal como las lombrices de tierra). Wilson había observado al microscopio como las células se dividían a partir de la primera, el cigoto, y se iban diferenciando en los distintos tejidos y órganos de la larva. Estos anélidos tienen una etapa larval que vive en el plancton, aunque el adulto se arrastra sobre el fondo. A partir de sus resultados, construyó una especie de árbol genealógico celular, trazando los linajes de las células y bautizando a cada una mediante una práctica terminología. Los Boveri también diseñaron una terminología para cada generación de células de *P. equorum*, que fue publicada en 1899 y aún se usa, con algunas variaciones, incluso en *Caenorhabditis elegans*¹¹.

El “niño terrible” de la biología molecular

Sydney Brenner (Figura 66) nació en Sudáfrica en 1927 y murió -cuando aún estaba activo- en Singapur en 2019. Se recibió de médico en Johannesburg y obtuvo su doctorado en la Universidad de Oxford. A poco de llegar a Inglaterra, en 1953, fue testigo de la presentación del modelo de doble hélice del ADN por James Watson y Francis Crick y decidió dedicar su carrera a comprender como funcionan los genes. En 1956 Crick lo convocó para trabajar en la Universidad de Cambridge. Usando bacterias y sus virus (los bacteriófagos), los investigadores del grupo de Crick, incluido Brenner, comprobaron experimentalmente sus propias hipótesis teóricas acerca de la naturaleza del código genético en 1961¹² y luego mostraron como finaliza la síntesis de proteínas codificada por el ADN. Además, había participado en la demostración de la existencia del ARNm, junto a François Jacob y Matthew Meselson^{13, 14}.

Una vez comprendidos los mecanismos básicos de lo que hoy llamamos biología molecular en microorganismos, Brenner decidió encarar el problema del desarrollo estudiando el proceso de división celular tanto en bacterias como en animales. La propuesta de investigación del Laboratorio de Biología Molecular de Cambridge de 1963, inspirada por sus ideas, consistía en elegir un organis-

11 Satzinger, H. (2008) .Theodor and Marcella Boveri: chromosomes and cytoplasm in heredity and development. *Nature Reviews Genetics* 9: 231-238.

12 Crick, F. H., Barnett, L, Brenner, S, Watts-Tobin, R. J. (1961). General nature of the genetic code for proteins. *Nature*. 192 (4809): 1227-32

13 Capítulo 1: El ADN, las bacterias y algunos Nobel

14 Brenner, S., Jacob, F; Meselson, M, (1961). An Unstable Intermediate Carrying Information from Genes to Ribosomes for Protein Synthesis, *Nature*, 190, 576-81.

mo multicelular y tratarlo con los métodos de la genética de microbios. Debía ser fácil de cultivar en placas de agar con bacterias como alimento, tener un ciclo de vida breve, ser pequeño como para poder disponer de muchos individuos a la vez, tener pocas células cuya genealogía se conozca, y que en él fuera posible detectar, manipular y estudiar mutaciones. El elegido fue *Caenorhabditis elegans* que tiene, además, otra ventaja: el número de sus células somáticas

(todas las células del cuerpo excepto las que están destinadas a formar los óvulos y espermatozoides, que se conocen como células germinales) es constante. Por ejemplo, *Caenorhabditis elegans* tiene 302 neuronas en el cordón nervioso.

Brenner divirtió, pero también ofendió a veces, a quienes lo escuchaban o leían, con sus ironías y su rechazo a dogmas y convencionalismos. Así se hicieron famosas sus columnas en la revista *Current Biology* que firmaba como “Tío Sid”.

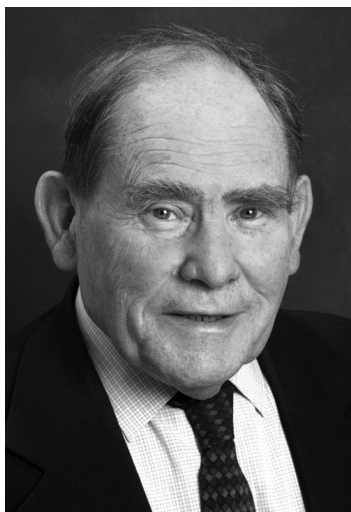


Figura 66. Sydney Brenner, que llevó a *Caenorhabditis elegans* a la gloria.

El suicidio de las células

Las células mueren, y ese fenómeno había recibido menos atención que su crecimiento y reproducción. Lo que hizo particularmente interesante su estudio es que muchas veces la muerte es el resultado de procesos fisiológicos del propio organismo vivo. Esos procesos son diferentes a la muerte celular por factores externos (lesiones, por ejemplo), denominada necrosis. En efecto, las células pueden normalmente “suicidarse” en el curso del desarrollo o en la vida adulta, por distintas razones. Lo hacen mediante un proceso bastante estereotipado que consta de varios pasos. Por eso se lo llamó “muerte celular programada” y en 1980 se formalizó su designación con el nombre de apoptosis¹⁵.

15 Wyllie, A. H.; Kerr, J. F. R.; Currie, A. R. (1980). Cell Death: The Significance of Apoptosis. *International Review of Cytology* 68: 251-306.

La apoptosis puede ocurrir por ejemplo, cuando una célula se halla dañada (por ejemplo si su ADN está alterado; eso hace que pueda desarrollar cáncer) y no tiene posibilidades de ser reparada, o cuando ha sido infectada por un virus. También ciertas células del sistema inmunitario que pueden atacar células de tejido sano del propio organismo son eliminadas mediante apoptosis. Y, en general, es un mecanismo que permite mantener constante el número de células de un tejido. Pero además, la muerte celular programada es parte integral del desarrollo de los tejidos tanto de plantas como de animales pluricelulares. Por ejemplo es responsable de la reabsorción de la cola de los renacuajos o la eliminación de las membranas interdigitales en la formación de los dedos en el feto humano. En el desarrollo de *Caenorhabditis elegans* siempre se pierden por apoptosis las mismas células y eso lo hace un modelo óptimo para el estudio de la apoptosis.

Linajes celulares de *Caenorhabditis elegans* y la muerte celular programada

Los linajes celulares de *Caenorhabditis elegans* desde el cigoto hasta la larva que eclosiona del huevo fueron revelados en detalle por Sulston y sus colegas en 1983¹⁶. En ese proceso se generan 671 células; en un hermafrodita 113 de ellas (en los machos 111) mueren por apoptosis). Las restantes se diferencian de forma definitiva o mueren durante el posterior desarrollo larval.

La primera división celular es asimétrica, originando una célula fundadora grande (AB) y una célula madre más chica (P1). AB y P1 además difieren en sus “destinos celulares”: AB origina exclusivamente células somáticas y P1 origina tanto células somáticas como germinales (reproductivas).

El número de células se duplica durante las siguientes divisiones celulares, pero interesa analizar la descendencia de P1. Esta célula da origen a una nueva célula fundadora somática y una nueva célula madre, P2. Lo mismo ocurre con P2 que se divide dando una tercera célula fundadora somática y la célula madre P3. Finalmente, P3 se divide en una célula fundadora somática y en P4, la madre de todas las células reproductivas del adulto que permanecerá en reposo hasta el último estadio larval (Figura 67).

16 Sulston, J. E.; Schierenberg, E.; White, J. G.; Thomson, J. N. (1983). The embryonic cell lineage of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Developmental Biology* 100(1): 64-119.

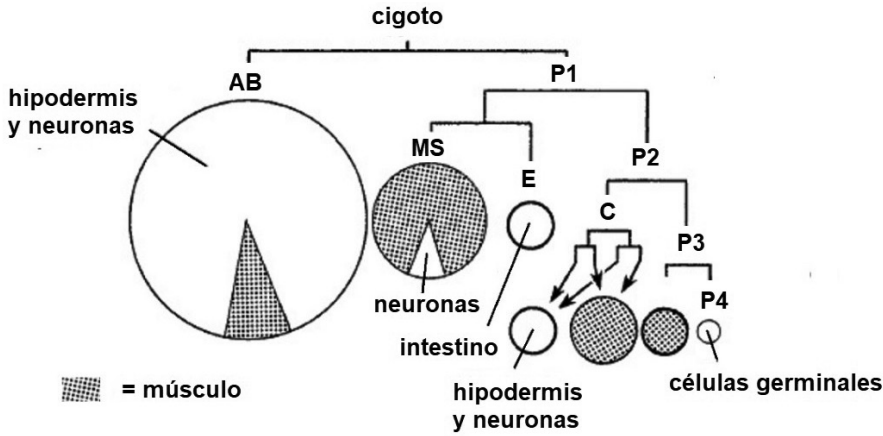


Figura 67. Esquema de los principales linajes celulares al comienzo del desarrollo embrionario de *Caenorhabditis elegans*. El tamaño de los círculos representa la cantidad de células hijas.

Con anterioridad, en 1977, Sulston y Horvitz (Figura 68) habían trazado la genealogía de las 959 células somáticas del hermafrodita adulto y las 1031 del macho, que se originan de la división de las 558 o 560 células del primer estadio larval menos 131 o 148 células muertas por apoptosis, respectivamente.

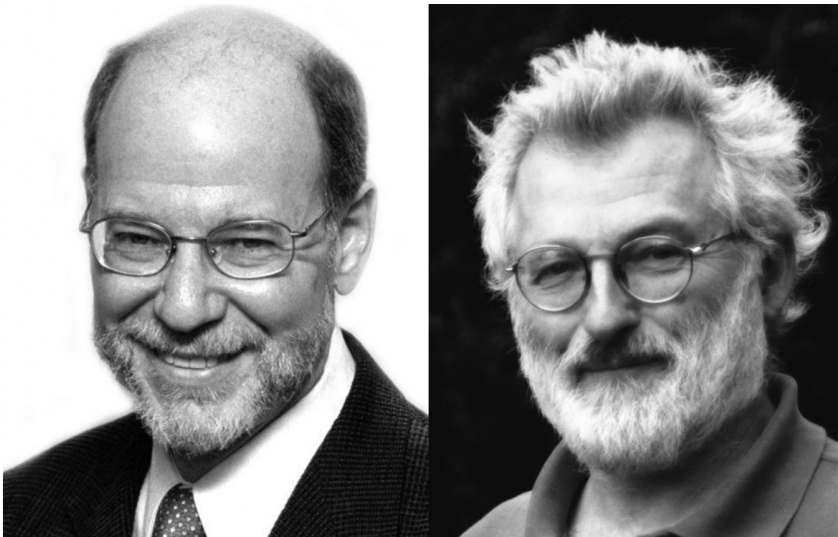


Figura 68. H. Robert Horvitz y John E. Sulston, amigos de Sydney y de *Caenorhabditis elegans*, también recibieron el Nobel en 2002.

Los análisis genéticos realizados entre 1976 y 1992 condujeron al aislamiento de alrededor de un centenar de mutaciones que afectan la muerte celular programada en *C. elegans*. Con ellas se pudieron identificar 14 genes que afectan las muertes celulares programadas, así como una pequeña cantidad que alteran el patrón de apoptosis. Esos genes permiten dividir el proceso en 4 etapas, los que actúan en los últimos 3 pasos son comunes a todos los procesos en tanto que los que actúan en el primero solo a pocas células (Figura 69).

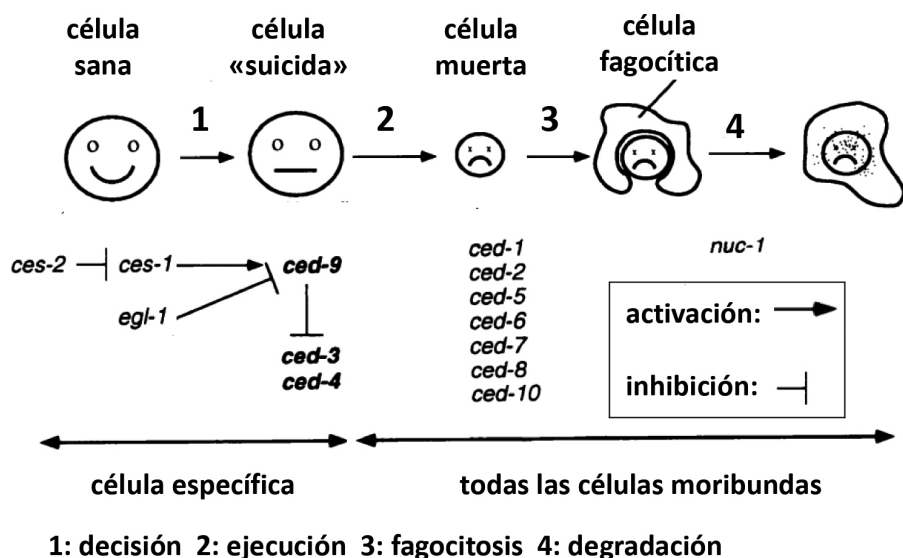


Figura 69. Caminos de la muerte celular programada en *Caenorhabditis elegans*. Los genes representados son: *ced-1* a 10, por *cell death abnormality*; *ces-1* y 2, por *cell death specification*; *nuc-1*, por *abnormal nuclelease* y *egl-1*, por *egg laying defective*.

El primer genoma secuenciado de un organismo multicelular fue el de *C. elegans*

La tapa de la revista Science del 11 de diciembre de 1998 mostró una foto de nuestro pequeño héroe y en su interior se encontraba un artículo de 7 páginas, firmado por una asociación de unos 400 investigadores, en el que

se describió la secuencia de genoma de *C. elegans*¹⁷. Es decir, el orden en que se encuentran los 97 millones de pares de bases del ADN que forman sus más de 19000 genes. Fue la primera de un organismo multicelular, luego de las correspondientes a virus, varias bacterias y una levadura. Este genoma reveló mucho acerca de las bases generales de la construcción de un animal y las más específicas de la construcción de un nematodo. Más del 40% de las proteínas que son el producto de esos genes coinciden con las de otros organismos, incluyendo a los seres humanos, y la distribución de los genes en los 6 pares de cromosomas fue una evidencia de una organización regional de los mismos.

Cinco años más tarde se publicó la secuencia del genoma de su “primo hermano” *C. briggsae*, con quien comparte el hábitat y el modo de reproducción hermafrodita, lo cual permitió refinar el conocimiento de *C. elegans* y es una fuente prometedora de comparaciones evolutivas.

Control del flujo de información genética

Este impresionante título hace referencia al motivo por el cual se otorgó el Nobel 2006 a dos investigadores que usaban *C. elegans* como modelo de investigación para comprender la regulación de las instrucciones para la síntesis de proteínas que envía el ADN por medio del ARNm. Los norteamericanos Andrew Fire y Craig Mello (Figura 70) publicaron en 1998 su descubrimiento de un mecanismo que puede degradar el ARNm de un gen específico, llamado “interferencia de ARN”.

Para comprenderlo es necesario recordar que el ADN está formado por dos cadenas de unidades, los nucleótidos, en tanto que el ARNm está formado por una sola. Las cadenas del ADN son complementarias y se pueden “leer” en direcciones opuestas. Una es la que contiene la información que codifica la proteína y se dice que tiene sentido; la otra, llamada “anti sentido”, es usada como un molde en la producción de ARNm, el cual luego dirigirá la síntesis de una proteína.

17 The *C. elegans* Sequencing Consortium (1998). Genome sequence of the nematode *C. elegans*: a platform for investigating biology. Science 282 (5396): 2012–2018



Figura 70. Andrew Z. Fire y Craig C. Mello.

La interferencia se activa cuando en la célula aparecen moléculas de ARN con dos cadenas complementarias, que llamaremos ARNdc. Esta presencia pone en marcha la maquinaria bioquímica que degrada las moléculas de ARNm que tienen una secuencia de nucleótidos idéntica a la del ARNdc. Cuando esas moléculas desaparecen, el gen correspondiente es “silenciado” y no se produce la proteína codificada por él.

La interferencia está presente en plantas y animales y también se usa como un método para estudiar el funcionamiento de los genes. Es de gran importancia para la regulación de la expresión de los genes (o sea para “prenderlos” o “apagarlos”, según la metáfora usual), participa en la defensa contra infecciones de virus que contienen ARNdc, sobre todo en los animales que poseen un complejo sistema inmune, y controla los trasposones o “genes saltarines”. Estos últimos son elementos genéticos móviles que había descubierto la norteamericana Barbara McClintock en plantas, motivo por el cual recibió el Nobel en 1983. Muchos trasposones copian su ADN a ARN que luego es transcrito a ADN e insertado en otro lugar del genoma, a veces equivocado; parte de ese ARN es ARNdc y detectado por la interferencia.

Cuando Andrew y Craig injectaban el gusanito (Figura 68; ¡imagine el lector la proeza técnica que implica eso!) con moléculas de ARNm que codifican una proteína muscular no había cambios en su comportamiento. El orden de los nucleótidos del ARN es el que tiene el sentido correcto. Si injectaban ARN antisentido, que puede aparearse con el ARNm, tampoco había efectos, pero si injectaban ambos observaban movimientos espasmódicos del cuerpo. Estos movimientos eran similares a los de gusanos cuyo gen para esa proteína no funcionaba.

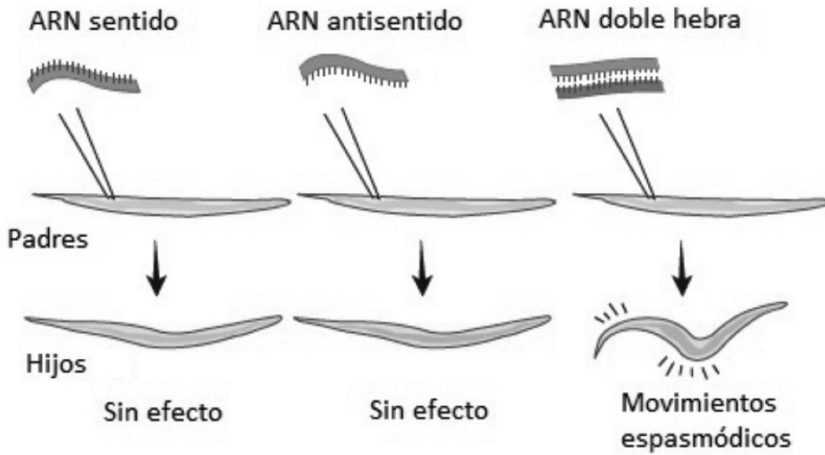


Figura 71. El experimento de Fire y Mello de inyección de ARN en *Caenorhabditis elegans*.

La explicación que propusieron fue que cuando el ARN con sentido y el antisentido se encontraron, se unieron y formaron ARNdc; este apagaba el gen que se transcribía en ese particular ARNm. Probaron luego con otras proteínas y siempre se silenciaba el gen correspondiente y no se formaba esa proteína. Con una serie de experimentos llegaron a las siguientes conclusiones: que el ARNdc puede interferir la expresión de genes de una forma específica establecida por su secuencia, que esa interferencia puede expandirse entre las células y heredarse, y que solo una minúscula cantidad de ARNdc es necesaria para producir el efecto.

Los componentes de la maquinaria de interferencia de ARN (ARNi) fueron identificados en los años siguientes. El ARNdc se une a un complejo de proteínas que lo fragmentan; los fragmentos se unen a otro complejo de proteínas llamado RISC, allí se elimina una de las cadenas pero la otra permanece y sirve para detectar moléculas de ARNm. Cuando una molécula de ARNm se aparea

con ese fragmento de ARN “señuelo”, ambos se unen y son degradados. Así, el gen en cuestión ya no puede expresarse.

La interferencia de ARN juega un papel en la regulación de la expresión de los genes en los gusanos durante el desarrollo y también en el control de las funciones celulares. Pero también ocurre lo mismo en la especie humana. Muchos genes codifican pequeñas moléculas de ARN llamadas microARNs que contienen fragmentos de otros genes. Una molécula de microARN puede formar una estructura de dos cadenas y activar la maquinaria de interferencia de ARN, de modo que se bloquea la síntesis de proteínas y ese gen particular se apaga.

Los viejos frutales de París

Los miles de millones de *C. elegans* que pasaron sus vidas en laboratorios del mundo provienen de una sola cepa: la N2 de Bristol, usada primero por Brenner y sus amigos, quienes las alimentaron y cuidaron amorosamente. Pero ¿cómo sería la vida de esta especie en la naturaleza, enfrentando variaciones en la disponibilidad de comida y temperatura y la presencia de depredadores y parásitos, con su aparentemente gran uniformidad genética? Esa pregunta despertó la curiosidad de Marie-Anne Félix, del Instituto Jacques Monod de París.

Aunque se lo conoce como nematodo del suelo, quizá debido al sitio de su primer hallazgo, *C. elegans* fue aislado raramente de ese hábitat; la mayoría de las veces se lo encuentra en materia vegetal en descomposición en todos los continentes, menos la Antártida. La zoóloga parisina encontró poblaciones abundantes de *C. elegans* y *C. briggsae* en antiguas plantaciones de árboles frutales de los tranquilos alrededores de su ciudad. Cientos de gusanos de todos los estadios del ciclo de vida, incluyendo los raros machos, vivían en frutas, flores y tallos herbáceos en putrefacción. Ella y sus colegas investigaron en ambientes similares de toda Francia en las cuatro estaciones y pudieron así informar sobre aspectos de su alimentación, densidad, reproducción, comportamiento y sus relaciones con otros integrantes de su comunidad, como depredadores y patógenos, a distintas escalas espaciales y temporales.

Un aspecto fundamental de *C. elegans* en la naturaleza tiene que ver con la longeva larva *dauer* que se encuentra en material vegetal podrido, pero también sobre muchos invertebrados, inclusive dentro de caracoles, cuando la densidad poblacional es extrema. Esos animales les permiten dispersarse lejos de su sitio de origen; el biólogo Jean Deutsch dijo que los usan como “taxi”. Si

bien no podemos esperar un transporte rápido y distante en el interior de un caracol, este puede ser atrapado por un ave y llevado grandes distancias antes de despanzurrarlo y arrojar sus restos, larvas *dauer* incluidos, al suelo. Este transporte, así como la mayor presencia de machos en la naturaleza, podrían explicar la insospechada variación de características entre poblaciones de la especie, tales como rasgos de comportamiento e, incluso, diferencias en los linajes celulares. Esas variaciones, hoy se sabe, se vinculan con una diversidad genética mayor que la presente en el laboratorio.

Capítulo 10

El arca de Noé y las cuestiones éticas

Otros pasajeros del arca de Noé que bajaron en Estocolmo

Muchos animales fueron utilizados como modelos en investigaciones que condujeron a Nobel. La mayoría de ellos, vertebrados. El primer lugar lo ocuparon los mamíferos: perros, gatos, ovejas, vacas, cerdos, caballos, varias especies de primates (macacos, también llamados monos Rhesus, y chimpancés, pero no *Homo sapiens*) y, sobre todo, roedores como conejos, cobayos, hamsters, ratas, y claro está, ratones. También algunas aves además del gallo (o gallina o pollo), como palomas, pavos, y diferentes pájaros, reptiles (víboras), anfibios (sapos, ranas salamandras) y peces. Los pocos invertebrados, además de los ya mencionados erizos de mar, moscas de la fruta, liebre de mar, calamares y el inefable gusanito *Caenorhabditis elegans*, fueron tres artrópodos (abejas, cangrejos herradura, que en realidad no son cangrejos, y langostas de mar) y otro molusco, una almeja.

Examinemos primero los modelos favoritos. Es posible hacer una estadística contando el número de veces (años) en que estos bichos compartieron el premio con sus “amos”. El ganador absoluto es el ratón doméstico con 29 ocasiones, le siguen el perro y el conejo con 17, la rata con 16, el cobayo con 10, los primates con 11 y el gato con 10. Todos mamíferos, los dos últimos empataron con los anfibios con 11 oportunidades y el gallo

con 10. El invertebrado más representado fue la mosca de la fruta con 6, pero un gran futuro por delante. Unos pocos de todos estos animales, dejando de lado los 8 que describo en este libro, fueron “solistas”, es decir que tuvieron la ocasión de ser el único galardonado: perros, ratas, cobayos y algunos pocos más.

El primer Nobel en Medicina o Fisiología fue concedido a Emil von Behring en 1901 por su trabajo en la terapia de la difteria mediante sueros: el animal que utilizó en sus experimentos llevados a cabo junto al médico y bacteriólogo japonés Shibasaburo Kitasato¹ (que no recibió el premio) fue el cobayo. Claro que se dieron cuenta de que necesitaban vacunar animales grandes, como caballos y ovejas, para producir suficiente suero y así proteger a los humanos.

Al año siguiente, el premio correspondió a Ronald Ross, un polifacético científico inglés nacido en Nepal y que trabajó en la India. Le fue otorgado por comprender el ciclo de vida del parásito que causa la malaria humana, un protozoo que se llama *Plasmodium*. Descubrió como se transmitía el microbio entre humanos gracias al mosquito. El había encontrado *Plasmodium* en el tejido del estómago de mosquitos *Anopheles* que previamente se habían alimentado de la sangre de un paciente de malaria y dedujo que ese insecto era el vector de la enfermedad. Para comprobar experimentalmente su observación usó como modelo experimental la malaria en aves, producida por otro protozoo, *Proteosoma*, y así logró completar el ciclo de vida de estos organismos unicelulares de manera controlada en 1898 mediante la infección de varias especies plumíferas. Entre ellas, palomas.

Y en 1904 le tocó el turno al perro. Se trata de los famosos animales con los cuales se reconoció el trabajo de Ivan Petrovich Pavlov en la fisiología de la digestión (Figura 72).

1 Shibasaburo Kitasato inventó un matraz muy usado en los laboratorios de todo el mundo y que lleva su nombre. Fue homenajeado en Japón incluyendo su rostro en los billetes de 1.000 yenes



Figura 72. Algunos de los perros que fueron usados por Ivan Pavlov en sus experimentos (entre los más fotogénicos).

Las vacas y ovejas llegaron acompañando a Robert Koch cuando sus estudios sobre la tuberculosis fueron premiados en 1905, y los caballos en 1906 junto a perros, con los ya mencionados Camillo Golgi y Santiago Ramón y Cajal. Los gatos lo hicieron recién en 1912 por “colaborar” con los perros en los avances logrados por Alexis Carrel en la sutura e injerto de vasos sanguíneos y los conejos en 1913 por los estudios de Charles Robert Richet sobre los mecanismos de anafilaxia². El francés Charles Jules Henri Nicolle, quien recibió el premio en 1928 “por su trabajo en el tifus” mencionó en su discurso haber inyectado un macaco y un chimpancé en sus investigaciones realizadas en Túnez. Y en 1930, fue premiado el austriaco Karl Landsteiner “por su descubrimiento de los grupos sanguíneos humanos”. Landsteiner encontró en 1940 un nuevo grupo de antígenos sanguíneos durante unos experimentos con monos Rhesus; en honor al macaco, se denominaron factores Rhesus (factores Rh). Los pocos invertebrados premiados llegaron por primera vez en 1933 de la pata de un insecto (de eso trataba el capítulo 8) y por última vez en 2002: el gusanito del capítulo 9. ¿Habrán otros en el futuro?

2 Según la RAE, anafilaxia es un término de la biología y medicina que significa: 1. Reacción exagerada del organismo a partir de la nueva introducción de una sustancia extraña o del contacto con ella, que al ser administrada por primera vez provocó reacción escasa o nula, y 2. Sensibilidad excesiva de algunas personas a la acción de ciertas sustancias alimenticias o medicamentosas.

Y ahora les toca el turno a los modelos muy poco comunes. Los erizos de mar, liebres de mar y calamares tuvieron sus propios capítulos. Los últimos compartieron su labor con los cangrejos herradura y langostas de mar. Las almejas colaboraron en 2003 con perros, sapos, conejos, chimpancés, ratones, ratas y cerdos en los desarrollos de las imágenes de resonancia magnética. Los pavos hicieron lo propio en el descubrimiento de las proteínas G y su rol en la transducción de señales en células, en 1994, junto a conejos, ratas y vacas. Queda para el final un año muy especial: 1973.

Abejas, peces, gaviotas, ostreros, cuervos y gansos

El Nobel de medicina y fisiología homenajea en general a quienes hayan logrado progresos que permiten comprender como funciona el organismo humano. Esos logros conducen eventualmente a mejorar la salud en forma directa o indirecta. En este último caso, a través del conocimiento de los principios básicos de la biología en los niveles de moléculas, células, tejidos y órganos. En cambio, en 1973 se premió a tres biólogos que estudiaron el comportamiento animal (Figura 73) en vez de asuntos fisiológicos básicos o médicos.

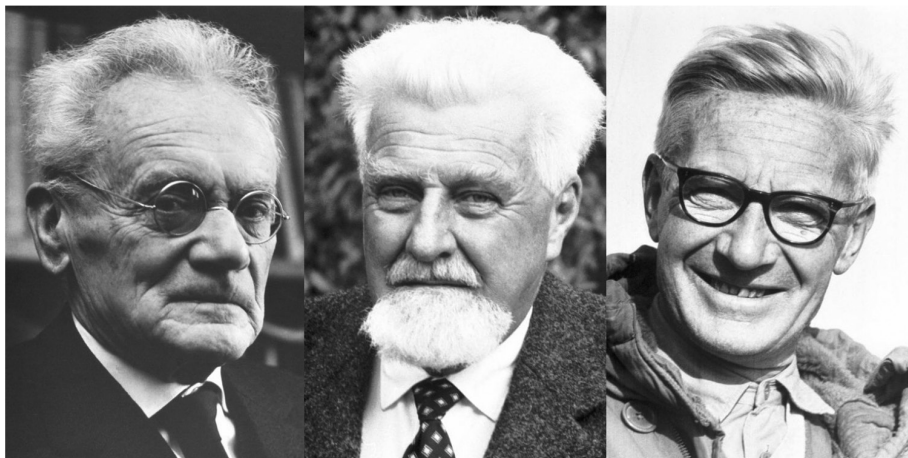


Figura 73. De izquierda a derecha Karl von Frisch, Konrad Lorenz y Nikko Tinbergen.

En este caso, no es posible hablar en rigor de organismos modelo, porque la idea de estos trabajos no era necesariamente aplicable al “campo de la fisiología y medicina”. El austríaco Karl von Frisch estudió aspectos de la conducta de la abeja *Apis mellifera* Linnaeus, 1758. El holandés Nikolaas Tinbergen y

el también austríaco Konrad Lorenz, considerados fundadores de la etología, la ciencia del comportamiento animal, experimentaron con distintas especies de vertebrados. El primero con un pez, el espinoso (género *Gasterosteus* Linnaeus, 1758) y dos aves, el ostrero (género *Haematopus*, Linnaeus, 1758) y la gaviota (género *Larus*, Linnaeus, 1758). El segundo con dos aves: el ganso, *Anser anser*, Linnaeus, 1758 y el cuervo, *Coloeus monedula*, Linnaeus, 1758 (Figura 74). Sin embargo, a mediados de la década de 1960, el interés de Tinbergen había derivado hacia el comportamiento humano, incluso patológico.



Figura 74. Algunos de los bichos que participaron del Nobel 1973. De izquierda a derecha y de arriba a abajo: abeja, ostrero, gaviota, ganso, espinoso y cuervo.

Hay que tratar bien a los bichos

En la actualidad es raro el uso en los laboratorios, con propósitos de investigación, de aquellos animales con los cuales los humanos tenemos más lazos de afecto o parecido y que, en general, no comemos. Son todos mamíferos que nos hacen compañía o se parecen demasiado a algún pariente o amigo, como los perros, gatos y monos.

La mayoría de las investigaciones en biología se hacen hoy usando roedores (principalmente ratas y ratones), peces, insectos y gusanos. Sin embargo, existe aún una crítica necesidad de primates no humanos, sobre todo macacos o monos *rhesus* en estudios de graves enfermedades neurológicas como los males de Alzheimer y Parkinson, y la infertilidad.

De todas maneras, el trato de los animales de laboratorio se fue modificando en los últimos 50 años y se establecieron unas normas de conducta aplicables a su cría, mantenimiento y uso en los experimentos. Es interesante analizar el contexto en que tuvieron lugar estos cambios.

Por una parte, desde los años 70 la preocupación de los humanos por el bienestar animal tuvo un importante crecimiento que se tradujo en comportamientos individuales y políticas públicas. Mucha gente redujo o eliminó la carne, a veces también productos animales como la leche y la miel, de su dieta. La confección de prendas de vestir con pieles se ha ido reemplazando con materiales sintéticos. El uso de los animales como entretenimiento, por ejemplo en circos, disminuyó y actividades como peleas de gallos o perros fueron prohibidas (aunque subsisten las corridas de toros en varios países). Incluso se cerraron muchos zoológicos (pero no acuarios). Todo esto no impide que la producción industrial de carne que se realiza en criaderos (de pollos o cerdos, por ejemplo) se lleve a cabo en condiciones que son las opuestas al bienestar animal. Los bichos son tratados como máquinas y es posible que las verdaderas máquinas, mecánicas o electrónicas, reciban más cuidado y cariño por parte de sus operarios.

Por otra parte, durante la mayor parte del siglo XX las principales escuelas de investigación en psicología y disciplinas relacionadas no prestaron atención a las posibles actividades mentales de los animales no-humanos. Sin embargo, hoy existen evidencias de la existencia de conciencia en un rango amplio de especies de vertebrados y, entre los invertebrados, al menos en los cefalópodos. Estudios científicos de alta calidad permitieron reconocer en algunas de ellas fenómenos mentales complejos como emociones, memoria episódica, reconocimiento de sí mismo, habilidades para la comunicación compleja, planificación y empatía. Los nuevos conocimientos dieron por resultado un aumento de la valoración de su complejidad cognitiva, psicológica y de comportamiento.

Es posible que todas estas razones hayan originado una revolución ética en el trato de animales en el mundo de la ciencia. Pero solo en algunos. Un curioso precedente, por su redacción, se registró en Argentina en 1954 cuando se sancionó una ley que establece “Penas para las Personas que Maltraten o Hagan Víctimas de Actos de Crueldad a los Animales”. Según su artículo 3º, serán considerados actos de crueldad (entre otros) “Experimentar con **animales de grado superior en la escala zoológica** al indispensable según la naturaleza de la experiencia”. El resaltado es mío y, por otra parte, la ley fue escasamente aplicada.

Regresando al siglo XXI, el Código Australiano para el cuidado de animales para propósitos científicos de 2013 es más específico que el anterior, ya que se aplica al uso de todos los “vertebrados no humanos y cefalópodos vivos”. En

un extremo de este gradiente antropocéntrico de consideraciones del bienestar animal, la financiación de investigaciones invasivas con chimpancés y grandes simios fue eliminada en Estados Unidos y la Unión Europea. Aunque a veces pueda ser necesario su uso como ya escribí.

En el otro extremo, *Drosophila* y *Caenorhabditis* cultivadas en los laboratorios siguen mereciendo allí la misma consideración que bacterias y levaduras. Y lo mismo puede decirse de erizos y liebres de mar y otros invertebrados no-cefalópodos. Aquí no hay discusiones: ¡los gusanitos pueden ser considerados “microbios” y no conozco ninguna persona que tenga un dilema ético al matar una mosca que invadió la cocina, o varios cientos de hormigas que se comen las plantas del jardín!

Las directivas de las 3 R, propuestas en 1959 por el zoólogo y fisiólogo William M. S. Russell y el microbiólogo Rex L. Burch han sido el esquema aplicado originalmente en la ética de la investigación animal: REEMPLAZAR “animales sensibles” con otros modelos, donde sea posible; REDUCIR el número de animales usados al necesario para la adecuación estadística; y REFINAR las técnicas para reducir el dolor y sufrimiento animal.

Una nueva configuración de los principios de ética de la investigación animal fue sugerida por los especialistas en bioética David DeGrazia y Tom L. Beauchamp en 2019. Esta consiste en dos núcleos, los beneficios sociales y el bienestar animal, cada uno de los cuales tiene tres principios. Los principios, respectivamente son:

Beneficio social:

- no existe método alternativo
- se esperan beneficios netos
- el valor esperado es suficiente para justificar que se lastime un animal

Bienestar animal:

- no lastimar innecesariamente
- tener en cuenta las necesidades básicas del animal
- que exista un límite superior a las injurias

Como se puede apreciar, todas estas recomendaciones se aplican a los animales que ellos consideran “sensibles”, es decir vertebrados (sobre todo mamí-

feros y aves) y pulpos. Y dentro de los primeros, está claro que hay un grado de discriminación, ya que ciertos animales seguramente se consideran más “sensibles” que otros. Sin embargo, en el año 2020 se publicó el resultado de un trabajo llevado a cabo con ratones que demuestra que experimentan el dolor y el alivio de otro individuo aún cuando él mismo no fue lastimado. Y los ratones son los favoritos en el laboratorio y es probable que lo sigan siendo.

Hay que tratar bien a la gente

Quizás a muchos no les guste lo que voy a escribir, pero *Homo sapiens* también es un bicho y merece ser tratado bien. Una proporción de nuestros conespecíficos tratan bien a los demás, otra no. Cuales son los porcentajes correspondientes debe ser difícil de estimar, pero a vuelo de pájaro hay quienes piensan que hay más de los del primer grupo y hay quienes piensan lo contrario. Pero lo que quiero proponer ahora es que esa proporción general, sea cual sea, se replica entre los habitantes humanos de los laboratorios. No hay razón *a priori* para suponer que los científicos tienen, además de vocación, dedicación e inteligencia, un elevado sentido moral.

A lo largo de los capítulos he mencionado algunas historias personales de científicos que fueron discriminados, o incluso sufrieron persecuciones, por razones políticas, raciales o religiosas. También he tratado de destacar la diferencia entre los géneros en el contexto del trabajo científico, con un notable predominio masculino y una posición muchas veces secundaria de las mujeres. En homenaje a ellas, las menciono a todas (varias figuran en los capítulos anteriores):

1947 – Gerty Cori

1977 – Rosalyn Yalow

1983 – Barbara McClintock (la única sin acompañantes masculinos)

1986 – Rita Levi-Montalcini

1988 – Gertrude B. Elion

1995 – Christiane Nüsslein-Volhard

2004 – Linda B. Buck

2008 – Françoise Barré-Sinoussi

2009 – Elizabeth H. Blackburn y Carol W. Greider

2014 – May-Britt Moser

En contraposición a lo anterior, el siglo XXI ofrece una perspectiva renovada. La conducta personal de algunos investigadores que hicieron grandes aportes a la ciencia, incluso algunos premiados con el Nobel, ha sido cuestionada por sus colegas, por los estudiantes o por el público en general. Desde el abuso de poder en el laboratorio hasta la eventual colaboración con regímenes totalitarios, pasando por opiniones machistas o racistas, han sido denunciadas y, en algunos casos, condujeron a algún tipo de “condena social”. No es extraño: hubo genios en muchas actividades cuya conducta personal es, cuanto menos, cuestionable. Dentro de ellos se encuentran pintores, actores, directores de orquesta, jugadores de fútbol y, por que no, científicos.

Pero además la elemental, aunque común, imagen del individuo genial y excepcional es en realidad un falso estereotipo. La ciencia no surge a partir de mentes singulares, sino de una comunidad que crece gracias a un esfuerzo colectivo que se extiende en el tiempo³. El historiador de la ciencia Joshua Roebke, de la Universidad de Texas, sintetiza el punto con, aproximadamente, las siguientes palabras: “.... el premio Nobel no canoniza santos ni siquiera refleja como se hace la ciencia, solo afirma la ficción del genio individual... En la sombra de cada científico celebrado hay otras contribuciones cuyos autores deben merecer más nuestra adulación”. No se si él tiene toda la razón ya que las mentes singulares existen y son el origen de los grandes saltos del conocimiento. Pero al menos debo reconocer que encuentro en sus palabras una justificación para haber buceado en la historia de los Nobeles y rescatado tantos personajes interesantes que no los recibieron.

3 Al comienzo de este largo texto expuse la metáfora de los enanos y gigantes, y propuse una distinta: los *castels* catalanes, que se parece a lo expresado ahora.

Agradecimientos

Estimado lector: si llegaste hasta aquí después de leer todo este texto, ¡te lo agradezco sinceramente! Sino también, por haberlo intentado.

Expreso, desde ya, mi gratitud a la Fundación de Historia Natural Félix de Azara de Buenos Aires, República Argentina y a su Director, el Dr. Adrián Giacchino, por darme la posibilidad de dar a conocer este trabajo.

Y claro está: gracias a Silvia por el tiempo robado, a Ana y Laura por sentirse obligadas a leer algunas de esta páginas, y a Emilio y Tomás por sobrevivir con alegría en este mundo tan complicado.

El autor

Eduardo Spivak es Doctor en Ciencias Biológicas (Universidad de Buenos Aires) y fue profesor titular en la Universidad de Mar del Plata e investigador principal del CONICET. Enseñó zoología, al tiempo que investigó diversos aspectos de la vida de cangrejos y camarones durante más de 30 años, hasta jubilarse en 2017. Escribió 96 artículos científicos la mayoría en colaboración con sus discípulos, 11 capítulos de libros y 14 artículos de divulgación científica, tarea que aún continúa.

Obras citadas y algunas lecturas adicionales en castellano

- Asimov, Isaac 1966. Breve historia de la biología, Eudeba, Buenos Aires, 226 páginas. Versión original en inglés, 1964.
- Barbara, Jean-Gaël 2020. Las «burbujas» de la neurotransmisión. Mente y Cerebro. Septiembre/Octubre 2020.
- Cabada, Marcelo O. y Arranz, Silvia E. 1995. Cómo se construye un organismo animal. Ciencia Hoy 6 (31).
- Cardinali, Daniel P. 1989. Los relojes biológicos. Ciencia Hoy 1(1).
- Capecchi, M. R. 1994. Sustitución dirigida de genes. Investigación y ciencia 212: 22-29.
- Charreau, Eduardo H. 2016. Bernardo A. Houssay(1887-1971). Revista Argentina de Endocrinología y Metabolismo 53 (1): 1-4.
- Covarrubias, Luis 2013. El Premio Nobel en fisiología o medicina 2012 reconoce a la reprogramación genómica como la base de la medicina regenerativa del futuro. Revista de la Facultad de Medicina, Mexico 56(2).
- Deutsch, Jean 2009. El gusano que usaba el caracol como taxi y otras historias naturales. Fondo de Cultura Económica, 231 páginas. Versión original en francés, 2007.
- Díaz, Alberto y Golombek, Diego, compiladores 2004. ADN. 50 años no es nada. Siglo XXI Editores Argentina, 279 páginas.

Los bichos que ganaron el Premio Nobel

- Franco, D. Lorena y Ceriani, M. Fernanda. 2017. *Drosophila melanogaster*, un versátil organismo modelo. *Ciencia Hoy* 27 (157): 13-17.
- Holloway, Marguerite. 1993. Rita Levi-Montalcini: crecida en la dificultad. Entrevista y esbozo biográfico. *Investigación y Ciencia*, Marzo 1993.
- Kandel, Eric R. 2007. En busca de la memoria. Nacimiento de una nueva ciencia de la mente. Katz Editores, Buenos Aires. 568 páginas. Versión original en inglés, 2006.
- Kandel, Eric R. y R. D. Hawkins. 1992. Bases biológicas del aprendizaje y de la individualidad. *Investigación y Ciencia*, Noviembre 1992.
- Kotsias, Basilio A. 2004. El axón gigante del calamar. *Medicina* (Buenos Aires) 64 (3): 273-276.
- Levi Montalcini, Rita. 1989. Elogio de la imperfección. Ediciones B, Barcelona, 232 páginas. Versión original en inglés, 1988.
- López Piñero, José María. 2002. El punto de partida de la obra neurohistológica de Cajal. *Mente y Cerebro*, Octubre/Diciembre 2002
- López Piñero, José María. 2004. Ivan Petrovich Pavlov (1849-1936). *Mente y Cerebro*, Julio/Septiembre 2004.
- Valderas, José María. 2014. El potencial de acción de Hodgkin y Huxley. *Mente y Cerebro*, Marzo/Abril 2014
- Valderas, José María. 2017. Charles Scott Sherrington, sinapsis y reflejos. *Mente y Cerebro*, Noviembre/Diciembre 2017
- von Frisch, Karl. 1966. Diez pequeños compañeros de casa, Eudeba, Buenos Aires, 173 páginas. Versión original en alemán, 1940.
- Witkowski, Nicolas. 2007. Una historia sentimental de las ciencias. Siglo XXI Editores, 280 p. Versión original en francés, 2003.

Créditos de las ilustraciones

Figura 1. Original Las siluetas de los animales provienen de [www.http://www.phylopic.org/](http://www.phylopic.org/). Diseños de Soledad Miranda-Rottmann, Sarah Werning, Christoph Schomburg, Cagri Cevrim, Michelle Site, T. Michael Keesey, Mali'o Kodis. Creative Commons License

Figura 2. Original

Figura 3. <https://thenationalmouseclub.co.uk/>

Figura 4. <https://mujeresconciencia.com/2018/11/15/abbie-lathrop-la-madre-de-ratones>

Figura 5. The Jackson Laboratory. www.jax.org

Figura 6. Modificado y traducido de a Tesis Doctoral de Jan Eichhorn (2007)

Figura 7. Waddington CH (1957) The Strategy of the Genes (Allen &Unwin, London) y gacetilla de prensa de la Fundación Nobel, entrega del premio en 2012. <https://www.nobel-prize.org/>

Figura 8. <https://www.nobelprize.org/>

Figura 9. Simplificación y traducción de la gacetilla de prensa de la Fundación Nobel, entrega del premio 2007. <https://www.nobelprize.org/>

Figura 10. Simplificación y traducción de la gacetilla de prensa de la Fundación Nobel, entrega del premio 2007. <https://www.nobelprize.org/>

Figura 11. Ilustración de la gacetilla de prensa de la Fundación Nobel, entrega del premio 2012. <https://www.nobelprize.org/>

Figura 12. Fotografía de Anna Gorbunova.

Figura 13. Fotografía de Lip Kee Yap, Republic of Singapore <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=11391025>

Los bichos que ganaron el Premio Nobel

Figura 14. Esquema extraído y traducido de *Veterinary Histology*, Ryan Jennings & Christopher Premanandan Creative Commons License. <https://pressbooks.com/>

Figura 15. Esquema traducido y modificado del representado en <https://microdok.com/>

Figura 15. <http://beckerexhibits.wustl.edu/> WUSM Oral History Project y <https://www.nobel-prize.org/>

Figura 16. Imagen publicada en *Scientific American* de 1979, Wikimedia Commons

Figura 17. Ilustración de la gacetilla de prensa de la Fundación Nobel, entrega del premio 1986 <https://www.nobelprize.org/>

Figura 18. Wikimedia Commons

Figura 19. Modificado de *Int. J. Dev. Biol.* 45: 1-11 (2001), de <https://learninglink.oup.com/> y modificado y traducido de *Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie* 132 (1928)

Figura 20. *Journal of the History of Biology* 17(4) (1984) y <https://www.nobelprize.org/> y modificado a partir del original: *Archiv für Mikroskopische Anatomie und Entwicklungsmechanik*, 100 (1924): 599-63.

Figura 21. Fotografía de Auréles Miralien y Wikimedia Commons

Figura 22. <https://www.nobelprize.org/> y Wikimedia Commons

Figura 23. <https://www.nobelprize.org/> y Wikimedia Commons

Figura 24. Wikimedia Commons

Figura 25. Ilustración de la gacetilla de prensa de la Fundación Nobel, entrega del premio 2012. <https://www.nobelprize.org/>

Figura 26. Fotografía de Frédéric Ducarme, Wikimedia Commons; <http://flowergarden.noaa.gov/about/echinodermlist.html>

Figura 27. Haeckel, E. *Kunstformen der Natur* (1904), plate 10: Ophiodea, Wikimedia Commons y modificado de Douglas Pace, Google Sites y Cynthia Bradham, Boston University Website.

Figura 28. Modificado de Smith y Kroh, (2011) *The Echinoid Directory*.

Figura 29. <http://www.szn.it/index.php/it/> y Wikimedia Commons

Figura 30. Wikipedia Commons

Figura 31. Wikimedia Commons

Figura 32. Bob Paz, California Institute of Technology

Figura 33. Ilustración de la gacetilla de prensa de la Fundación Nobel, entrega del premio 2001. <https://www.nobelprize.org/>

- Figura 34. Litografía restaurada. Original de Comingio Mercuriano (1845-1915) que ilustra Cefalopodi viventi nel Golfo di Napoli (sistemica) de Jatta di Guiseppe (1896). Wikimedia Commons
- Figura 35. Wikimedia Commons
- Figura 36. Modificado y traducido de Pearson Education (2006)
- Figura 37. Modificado de Proceedings of the Royal Society of London B 121: 319 -337, figura 1 (1936) y Wikimedia Commons
- Figura 38. <http://www.landowne.org/s/howdy.html>
- Figura 39. Modificado de J. Fernández Díaz, www.scykness.wordpress.com y <https://www.nobelprize.org/>
- Figura 40. https://www.dnazoo.org/assemblies/Aplysia_californica
- Figura 41. Wikimedia Commons
- Figura 42. Modificado de Martha Jean Hiller, The Role of Chemical Mechanisms in Neural Computation and Learning
- Figura 43. Modificado de Ronadl Taussig, Rashad-Rudolph Kaldany y Richard H. Scheller, Proceedings of the National Academy of Sciences 81.
- Figura 44. Modificado de <http://usbiology.com/cliff/Courses/Behavioral%20Neuroscience/Aplysia/Apfigs/Aplysiapics.html> e Ilustración de la gaceta de prensa de la Fundación Nobel, entrega del premio 2000. <https://www.nobelprize.org/>
- Figura 45. Modificado de Tee Sui Yee, <https://www.semanticscholar.org/paper/OPTIMIZATION-OF-FRUIT-FLY>
- Figura 46. Modificado de <http://www.castlehs.com/users/johlsen/Genetics%20of%20Organisms%20flies.htm>
- Figura 47. Modificado de Lewis Held, <https://www.sdbonline.org/sites/fly/lewheld/id11.htm>
- Figura 48. Wikimedia Commons
- Figura 49. <https://www.biology-pages.info/D/Drosophila.html>
- Figura 50. American Philosophical Society, Curt Stern Papers y archivos del California Institute of Technology
- Figura 51. <https://www.wikidoc.org/index.php/Genetics>
- Figura 52. Wikimedia Commons
- Figura 53. World Biographical Encyclopedia, archivos del California Institute of Technology y <https://www.nobelprize.org/>
- Figura 54. Modificado a partir de archivos del California Institute of Technology

Los bichos que ganaron el Premio Nobel

Figura 55. Modificado de Karen G. Hales, Christopher A. Korey, Amanda M. Larracuenta y David M. Roberts. Genetics 201(3).

Figura 56. Modificado a partir del esquema de Chun-Li Chai, Southwest University in Chongqing, China

Figura 57. Modificado a partir de <http://bio1151.nicerweb.com/Locked/media/ch18/bicoid2.html>

Figura 58. <https://www.nobelprize.org/>

Figura 59. <https://www.nobelprize.org/>

Figura 60. Ilustración de la gacetilla de prensa de la Fundación Nobel, entrega del premio 2017. <https://www.nobelprize.org/>

Figura 61. <https://www.nobelprize.org/>

Figura 62. Modificado de Nara I. Muraro y M. Fernanda Ceriani, Behavioral Genetics of the Fly (*Drosophila melanogaster*).

Figura 63. Wikimedia Commons.

Figura 64. A Transparent window into biology. A primer on *Caenorhabditis elegans*. Ann K. Corsi, Bruce Wightman, y Martin Chalfie.

Figura 65. Original

Figura 66. <https://www.nobelprize.org/>

Figura 67. Original

Figura 68. <https://www.nobelprize.org/>

Figura 69. Modificado de Hermann Steller, Science Magazine, 267, 1995

Figura 70. <https://www.nobelprize.org/>

Figura 71. Ilustración de la gacetilla de prensa de la Fundación Nobel, entrega del premio 2006. <https://www.nobelprize.org/>

Figura 72. Tim Tully, Cold Spring Harbor Laboratory

Figura 73. <https://www.nobelprize.org/>

Figura 74. Wikimedia. Creative Commons



La Fundación de Historia Natural Félix de Azara (Fundación Azara) —creada el 13 de noviembre del año 2000— es hoy una de las instituciones dedicadas al estudio y conservación de la naturaleza más importantes de América Latina. Con origen en la Argentina, sus actividades crecen en Chile, Paraguay, Bolivia, Uruguay y sur de Brasil, además de algunas incursiones en Ecuador y Cuba.

En sus años de vida, la institución alcanzó, con actividades de exploración, estudio y popularización de las ciencias naturales, ambientales y antropológicas, logros y una proyección internacional casi sin antecedentes para las entidades latinoamericanas de su tipo.

Sus investigadores han aportado 161 especies nuevas para la ciencia, tanto fósiles (94) como vivientes (67), desde diminutas plantas hasta enormes dinosaurios. Desde sus laboratorios y gabinetes se publican anualmente más de ciento cincuenta artículos científicos, aceptados por las revistas más prestigiosas, incluyendo en la nómina *Nature* o *Science*.

Su importante producción científica —cerca de un millar de artículos, un centenar de libros y de informes técnicos y una veintena de tesis de grado y posgrado— es el reflejo del trabajo comprometido y vocacional de setenta científicos y naturalistas de campo, algunos de los cuales son referentes mundiales de su especialidad.

La Fundación Azara desarrolló y apoyó más de doscientos proyectos propios de investigación y conservación, una veintena en cooperación con investigadores e instituciones de otros países. Brindó apoyo a proyectos de más de cuatrocientos investigadores y naturalistas externos y pertenecientes a diversas universidades, centros de investigación y otras organizaciones no gubernamentales de América Latina. Y firmó, además, un centenar de convenios de cooperación, algunos de ellos, para integrar recientemente consorcios con algunas de las universidades e instituciones científicas más importantes del mundo.

Con un equipo humano cuyo denominador común es la vocación, logró, en materia de conservación y manejo de la fauna silvestre, rescatar y atender siete mil animales víctimas principalmente de accidentes viales y del tráfico ilegal.

La Fundación se destaca por su labor en la creación e implementación de reservas naturales, así como en la creación, puesta en valor y gestión de museos regionales de ciencias naturales y antropología, centros de interpretación, geoparques, sitios paleontológicos y arqueológicos, habiendo sumado ciento cincuenta mil hectáreas en áreas naturales protegidas provinciales, municipales y privadas.

En la Argentina propició, entre muchos otros proyectos, la refuncionalización del Centro de Rescate, Rehabilitación y Recría de Fauna Silvestre “Güirá Oga”, en Puerto Iguazú, provincia de Misiones, con el Ministerio de Ecología de esa provincia; la creación del Paisaje Protegido “Delta Terra” (hoy transformado en una reserva natural municipal del partido de Tigre) y su pequeño Centro de Rescate de Fauna Silvestre Rioplatense, en la primera sección de islas del delta del Paraná, provincia de Buenos Aires; la creación de un Centro de Investigación en Ciencias Naturales, Ambientales y Antropológicas con la Universidad Maimónides, en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires; la puesta en valor del sitio arqueológico incaico “El Shincal de Quimivil”, en Londres, provincia de Catamarca, con el Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva de la Nación, el Ministerio de Turismo de la Nación, el Gobierno Provincial y el Municipio de Londres; la creación del Centro de Información de Fauna Marina del Golfo San Matías, en Las Grutas, provincia de Río Negro y la restauración de la “Casa Jacobacci” para su inauguración como Museo de Ciencias Naturales y Antropológicas de la Costa Patagónica “Ing. Guido Jacobacci”, en San Antonio Oeste, provincia de Río Negro, en ambos casos con el Municipio

de San Antonio Oeste; la creación del Museo Folklórico de Londres, en la provincia de Catamarca, con el Municipio local; la puesta en valor del Parque Arqueológico “La Tunita” en Ancasti, provincia de Catamarca, con el Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva de la Nación, el Gobierno Provincial y el Municipio local; la reinauguración del Museo de Ciencias Naturales y Arqueología “Prof. Manuel Almeida”, en Gualaguaychú, provincia de Entre Ríos; la creación del nuevo Museo de Ciencias Naturales de Miramar “Punta Hermengo” y de la Estación Científica de Centinela del Mar “Dr. Eduardo P. Tonni” en la provincia de Buenos Aires, con el Municipio de General Alvarado; y la creación del Museo de Historia Natural de San Martín de los Andes en la provincia de Neuquén.

En el año 2004 creó, en la Argentina, los Congresos Nacionales de Conservación de la Biodiversidad, que desde entonces se realiza cada dos años. Organizó además decenas de congresos nacionales y latinoamericanos en otras especialidades.

En su red de colecciones científicas —abiertas a la consulta de investigadores de todo el mundo— resguarda doscientos mil objetos de geología, paleontología, botánica, zoología, arqueología y etnografía.

La divulgación de la ciencia ha sido también un área de trabajo clave de la institución que apoyó importantes documentales como “*Jane y Payne*”, filmado en la Patagonia Argentina, junto con los defensores del ambiente de reconocimiento mundial, Jane Goodall y Roger Payne. Ha coproducido distintas series audiovisuales con señales educativas, por ejemplo: “*Naturalistas viajeros*” y “*Creando bestias prehistóricas*”. Ha desarrollado material didáctico para establecimientos escolares y organizado o auspiciado exhibiciones itinerantes de temática científica que recibieron la visita de más de diez millones de personas en Chile, Bolivia, Ecuador, Perú, Uruguay, Brasil, Colombia, Costa Rica, Estados Unidos, España, Países Bajos, Grecia, Rusia, Bulgaria, Singapur, Estonia, Tailandia, Israel, Hungría y desde luego, la Argentina.

Quinientos mil jóvenes participaron de sus diferentes actividades educativas (talleres, charlas, visitas guiadas, clubes de ciencia). Unos cuatrocientos estudiantes de doce universidades latinoamericanas fueron pasantes y voluntarios en sus actividades científicas y de extensión.

Su denominación rinde homenaje a Félix de Azara, un auténtico ilustrado español del siglo XVIII, precursor de los naturalistas sudamericanos, que se mostró deseoso de adquirir conocimientos y mejorar el mundo que lo rodeaba, como lo manifestó durante su actuación en la región rioplatense entre 1782 y 1801.

El campo de acción de la Fundación Azara en las ciencias naturales, ambientales y antropológicas es concebido de manera integral y con una mirada actual: incluye la exploración, investigación, gestión y conservación de una parte importante del patrimonio natural y cultural latinoamericano. Su objeto de trabajo es la diversidad natural y cultural de uno de los lugares más atractivos de nuestro planeta, el extremo sur de América, el mismo al que Félix de Azara le dedicara casi veinte años de su vida.

<https://fundacionazara.org.ar>
secretaria@fundacionazara.org.ar



DELIVERY de LIBROS:

Comprá online el libro que quieras y recibilo cómodamente en tu domicilio. Envíos a todo el mundo.

www.vmeditores.com.ar

El Premio Nobel en Fisiología o Medicina es entregado anualmente a «científicos y médicos que sobresalen por sus contribuciones en el campo de la fisiología o la medicina». Originalmente tenían a la salud humana como principal meta, pero en la actualidad el premio se concede principalmente a quienes aportan conocimientos básicos sobre los procesos de todos los seres vivos.

Este libro trata de los premios en los que las investigaciones galardonadas se llevaron a cabo usando animales de laboratorio: quiénes son esos animales, cómo es su vida dentro y fuera del laboratorio, porqué fueron elegidos y qué se descubrió gracias a ellos.

Pero también aborda aspectos de la vida de los merecedores del premio: sus aventuras, en el convulso siglo XX, y cómo, cuándo y porqué se produjo el encuentro con “su” animal. Y además, ya que todos los trabajos de los premiados fueron el último eslabón de una cadena de descubrimientos que los precedieron, incluye referencias acerca de los científicos que antecedieron a los premiados y sus logros que, en algunos casos, se remontan a 100 años atrás.