

Anal. Real Acad. Nal. Farm., 2003,

Doctrina

PREMIOS NOBEL 2002 EN FISIOLOGÍA, MEDICINA Y QUÍMICA

Presentación de la Sesión Científica de la Real Academia Nacional de Farmacia

(5 de Diciembre de 2002)

JUAN-RAMÓN LACADENA CALERO

Académico de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia

Hace unos años la Real Academia Nacional de Farmacia tomó la decisión de institucionalizar la conmemoración anual de la concesión de los premios Nobel en Fisiología o Medicina y en Química en el convencimiento de que, dado el amplio espectro científico que cubre esta Corporación, todos los años, en uno u otro o en ambos, habría ocasión de hacer una glosa de los mismos en una sesión científica especialmente dedicada a ello. Este año 2002, la institución Nobel ha otorgado el premio en Fisiología o Medicina conjuntamente a los doctores Sydney Brenner, H. Robert Horvitz y John E. Sulston por sus descubrimientos sobre “la regulación genética del desarrollo de los órganos y la muerte celular programada” y el premio en Química conjuntamente a los doctores John B. Fenn, Koichi Tanaka y Kurt Wüthrich “por el desarrollo de métodos para la identificación y análisis estructural de macromoléculas biológicas”. Por encargo del Exmo. Sr. Presidente de la Real Academia Nacional de Farmacia, nos hubiera correspondido al Dr. Guillermo Giménez Gallego (Académico Electo de esta Corporación) y a mí mismo

glosar en esta sesión científica los premio Nobel 2002 en Química y en Fisiología o Medicina, respectivamente, atendiendo a nuestras correspondientes afinidades científicas. Desgraciadamente, por razones familiares graves el Dr. Guillermo Giménez no pudo participar en la sesión científica del día 5 de diciembre de 2002, siendo sustituida su intervención por la de la Excm. Sra. Dña. María Cascales Angosto, Académica de Número, quien disertó sobre la apoptosis y su relación con la enfermedad.

CRÓNICA DE UNA MUERTE ANUNCIADA: LOS PREMIOS NOBEL 2002 EN FISIOLOGÍA O MEDICINA

JUAN-RAMÓN LACADENA CALERO

Académico de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia

1. INTRODUCCIÓN

Cuando ingresé en 1995 en esta Real Academia Nacional de Farmacia, elegí como tema de mi discurso la “Historia ‘nobelada’ de la Genética: Concepto y método” (Lacadena, 1995) dado que se daba la casual circunstancia de que tanto la institución Nobel como la ciencia Genética nacieron con el siglo XX (en 1901 y 1900, respectivamente). Ello me permitió hacer un estudio de cómo la comunidad científica había reconocido la labor de excelencia de algunos científicos dentro del contenido formal (concepto) de la Genética y su metodología variante a lo largo de su historia. Contando ya este año 2002, se han concedido 29 premios Nobel a 63 investigadores por sus aportaciones relevantes en el campo de la Genética o materias afines. De los 29 premios, 23 son en Fisiología o Medicina, 5 en Química y 1 de la Paz. Todos estamos convencidos que esta relación es un “suma y sigue” por la importan-

cia que para la Ciencia y la Sociedad tienen las investigaciones genéticas que se vienen realizando desde hace algunas décadas. Me atrevo a profetizar que, antes o después, científicos implicados en investigaciones pioneras sobre células troncales embrionarias, transgénesis y recombinación homóloga en mamíferos (por ejemplo, los ratones *knockout*) o sobre clonación por transferencia de núcleos en mamíferos domésticos y de laboratorio o sobre genómica (el Proyecto Genoma Humano, por ejemplo) serán galardonados con el premio Nobel.

Coincidiendo con el centenario de la institución Nobel, Gura (2001) hacía un balance de esos cien años y se preguntaba si los galardonados reflejan el modo en que se hace la ciencia en el siglo XXI. Mi contestación, en lo que a la Genética se refiere, es afirmativa, tanto en lo que se refiere al contenido formal (concepto de la disciplina) como a la metodología (aquí podría recordarse el trípode básico que constituye la regla de oro de la investigación: plantearse una pregunta importante, en qué material biológico se va a tratar de responder la cuestión y con qué metodología experimental).

Con estas mismas palabras presenté el año pasado la sesión científica homóloga a ésta, por ello me he tomado la licencia de repetirlas en este momento.

La Asamblea Nobel del Instituto Karolinska decidió otorgar el Premio Nobel 2002 en Fisiología o Medicina conjuntamente a los doctores Sydney Brenner, H. Robert Horvitz y John E. Sulston por sus descubrimientos sobre “la regulación genética del desarrollo de los órganos y la muerte celular programada”. No debe resultar, pues, extraño que utilice como título de este artículo el mismo de la novela del también premio Nobel 1982 de Literatura Gabriel García Márquez –“Crónica de una muerte anunciada”– como sinónimo de la muerte celular programada.

2. APOPTOSIS O MUERTE CELULAR PROGRAMADA

Apoptosis es un neologismo derivado directamente de la palabra griega (*αποπτωσις*) utilizada para significar la “caída de la hoja” –debido al

significado de “ptosis” (πτωσις, “caída”) y el prefijo “apo” (απο, “inducción a”)– referida a la pérdida otoñal de las hojas. Como dice el profesor Carlos Vicente Córdoba, catedrático de Fisiología Vegetal de la Universidad Complutense, hoy día se admite que hay muchos procesos fisiológicos que antes se relacionaban con percepción de señales externas de tipo estacional (temperatura, luz, etc.) pero que se han revelado como sistemas genéticos programados. La caída de las hojas, la dehiscencia de los frutos, la muerte del citoplasma de los elementos xilemáticos para formar los vasos, la formación de las glándulas de acumulación de aceites en el pericarpio de los cítricos, la pérdida de la capa de aleurona en los granos de los cereales, son otros tantos ejemplos de una muerte celular programada en el desarrollo de las plantas. Hay descritos más de 50 genes programados que conciernen sobre todo a enzimas tipo glucanasas, poligalacturonasas, metalotioneínas, inhibidores de proteinasas, etc. Tales genes entran en funcionamiento incluso en ausencia de los factores ambientales que tiempo atrás se creía que determinaban los hechos fisiológicos antes enumerados. Incluso podría recordarse aquí que la primera observación microscópica de las celdillas del corcho realizada por Hooke en 1665 correspondían a células muertas por un proceso apoptótico.

La Genética y la Bioquímica se han apropiado del significado griego original del término apoptosis, de manera que en la actualidad se identifica con el fenómeno genético de muerte celular programada y los procesos que de ella se derivan en la regulación del desarrollo. Así, nos encontramos con las siguientes definiciones:

- Diccionario de la Lengua Española de la RAE (22ª edición, 2001):
Apoptosis: f. *Biol.* “Modalidad específica de muerte celular, implicada en el control del desarrollo y el crecimiento”.
Asimismo incluye también el término ptosis: Del gr. (πτωσις, caída). f. *Med.* “Caída o prolapso de un órgano o parte de él”.
- Vocabulario Científico y Técnico de la Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales (3ª edición, 1996):

Apoptosis: “Modalidad específica de muerte celular implicada en la regulación del desarrollo y crecimiento. El acontecimiento bioquímico más importante que la define es la fragmentación del DNA por la acción de una endonucleasa específica que corta la doble hélice en las regiones internucleosomales”

Como dice Hengartner (2000), a lo largo de dos siglos, la muerte celular programada fue descubierta y redescubierta en repetidas ocasiones por varios biólogos del desarrollo y citólogos, recibiendo distintas denominaciones (ver Vaux y Korsmeyer, 1999). De hecho, los biólogos del desarrollo se dieron cuenta que la muerte celular estaba implicada en el proceso de metamorfosis, tanto de insectos como de mamíferos. Así, por ejemplo, la expresión “muerte celular programada” fue introducida en 1965 por Lockshin para describir la muerte celular que ocurría durante la metamorfosis de insectos (Lockshin y Williams, 1965). Sin embargo, fue finalmente en 1972 cuando se adoptó el nombre de “apoptosis” como término elegido por Currie y colaboradores en un artículo publicado en la revista *British of Journal Cancer* (Kerr *et al.*, 1972) para describir un tipo común de muerte celular programada que los autores observaban en diferentes tipos de células y tejidos.

Mi intención en esta breve reflexión es hacer referencia a los trabajos genéticos de los premios Nobel que hoy conmemoramos más que a los datos bioquímicos y moleculares y a las aplicaciones clínicas derivadas de los conocimientos del fenómeno de la muerte celular programada o apoptosis porque sería arrogarme unos conocimientos que no tengo y que otros miembros de esta Corporación están sin duda más capacitados que yo para ello. Sin ir más lejos, en 1997 la Dra. María Cascales, Académica de Número de esta Real Academia Nacional de Farmacia, escribió un magnífico estudio sobre “apoptosis, enfermedad y terapéutica” en el primer número de los *Anales de las Real Academia de Doctores*. Las alteraciones de la apoptosis pueden contribuir a los procesos cancerosos y a enfermedades autoinmunes y degenerativas. La apoptosis es un tema apasionante de investigación bioquímica y clínica como se puede apreciar en un sinnúmero de revisiones como, por

ejemplo, las de Vaux y Korsmeyer (1999), Hengartner (2000) o el tratamiento especial hecho por la revista *Science* (vol. 281, núm. 5381, 28 agosto 1998), por citar algunas. Podemos hacernos una idea del interés científico que despierta la apoptosis indicando que el número de artículos sobre muerte celular programada aparecidos en revistas científicas pasó de ser solamente 22 en el período de tiempo entre 1966 y 1975 a casi 43.000 en el lapso comprendido entre 1997 a 2001 y más de 5.600 en los seis primeros meses del presente año 2002.

La apoptosis es un mecanismo de suicidio celular que permite a los metazoos controlar el número de células en sus tejidos y eliminar las células que ponen en peligro la supervivencia del organismo. Algunas células tienen en su superficie unos sensores especiales, denominados “receptores de muerte”, capaces de detectar la presencia de “señales de muerte” extracelulares y responder rápidamente poniendo en marcha la maquinaria apoptótica intrínseca de la célula (ver revisión por Ashkenazi y Dixit, 1998).

La apoptosis –que es una forma de suicidio celular evolutivamente conservada– requiere de una maquinaria especializada cuyo componente central es un sistema proteolítico que incluye a una familia de proteínas denominadas “caspasas” (por *cysteine aspartate proteases*) muy conservadas en la evolución. En la especie humana se han descrito más de una docena de caspasas. Estas enzimas participan en una cascada de acontecimientos como respuesta a señales pro-apoptóticas, culminando en la rotura de una serie de proteínas que da lugar a la desmembración de la célula. En la apoptosis, las caspasas funcionan tanto en la desorganización de la célula (efectoras) como iniciando dicho proceso como respuesta a señales pro-apoptóticas (iniciadoras). Los sucesos apoptóticos incluyen la fragmentación internucleosomal del ADN, la condensación de la cromatina, arrugamiento de la célula sin perder su membrana plasmática y, finalmente, su desmembramiento en vesículas envueltas por membranas que forman los llamados “cuerpos apoptóticos”, etc. (ver revisiones por Thornberry y Lazebnik, 1998; Hengartner, 2000). El proceso de apoptosis incluye varias fases distintas como son las de decisión,

ejecución, fagocitación y degradación. Es importante mencionar que no siempre la apoptosis es consecuencia de una muerte celular programada, sino que puede inducirse como resultado de ciertos tratamientos experimentales. Además, por otro lado, a veces puede ocurrir la muerte celular programada sin que tengan lugar los procesos apoptóticos generales antes mencionados.

Un segundo conjunto de proteínas –la familia *Bcl-2*– juega un papel regulador importante en los procesos apoptóticos. De acuerdo con sus semejanzas estructurales y criterios funcionales, las proteínas de esta familia están divididas en tres grupos: los miembros del grupo I tienen actividad anti-apoptótica, mientras que las de los grupos II y III promueven la muerte celular. El gen anti-apoptótico *Bcl-2* de mamíferos tiene su homólogo en el gen *Ced-9* del nematodo *C. elegans* que inactiva la acción apoptótica del gen *Ced-4*, a los que más adelante nos referiremos (ver revisiones por Adams y Cory, 1998; Hengartner, 2000).

El papel de las mitocondrias en la apoptosis es importante. Hay varios acontecimientos clave de la apoptosis que implican a las mitocondrias como, por ejemplo, la liberación de activadores de las caspasas (como el citocromo c), los cambios en el transporte de electrones, la pérdida de potencial transmembrana de las mitocondrias, la alteración de la oxidación-reducción y la participación de proteínas pro- y anti-apoptóticas de la familia *Bcl-2*. Las señales que actúan sobre las mitocondrias activando o inhibiendo tales sucesos y sus efectos en cascada permiten delinear varios patrones de muerte celular fisiológica (ver revisiones por Green y Reed, 1998; Hengartner, 2000).

En muchas ocasiones, las publicaciones científicas actuales sobre la apoptosis ignoran o silencian el origen genético de su concepto (ver, por citar un ejemplo, Marsden *et al.*, 2002). Posiblemente, a muchos investigadores que trabajan en el campo de la apoptosis ni siquiera les sonara los nombres de Sydney Brenner o de John E. Sulston al saltar a los medios de comunicación el día 7 de Octubre de 2002 cuando la Asamblea Nobel del Instituto Karolinska emitió su comunicado de prensa anunciando la concesión del premio Nobel 2002 en Fisiología o Medicina. Sin embargo, según he podido consta-

tar en algunas revisiones importantes, a H. Robert Horvitz se le menciona más en tales trabajos.

Insisto, pues, que mi misión en esta sesión científica se concretará al comentario genético sobre los premios Nobel 2002 en Fisiología o Medicina por sus descubrimientos sobre “la regulación genética del desarrollo de los órganos y la muerte celular programada”, tal como explica el motivo de la concesión del galardón.

3. EL NEMATODO *CAENORHABDITIS ELEGANS* COMO MODELO EXPERIMENTAL

3.1. SYDNEY BRENNER

Sydney Brenner, nació en 1927 en la República de África del Sur, habiéndose trasladado al Reino Unido donde trabajó en el Medical Research Council de Cambridge. Tiene en la actualidad la nacionalidad británica. No hace muchos años se trasladó a los Estados Unidos donde fundó en 1996 en Berkeley, California, el Molecular Sciences Institute (MSI), un laboratorio de investigación independiente sin ánimo de lucro que combina la experimentación genómica con los modelos de computación. En palabras del propio centro, la misión del MSI es predecir el comportamiento de las células y los organismos en respuesta a cambios genéticos y ambientales definidos.

La figura científica de Sydney Brenner es extraordinaria, y no solamente por la que ha sido la razón de haberle otorgado ahora el premio Nobel; la verdad es que hacía ya 40 años que hizo méritos para ello como componente del grupo de científicos considerados como los fundadores de la Genética Molecular (ver Stent 1971; Stent y Calendar, 1978). Parece ser que él mismo decía con cierta amargura que era el único de ellos al que no se le había otorgado el premio Nobel. En una magnífica biografía periodística, Luis Corrochano –profesor de Genética en la Universidad de Sevilla que trabajó con Sydney Brenner a partir de enero de 1989– recordaba que Brenner había colaborado con el premio Nobel Francis H. Crick en la demostración

de que el código genético se lee en grupos de tres letras: los *codones*, según el término propuesto por el propio Brenner (Crick *et al.*, 1961). Asimismo, entre otras cosas, participó en la demostración experimental en 1961 de la existencia del ARN mensajero en colaboración con el premio Nobel François Jacob y Matthew Meselson (Brenner *et al.*, 1961) y en la demostración experimental (“principio de colinealidad”) en 1964 –utilizando las mutaciones *ambar* de los codones sin sentido en colaboración con Sarabhai (Sarabhai *et al.*, 1964)– de la “hipótesis de la secuencia” propuesta por Crick en 1958, que establecía la correspondencia entre la ordenación secuencial de las bases en el ADN y la secuencia de aminoácidos en las proteínas, que fue una de las ideas más fecundas de la historia de la Genética.

Como mencionaba anteriormente, la regla de oro de la investigación biológica, extensible obviamente a la investigación genética, se basa en los tres puntos siguientes: qué pregunta o problema se trata de resolver, en qué material biológico y mediante qué técnica y metodología. Como ya tuve ocasión de analizar en mi discurso de ingreso en esta Corporación (Lacadena, 1995), en la historia de los premios Nobel en relación con la Genética ha habido algunos galardonados que introdujeron nuevos organismos en la investigación, como son los casos de la mosca del vinagre (*Drosophila melanogaster*) introducida por Morgan, el moho del pan (*Neurospora crassa*) por Beadle y Tatum, los virus bacteriófagos (T-2, T-4) por Delbrück y Luria, las bacterias (*Escherichia coli*) por Lederberg y la levadura (*Schizosaccharomyces pombe*) por Nurse.

Este año de 2002 se ha otorgado el premio Nobel a Sydney Brenner, que tuvo la clarividencia de introducir en la investigación genética como nuevo organismo al nematodo *Caenorhabditis elegans* que, en palabras de la institución Nobel, es un organismo modelo experimental novedoso que proporciona una oportunidad única de unir el análisis genético a la división celular, la diferenciación y la organogénesis y que permitía seguir estos procesos bajo la observación del microscopio. Este gusano, de 1 mm de longitud, se cultiva en placas Petri sobre un medio de agar como las bacterias, tiene un

corto tiempo de generación (63 horas “de huevo a huevo”, a 20°C, según Sternberg y Horvitz, 1984) y, al ser transparente su cutícula, permite seguir los procesos de división celular bajo el microscopio con sistema de contraste de interferencia diferencial de Nomarski (en palabras de un comentarista, es como un “tubo de ensayo viviente”); además, se puede conservar en congelación por tiempo ilimitado. Biológicamente, este nematodo es hermafrodita con capacidad de autorreproducción, aunque también existen individuos masculinos. Su constitución cromosómica es $2n = 12,XX$ para los hermafroditas y $2n = 11,X0$ para los machos. Por su interés en la investigación genética, el genoma de *C. elegans*, de 97.000.000 pb, fue secuenciado en 1998 (The *C. elegans* Sequencing Consortium, 1998) con la decisiva intervención, evidentemente no casual, de Sulston como Director del Sanger Centre de Cambridge. Su genoma contiene unos 19.000 genes, un número relativamente bajo tratándose de un organismo multicelular.

El paso decisivo en la comprensión de la muerte celular programada se debió a las investigaciones fundamentales realizadas por Brenner, Sulston y Horvitz con el nematodo *C. elegans* al descubrir que dicho proceso está regulado por unos genes concretos. En efecto, el organismo está formado por un número exacto de 1090 células somáticas de las que 131 morirán inexorablemente durante el proceso de desarrollo, de manera que esta muerte celular está controlada por un conjunto específico de genes. El individuo adulto está formado, pues, por 959 células.

Las bases genéticas del estudio del desarrollo del nematodo fueron establecidas por Brenner en 1974, demostrando que al inducir mutaciones con el mutágeno etil metanosulfonato (EMS) se podía establecer la relación biunívoca entre mutaciones génicas específicas con efectos concretos sobre el proceso de organogénesis. El trabajo de Brenner consistió en el aislamiento, análisis de complementación y mapeo de unas 300 mutaciones que afectaban a caracteres morfológicos y de comportamiento; unas 77 de estas últimas mutaciones alteraban el movimiento del gusano.

Según decía el propio Brenner en su trabajo pionero de 1974, él estaba interesado en el análisis genético del sistema nervioso, tratando de abordarlo con una metodología genética similar a la que se había utilizado con éxito en el análisis de las rutas biosintéticas de las bacterias o en los procesos de ensamblaje de los componentes proteicos de las cápsidas de las partículas virales. De hecho, en *Drosophila* ya Benzer había iniciado investigaciones con mutantes de comportamiento. Esta especie –que ostenta el honorífico atributo de ser una “reina fundadora” en la Genética– tenía la ventaja del profundo conocimiento genético que de ella se tenía, por un lado, y la posibilidad de utilizar el elegante método genético de análisis de mosaicos que permitirían descubrir las sedes anatómicas de las anomalías genéticas del sistema nervioso, por otro lado. Con estos antecedentes –decía Brenner– “hace unos ocho años, cuando me embarqué en estos problemas, decidí que lo que necesitaba era un organismo experimental que fuera susceptible para el estudio genético y en el que se pudiera determinar la estructura completa del sistema nervioso. *Drosophila*, con unas 10^5 neuronas, era demasiado grande y, buscando un organismo más sencillo, mi elección finalmente se decidió por el pequeño nematodo, *Caenorhabditis elegans*”. A partir de aquí concentró su trabajo en dos líneas de investigación: el desarrollo de métodos que permitieran determinar la estructura del sistema nervioso del gusano y establecer las características genéticas básicas de dicho organismo. En el primer estudio genético construyó el mapa genético mapeando unas cien mutaciones en los seis grupos de ligamiento de *C. elegans* (5 autosomas y el cromosoma sexual X). En 1974 publicó también otro trabajo, esta vez en colaboración con Sulston, también galardonado con este premio Nobel, en el que analizaban el ADN del gusano (Sulston y Brenner, 1974).

3.2. JOHN E. SULSTON

John E. Sulston, británico nacido en 1942, fue uno de los primeros colaboradores de Brenner para llevar adelante los estudios que éste había iniciado en *C. elegans*. Así, en el mismo año de 1974 publicaban juntos un artículo sobre la caracterización del ADN del nematodo, concluyendo que su

genoma tenía un total de 8×10^7 pb (20 veces el tamaño del de la bacteria *E. coli*), con un 83% de secuencias únicas y un contenido medio del 36% de (G+C) y cuantificando el número de secuencias correspondientes a genes que codifican para ARNt y ARNr mediante hibridación ADN-ARN (Sulston y Brenner, 1974). Muchos años más tarde, Sulston participaba como Director del Sanger Centre de Cambridge en el Consorcio Internacional que llevó a cabo en 1998 la secuenciación completa del genoma de *C. elegans* (97.000.000 pb), tal como he mencionado anteriormente.

Volviendo a la historia genética de *C. elegans*, la aportación fundamental de John E. Sulston consistió en desarrollar las técnicas que permitían seguir al microscopio todas las divisiones celulares que ocurrían desde el mismo cigoto hasta las 959 células somáticas que componen el organismo adulto. Sulston describió el linaje celular durante el desarrollo de parte del sistema nervioso del gusano, que supone un tercio del total de células somáticas del organismo, demostrando que es invariante; es decir, durante el desarrollo, todos los individuos de *C. elegans* siguen el mismo programa de divisiones celulares y diferenciación (Sulston y Horvitz, 1977; Sulston *et al.*, 1983).

De acuerdo con los trabajos de Sulston y de Horvitz, el desarrollo del nematodo puede resumirse de la siguiente manera (tomado de Gilbert, 2000; ver también Wolpert *et al.*, 2002): El cigoto de *C. elegans* experimenta una *división holoblástica rotacional*. Durante la división embrionaria temprana, cada división asimétrica produce una *célula fundadora* (denominadas AB, MS, E, C y D), que produce células descendientes diferenciadas, y una *célula troncal* (linajes celulares P1 a P4). En la primera división celular, el surco de división está desplazado asimétricamente hacia el polo posterior según el eje anterior-posterior, dando lugar a las células AB y P1. En la segunda división embrionaria, la célula AB se divide en dirección perpendicular al eje anterior-posterior, mientras que la célula P1 se divide transversalmente, dando lugar a otra célula fundadora (EMS) y a una células troncal posterior P2. El linaje

celular troncal siempre se divide transversalmente para dar lugar a una célula fundadora anterior y una troncal posterior que continúa el linaje celular.

Las células descendientes de cada célula fundadora se dividen en momentos específicos que son iguales en cualquier individuo en desarrollo hasta alcanzar el número exacto de 558 células en las larvas recién eclosionadas.

La determinación del eje anterior-posterior viene definida por la posición del pronúcleo espermático en el citoplasma del ovocito al producirse la fecundación. Otra nueva asimetría en el eje anterior-posterior es la debida a la migración hacia el polo posterior del cigoto de los gránulos polares (gránulos P) de compleja naturaleza ribonucleoproteica, que serán responsables de la diferenciación de las células germinales. En consecuencia, en la primera división los gránulos P quedan exclusivamente en la célula P1, los cuales, a su vez, pasarán a la célula P2 cuando se divida la célula P1. Sin embargo, durante la división de P2 y P3 los gránulos P se asocian con el núcleo que entra en el citoplasma P3. Finalmente, los gránulos P pasarán a la célula P4 cuya progenie celular dará lugar a los espermatozoides y óvulos del individuo adulto.

Por otro lado, la definición del eje dorsal-ventral se produce en la división de la célula fundadora AB que, al resultar más larga que ancha, lo cual produce un deslizamiento de las células hijas, dando lugar a una célula hija anterior (ABa) y otra posterior (ABp). Este deslizamiento hace que la célula ABp se coloque por encima de la célula fundadora EMS que resulta de la división de P1. La célula ABp define el futuro lado dorsal del embrión mientras que la célula EMS, precursora del músculo y del intestino, marcará la superficie ventral del embrión. Finalmente, el eje lateral derecha-izquierda se especificará en el estadio de 12 células cuando el blastómero MS (producido por la división de la célula fundadora EMS) entre en contacto con las "células nietas" de la célula ABa, distinguiendo el lado derecho y el izquierdo del cuerpo.

Como decía el comentario científico de la institución Nobel, como consecuencia de sus primeros estudios, Sulston llegó a demostrar que en el linaje celular se produce la muerte programada de determinadas células y que este suceso podía ser visualizado en el organismo vivo. Además, Sulston describió las etapas visibles de la muerte celular e identificó las primeras mutaciones de genes implicados en el proceso de muerte celular programada. Uno de estos genes, el *nuc-1*, codifica para una proteína necesaria para la degradación del ADN, que es una de las características del proceso.

3.3. H. ROBERT HORVITZ

La tercera fase de la historia genética del nematodo la llevó a cabo H. Robert Horvitz, norteamericano nacido en 1947, cuya aportación fundamental fue investigar si realmente existía un programa genético que controlara la muerte celular, identificando en 1986 los dos primeros “genes de la muerte” (*ced-3* y *ced-4*) cuya expresión es necesaria para que se produzca la muerte de la célula (Ellis y Horvitz, 1986). Posteriormente, Horvitz identificó otros genes, como el *ced-9*, que protegen a las células de la muerte interaccionando con *ced-3* y *ced-4*. Asimismo, identificó otros genes responsables de la eliminación de las células cuya muerte había sido genéticamente programada.

La proteína CED-4 es un factor activador de la proteasa CED-3 que inicia la destrucción de la célula. Las mutaciones que inactivan la proteína CED-9 originan la muerte de muchas células que deberían sobrevivir, pero que mueren al ser activados los genes *ced-3* y *ced-4*. Por el contrario, mutaciones de ganancia de función del gen *ced-9* permiten la síntesis de la proteína CED-9 de manera que sobreviven las células que estaban programadas para morir.

Las proteínas CED-3 y CED-4 constituyen el núcleo central de la ruta genética de la apoptosis que es común a todas las especies animales estudiadas. En mamíferos, las proteínas homólogas a la CED-9 son codificadas por genes de la familia *Bcl-2*, cuya semejanza funcional es tal que, por ejemplo, el gen humano *BCL-2* introducido en embriones de *C. elegans* impide la muerte programada de determinadas células durante el desarrollo embriona-

rio del nematodo (Vaux *et al.*, 1992). Este hecho pone de manifiesto que el proceso de apoptosis está evolutivamente conservado. De ahí la importancia que pueden tener las investigaciones llevadas a cabo en organismos como el nematodo para ser extrapoladas y aplicadas en la especie humana.

En este contexto es importante señalar que, como indican Vaux y Korsmeyer (1999), aunque el primer componente reconocido de un mecanismo de muerte celular fue el gen *Bcl-2* de mamíferos, la primera evidencia de que existía un programa genético específico para la muerte celular fisiológica se debió a los trabajos de Horvitz (Horvitz *et al.*, 1982; Ellis y Horvitz, 1986).

La proteína homóloga a la CED-4 en mamíferos es la Apaf-1 (por *apoptotic protease activating factor-1*) que participa en la activación dependiente de citocromo-c de las proteínas homólogas de la CED-3, la caspasa-9 y la caspasa-3.

Así como los nematodos deficientes para CED-4 son viables a pesar de tener un 15% más de células que los individuos normales, los ratones con mutaciones de pérdida de función en los genes que codifican para la caspasa-3 o la caspasa-9 sufren la muerte perinatal por crecimiento masivo celular del sistema nervioso. Por otro lado, ratones homocigotos para la delección del gen *Apf-1* presentan anomalías craneofaciales y sobrecrecimiento del cerebro, así como membranas interdigitales.

En los mamíferos existen varios patrones apoptóticos. Por ejemplo, la apoptosis de los linfocitos no es afectada por la delección de los genes *Apf-1* o *caspasa-9* y la cascada de acontecimientos genéticos apoptóticos se inicia por la proteína CD95 en la membrana plasmática del linfocito.

4. EPÍLOGO

Como señala Gilbert (2000), las 131 células que mueren como parte normal del desarrollo del nematodo podrían compararse con las 10^{11} células humanas que mueren diariamente en un individuo adulto y que son sustituidas por otras células, pudiéndose estimar que la masa celular perdida cada

año por muerte programada es equiparable al peso del individuo. Además, durante el desarrollo intrauterino se están generando y destruyendo células de forma continuada; incluso, se producen el triple número de neuronas de las que constituirán nuestro cerebro al nacer. La apoptosis es necesaria, no solamente para el adecuado espaciado y orientación de las neuronas sino, por ejemplo, para generar el espacio auditivo medio, la apertura vaginal o el espacio interdigital.

Como decía un comentarista de la revista *Nature*, algunos científicos ven en los premios Nobel de este año 2002 un significado de más largo alcance si los relacionamos con los premios Nobel en Fisiología o Medicina otorgados en 1995 y en 2001. Los primeros fueron los concedidos a Edward B. Lewis, Christiane Nüsslein-Volhard y Erick F. Wieschaus “por sus descubrimientos sobre el control genético del desarrollo temprano del embrión” en investigaciones realizadas en mutantes morfogenéticos de la mosca del vinagre (*Drosophila melanogaster*) y los segundos a Leland H. Hartwell, R. Timothy Hunt y Paul M. Nurse “por sus descubrimientos de los reguladores clave del ciclo celular” en investigaciones realizadas con levaduras (*Schyzosaccharomyces pombe*). En palabras de Gerald Rubin, “estos premios son el reconocimiento de que se pueden hacer importantes avances en la Medicina estudiando genéticamente organismos modelo dúctiles” como los insectos, las levaduras o los gusanos.

5. BIBLIOGRAFÍA

- (1) ADAMS, J.M.; CORY, S. (1998). The Bcl-2 protein family: Arbiters of cell survival. *Science*, 281:1322-1326
- (2) ASHKENAZI, A.; DIXIT, V.M. (1998). Death receptors: Signaling and modulation. *Science*, 281:1305-1308
- (3) BRENNER, S. (1974). The genetics of *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*, 77:71-94
- (4) BRENNER, S.; JACOB, F.; MESELSON, M. (1961). An unstable intermediate carrying information from genes to ribosomes for protein synthesis. *Nature*, 190:576-580
- (5) CASCALES, M. (1997). Apoptosis, enfermedad y terapéutica. *Anales Real Academia de Doctores*, vol. 1, núm. 1:31-54

- (6) CORROCHANO, L. (2002). La especie humana, a vista de gusano. *El País*, 16 octubre 2002, pág. 35
- (7) CRICK, F.H.C. (1958). On protein synthesis. *Symp.Soc.Exp.Biol.*, 12:138-163
- (8) CRICK, F.H.C.; BARNNETT, L.; BRENNER, S.; WATTS-TOBIN, R.J. (1961). General nature of the genetic code for proteins. *Nature*, 192: 1227-1232
- (9) ELLIS, H.M. ; HORVITZ, H.R. (1986). Genetic control of programmed cell death in the nematode *C. elegans*. *Cell*, 44:817-829
- (10) GILBERT, S.F. (2000). Developmental biology (Sixth edition). *Sinauer Associates, Inc. Publ., Sunderland, Ma.*
- (11) GREEN, D.R.; REED, J.C. (1998). Mitochondria y Apoptosis. *Science*, 281:1309-1312
- (12) GURA, T. (2001). Eyes on the prize. *Nature*, 413:560-564
- (13) HENGARTNER, M.O. (2000). The biochemistry of apoptosis. *Nature*, 407:770-776
- (14) HORVITZ, H.R.; ELLIS, H.M.; STERNBERG, P.W. (1982). Programmed cell death in nematode development. *Neurosci. Commentaries*, 1:56-65
- (15) KERR, J.F.; WYLLIE, A.H.; CURRIE, A.R. (1972). Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br.J.Cancer*, 26:239-257
- (16) LACADENA, J.R. (1995). Historia “nobelada” de la Genética: Concepto y método. *Discurso de Ingreso como Académico de Número en la Real Academia de Farmacia*, 76 pp.
- (17) LOCKSHIN, R.; WILLIAMS, C. (1965). programmed cell death. II. Endocrine potentiation of the breakdown of the intersegmental muscles of silkworms. *J. Insect Physiol.*, 11:803-809
- (18) MARSDEN, V.S.; O’CONNOR, L.; O’REILLY, L.A.; SILKE, J.; METCALF, D.; EKERT, P.G.; HUANG, D.C.S.; CECCONI, F.; KUIDA, K.; TOMASELLI, K.J.; ROY, S.; NICHOLSON, D.W.; VAUX, D.L.; BOUILLET, P.; ADAMS, J.M.; STRASSER, A. (2002). Apoptosis initiated by Bcl-2-regulated caspase activation independently of the cytochrome c/Apaf-1/caspase-9-apoptosome. *Nature*, 419:634-637
- (19) SARABHAI, A.S. ; STRETTON, A.O.W. ; BRENNER, S. ; BOLLE, A. (1964). Colinearity of the gene with the polypeptide chain. *Nature*, 201:13-17

- (20) SULSTON, J.E. ; BRENNER, S. (1974). The DNA of *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*, 77 :95-104
- (21) SULSTON, J.E. ; HORVITZ, H.R. (1977). Post-embryonic cell lineages of the nematode, *Caenorhabditis elegans*. *Dev. Biol.*, 56:110-156
- (22) SULSTON, J.E. ; SCHIERENBERG, E. ; WHITE, J.G. ; THOMSON, J.N. (1983). The embryonic cell lineage of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Dev. Biol.*, 100:64-119
- (23) STENT, G.S. (1971). Molecular Genetics. An introductory narrative. *W.H.Freeman and Co., San Francisco*
- (24) STENT, G.S.; CALENDAR, R. (1978). Molecular Genetics. An introductory narrative (Second edition). *W.H.Freeman and Co., San Francisco*
- (25) STERNBERG, P.W.; HORVITZ, H.R. (1984). Genetic control of cell lineage during nematode development. *Ann. Rev. Genet.*, 18:489-524
- (26) THE *C. ELEGANS* SEQUENCING CONSORTIUM. (1998). Genome sequence of the nematode *C. elegans*: A platform for investigating biology. *Science*, 282:2012-2018
- (27) THORBERRY, N.A.; LAZEBNIK, Y. (1998). Caspases: Enemies within. *Science*, 281:1312-1316
- (28) VAUX, D.L.; KORSMEYER, S.J. (1999). Cell death in development. *Cell*, 96:245-254
- (29) VAUX, D.L.; WEISSMAN, I.L.; KIM, S.K. (1992). Prevention of programmed cell death in *Caenorhabditis elegans* by human bcl-2. *Science*, 258:1955-1957
- (30) WOLPERT, L.; BEDDINGTON, R.; JESSELL, T.; LAWRENCE, P.; MEYEROWITZ, E.; SMITH, J. (2002). Principles of Development (Second edition), *Oxford University Press, Oxford*