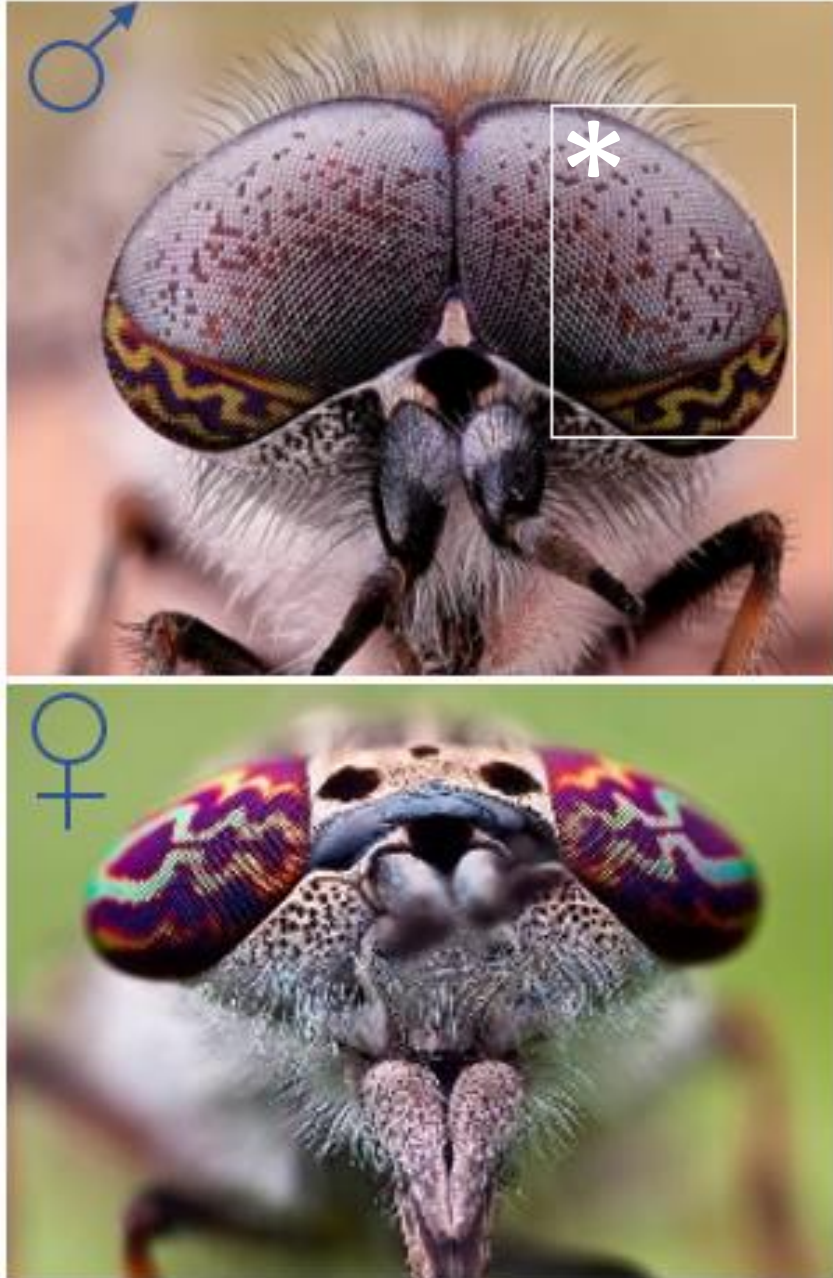


¿Cómo hacerse más GRANDE?

Isaías Corrales Vidal, Antonella Iannini Osorio, Fernando Casares.

Departamento de regulación génica y morfogénesis, CABD, CSIC-Universidad Pablo de Olavide-Junta de Andalucía, Sevilla 41013, España.

Motivación



Comprender cómo los órganos regulan su tamaño durante el desarrollo, mediante la experimentación con pequeños organismos como *Drosophila melanogaster*, resulta de gran ayuda para determinar cuáles son los mecanismos implicados en el desarrollo de enfermedades humanas que tienen como origen un desequilibrio entre el crecimiento y la proliferación celular. En este sentido, el estudio de la vía de señalización IGF/PI3K/Akt/mTORC1 es básico, ya que constituye el nexo de todas las señales que dirigen el crecimiento, proliferación o senescencia celular. Así, la activación aberrante de la vía se asocia con procesos tumorigénicos, de angiogénesis, progresión y resistencia al cáncer. Por tanto, es considerada como una de las dianas más atractivas para el desarrollo de terapias anti cáncer.

La pregunta principal del proyecto se plantea tras la observación de los “ojos holópticos” (Figura 1 *), los cuales se presentan como un dimorfismo sexual en los machos de ciertos dípteros y consisten en el sobre-crecimiento dorsal de los ojos a expensas de ocupar el espacio destinado para la cápsula cefálica. Este carácter se encuentra ampliamente distribuido en el árbol filogenético de los dípteros, pero no todos lo presentan. Esto podría sugerir que el ojo holóptico es un carácter ancestral que se ha ido perdiendo a lo largo de la evolución o que alternativamente ha ido apareciendo de forma independiente. En este último caso podríamos pensar que el mecanismo responsable de la génesis del carácter es fácilmente modificable, bien aplicando los mismos cambios o mediante otras modificaciones genéticas que den lugar a un fenotipo similar.

Figura 1. *Haematopoda pluvialis* (Horsefly), macho y hembra.

Métodos

Nuestros experimentos se centran en modificar el tamaño celular, alterando la actividad de mTOR a través de distintos puntos localizados aguas arriba en la vía, como en el caso de TSC2, Rheb o PTEN. Además hemos llevado a cabo varias manipulaciones genéticas dirigidas a los ojos para modificar el tamaño celular de forma independiente, como alterar la actividad del proto-oncogén Myc, las vías dpp/BMP2 y Wnt/Wg. En primer lugar, para producir omatidios grandes, dirigimos un RNAi contra el regulador del tamaño celular Gigas, el ortólogo del TSC2 humano, utilizando el driver GAL4: IroC-GAL4, cuyo patrón de expresión se puede apreciar en las regiones dorsal del ojo de la mosca adulta y en el disco imaginal del ojo en fase de desarrollo L3 (figura 2).

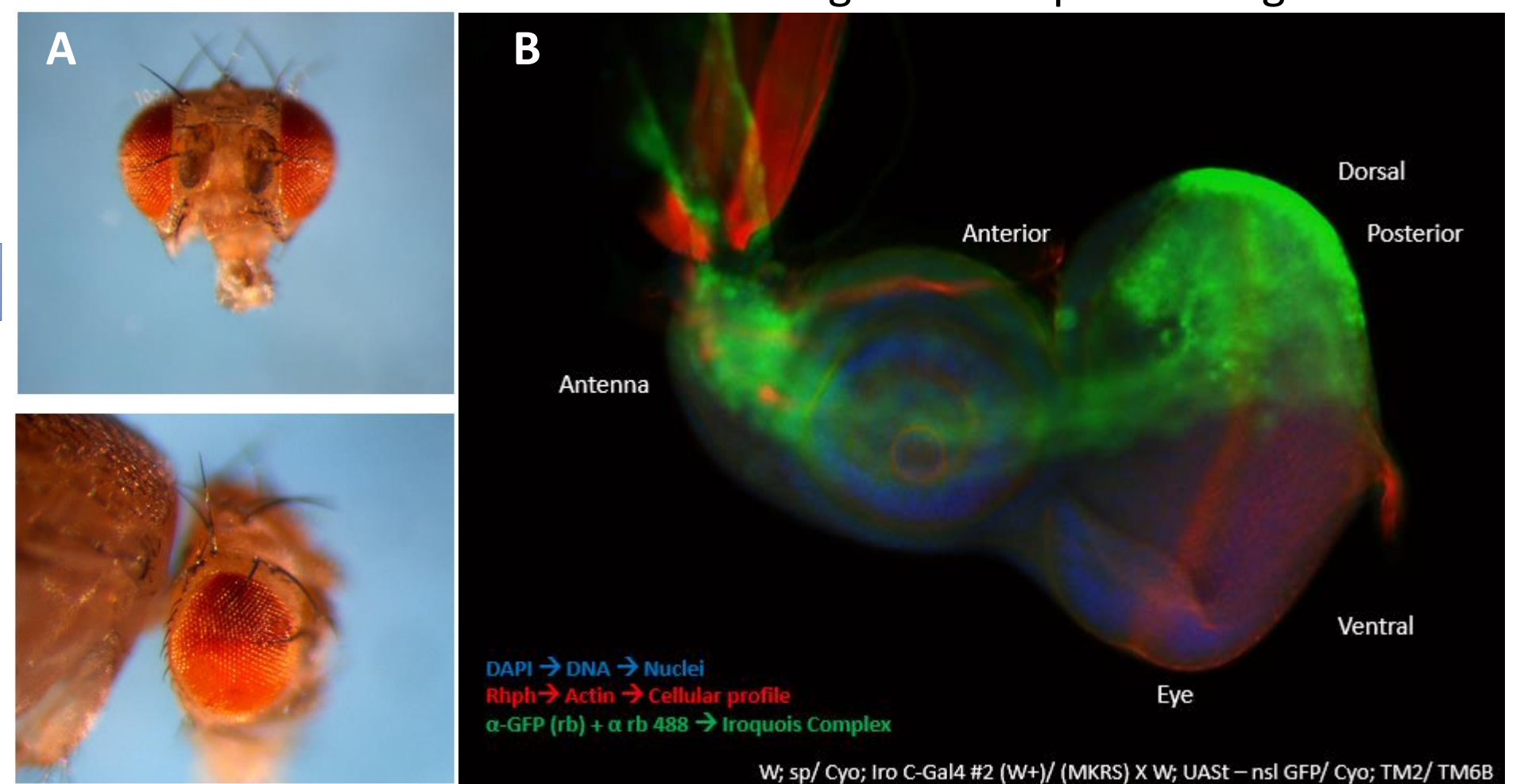


Figura 2. Patrón de expresión del complejo Iroquois en el ojo adulto (A) y en el disco imaginal del ojo (B).

Resultados y conclusiones

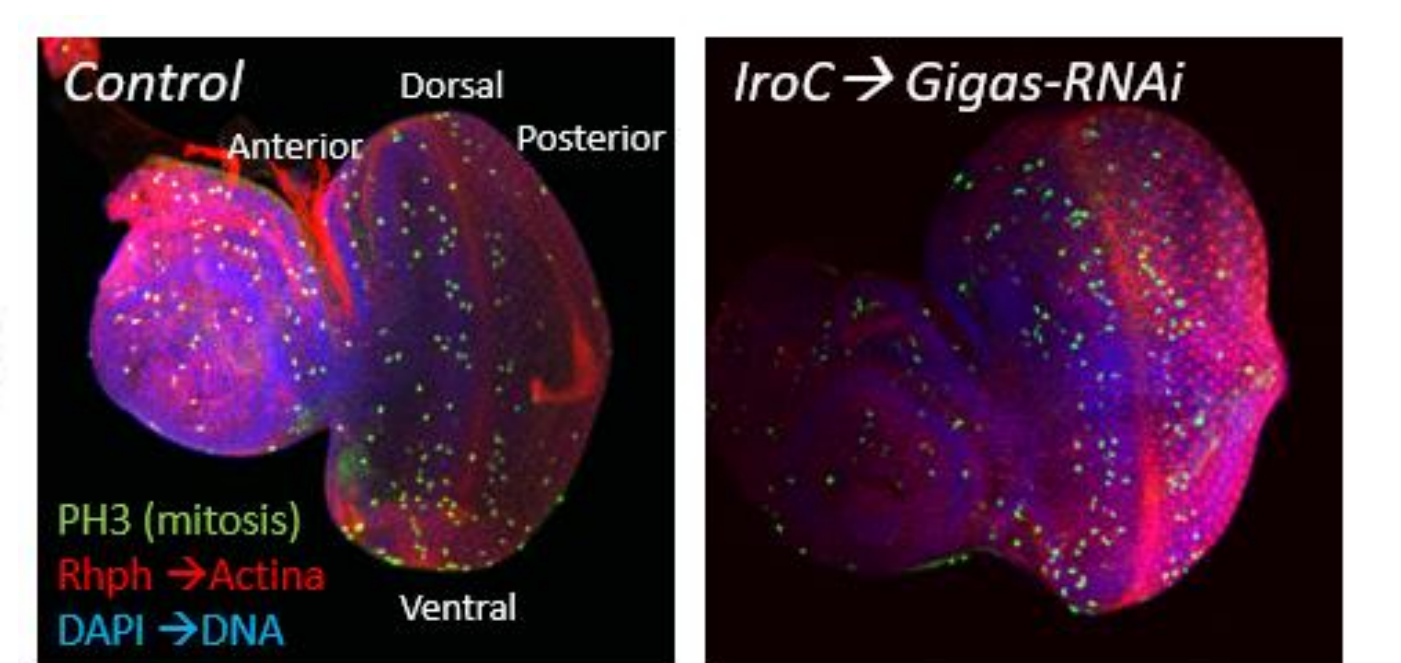
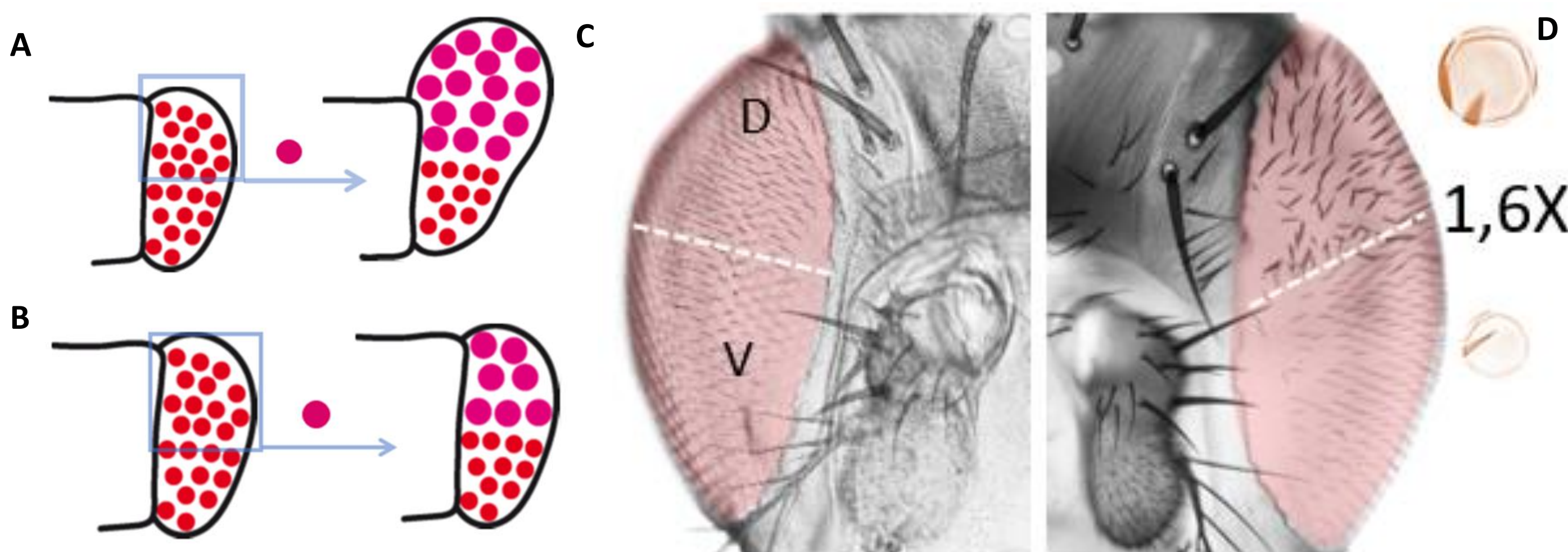


Figura 3. A: Modelo de la hipótesis inicial para la obtención de un ojo similar a un ojo holóptico. B: Modelo real. C: Comparación visual de ojos Control Vs *IroC>Gigas RNAi*. D: Ejemplo de discos ojo-antena de *Drosophila* empleados para medir la tasa de proliferación celular.

Nuestra hipótesis consistía en hacer las células de la región dorsal más grandes durante el desarrollo, así los omatidios dorsales también lo serían, originando un ojo con un sobre-crecimiento dorsal que recordase a los ojos holópticos (figura 3A). Sin embargo, nuestros resultados apuntan a que la alteración producida sigue el modelo representado en la figura 3B, mediante el cual obtuvimos que las moscas *IroC-GAL4* \rightarrow *UAS-Gigas RNAi* tenían ojos de tamaño similar a los controles, presentando un menor número de omatidios pero de un tamaño 1,6 veces mayor que los controles (figura 3C). Medimos el tamaño del ojo en superficie y lo hicimos relativo a la superficie de la cabeza para controlar las diferencias de tamaño corporal. El resultado principal es que el tamaño de los ojos es muy similar entre las moscas Control e *IroC>Gigas RNAi*, a pesar de que los omatidios dorsales son mucho más grandes en estas últimas (figura 3C). Tras ello consideramos dos hipótesis de control del tamaño del órgano; la primera: que en la región dorsal de *IroC>Gigas RNAi* la apoptosis fuera mayor y la segunda: que en dicha región el ratio de proliferación celular fuera más lento. De este modo, tras medir la proliferación en las regiones anteriores (dorsal y ventral) del disco del ojo tanto en Control e *IroC>Gigas RNAi* (figura 3D), vimos que las células *IroC>Gigas RNAi* se dividen más lentamente, lo cual tiene sentido, ya que al tener que alcanzar un tamaño mayor estas tardarían más tiempo en entrar en mitosis. De esta forma, el hecho de que haya células de mayor tamaño pero en menor número compensaría el tamaño final del órgano. Actualmente pensamos que el hecho de que una parte del ojo quede inalterada (región ventral), podría jugar un papel a la hora de que el órgano pueda determinar y corregir su estado final. No obstante, dilucidar cual es el mecanismo que subyace bajo este control del tamaño del órgano resultaría prometedor en terapias contra enfermedades humanas.

Referencias

- Mayer, I. A., & Arteaga, C. L. (2016). The PI3K/AKT Pathway as a Target for Cancer Treatment. *Annual review of medicine*, 67, 11–28.
- Lloyd AC. The regulation of cell size. *Cell*. 2013 Sep 12;154(6):1194-205.
- Tee, A. R., Fingar, D. C., Manning, B. D., Kwiatkowski, D. J., Cantley, L. C., & Blenis, J. (2002). Tuberous sclerosis complex-1 and -2 gene products function together to inhibit mammalian target of rapamycin (mTOR)-mediated downstream signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(21), 13571–13576.
- Créditos de las fotos en la figura 1: Mateusz Znamierowski (macho) ; Kathy Blinkhorn (hembra).