

Metodos de Investigacion
Colegio Marymount
26 de mayo de 2005
12CD

**Efectos de un medicamento antiparkinsoniano en la longevidad de la
*Drosophila-melanogaster***

Pablo Galindo, Diego Cevallos, Ángel Gutiérrez, Andrea Olea.

Resumen: Las moscas son unos animales que por su estructura genética y su fácil manejo en el laboratorio son las más utilizadas en estudios de investigación humana. Nuestro proyecto consistió en observar qué tanto podían vivir las moscas macho al ser sometidas por 4 semanas a un alimento que contenía L-dopa en diferentes concentraciones. El propósito de la investigación era poder observar el comportamiento de las moscas y qué tanto eran afectadas por la L-dopa. Nuestro experimento tuvo una duración aproximada de 4 meses ya que por problemas experimentales tuvimos que repetir el experimento. Las primeras semanas se dedicaron a la amplificación de moscas. Después de reproducirlas, las separamos por sexo. Separamos 400 moscas macho y las separamos en 4 frascos, 100 en cada uno. En cada uno de los frascos colocamos 3 diferentes concentraciones de 2, 4, 6 mg/ml y un testigo (sin L-Dopa). La primer prueba fallo ya que el alimento no presento una consistencia sólida, la segunda vez que realizamos el experimento pudimos obtener mas resultados. Observamos que las moscas con 4 mg/ml sobrevivían en mayor número, sin embargo las moscas no presentaron una longevidad más larga que la de las moscas en el frasco testigo. El experimento fue realizado tres veces y no hubo una mejora considerable en la consistencia del alimento.

Introducción

En el mercado existen medicamentos que son utilizados específicamente para controlar enfermedades de sistema nervioso. Enfermedades como lo son el Parkinson y la Epilepsia. Se ha descubierto en investigaciones previamente realizadas en gusanos (*C. elegants*), que los medicamentos anticonvulsivos pueden incrementar la longevidad de dichos gusanos (Evasor K., et al, 2005)

El propósito de esta investigación fue realizar un experimento utilizando medicamentos antiparkinsonianos (L-dopa) empleando *D. melanogaster* machos y medir el aumento en su longevidad.

Nuestro experimento consistió en tener un número determinado de *D. melanogaster* machos y separarlos en diferentes frascos. En cada uno de los frascos se colocó alimento con diferentes concentraciones del medicamento. Después, esperamos a que las moscas reaccionaran al medicamento y esperaremos a que su ciclo de vida continúe y observamos como reaccionan a cada una de las concentraciones.

Justificación

La principal razón por la que realizamos este proyecto es para obtener información acerca de las reacciones que tiene la *Drosophila-melanogaster* con este medicamento. Esto fue para poder obtener información que pueda ser utilizada para estudios en humanos. Este trabajo puede tener un impacto dentro del área médica. Creemos que este experimento puede dar una pequeña pero importante aportación para el área medica ya que con la información que se obtenida en este experimento puede servir para la invención de nuevos medicamentos o de una pequeña referencia para experimentos futuros que puedan servir para tener un mejor nivel de vida en los humanos.

Antecedentes

Drosophila melanogaster es una mosca de la fruta de aproximadamente 3 mm de longitud. Se encuentra principalmente alrededor de la fruta podrida. La *Drosophila* es un organismo sumamente valuado gracias a su composición genética. La *Drosophila* es un organismo modelo ya que tiene una gran semejanza genética con el humano. El 61 % de las enfermedades humanas es compatible con genes de las mosca *D.melanogaster* y el 50 % de los genes de la mosca son compatibles con los de los mamíferos. Esta mosca es de gran utilidad para los estudios genéticos sobre los humanos ya que podemos encontrar un organismo con un funcionamiento igual al nuestro. También es muy útil gracias al periodo corto de vida y también a los bajos costos que ésta representa. El lapso de vida nos permite estudiar mejor aspectos como la longevidad de la mosca, etc.

La razón principal por la que utilizamos la *Drosophila melanogaster* es por la facilidad de su manejo y por todas las características antes descritas. Utilizamos específicamente las *Drosophila* macho ya que el periodo de vida del macho es mas corto que el de la hembra y, en circunstancias en donde el

macho no cuenta con sexo, el lapso de vida disminuye aun más (Manning, 2004), (Raghu, *et al.* 2000).

Nadie sabe con seguridad como actúan los medicamentos antiparkinsonianos. Se sabe que estas drogas actúan en el sistema nervioso, pero no se sabe exactamente como es su funcionamiento. Estas drogas empezaron a desarrollarse desde los años 50's y hasta la fecha no se ha podido explicar con exactitud como es que trabajan. Científicos han estudiado estas drogas para poder observar los efectos que tienen y descubrieron que puede tener efectos de envejecimiento del ser vivo. Científicos de la Universidad de Harvard en la revista Science declararon que el sistema nervioso afecta al envejecimiento, por lo tanto, los anticonvulsivos podrían ser una fuente para detener el envejecimiento o para acelerarlo.

Estas pruebas se han realizado en *C.elegans* y próximamente estarán haciendo pruebas en ratones y en moscas. Lo ideal sería hacer las pruebas en humanos sin embargo la experimentación tomaría mucho tiempo, se tendría que experimentar desde el nacimiento hasta la muerte y los resultados tomarían décadas para poder ser vistos.

Medicamentos anticonvulsivos fueron agregados al gusano *c.elegans*. Estos produjeron un aumento en la longevidad de dichos gusanos, especialmente con ethosuximida y el trimetadione. El gusano aumento su longevidad un 35 % a una temperatura ideal de 15° C. Se observo que hubieron efectos en la etapa L4 (adulto), mientras que en la etapa embrionaria y de crecimiento, no se sufrió ningún daño (Kimberly, *et all.* 2005).

El Parkinson es una enfermedad de un desorden a nivel cerebral. Esta ocurre cuando las células del cerebro, las neuronas, en el área sustancia nigra, se mueren o se alteran de una forma irreparable. La función principal de éstas células es producir una sustancia química vital llamada dopamina. Ésta sustancia es capaz de coordinar las funciones y movimientos de los músculos del cuerpo. Los síntomas del Parkinson comienzan a aparecer cuando aproximadamente el 80 % de las células que producen dopamina están dañadas (The National Parkinson Foundation, 2004).

Hipótesis

Una dieta que contenga medicamentos antiparkinsonianos provocará un aumento en la longevidad de la *Drosophila-melanogaster*.

Objetivos

General- Comprobar que la longevidad de *Drosophila-melanogaster* aumenta al incorporar medicamentos antiparkinsonianos en su dieta.

Específicos-

1. Probar la longevidad de *Drosophila-melanogaster* aumenta al incorporar L-dopa (antiparkinsoniano) en su dieta.
2. Comprobar que la motilidad de *Drosophila* disminuye conforme avanza su edad.

Materiales:

1. El trabajo se realizó en el Instituto de Biotecnología de la UNAM, en Cuernavaca, Morelos. En el Laboratorio del Dr. Reynaud.
2. Se utilizaron materiales como el microscopio, báscula granatoria, botellas para almacenar las moscas y su alimento, refrigeradores, hornos.
3. Se utilizaron 700 moscas (machos) *Drosophila-melanogaster*. La razón por la cual se utilizaron machos en el experimento es debido a que el lapso de vida de los machos es menor al de las hembras, y en ausencia de sexo, es aún menor.
4. En los medicamentos se utilizaron L-dopa “Antiparkinsoniano”.
5. Para el alimento para las *Drosophilas* se utilizó: Agar, levadura de pan, extracto de levadura, peptona, sacarosa, glucosa, sulfato de magnesio, cloruro de calcio, ácido propiónico, ácido benzoico, etanol, glucosa, agua destilada, metil ester.

Metodología

Lo primero fue amplificar las moscas proporcionadas por el laboratorio. Posteriormente separamos las moscas por sexo. Con la ayuda del microscopio y del dióxido de carbono, que sirvió como droga para las moscas, pudimos separar únicamente a los machos. Después de que colectamos 400 moscas machos los separamos en 4 frascos con 100 moscas cada uno. El alimento de las moscas es preparado con una formula proporcionada por el laboratorio; se vierten todos los ingredientes en un matraz con capacidad de 2 litros. Luego el matraz se pone en una autoclave en donde el alimento es cocinado a temperaturas muy altas durante dos horas. Después de esto dejamos que el alimento enfrié y lo separamos en 8 botellas de vidrio, las cuales nos servirían para todo el experimento. Después pusimos el alimento en un refrigerador a 4° C. Finalmente tuvimos las 400 moscas macho y el alimento. En 4 frascos vertimos 50 ml del alimento depuse en cada uno vertimos diferentes

concentraciones de l-dopa: 2, 4 y 6 mg/ml y uno testigo (sin L-dopa) . El medicamento venía en pastillas así que tuvimos que triturarlas, después pesamos el polvo para luego añadir lo a las botellas de alimento, no olvidando la concentración de cada frasco. Después de empezar el experimento, lo siguiente fue observar y anotar todos los acontecimientos que se llevaron a cabo en los frascos durante los dos meses del experimento.

Resultados

El experimento presento varios problemas experimentales. La primera vez que realizamos el experimento, la consistencia del alimento no permitió el buen desarrollo de las moscas ya que estas se pegaba al alimento y fue causa de muchas muertes. La consistencia del alimento fue una variable mas de mortalidad que afectó a las moscas por lo cual tuvimos que repetir el experimento. En la segunda ocasión, el alimento fue infectado debido a una negligencia nuestra ya que probablemente las botellas donde vertimos el alimentos no contaban con la esterilización adecuada. Finalmente en el tercer experimento implementamos un filtro a la comida con unos pedazos de papel para que las moscas no se pegaran. En el ultimo experimento tampoco que se logró llegar a la consistencia sólida que necesitábamos para el optimo desarrollo del experimento.

Realizamos una recopilación de datos del primer y ultimo experimento que realizamos. En resumen encontramos que la L-dopa no es toxica para las moscas incluso en la concentración mas alta que utilizamos que fue la de 6 mg/ml. También pudimos encontrar que la L-dopa tiene un efecto sobre los ingredientes que forman l alimento de las moscas. Pudimos llegar a esta conclusión gracias a las observaciones que realizamos, vimos que la textura del alimento nunca llego a ser sólida y muy al contrario, el alimento se volvía muy viscoso. En dos de los tres experimentos que realizamos el alimento nunca llego a cuajar, inclusive en el primer experimento en donde dejamos un tiempo muy amplio para su solidificación.

Bibliografia

Evanson Kimberly, E. Huan, C.Yambe, I. Covey, "Anticonvulsant medications extend worm life-span"(14 January 2005) Volumen 307, pgs258-262. SCIENCE MAGAZIN. From: www.sciencemag.org.

Manning, Gerard. *Drosophila* Virtual Library Feedback. "A quick and simple introduction to *Drosophila melanogaster*"(Jul14, 2004)

The National Parkinson Foundation, Inc. "About Parkinson Disease" 1996-2004. **NPF Web site**

<http://www.parkinson.org/site/pp.asp?c=9dJFJLPwB&b=71164>

Raghu, et al. (2000). "Normal Photo transduction in *Drosophila* Photoreceptors Lacking an Insp Receptor Gene" *Molec. & Cell. Neurosci.* 15:4289-445