

Premio Nobel en Fisiología o Medicina 2012 La osada aventura de reprogramar las células

La demostración de que las células maduras no necesariamente permanecen especializadas de manera definitiva sino que pueden recuperar su condición de pluripotencia mediante diversas estrategias de reprogramación, modificó radicalmente nuestras concepciones sobre el desarrollo y la diferenciación celulares. Los hallazgos de los científicos que recibieron el Premio Nobel en Fisiología o Medicina 2012 no solo obligaron a reescribir los libros de texto de biología sino que han abierto nuevos campos de investigación, generando oportunidades para el estudio de la fisiopatología de varias enfermedades así como para el desarrollo de nuevos métodos de diagnóstico y tratamiento.

En un ser humano adulto hay casi 60 trillones de células, entre las que se han identificado alrededor de 200 tipos diferentes. Pero todas ellas tienen su origen en una única célula huevo, resultante de la unión del óvulo con el espermatozoide. En el ADN de esa célula está, pues, contenido el programa genético con las instrucciones que permiten generar un individuo completo con órganos muy diferentes entre sí y que cumplen funciones específicas. Puesto que en una célula de mamífero hay alrededor de 30 000 genes, puede imaginarse a la célula huevo como poseedora de un manual de instrucciones de 30 000 páginas. Lo importante es que se trata de una célula pluripotente porque al multiplicarse puede ir dando origen a todos esos tipos diferentes que se especializan para cumplir determinadas funciones. Aún en el adulto, algunas células, las células madre, conservan esa capacidad de diferenciarse en otros tipos.

¿Cómo transmite la célula huevo a sus hijas las instrucciones en sus sucesivas divisiones? Desde el punto de vista teórico hay dos alternativas: que cada célula hija reciba solo las páginas necesarias que le indican cómo especializarse o, por el contrario, que todas hereden el manual completo y luego, de alguna manera, cada una reciba señales que la lleven a leer sólo ciertas páginas de ese manual. En términos más apropiados, a transcribir ciertos genes.

Hasta mediados del siglo pasado se sostenía que las células germinales –los ovocitos femeninos y los espermatozoides masculinos– poseían una copia de las instrucciones completas, mientras que la gran mayoría de las demás células solo recibían aquellas páginas que requerían para diferenciarse. A mediados del siglo 20, Conrad Waddington proponía, como metáfora del desarrollo, un panorama de montañas y valles en el que las células indiferenciadas ocupaban los picos y, durante el proceso de diferenciación, descendían hacia los valles energéticamente más estables donde terminaban reposando como células diferenciadas. Se suponía que era muy difícil lograr que esas células volvieran al estado indiferenciado en la cima de la montaña¹. Sin embargo, Hans Spemann, Premio Nobel en Medicina 1935, imaginaba la posibilidad de trasplantar núcleos de células diferenciadas al medio proporcionado por un citoplasma inmaduro y así estudiar su potencial de desarrollo, experimento al que consideraba “fantástico”.

Dos respetados científicos británicos, Robert Briggs y Thomas King, intentaron ese experimento a comienzos de la década de 1950 trasplantando un núcleo de una célula de rana a un huevo fertilizado de la misma especie, desprovisto de su núcleo. Consiguieron obtener renacuajos solo cuando empleaban núcleos de células de embriones en las etapas iniciales de desarrollo, pero no cuando trasplantaban núcleos de células más maduras². De modo que no pudieron concluir si las células maduras habían perdido las instrucciones o éstas se habían vuelto ilegibles.

Cuando tenía quince años, John Gurdon fue disuadido por su profesor de biología de embarcarse en una carrera científica, interés que consideró ridículo. Por eso, el joven se dedicó a estudiar latín y

griego aunque, al intentar ingresar en Oxford, fue también desalentado. Regresó a la zoología y, por casualidad, terminó en el laboratorio del embriólogo Michael Fischberg quien le sugirió repetir los estudios de Briggs y King utilizando otra rana, la *Xenopus*. Fue entonces que logró concretar en 1962 el “experimento fantástico” de Spemann el que, con justicia, rápidamente adquirió la condición de clásico³. Gurdon demostró que si se aislaba el núcleo de una célula madura del intestino de un renacuajo y se lo inyectaba en un ovocito de rana –al que previamente se había privado de su propio núcleo mediante radiación ultravioleta– se desarrollaba un renacuajo completo. Es decir, que la célula intestinal, aunque estaba diferenciada, conservaba la copia de todas las instrucciones necesarias para desarrollar un individuo completo. Se postuló entonces la existencia de moléculas específicas que indican a cada tipo celular qué instrucciones debe leer, es decir, qué genes debe transcribir o expresar puesto que, con cada división, la célula transmite a sus hijas el libro completo. En el citoplasma del ovocito receptor del núcleo de la célula intestinal adulta, deben estar presentes esas señales capaces de “reprogramar” los genes de manera tal que todos ellos puedan ser nuevamente leídos.

Estos hallazgos iniciales, que fueron recibidos con gran escepticismo por la comunidad científica, especialmente porque los resultados de un joven inexperto contradecían los obtenidos por respetadas figuras de la embriología, se confirmaron luego utilizando el trasplante del núcleo de células intestinales de ranas adultas. La intensa actividad de investigación que generaron los estudios de Gurdon culminó con la demostración de la posibilidad de repetirlos en mamíferos. El ejemplo más conocido de la clonación, que de eso se trata el proceso descrito de transferencia de núcleos de células somáticas, fue el aportado en 1997 por Sir Ian Wilmut, quien logró el nacimiento de una oveja, la famosa Dolly, mediante la introducción en una célula huevo de oveja del núcleo de otra proveniente de la glándula mamaria de un animal adulto⁴. Además, esta experiencia demostró que el producto de la clonación era fértil ya que Dolly tuvo cría. En algunos medios se comentó que Wilmut debería haber compartido el Premio Nobel otorgado este año. Lo que es evidente es que la demostración original de Gurdon revolucionó la biología y lo único llamativo a propósito del Premio Nobel en Fisiología o Medicina que acaba de recibir es que le fuera concedido casi medio siglo después de haber realizado esos experimentos.

Tampoco sorprende que haya compartido esa distinción con el japonés Shinya Yamanaka, nacido el mismo año en que Gurdon publicó sus resultados fundamentales. Tras una accidentada carrera que él mismo ha descrito en numerosas ocasiones –descubrió precozmente que no estaba dotado para la cirugía ortopédica que fue su primera actividad– Yamanaka se interesó por el estudio de las células madre embrionarias. Estas células son las de los primeros estadios del embrión, cuando la célula huevo pluripotente, como se ha dicho, comienza a dividirse. Durante un cierto tiempo las células producto de esas divisiones conservan las dos propiedades características de la célula huevo: la de proliferar dividiéndose activamente y la capacidad de dar origen a cualquier célula del organismo, es decir, su pluripotencia.

Sir Martin Evans logró identificar y aislar las células madre de embriones de ratón en estadios precoces, lo que le valió el Premio Nobel en 2007⁵. Un hallazgo fundamental en esta serie de experimentos fue el aislamiento de células madre a partir de embriones humanos en 1998 por James Thomson y su grupo en la Universidad de Wisconsin⁶, otro científico considerado como posible merecedor del Premio Nobel en este campo⁷. Ya por entonces, a nadie escapaba el enorme potencial de ese resultado para la medicina. Sin embargo, surgieron de inmediato dos problemas de índole muy diferente: el cuestionamiento ético que suponía el empleo de embriones humanos, que tuvo amplia repercusión social y política recogida en la prensa internacional, y la dificultad de utilizar esas células en un individuo porque, al provenir de otro diferente, experimentarían el rechazo inmunológico.

Yamanaka pensó que estas cuestiones podrían resolverse si conseguía producir células que se comportaran como las células madre embrionarias pero partiendo de células especializadas del mismo individuo adulto. Se superarían así ambos problemas: no se requerían embriones y tampoco se generaba

rechazo. Gurdon había logrado reprogramar el núcleo de una célula adulta aislándolo e introduciéndolo con una micropipeta en un ovocito previamente enucleado. ¿Sería posible simplificar ese procedimiento y hacer que una célula adulta regresara hacia atrás en el tiempo, es decir, que volviera a ser pluripotente? Ese fue el desafío que se propuso Yamanaka: “reprogramar” las células adultas, en su caso las de la piel, revirtiéndolas a un estado en el que pusieran de manifiesto propiedades similares a las de las células madre embrionarias. Como los experimentos de Gurdon demostraron que el núcleo de cada célula adulta contiene las instrucciones para generar todo un organismo y que, de alguna manera, las señales provenientes del citoplasma de la célula huevo lograban reprogramarlo para que expresara esas instrucciones, Yamanaka pensó que tal vez resultaría posible influir sobre el núcleo de una célula adulta diferenciada para conseguir esa reprogramación. Para intentarlo, se propuso identificar el mecanismo molecular que hacía que esas células se mantuvieran inmaduras. Cuando logró identificar varios de los genes responsables de la síntesis de esos factores de transcripción –proteínas que controlan la expresión de los genes–, se dedicó a investigar si alguno de ellos era capaz de reprogramar a las células maduras convirtiéndolas en pluripotentes.

El grupo de Yamanaka seleccionó un conjunto de 24 factores de transcripción presentes en las células madre embrionarias como posibles candidatos para revertir a la pluripotencialidad a las células somáticas maduras. En un experimento muy osado, se introdujeron mediante vectores virales los 24 genes que codifican para esos factores de transcripción en fibroblastos de la piel, células maduras del tejido conectivo mantenidos en cultivo, y se examinaron esas células bajo el microscopio. Sorprendentemente, algunas generaron colonias muy similares a las células madre embrionarias. Reduciendo uno a uno esos factores de transcripción, en 2006 se logró identificar un grupo de cuatro (inicialmente Myc, Oct3/4, Sox2 y Klf4) que bastaban para convertir a los fibroblastos en células pluripotentes, es decir, llevarlos a un estado similar al de las células madre embrionarias. Surgieron así las células iPS (células madre pluripotentes inducidas) caracterizadas por la capacidad de multiplicarse y por la potencialidad de generar todos los tipos celulares como, por ejemplo, fibroblastos, neuronas y células intestinales⁸. Se lanzó entonces una competencia entre varios laboratorios para lograr el mismo objetivo pero utilizando células humanas, que culminó con la publicación simultánea de resultados positivos por parte de los grupos de Yamanaka y de Thomson (ver detalle en⁹).

Esta posibilidad de obtener en el laboratorio células de distinto tipo a partir de células adultas de un individuo mediante estos procedimientos que permiten volver inmaduras a las células diferenciadas, está brindando alternativas insospechadas para lograr una mejor caracterización de muchas enfermedades que afectan al ser humano así como para intentar su tratamiento. En los escasos seis años transcurridos desde la publicación de los hallazgos de Yamanaka confirmando que la diferenciación celular es un “viaje de ida y vuelta” se ha producido una explosión en nuestros conocimientos sobre distintas alternativas para reprogramar células adultas, expandiendo la que hoy se conoce como “medicina regenerativa”, disciplina que ofrece posibilidades hasta hace poco no imaginadas¹⁰.

Tanto Sir John Gurdon, nacido en 1933 en Dippenhall, Reino Unido, y que actualmente trabaja en la Universidad de Cambridge –donde estableció una estrecha relación de amistad personal con César Milstein– como Shinya Yamanaka, quien nació en 1962 en Osaka, Japón, y que se desempeña como profesor en la Universidad de Kyoto y en el Instituto Gladstone de San Francisco, EE.UU., han recibido las más importantes distinciones científicas en todo el mundo, en muchos casos compartidas entre ambos, como sucedió en 2009 con el Premio Lasker en investigación médica básica. En esa oportunidad ambos resumieron sus trabajos fundamentales realizados hasta esa fecha, conferencias que han sido publicadas^{11, 12}.

Precisamente, al recibir esa distinción Yamanaka señaló: *“la ciencia es un proceso que nos permite descubrir los múltiples velos que cubren la verdad. Cuando los científicos levantan un velo, a menudo terminan por encontrar uno nuevo. Sin embargo, cuando uno de ellos es afortunado, al quitar un velo a*

veces puede entrever la verdad. Pero es preciso ser consciente de que cada velo que se descorre es igualmente importante por lo que no es justo que solo el afortunado sea reconocido”.

En su primera reacción ante la noticia de haber sido galardonado con el Nobel, Sir John Gurdon declaró: “Resulta particularmente alentador advertir que una investigación puramente básica, destinada inicialmente a demostrar la identidad genética de los diferentes tipos de células del organismo, termina por brindar posibilidades concretas de mejorar la salud humana”.

Guillermo Jaim Etcheverry

e-mail: jaimet@retina.ar

1. Waddington CH. The strategy of the genes; a discussion of some aspects of theoretical biology. London: Allen & Unwin, 1957.
2. King TJ, Briggs R. Changes in the nuclei of differentiating gastrula cells, as demonstrated by nuclear transplantation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1955; 41: 321-5.
3. Gurdon JB. The developmental capacity of nuclei taken from intestinal epithelium cells of feeding tadpoles. *Journal of Embryology and Experimental Morphology* 1962; 10: 622-40.
4. Wilmut I, Schnieke AE, McWhir J, Kind AJ, Campbell KHS. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature* 1997; 385: 810-3
5. Jaim Etcheverry G. Premio Nobel en Fisiología o Medicina 2007: Diseñando genomas de ratón. *Medicina (B Aires)* 2008; 68: 93-6.
6. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998; 282: 1145-7.
7. Bardin J. Was anyone snubbed in Monday's Nobel Prize announcement? *Los Angeles Times*. October 8, 2012
8. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006; 126: 663-76.
9. Pasqualini CD. Reprogramación de fibroblastos humanos a células madre pluripotentes. Nuevo paradigma en medicina regenerativa. *Medicina (B Aires)* 2008; 68: 181-3.
10. Semeniuk G. Células madre. Vida más allá de la muerte. *Medicina (B Aires)* 2012; 72: 43-4.
11. Gurdon J. Nuclear reprogramming in eggs. *Nature Medicine* 2009; 15: vii-x.
12. Yamanaka S. *Ekiden* to iPS cells. *Nature Medicine* 2009; 15: xi-xiv.

We are all inheritors, Matucci, and we can no more shed our past than we can slough off our skin. We are free only to make the best of what we have, in the now-time at our disposal. We send men to the moon and believe we have discovered tomorrow; but tomorrow is still growing out of all our yesterdays, and we decipher it in scraps and fragments like the arithmetic of the Incas. When you get to my age, you will find that there are few left with whom to share your past. The old go away. The young have no interest. You are there, a broken pillar in a wheat field, the triumphs you celebrate long forgotten, the hands that raised you crumbled into dust and blown away.

Somos todos herederos, Matucci, y desprendernos de nuestro pasado es tan imposible como arrancarnos la piel. Solo somos libres para hacer lo mejor posible con lo que tenemos a nuestra disposición el día de hoy. Mandamos hombres a la luna y creemos que hemos descubierto el mañana, pero el mañana todavía está surgiendo de nuestro ayer, y lo vamos descifrando en pedazos y fragmentos como la aritmética de los Incas. Cuando llegue a mi edad, se va encontrar que quedan muy pocos con quienes compartir el pasado. Los viejos se van. Los jóvenes no tienen interés. Ud. está aquí, como una columna rota en un campo de trigo, sus triunfos olvidados, las manos que lo criaron convertidas en polvo sembrado por el viento.

Morris West (1916 -1999)

The Salamander. New York: Pocket Book, 1974, p 131