

PREMIO NOBEL DE MEDICINA 2012

Alfredo Martínez

La biología es una de esas disciplinas que se resisten a los dogmas. A pesar de ello, los científicos siempre han tenido la tentación de definir dichos dogmas, es decir amplias teorías que supuestamente deberían explicar definitivamente cómo funcionan los seres vivos o algunas de sus funciones; quizás porque da más prestigio ser el «padre» de un dogma que el de una mera hipótesis. Pero la naturaleza siempre se ha guardado algún as en la manga para tirar por tierra estas construcciones teóricas y sorprendernos con la abigarrada variedad que forma la esencia misma de la vida. Un buen ejemplo es el de la teoría conocida nada menos que con el pomposo nombre de «dogma central de la biología», que postula que la información genética fluye siempre en el mismo sentido: del DNA al RNA y, de este, a las proteínas. En sentido general, esta teoría es correcta, pero pocos años después de ser propuesta se descubrió la existencia de virus que tenían un genoma compuesto únicamente de RNA y de la transcriptasa inversa, un enzima que traduce el RNA de estos virus a DNA cuando el virus infecta a una célula hospedadora. Por lo tanto, el flujo de la información genética tam-

bién podía ir en sentido contrario, sacándoles los colores a los que propusieron un nombre tan llamativo como inexacto.

Algo parecido ha sucedido con las hipótesis de la diferenciación celular y, precisamente, el premio Nobel 2012 de Fisiología y Medicina fue concedido a los investigadores que consiguieron romper definitivamente las concepciones establecidas sobre este punto.

CÉLULAS MADRE Y DIFERENCIACIÓN CELULAR

La visión «clásica» de la diferenciación celular se puede expresar de la siguiente forma: todos los seres vivos comenzamos a partir de una única célula, el huevo o cigoto. Por lo tanto, esta célula tiene la capacidad de originar a todas y cada una de las células que componen el organismo adulto. A medida que el cigoto se divide y van apareciendo nuevas células «hijas», estas van limitando progresivamente la capacidad de generar tipos celulares; así habrá células que puedan dar origen a las células del sistema nervioso, otras que puedan producir las células del hígado, otras que generen las células del epitelio respiratorio, y así sucesivamente, hasta llegar a las células completamente diferenciadas que están especializadas en realizar una función concreta pero que o no se pueden dividir (como es el caso de las neuronas) o solo pueden dividirse para dar células idénticas a ellas mismas (como las células de la piel, por ejemplo).

A partir de esta visión del desarrollo embrionario se utiliza el concepto de «célula madre» para clasificar a las células según su capacidad de generar otras células. Así nos

encontramos con las células madre «totipotentes», que son aquellas que pueden dar cualquier célula del organismo. Este grupo incluye obviamente al cigoto, pero también a las primeras células del embrión hasta llegar a la fase de blastocisto, ya que cada una de ellas tiene la misma capacidad de diferenciación. A medida que las células van restringiendo su posible descendencia tendremos células «pluripotentes», «multipotentes» o «unipotentes», hasta llegar a las células plenamente diferenciadas.

En animales de vida corta, como puede ser el caso del gusano *Caenorhabditis elegans*, un modelo muy usado en el laboratorio para estudios genéticos, la capacidad de diferenciación celular se agota con el fin del desarrollo embrionario. Sin embargo, en organismos con una vida más larga (como es nuestro caso) es necesario mantener pequeños retenes de células con cualidades de células madre para reparar las células y los tejidos que se dañen a lo largo de la vida y sustituir a aquellas células que se desgasten por el uso. El primero en darse cuenta de este fenómeno fue Alexander Maximow, hace ya más de cien años, al describir el proceso de hematopoyesis, es decir la formación de las células sanguíneas a partir de células madre presentes en la médula ósea en personas adultas (1). Por cierto, es a Maximow a quien le debemos también el término de «células madre». Algo parecido sucede con las células de la piel, que están expuestas al roce y a los elementos y que necesitan ser reemplazadas; con las células del intestino y del tubo digestivo, que también están expuestas al paso de los alimentos; y con todas las células que deben ser renovadas periódicamente.

Durante muchos años se pensó que había órganos adultos que carecían de células madre residentes y que, por lo tanto, eran incapaces de acometer ninguna reparación celular. El caso más conocido es el del cerebro. Sin embargo, hoy sabemos que incluso el cerebro cuenta con dos áreas donde encontramos células madre que contribuyen a fenómenos de producción de nuevas neuronas. Una de estas áreas es el hipocampo, una zona del cerebro encargada de la memoria visual. De alguna manera, los mapas mentales que tenemos de la zona que nos rodea (como, por ejemplo, cuando nos aprendemos el camino de casa al trabajo) tienen una correlación directa con las neuronas del hipocampo; de forma que si nos cambiamos de ciudad y tenemos que aprendernos los nuevos itinerarios, esto implica la formación de nuevas neuronas en el hipocampo y, para ello, hay células madre que se encargan de esta función. La otra zona del cerebro que también produce células madre es la zona subventricular, una región especializada de la pared lateral anterior de los ventrículos laterales. Muchos de los precursores neuronales que se producen en esta zona viajan a través de la corriente migratoria rostral hasta llegar al bulbo olfatorio, donde se diferencian a neuronas especializadas en la captación de estímulos olfativos. A todas estas células presentes en el organismo adulto y que son capaces de reparar órganos y tejidos se les ha dado el nombre de «células madre adultas».

¿ES LA DIFERENCIACIÓN UN PROCESO UNIDIRECCIONAL?

Esta era, desde luego, la visión de los biólogos especializados en estudiar el desarrollo embrionario durante la prime-

ra mitad del siglo XX. Y esta es la convicción que vino a sacudir el primero de los galardonados con el premio Nobel del año pasado. John B. Gurdon nació en 1933 en Dippenhall, Inglaterra. Se doctoró en la Universidad de Oxford y, después de una estancia postdoctoral en el Instituto de Tecnología de California, obtuvo la cátedra de Biología Celular en la Universidad de Cambridge, donde todavía continúa sus investigaciones en la actualidad. La hipótesis de la que partió es muy simple: si todas las células poseen una copia íntegra del DNA en su núcleo, deben contener todas las instrucciones necesarias para desarrollar un organismo completo aunque se encuentren en un estadio muy diferenciado. Para probar esta hipótesis, sustituyó el núcleo de un huevo de rana por el núcleo de una célula especializada, en concreto del intestino de un renacuajo. El resultado fue un renacuajo completo que se desarrolló sin problemas dando una rana adulta y perfectamente normal (2). Para lograr esto, el núcleo debía haber revertido su estado de diferenciación y haberse convertido en el núcleo de una célula madre totipotente. Además de demostrar que las células podían desdiferenciarse, Gurdon consiguió con el mismo experimento abrir el camino de la clonación de vertebrados, ya que la rana resultante era genéticamente idéntica a la que había donado su célula intestinal. De hecho, el mayor problema técnico en una clonación es conseguir que la célula del donante se desdiferencie suficientemente para que sea capaz de iniciar todo el programa de desarrollo que lleva a un organismo adulto completo.

El descubrimiento de Gurdon encontró un abierto escepticismo en la comunidad científica de los años sesenta, y

hubo que esperar hasta que varios grupos repitieron los mismos experimentos, confirmando así la veracidad de las observaciones iniciales. De hecho, el premio Nobel ha llegado exactamente cincuenta años después de que se publicara el artículo original en 1962. Afortunadamente, el profesor Gurdon publicó ese trabajo siendo aún muy joven y ha podido ver su trabajo coronado por la máxima distinción científica (el premio Nobel nunca se concede a título póstumo).

La investigación de Gurdon nos enseñó que el núcleo de una célula madura y especializada puede ser obligado a volver a un estado inmaduro y pluripotente, pero estos experimentos implicaban la manipulación del núcleo con micropipetas y su transferencia de una célula a otra, pero ¿es posible convertir una célula madura intacta en una célula madre?

UN VIAJE DE IDA Y VUELTA;
EL REJUVENECIMIENTO DE CÉLULAS DIFERENCIADAS

Esta pregunta la resolvió precisamente el otro científico galardonado con el premio Nobel de 2012, el profesor Shinya Yamanaka que, curiosamente, nació en Osaka (Japón) el mismo año en que Gurdon publicaba su artículo sobre los renacuajos, en 1962. Yamanaka cursó estudios de medicina en la Universidad de Kobe, se doctoró en Osaka y trabajó en los Institutos Gladstone de San Francisco (USA) y en el Instituto de Ciencia y Tecnología de Nara (Japón). Actualmente es profesor de la Universidad de Kioto. El laboratorio de Yamanaka trabajaba con células madre embrionarias de ratón. Estas pueden mantenerse en el laboratorio en condiciones de totipotencialidad indefinidamente, siempre

que se les proporcione los cuidados necesarios. Yamanaka y su estudiante predoctoral se plantearon buscar qué genes eran necesarios para mantener estas células en estado inmaduro. Después de probar varios cócteles de genes, descubrieron que la expresión de cuatro de ellos (*Oct3/4*, *Sox2*, *c-Myc* y *Klf4*) era suficiente para transformar un fibroblasto (célula diferenciada del tejido conjuntivo) en una célula madre pluripotente (3). La expresión de estos genes se inducía por medio de vectores virales (material genético de un virus que se utiliza como lanzadera para transferir los genes de interés), y a las células así obtenidas se las denominó como «células madre pluripotentes inducidas» o iPS. A diferencia de lo que sucedió con el descubrimiento de Gurdon, el artículo de Yamanaka fue reconocido inmediatamente como un avance muy significativo que puede tener un gran impacto en muchas áreas de la medicina.

Otros investigadores han seguido profundizando en la metodología para preparar iPS y poderles dar una utilidad práctica. Uno de los problemas de la técnica de Yamanaka es el uso de vectores virales que terminan incorporándose al genoma de la célula. Si queremos utilizar las células reprogramadas para realizar trasplantes en personas aquejadas de enfermedades degenerativas (Alzheimer, Parkinson, diabetes, enfermedades neuromusculares, etc.), estas secuencias víricas suponen un problema serio ya que no sabemos qué consecuencias pueden tener una vez que se hayan introducido en el paciente. Para resolver este asunto, el grupo del profesor Rossi, en Harvard, consiguió reprogramar células adultas introduciendo moléculas de RNA mensajero sintético (4). El RNA mensajero es un compo-

nente de la célula que lleva la información del núcleo (DNA) al citoplasma. Al ser un mensajero de vida corta, las células se transforman pero luego esa señal se destruye de forma natural, dejando células pluripotenciales pero que no contienen ninguna modificación genética. Estas células se han denominado RIPS (células madre inducidas por RNA).

Otra cosa que debemos tener en cuenta es que no siempre necesitamos que la célula madre revierta hasta el estado de totipotencialidad, ya que normalmente necesitamos reemplazar un solo tipo celular (neuronas dopamínergicas en el Parkinson, células beta del páncreas en los diabéticos, células musculares, etc.). Por ello algunos autores están trabajando en definir cócteles de genes concretos para inducir las estirpes celulares deseadas a partir de fibroblastos y otras células de fácil obtención (5).

UTILIDAD PRÁCTICA DE ESTOS DESCUBRIMIENTOS

El trabajo con células madre ha capturado la imaginación colectiva tanto de los científicos como de los periodistas, los políticos y las personas de la calle en los últimos años. La promesa de poder generar un número ilimitado de células específicas abre la puerta al tratamiento de enfermedades que hasta el momento no han tenido soluciones eficaces. En principio cualquier enfermedad degenerativa, donde se produzca la pérdida progresiva de un tipo celular concreto, puede ser candidata al tratamiento con células madre. Dentro de este panorama, las células madre reprogramadas han venido a resolver varios de los problemas que se acumulaban en el campo de las células madre.

Por un lado, el uso de células madre embrionarias provocaba una serie de problemas de difícil solución. Desde el punto de vista médico, estas células tenían el problema de ser muy indiferenciadas y en varios casos se ha observado la producción de tumores en pacientes que recibieron células madre embrionarias para intentar resolver alguna enfermedad degenerativa (6). Para evitar la producción indeizada de tumores conviene utilizar células madre adultas o células madre inducidas por RNA (RiPS) dirigidas específicamente hacia el tipo celular que se necesita. Además, la obtención de células madre embrionarias se hacía a partir de embriones humanos que eran destruidos en el proceso, generando serias discusiones bioéticas. Aunque este tema se discute más a fondo en otro artículo de este mismo número, es importante resaltar que las células madre inducidas han resuelto de un plumazo la discusión bioética sobre este punto, ya que hacen completamente innecesario el uso de células madre obtenidas de embriones.

Por otro lado, cuando se usan células madre obtenidas de donantes diferentes de la persona receptora debemos tener en cuenta las posibles reacciones de rechazo inmunológico, de forma similar a lo que sucede con un trasplante de riñón o de cualquier otro órgano. A pesar de que las células madre no expresan gran cantidad de proteínas de superficie, este tema debe ser considerado. Las células madre inducidas también resuelven este problema, ya que se pueden obtener con relativa facilidad del propio paciente que necesita el trasplante, de forma que se evita cualquier rechazo inmunológico.

Como se puede ver, los últimos descubrimientos en células madre nos permiten obtener en el laboratorio cualquier tipo de célula que necesitemos para realizar terapias regenerativas. Sin embargo, hay una gran diferencia entre tener las células y disponer de una cura para la enfermedad de que se trate. Dependiendo del grado de complejidad del tejido a tratar, las terapias celulares pueden suponer una mayor o menor esperanza. Entre los tejidos de menor complejidad tenemos el páncreas. Se ha comprobado que un trasplante de células beta, productoras de insulina, no necesita ni siquiera estar localizado en el páncreas de la persona receptora. Estas células pueden estar localizadas en cualquier lugar del cuerpo (cuello, axila, testículo, etc.) y seguir ejerciendo su función. Con tal de que les llegue un flujo continuo de sangre, estas células son capaces de captar la concentración de glucosa y reaccionar lanzando su contenido en insulina. Por lo tanto, el tratamiento de pacientes diabéticos con células beta inducidas a partir de una pequeña biopsia del propio paciente tiene mucho futuro y es posible que empecemos a ver esta terapia en la clínica muy pronto. En el otro lado del espectro tenemos las enfermedades neurodegenerativas. Debemos considerar que las funciones neurales no dependen solo del número de neuronas presentes en una región del cerebro sino, fundamentalmente, del modo en que estas neuronas se conectan con el resto de células del cerebro a través de las sinapsis. A modo de ejemplo, una neurona puede llegar a establecer hasta 100.000 sinapsis (aunque la media oscila entre 5.000 y 10.000) con otras neuronas que a veces están separadas hasta varios metros de distan-

cia. Las conexiones neuronales se establecen durante el desarrollo embrionario del sistema nervioso a través de un complejo abanico de señales químicas y de posicionamiento físico a medida que el cerebro adquiere su forma y tamaño. Por lo tanto, podemos considerar la inyección de neuronas en el cerebro de una persona con la enfermedad de Alzheimer o Parkinson y es muy posible que estas células se integren en el cerebro y permanezcan vivas, pero es prácticamente imposible que establezcan correctamente las conexiones de las células originales. Por ello hay que ser muy cauto a la hora de dar esperanzas a los pacientes que sufren estas enfermedades y a sus familiares, ya que a día de hoy las probabilidades de que dicha terapia funcione son muy bajas. De todas formas, hasta hace unos pocos años también era ciencia ficción la reprogramación celular. Esperemos que el premio Nobel de dentro de unos años se otorgue a quien haya sido capaz de resolver este acuciante problema biológico. ■

REFERENCIAS

- ¹ Maximow A 1909 Analyses concerning blood and connective tissue. I. The early development stages of blood and connective tissue cells in the mammal embryo, to the beginning of blood formation in the liver. Archiv Fur Mikroskopische Anatomie Und Entwicklungsgeschichte 73:444-U28.
- ² Gurdon JB 1962 The developmental capacity of nuclei taken from intestinal epithelium cells of feeding tadpoles. J Embryol Exp Morphol 10:622-640.
- ³ Takahashi K, Yamanaka S 2006 Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. Cell 126:663-676.
- ⁴ Warren L, Manos PD, Ahfeldt T, Loh YH, Li H, Lau F, Ebina W, Mandal PK, Smith ZD, Meissner A, Daley GQ, Brack AS, Collins JJ, Cowan C, Schlaeger TM, Rossi DJ 2010 Highly efficient reprogramming to pluripo-

- tency and directed differentiation of human cells with synthetic modified mRNA. *Cell Stem Cell* 7:618-630.
- ⁵ Tian C, Ambroz RJ, Sun L, Wang Y, Ma K, Chen Q, Zhu B, Zheng JC 2012 Direct conversion of dermal fibroblasts into neural progenitor cells by a novel cocktail of defined factors. *Curr Mol Med* 12:126-137.
- ⁶ Amariglio N, Hirshberg A, Scheithauer BW, Cohen Y, Loewenthal R, Trakhtenbrot L, Paz N, Koren-Michowitz M, Waldman D, Leider-Trejo L, Toren A, Constantini S, Rechavi G 2009 Donor-derived brain tumor following neural stem cell transplantation in an ataxia telangiectasia patient. *PLoS Med* 6:e1000029.