

**REPROGRAMAR LAS CÉLULAS.
PREMIO NOBEL EN FISIOLÓGÍA O MEDICINA
2012**

*Comunicación efectuada
por el Académico Titular Dr. Guillermo Jaim Etcheverry
en la Academia Nacional de Ciencias de Buenos Aires,
en la sesión plenaria del 3 de diciembre de 2012*

REPROGRAMAR LAS CÉLULAS. PREMIO NOBEL EN FISIOLOGÍA O MEDICINA 2012*

Dr. GUILLERMO JAIM ETCHEVERRY

Contrariamente a lo que se sostuvo durante mucho tiempo, las células maduras no necesariamente permanecen especializadas de manera definitiva sino que pueden recuperar su condición de pluripotencia mediante diversas estrategias de reprogramación. Esta comprobación, lograda en gran medida por los trabajos de los científicos que recibieron el Premio Nobel en Fisiología o Medicina 2012, modificó de manera radical nuestras concepciones sobre el desarrollo y la diferenciación celulares. Esos hallazgos no sólo obligaron a reescribir los libros de texto de biología sino que generaron nuevas oportunidades para estudiar la fisiopatología de varias enfermedades así como para desarrollar de métodos originales para su diagnóstico y tratamiento.

Se calcula que en el ser humano adulto hay casi 60 trillones de células, entre las que se han identificado alrededor de 200 tipos diferentes. Lo curioso es que todos esos tipos diferentes tienen su origen en una única célula huevo, que es la que resulta de la unión del óvulo con el espermatozoide. El ADN de esa célula contiene, pues, el programa genético con el conjunto de las instrucciones que permiten generar un individuo completo cuyos órganos son muy diferentes entre sí y que cumplen funciones específicas. Como una célula de mamífero contiene alrededor de 30.000 genes, se puede imaginar que la célula huevo posee un manual de instrucciones de 30.000 páginas. El hecho decisivo es que se trata de una célula pluripotente que, al multiplicarse, es capaz de dar origen a todos esos tipos diferentes que se especializan para cumplir determinadas funciones. En el individuo adulto, algunas de sus células, las células madre, conservan esa ca-

* Esta presentación estuvo basada en el editorial que el autor publicó en la revista *Medicina* (Buenos Aires) 2012, 72:533-536.

pacidad de diferenciarse en otros tipos, es decir, conservan la pluri-potencialidad.

¿De qué manera la célula huevo transmite a sus hijas las instrucciones en sus sucesivas divisiones? En teoría hay dos alternativas: que cada célula hija reciba sólo las páginas necesarias que le indican como especializarse o, por el contrario, que todas hereden el manual completo y luego, de alguna manera, cada célula reciba señales que la lleven a leer sólo ciertas páginas de ese manual. En términos más correctos, a transcribir (a copiar) ciertos genes.

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. Es decir que, 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 sólo recibían las páginas que requerían para diferenciarse. Sin embargo, Hans Spemann, Premio Nobel en Medicina 1935, ya por entonces 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 calificaba de “fantástico”.

Robert Briggs y Thomas King, dos conocidos investigadores británicos, intentaron ese experimento a comienzos de la década de 1950 trasplantando el núcleo de una célula de rana a un huevo fertilizado de la misma especie, a la que previamente se le había quitado su propio núcleo. Consiguieron obtener renacuajos sólo cuando empleaban núcleos provenientes 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.

El británico John Gurdon tenía interés en dedicarse a la ciencia pero, cuando tenía quince años, fue disuadido de hacerlo por su pro-

¹ Waddington CH. The strategy of the genes; a discussion of some aspects of theoretical biology 1957; Allen & Unwin.

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.

fesor de biología. Esa opinión negativa hizo que el joven se dedicara a estudiar latín y griego pero, al intentar ingresar en Oxford, fue también desalentado. Eso motivó su regreso a la zoología y, por una circunstancia casual, terminó en el laboratorio del embriólogo Michael Fischberg. Fue éste quien le sugirió repetir los estudios de Briggs y King pero utilizando otra especie de rana, la *Xenopus*. Gurdon logró concretar en 1962 el “experimento fantástico” de Spemann el que, con justicia, rápidamente adquirió la condición de clásico³. Pudo demostrar que si se aislaba el núcleo de una célula madura del intestino de un renacuajo y se lo inyectaba en un ovocito de rana –cuyo propio núcleo había sido previamente eliminado mediante radiación ultravioleta– se lograba el desarrollo de un renacuajo completo. Es decir, que la célula intestinal, a pesar de estar ya diferenciada, conservaba una copia de todas las instrucciones necesarias para desarrollar un individuo completo. Se postuló entonces la existencia de moléculas específicas que serían las 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. El citoplasma del ovocito receptor del núcleo de la célula intestinal adulta, debe contener esas señales capaces de “reprogramar” los genes, de manera tal que todos ellos puedan ser nuevamente leídos.

Estos hallazgos fueron recibidos con gran escepticismo por la comunidad científica especialmente porque los resultados de un joven sin experiencia contradecían los obtenidos por respetadas figuras de la embriología. Sin embargo, los resultados fueron luego confirmados utilizando el trasplante del núcleo de células intestinales de ranas adultas. Los estudios de Gurdon generaron una intensa actividad de investigación cuya culminación fue 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 adulta, 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. Esta experiencia demostró, además, que el producto de la

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

clonación era fértil ya que Dolly tuvo cría. Estos hallazgos fueron tan importantes que se justifica que, en medios se comentara que Wilmut debería haber compartido el Premio Nobel otorgado en 2012. De todos modos, a esta altura resulta ya evidente 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 haya sido otorgado casi medio siglo después de realizados esos experimentos.

Tampoco resulta sorprendente que haya compartido esa distinción con el japonés Shinya Yamanaka, nacido el mismo año en que Gurdon publicó sus resultados fundamentales. Al cabo de una accidentada carrera que él mismo ha descrito en numerosas ocasiones, 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 que caracterizan a la célula huevo: la de proliferar dividiéndose activamente y la capacidad de dar origen a cualquier célula del organismo, es decir, su pluripotencia.

En 2007 el Premio Nobel fue concedido a Sir Martin Evans quien logró identificar y aislar las células madre de embriones de ratón en estadios precoces⁵. 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 que era considerado como posible merecedor del Premio Nobel en este campo⁷. A nadie escapaba el enorme potencial de ese resultado para la medicina. Sin embargo, surgieron de inmediato dos problemas de índole muy diversa: 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, como provenían de otro diferente, experimentarían el rechazo inmunológico.

La originalidad de Yamanaka consistió en pensar que estas cuestiones podrían resolverse si se lograba conseguir células que se com-

⁵ Jaim Etcheverry G. Premio Nobel en Fisiología o Medicina 2007: Diseñando genomas de ratón. Medicina (Buenos Aires) 2008; 68: 93-6.

⁶ Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, Jones JM. 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 08, 2012

portaran como las células madre embrionarias pero partiendo de células especializadas del mismo individuo adulto. Se superarían así ambos problemas: no se requerirían embriones y tampoco se generaba rechazo. Gurdon lograba reprogramar el núcleo de una célula adulta aislándolo e introduciéndolo con una micropipeta en un ovocito previamente enucleado. ¿Se podría simplificar ese procedimiento haciendo que una célula adulta regresara hacia atrás en el tiempo, es decir, que volviera a ser pluripotente? El desafío que se propuso Yamanaka fue el de “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 habían demostrado 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. El paso inicial consistió en comprender 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 demostrar si alguno de ellos era capaz de reprogramar a las células maduras convirtiéndolas en pluripotentes.

Estudios del grupo de Yamanaka permitieron seleccionar 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 atrevido, 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. Tras un laborioso trabajo que consistió en ir reduciendo uno a uno esos factores de transcripción, en 2006 se logró identificar un grupo de cuatro (inicialmente los denominados 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. Las células así obtenidas se denominaron células iPS (células madre pluripotentes inducidas) caracterizadas por la capacidad de multiplicarse así como por la

potencialidad de generar muy diversos 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. Los resultados de esos estudios realizados por los grupos de Yamanaka y de Thomson se publicaron simultáneamente (ver detalle en nota 9).

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– y 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^{10, 11}.

Al recibir esa distinción Yamanaka señaló: *“la ciencia es un proceso que nos permite recorrer 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 sólo el afortunado sea reconocido”*.

Al reaccionar ante la noticia de haber sido galardonado con el Premio 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”*.

La 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 diferencia-

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* (Buenos Aires) 2008; 68 181-3.

¹⁰ Gurdon J. Nuclear reprogramming in eggs. *Nature Medicine* 2009; 15: vii-x.

¹¹ Yamanaka S. *Ekiden* to IPS cells. *Nature Medicine* 2009; 15: xi-xiv.

das, 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 pocos 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 imaginadas.