

EDITORIAL

RETORNANDO AL PASADO: 60 AÑOS EN EL ENTENDIMIENTO DE CÓMO LAS CÉLULAS Y LOS ORGANISMOS SE DESARROLLAN

“Si usted está realmente interesado en algo, siga adelante - no se rinda”. Profesor John Gurdon.

ORIETTA BELTRÁN, MD, MSc¹

¹MÉDICA, MSc GENÉTICA HUMANA. PROFESORA ASISTENTE UNIVERSIDAD MILITAR NUEVA GRANADA, FACULTAD DE MEDICINA. BOGOTÁ, COLOMBIA.

Correspondencia: orietta.beltran@unimilitar.edu.co

El primer intento de reprogramar una célula somática a una célula pluripotente se realizó en 1.952 cuando Robert Briggs y Thomas King (1) transfiriendo exitosamente núcleos de blastocitos en ovocitos de *Rana pipiens* obteniendo embriones viables. Sin embargo, ellos dedujeron que la técnica de transferencia nuclear somática (SCTN) no era aplicable en células diferenciadas por el carácter irreversible de los procesos de diferenciación. Posteriormente, en 1.962 el biólogo John Gurdon de la Universidad de Cambridge hizo un descubrimiento revolucionario: demostró la formación de embriones que se desarrollaron en renacuajos de *Xenopus laevis* a partir de la transferencia de núcleos de células intestinales de ranas adultas en ovocitos, evidenciando que los genomas de las células somáticas mantienen su capacidad de generar organismos clonados viables y evidenciando que el proceso de diferenciación es un mecanismo reversible mediante la reprogramación nuclear debida a modificaciones epigenéticas regulado por la existencia de factores, -no identificados-, que inducen la pluripotencia. Adicionalmente, otra de las observaciones de John Gurdon fue que los genes no se perdían, sino que tenían una expresión diferencial (2,3,4). Tres décadas más tarde, en 1.996, el embriólogo Ian Wilmut y colaboradores (5) lograron la clonación exitosa en un mamífero, la oveja Dolly, la cual fue seguida de la clonación de vacas, cerdos, ratones, cabras, conejos y gatos, así como la clonación con una menor eficiencia en ratas, primates no humanos y perros por varios investigadores (6,7,8).

Adicionalmente, en 1.998 el biólogo James Thomson de la Universidad de Wiconsin logró el aislamiento y caracterización de células madre embrionarias humanas

(9), lo cual señaló la gran posibilidad de utilizarlas para aplicaciones medicas a través de la obtención *in vitro* de líneas celulares de todos los linajes, como por ejemplo cardiomiocitos, osteoblastos, condrocitos, hepatocitos y neuronas. Pero las preocupaciones éticas en torno a la investigación con células madre embrionarias son controversiales, debido a que habitualmente se extraen mediante la destrucción de embriones humanos que las clínicas de fertilidad descartan. Igualmente, la técnica de SCTN tiene implicaciones éticas, debido a la cuestionable necesidad de utilizar numerosos ovocitos. Otra de las desventajas técnicas de la SCTN son su eficiencia baja (1-4%) y la confirmación de anomalías cromosómicas estructurales en algunas líneas celulares obtenidas lo que hace que sea una herramienta limitada en la producción de células o tejidos autólogos para uso terapéutico (6). Sin embargo, un aporte trascendental de la clonación de organismos a través de técnica SCTN, fue que demostró que cuando un núcleo es transferido en el citoplasma de los ovocitos, se producen cambios en la estructura de la cromatina que regulan de manera reversible la diferenciación, constituyéndose en una importante prueba de la plasticidad del desarrollo (6,8).

Por otra parte, otros investigadores aplicaron la técnica de fusión de células somáticas con células madre embrionarias, para obtener células pluripotentes. Richard Miller y Frank Ruddle en 1976, utilizando esta técnica demostraron que timocitos de ratón adquirían pluripotencia luego de la fusión celular con células de carcinoma embrionarios (9). Uno de los estudios más interesantes fueron de Chad Cowan y colaboradores en 2005, quienes lograron fusionar fibroblastos humanos con células madre embrionarias humanas,

obteniendo células híbridas con características morfológicas y expresión génica de patrones típicos de células madre embrionarias como los genes involucrados en la pluripotencia (Oct4, Nanog, TDGF1 y Rex1), con un silenciamiento específico de los genes del estado somático en todo el genoma y la evidencia de cambios epigenéticos en el promotor de Oct4 (10).

Sin embargo, un descubrimiento espectacular ocurrió en 2006 cuando Shinya Yamanaka y Kazutochi Takahashi, investigadores del Departamento de Biología de Células Madre de la Universidad de Kyoto en Japón, determinaron que la transfección viral de cuatro genes (Oct4, Sox2, KLF4 y c-Myc, abreviados OSKM) en fibroblastos de ratón adulto generaba células con las características de células madre embrionarias, las cuales denominaron células madre pluripotentes inducidas (iPS) (11); y que éstos mismos factores son requeridos en la generación de iPS humanas a partir de fibroblastos humanos (12). Las células resultantes no parecen ser sustancialmente diferentes de las células madre embrionarias y eventualmente puede proporcionar una fuente adecuada de diferentes tipos celulares específicos para cada paciente (13).

El legado científico de John Gurdon y Shinya Yamanaka de que la diferenciación celular no es un proceso unidireccional e irreversible ha implicado el avance en el conocimiento de la biología de las células madre y los mecanismos de regulación epigenética. La inducción de pluripotencia a través de factores específicos, a veces llamados “los factores de Yamanaka”, ha permitido una transición rápida en el uso de células madre pluripotentes inducidas en el estudio de modelos fisiopatológicos, descubrimiento de genes y medicamentos, estudios del desarrollo embrionario y la diferenciación, así como una potencial fuente de terapia celular y de las líneas celulares específicas de enfermedades para evaluar posibles blancos y agentes terapéuticos.

Recientemente, la Asamblea de los Premios Nobel anunció que John Gurdon junto con Shinya Yamanaka han sido galardonados con el Premio Nobel de Fisiología o Medicina en 2012, por demostrar que las células diferenciadas adultas pueden ser reprogramadas para convertirse en células inmaduras “madre”, capaces de desarrollar todos los tejidos del cuerpo (14).

El reto actual de los investigadores en el campo de la Células Madre y la Medicina Regenerativa es entender el funcionamiento molecular de la pluripotencia tanto a nivel genético y epigenético, e incrementar la eficiencia y la seguridad de las técnicas de reprogramación nuclear en la aplicación clínica de las iPS.

Referencias

1. Briggs R, King TJ. *Transplantation of Living Nuclei From Blastula Cells into Enucleated Frogs' Eggs*. Proc Natl Acad Sci U S A. 1952 May;38(5):455-63.
2. Gurdon JB. *The developmental capacity of nuclei taken from intestinal epithelium cells of feeding tadpoles*. J Embryol Exp Morphol. 1962 Dec;10:622-40.
3. Gurdon JB. *The transplantation of nuclei between two species of Xenopus*. Dev Biol. 1962 Aug;5:68-83.
4. Gurdon JB. *Adult frogs derived from the nuclei of single somatic cells*. Dev Biol. 1962 Apr;4:256-73.
5. Campbell KH, McWhir J, Ritchie WA, Wilmut I. *Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line*. Nature. 1996 Mar 7;380(6569):64-6.
6. Wilmut I, Beaujean N, de Sousa PA, Dinnyes A, King TJ, Paterson LA, Wells DN, Young LE. *Somatic cell nuclear transfer*. Nature. 2002 Oct 10;419(6907):583-6.
7. Byrne JA, Pedersen DA, Clepper LL, Nelson M, Sanger WG, Gokhale S, Wolf DP, Mitalipov SM. *Producing primate embryonic stem cells by somatic cell nuclear transfer*. Nature. 2007 Nov 22;450(7169):497-502.
8. 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 Nov 6;282(5391):1145-7. Erratum in: Science 1998 Dec 4;282(5395):1827.
9. Wilmut I, Paterson L. *Somatic cell nuclear transfer*. Oncol Res. 2003;13(6-10):303-7.
10. Miller RA, Ruddle FH. *Pluripotent teratocarcinoma-thymus somatic cell hybrids*. Cell. 1976 Sep;9(1):45-55.
11. Cowan CA, Atienza J, Melton DA, Eggan K. *Nuclear reprogramming of somatic cells after fusion with human embryonic stem cells*. Science. 2005 Aug 26;309(5739):1369-73.
12. Takahashi K, Yamanaka S. *Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors*. Cell. 2006 Aug 25;126(4):663-76.
13. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, Yamanaka S. *Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors*. Cell. 2007 Nov 30;131(5):861-72.
14. Gurdon JB, Melton DA. *Nuclear reprogramming in cells*. Science. 2008 Dec 19;322(5909):1811-5.
15. Vogel G, Normile D. Nobel Prize in physiology or medicine. *Reprogrammed cells earn biologists top honor*. Science. 2012 Oct 12;338(6104):178-9.