



En 1985 se estrenó "Volver al futuro", una película que en la pantalla grande recreaba hechos que escapaban a la realidad, como la construcción de una máquina del tiempo. De hecho, un viaje al pasado sólo puede hacerse por medio del conocimiento transmitido de generación en generación. Una mirada al pasado puede servir para indagar más a fondo y aguzar la mirada de cara al futuro. Un futuro que debería estar abierto a nuevas visiones, sin que ello signifique dejarse cegar por la euforia. Lo dicho se aplica, en especial, a la investigación genética que tiene en vilo

biólogo de la época que tiene un manifiesto rechazo por las matemáticas, razón por la cual termina devolviendo los estudios de Mendel con un comentario negativo. En 1865, su trabajo finalmente es publicado por la asociación que agrupa a los naturalistas de Brünn, pero sin mayor repercusión. En el año 1900, la casualidad catapultó a Mendel a la notoriedad científica. Desde entonces, las leyes de Mendel y los principios matemáticos que las sustentan atormentan a generaciones enteras de estudiantes ¿Qué mecanismos permiten la herencia? Las estructuras básicas que parti-

Atrapando genes

¿Es posible reprogramar células?

al hombre, como ninguna otra rama de las ciencias del presente. ¿Pero qué es realmente lo interesante en la investigación genética tanto del presente como del pasado?

MEDEL Y SU RECUENTO DE GUISANTES

Comencemos nuestro viaje al pasado en 1864, en los jardines del monasterio agustino de la ciudad de Brünn, la actual Brno en República Checa, donde el monje Johann Gregor Mendel realiza ensayos de cruzamiento en guisantes y otros vegetales. En el curso de sus experimentos halla ciertos patrones, que le indican que determinadas características se transmiten de generación en generación. Mendel envía su trabajo a un renombrado

científico del proceso, los cromosomas, son descubiertas y estudiadas por Walter Fleming en la década de 1880. En ese momento nadie sospecha siquiera que pudieran estar relacionadas con la herencia. Ya en 1869, Friedrich Miescher descubre el ácido desoxirribonucleico (ADN) en los núcleos de las células. Pero recién los avances científicos del siglo XX arrojan luz sobre las interrelaciones, iniciándose así la era de la genética.

En 1907 Thomas Hunt Morgan por primera vez experimenta con la cría de la mosca de la fruta o *Drosophila*. Morgan logra demostrar que los genes que se ali- →

A

Los cromosomas (aquí durante la división celular de una célula fibroblástica de ratón) representan la forma condensada del ADN. (Reconstrucción tridimensional; Instituto Max-Planck de Biología Celular).

→ nean a lo largo de los cromosomas son los portadores de la herencia. Pasan prácticamente cuarenta años hasta que el estadounidense Oswald Avery reconoce mediante sus experimentos, que el ADN debe ser el portador del material genético (**Fig. A**). En 1953 James Watson y Francis Crick proponen un modelo para el ADN, publicado en la revista científica NATURE. La figura representa la llamada doble hélice en la cual se entrelazan dos moléculas filiformes de ADN. Es la clave para comprender el código genético y representa un quiebre en materia de investigación genética. En 1962 ambos científicos reciben junto con Maurice Wilkins el premio Nobel de Medicina. Vemos que ha llevado casi cien años ensamblar las diversas piezas del rompecabezas. Pero ahora sabemos que el ADN está constituido por cuatro "letras" A, T, G y C, que representan las bases nitrogenadas: adenina, timina, guanina y citosina. La secuencia de las bases codifica, y por ende condiciona, la composición de las proteínas. Cada triplete de bases en el ADN codifica para un aminoácido en la proteína. En total se conocen veinte aminoácidos diferentes, que a su vez pueden recombinarse para formar 100.000 proteínas diferentes en el cuerpo humano. Las proteínas son a la vez principios activos y estructura de las células, y en definitiva gestan las características que permiten la vida. Los genes accionan controlando el momento y el lugar donde se elaboran ciertas

proteínas. Determinan así el comportamiento de las células y su desarrollo, entendido éste como la diferenciación que se opera entre las células. ¿Pero qué leyes influyen?

LA BÚSQUEDA DE MOSCAS DEFECTUOSAS

Para poder responder a los interrogantes planteados, con nuestra máquina del tiempo saltaremos al año 1980. En un artículo de NATURE, los biólogos Christiane Nüsslein-Volhard y Eric Wieschhaus hablan sobre los resultados de su trabajo en el Laboratorio Europeo de Biología Molecular de Heidelberg. Desde 1978 han realizado una búsqueda sistemática de genes mutados, es decir alterados, que influyen en el desarrollo embrionario de *Drosophila*. En exhaustivos cribados (*screening*) han estudiado bajo el microscopio la descendencia de miles de moscas (**Fig. B**), realizando un verdadero trabajo de Sísifo. Ambos científicos hallaron moscas con dos cabezas, una en cada extremo del cuerpo; otras a las que les faltaban segmentos en el tórax y en el abdomen o que en la cabeza en lugar de antenas presentaban un par de piernas. Los defectos hallados pueden subdividirse en tres categorías: los que influyen en la polaridad, es decir en la orientación del embrión, en su segmentación y en el posicionamiento de las estructuras dentro de un segmento. Según la hipótesis de ambos científicos, esta clasificación tripartita podría reflejar el ajuste fino y gradual en la construcción corporal durante la embriogénesis temprana. El artículo marca un momento crucial en la investigación de la embriología. Debido a sus importantes descubrimientos, en 1995 ambos científicos son distinguidos junto al estadounidense Edgard B. Lewis con el premio Nobel de Medicina.

Los trabajos de Christiane Nüsslein-Volhard y Eric Wieschhaus sólo estaban respaldados por el análisis descriptivo de fenotipos. Recién hacia fines de la década de 1980 los métodos biológico-moleculares de la **clonación de genes** hicieron posible la caracterización de muchos mutantes evolutivos a nivel molecular y, finalmente, probaron de manera unívoca que la hipótesis era correcta. Hasta ahora fueron descriptos aproximadamente 150 genes capaces de regular el desarrollo, que influyen en la morfología general de *Drosophila*.

Muchos genes codifican para los llamados **factores de transcripción**. Se trata de proteínas que señalan el camino desde la

"célula original" hasta las células especializadas. Poseen la capacidad de migrar al núcleo celular y de vincularse con su ADN para activar o desactivar genes. De este modo controlan la producción de las proteínas que la célula necesita para cumplir sus funciones específicas.

Ahora bien, no debemos partir del supuesto de que la pequeña mosca de la fruta *Drosophila* haya patentado la fórmula para el mecanismo del control del desarrollo que hemos descripto. Por eso, los investigadores buscaron **genes de control del desarrollo** en el material hereditario de otros organismos. Así, en el genoma de los animales vertebrados encontramos secuencias de bases que coinciden exactamente con las secuencias de los genes de control del desarrollo en *Drosophila*. Pero de esta homología estructural no puede concluirse una homología funcional directa; porque desde el punto de vista de la historia de la evolución, la mosca de la fruta es una veterana. Las secuencias homólogas podrían haber perdido hace tiempo su significado original, pero conservar idénticas estructuras. En un experimento clave, Peter Gruss y sus colaboradores del Instituto-Max-Planck de Química Biofísica de la ciudad de Gotinga demostraron que los genes que controlan el desarrollo de *Drosophila* también operan funcionalmente en el ratón. Por lo tanto, los mecanismos de control molecular se han conservado durante más de 600 millones de años de evolución. El análisis de genes homólogos a los genes de *Drosophila* ha sido una de las iniciativas más exitosas de la década de 1990 para comprender el control de la evolución de los vertebrados en el plano genético. Para poder realizar dichos experimentos tan reveladores, fue clave la obtención y el cultivo de células madre de embriones de ratón.

TOTI-, PLURI- Y MULTITALENTOS

¿Qué son las células madre? Hasta el estadio de ocho células (después de tres divisiones celulares), las células hijas que nacen del óvulo fertilizado pueden construir cada una por sí misma un organismo completo. Se dice que son **totipotentes**. Pero esta capacidad se pierde en estadios posteriores. Durante el llamado estadio de blastocito es posible obtener **células madre embrionarias** del interior de la masa celular.

Si bien estas células ya no son totipotentes, su potencial de diferenciación sigue siendo muy alto: en el transcurso del posterior desa-



▲ Una de las fuentes más interesantes para comprender el genoma humano es la comparación con el genoma de organismos modelo como el de la mosca de la fruta. Las funciones de muchos genes se conocen gracias a los experimentos realizados con la *Drosophila*. Los genes del hombre similares a las "moléculas del éxito", podrían ser buenos candidatos para desarrollar nuevos medicamentos.

rollo embrionario nacerán de ellas todos los tipos de células que se necesiten en el organismo. Por eso, los investigadores las llaman **pluripotentes**. Además, en muchos tejidos del organismo adulto encontraremos **células madres adultas** o **somáticas**. Ellas se ocupan de reemplazar a las células que mueren, para cada tipo de tejido específico. Así, por ejemplo, la piel se renueva íntegramente cada 14 días, lo cual es sumamente útil después de sufrir fuertes quemaduras solares. En la sangre se renuevan varios miles de millones de células en el transcurso de 24 horas y también se regenera el tejido muscular y el óseo, por ejemplo después de fracturarnos una pierna. Sin embargo, el potencial de desarrollo de estas células madre es limitado y por ende se las denomina **multipotentes**.

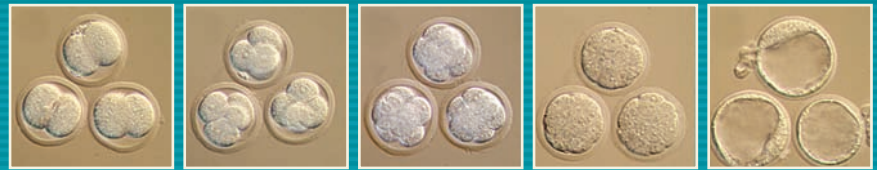
LA CIENCIA AL LÍMITE

En 1998 investigadores estadounidenses por primera vez lograron aislar células madre pluripotentes de embriones humanos, y agregando ciertas sustancias al medio de cultivo evitaron que siguieran su proceso de diferenciación. Así es posible conservar su pluripotencia, es decir su capacidad de desarrollarse en múltiples tipos celulares, durante un período más prolongado. Estos resultados alimentan la esperanza de que pudiera lograrse el reemplazo de órganos y tejidos dañados con auxilio de células madre y, por ende, tratar enfermedades como apoplejías, Parkinson, Alzheimer, osteoporosis, infarto del miocardio o diabetes. La enfermedad de Parkinson, por ejemplo, se expresa en la progresiva pérdida de neuronas que producen dopamina, un importante neurotransmisor. A partir de células embrionarias del ratón, los investigadores pudieron obtener neuronas que producen dopamina y utilizarlas para el tratamiento del mal de Parkinson en fase experimental con animales. La pregunta es si en el hombre pueden obtenerse similares resultados.

Hasta la fecha son escasos los laboratorios que realizan experimentos con células madre embrionarias. El número de hallazgos es proporcionalmente reducido. Además, las células madre de embriones humanos, como ya se ha demostrado, son más difíciles de manipular que las células madre de ratones. Si bien un equipo de investigadores de la Universidad de Harvard ha logrado que las células madre de embriones humanos evolucionasen en diferentes tipos celulares, luego se mezclaban en el conjunto de células aleatorias. Para que la terapia celular sea confia-



Los investigadores de células madre del departamento Max Schöler del Instituto Max-Planck de Medicina Molecular trabajan con células madre de embriones de ratón. Implantan el núcleo de una célula corporal en un óvulo (izq.). Lo llaman transferencia somática del núcleo. La secuencia de imágenes muestra desde la izquierda el desarrollo de los embriones clonados del ratón, desde el estado de dos células, pasando por el de cuatro y ocho, la mórula, hasta el de blastocito (150-200 células).



ble, primero se deben establecer condiciones que permitan producir poblaciones celulares de un único tipo. Además, las células madre embrionarias conllevan el riesgo de devenir en tumores benignos. Sin embargo, mediante el procedimiento de “selección de las células” debería ser posible aislar del cultivo aquellas células que ya están lo suficientemente diferenciadas y que ya no pueden degenerarse. Por otra parte, en un transplante puede producirse rechazo, porque las células no fueron extraídas del paciente transplantado. Se pueden utilizar sustancias farmacológicas que suprimen la respuesta inmunológica del propio cuerpo, los llamados inmunosupresores, pero al estar inmunosuprimido, el paciente será propenso a contraer enfermedades infecciosas y cáncer. De todo ello se desprende que todavía falta mucha investigación básica.

Justamente en este punto —que la ciencia profundice sus estudios sobre las células madre embrionarias— se ha producido un encendido debate. La elaboración de células es objeto de un fuerte debate ético. En estos momentos, las células embrionarias humanas se obtienen de embriones supernumerarios, resultado del proceso de fertilización artificial. Del tejido de fetos abortados también pueden obtenerse células pluripotentes, los gametos primordiales. Pero sus características no revisten la misma calidad que las células madre embrionarias.

DESCENDENCIA CLONADA

Otro camino para llegar a las células madre embrionarias consiste en la llamada **transferencia de núcleo celular (Fig. C)**. Este procedimiento registra al mismo tiempo el **principio de la clonación terapéutica**. El núcleo de una célula normal del cuerpo del paciente es implantado en un óvulo, al que previamente se le ha quitado el núcleo. Esta célula comienza a dividirse y crece hasta el estado de blastocito, que se toma para el cultivo de tejido. A continuación, las células madre embrionarias en crecimiento son guiadas a desarrollar determinados tipos de células, como por ejemplo células musculares o nerviosas. Como estas células y tejidos son propios del paciente, no deberían ser rechazados en un transplante posterior, siendo esta la gran ventaja del procedimiento. Si el embrión gestado por transferencia de núcleo es implantado en un organismo maternal, los investigadores hablan de **clonación reproductiva**, como es el caso de la oveja Dolly, la oveja más famosa del mundo. Lo científicamente revolucionario en Dolly fue la comprobación de que el citoplasma de un óvulo es capaz de “reprogramar” el núcleo de una célula del cuerpo y así recuperar su totipotencia. Para gestar a Dolly, los científicos de Edimburgo transfirieron núcleos de células de ubre de un animal donante a 277 óvulos. De los 29 embriones que se gestaron, sobrevivió uno solo: Dolly. La gran mayoría murió prematuramente o manifestó importantes →

EL ESCÁNDALO DE LA FALSIFICACIÓN



Prácticamente ningún otro escándalo científico generó tanto revuelo internacional como el caso del investigador coreano de células madre Hwang Woo-Suk. Según sus propias afirmaciones, en 2004 el coreano había logrado transferir el núcleo de una célula dérmica a un óvulo humano, creando por primera vez en la historia un embrión humano clonado.

Después, en mayo de 2005, los investigadores de la Seoul National University informaron que con ayuda de la técnica de la clonación habían logrado reproducir células madres hechas a la medida de los pacientes: un inédito avance en la clonación con fines terapéuticos. Con estos resultados, la curación de las enfermedades más graves parecía estar al alcance de la mano. Corea honró a sus investigadores de células madre como si fueran héroes nacionales. El gobierno de Corea llegó a dedicarles un sello postal (véase arriba). Sin embargo, en el transcurso del año 2005 comenzaron a multiplicarse las dudas sobre los resultados. En diciembre de 2005, una comisión investigadora de la Universidad de Seúl llegó a la conclusión de que los resultados eran falsos. De hecho, hasta la fecha no ha sido posible obtener líneas de células madre de un embrión humano clonado.

→ anomalías de crecimiento. Para que la clonación terapéutica sea realmente útil, deberá mejorarse mucho la eficiencia de la transferencia de núcleos.

¿NUEVOS PROGRAMAS PARA CÉLULAS ADULTAS?

Fueron principalmente científicos alemanes, los que a principios de esta década se centraron en las células madre adultas obtenibles de diversas fuentes de un cuerpo adulto. Sin embargo, los investigadores liderados por Thomas Braun, del Instituto Max Planck de cardiología y neumología en Bad Nauheim, no pudieron observar una reprogramación completa de células de médula ósea a células del músculo cardíaco o esquelético.

En 2006 el japonés Shinya Yamanaka, de la Universidad de Kyoto, logró reprogramar a las células del cuerpo (en este caso, las células epidérmicas de un ratón) de tal forma que se comportaron como células madre embrionarias. Con esto, se derrumbó un dogma de la biología con cien años de historia, que decía que ninguna célula especializada podría volver a ser algo diferente de lo que es. Para generar estos anhelados “talentos múltiples”, el equipo en torno a Yamanaka infiltró mediante virus, copias activas adicionales de apenas cuatro genes que normalmente están desactivados en las células. Una obra maestra digna de un detective, puesto que hasta entonces, ni siquiera se sabía si era posible reprogramarlas, y en tal caso, qué factores intervienen en el proceso. Solamente Yamanaka y sus colaboradores evaluaron 24 candidatos en todas las combinaciones

posibles, hasta que pudieron identificar los factores decisivos (los genes Oct4, Sox2, c-Myc y Klf4).

En 2009, el equipo dirigido por Hans Schöler, Director del Instituto Max Planck de Biomedicina Molecular en Münster, dio el gran golpe: mediante la adición de un solo factor, Oct4, los investigadores lograron convertir células madre adultas del cerebro de ratones en las llamadas células madre pluripotentes inducidas (células iPS). Sólo necesitaron un poco más de paciencia para que el proceso de reprogramación fuera completado. Oct4 parece desempeñar un papel clave: “El gen está activo en todas las células que llevan la vida de una generación a la siguiente, y que por ende son casi inmortales”, dice Schöler. Al parecer, Oct4, Sox2, y los otros genes y proteínas involucradas se regulan recíprocamente. Como lo hacen exactamente, aún sigue siendo un misterio.

UNA SALIDA AL DILEMA ÉTICO

No obstante, la técnica de reprogramación se vuelve cada vez más amigable en su utilización. Esto permitió que el equipo de Max Planck junto con científicos de California transformara células en las células iPS, sin el uso de virus y su respectiva carga de reprogramación genética. En lugar de eso, los científicos introdujeron las proteínas correspondientes directamente al interior de las células epidérmicas de ratones. Esto no es trivial, ya que, a escala molecular, las proteínas son muy grandes. Pero un truco ayudó: los investigadores unieron una pequeña cadena a proteínas previamente producidas en

bacterias para tal fin. Éste “Ticket” molecular facilita su entrada en las células. Según el conocimiento actual, la adición de proteínas no supone ningún riesgo; entre otras cosas porque son degradadas con bastante rapidez dentro de la célula. Los investigadores llamaron su nueva creación “células PIPS”, que es la sigla en alemán para “células madre pluripotentes inducidas por proteína”.

En el contexto de una aplicación terapéutica en seres humanos, parecería que uno de los problemas centrales de la reprogramación de células está resuelto. “Tenemos un pie en la puerta, pero el método debe ser mucho más eficiente”, aclara Hans Schöler. Para los pacientes con infartos de miocardio, diabetes, Parkinson u otras enfermedades, los investigadores esperan algún día poder tomar células y convertirlas en células iPS, que a su vez se reprogramen en el tipo celular deseado, sustituyendo de esta forma el tejido enfermo o lesionado por células frescas y vitales. Esa sería la solución ideal que, desde un punto de vista técnico, al menos a largo plazo ya no se presenta como una utopía y que a su vez resuelve el debate ético sobre las células madre. Así se dispondría finalmente de “piezas de repuesto” a partir de células tomadas de los propios pacientes y que no son rechazadas por su sistema inmunológico. ¿Cuándo se hará realidad esta visión? No lo sabemos, porque incluso con nuestra máquina del tiempo no es posible viajar al futuro. Última parada: presente.

PIE DE IMPRENTA

Sociedad Max-Planck, Departamento de Información y Relaciones Públicas, Hofgartenstraße 8, 80539 München / e-mail: presse@gv.mpg.de

Redacción: Dra. Christina Beck
edición actualizada

Traducción: Astrid Wenzel

Diseño: www.haak-nakat.de

La versión en español se hizo con el apoyo del DAAD y con fondos del Ministerio de Relaciones Exteriores de Alemania.



SIEMENS

DAAD Deutscher Akademischer Austausch Dienst
Servicio Alemán de Intercambio Académico

BASF
The Chemical Company

