



Identidad celular reprogramada

El descubrimiento de que la diferenciación celular puede revertirse desafió las teorías de cómo se determina la identidad de una célula y sentó las bases para los métodos modernos de reprogramación de la identidad celular, además de prometer nuevas terapias regenerativas.

Todas las células de un organismo provienen de una sola célula. A medida que avanza el desarrollo del organismo, estas se especializan cada vez más y realizan funciones definidas, lo que viene acompañado de la restricción de los potenciales destinos que podrían tener esas células. A fines del siglo XIX, el pensamiento predominante era que, cuando las células se diferencian en un tipo celular retienen solo la información heredable necesaria para mantener dicha identidad y función¹. Esto llevó a la teoría de que la diferenciación celular era un proceso irreversible (Figura 1a). El artículo pionero de John Gurdon publicado en *Nature*² sobre la reprogramación nuclear², desafió este dogma y brindó la base para el campo de la reprogramación celular actual.

El artículo de 1958 de Gurdon y sus colegas fue precedido por el de Robert Briggs y Thomas King³. Para investigar el potencial de desarrollo de las células diferenciadoras, Briggs y King utilizaron un método llamado transferencia nuclear, en el que se extrae el núcleo de una célula huevo y se reemplaza por un núcleo intacto de una célula diferente. Estos experimentos fueron una hazaña técnica que anteriormente solo se había logrado en organismos unicelulares⁴.

Utilizando este método en la rana leopardo (*Rana pipiens*), pudieron producir renacuajos normales y nadadores al reemplazar los núcleos de óvulos con núcleos de blastómeros, células de las primeras etapas de desarrollo embrionario³. Sin embargo, la transferencia de núcleos de células en etapas más avanzadas de diferenciación (por ejemplo gástrula) no logró el desarrollo de ranas normales⁵ (Figura 1b).

Los resultados de Briggs y King demostraron que los núcleos en los blastómeros no cambian irreversiblemente con la diferenciación. Sin embargo, también mostraron que, a medida que avanza el desarrollo, el potencial de los núcleos trasplantados para dar un

Traducción y adaptación
Pablo Adrián Otero

Este artículo es una traducción y adaptación del artículo: Cell identity reprogrammed. Autora: Samantha A. Morris. Publicado en *Nature* (2019) 575.

Figura de portada: Un clon de ranas macho albinas (genéticamente idénticas) obtenidas trasplantando núcleos de células de un embrión albino hasta huevos enucleados de la hembra mostrada.. (Fuente: Gurdon, J.B. (2013). The egg and the nucleus: a battle for supremacy. *Development* 140, 2449-2456).

Pablo A. Otero es biólogo (FCEN:UBA) y docente de biología.

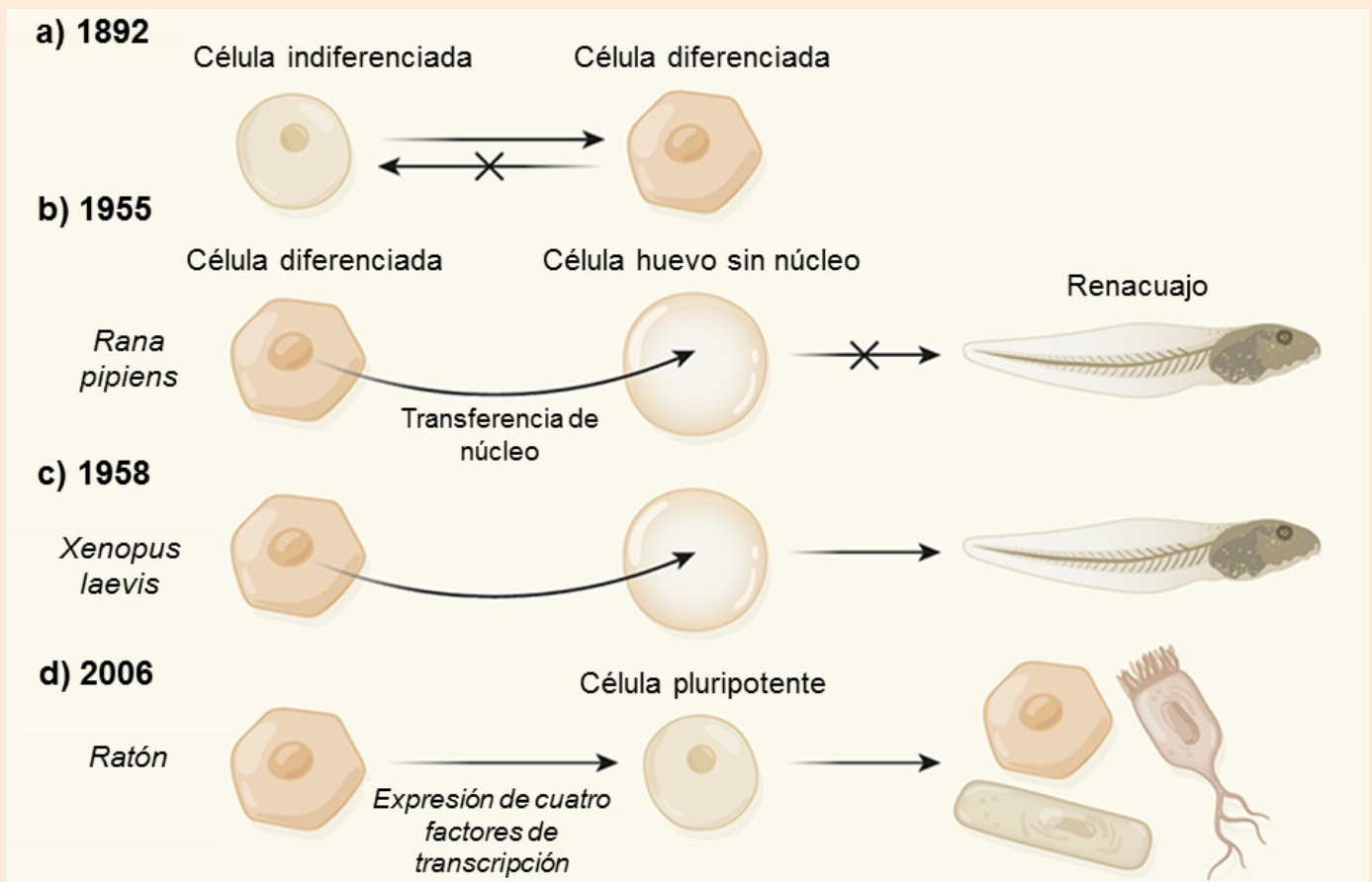


Figura 1: Hitos clave en la comprensión del potencial de las células diferenciadas. a) En 1892, Weismann propuso que las células embrionales en desarrollo se diferencian y retienen solo los genes necesarios para mantener la identidad de tipo celular, lo que convierte la diferenciación en un proceso irreversible¹. b) Al estudiar la rana leopardo (*Rana pipiens*), Briggs y King informaron⁵ en 1955 que los núcleos de las células diferenciadas que se transfirieron a una célula huevo enucleada no desarrollaban normalmente, en línea con lo propuesto por Weismann. c) En su artículo de Nature de 19582, Gurdon, Elsdale y Fischberg cuestionaron la idea de que el desarrollo es irreversible, informando que los núcleos derivados de células diferenciadas de la rana con garras africanas (*Xenopus laevis*) podrían de hecho permitir el desarrollo normal. d) En 2006, Takahashi y Yamanaka¹³ identificaron un conjunto básico de cuatro factores de transcripción que restablecen las células de ratón diferenciadas a un estado pluripotente, capaces de dar lugar luego a cualquier tipo celular. (Fuente: modificado a partir de la figura del artículo original).

desarrollo normal disminuye, lo que sugiere que la diferenciación celular podría ser irreversible e implicaría cambios genéticos sin retorno. De este modo, Briggs y King concluyeron⁵ que los núcleos de las células en la gástrula tenían una "restricción intrínseca en la potencialidad para la diferenciación".

En 1958, Gurdon, Elsdale y Fischberg abordaron las preguntas que rodeaban al potencial de las células diferenciadas pero utilizaron una especie diferente de rana, *Xenopus laevis* (la rana africana con garras). A diferencia de la especie rana leopardo, cuya disponibilidad era estacional, *X. laevis* estaba disponible durante todo el año y alcanzaba rápidamente la madurez sexual². En los experimentos transfirieron núcleos de células donantes en diversas etapas de desarrollo a óvulos de *Xenopus*, desde células de blastómeros tempranos hasta de renacuajos (justo antes de la eclosión).

Los núcleos donantes derivaban de un grupo de mutantes en el que cada célula contenía solo un nucléolo (un orgánulo dentro del núcleo) en lugar de los dos habituales. Esto proporcionó un marcador visual útil para confirmar que los animales resultantes derivaban del núcleo

transferido, y no del material existente en el huevo. Estos experimentos demostraron que se podían obtener renacuajos normales a partir de células en etapas de desarrollo embrionario hasta de renacuajos previas a la eclosión (Figura 1c), mucho más desarrolladas que las células que Briggs y King habían usado.

Muchos de los renacuajos obtenidos a partir de células que contenían núcleos transferidos sufrieron metamorfosis normal y parecían estar sexualmente maduros. Los autores señalaron que la rana derivada del núcleo celular más diferenciado "murió accidentalmente poco antes de la metamorfosis. Un informe posterior⁶ no tuvo tanta desgracia; describió la obtención de ranas adultas fértiles a partir de núcleos trasplantados de células completamente diferenciadas obtenidas de intestinos de renacuajos que ya se alimentaban.

Gurdon y sus colegas demostraron así, a diferencia de Briggs y King, que los núcleos diferenciados podrían permitir un desarrollo exitoso. A pesar de las diferencias, ambos grupos concluyeron que el avance de un núcleo a través de la diferenciación iba acompañado por una reducción en su capacidad para permitir un

desarrollo normal posterior. A pesar de que la frecuencia de éxito era relativamente limitada, Gurdon y sus colegas concluyeron que el estado celular diferenciado no es el resultado de cambios genómicos irreversibles. Por el contrario, los núcleos de las células diferenciadas conservan la capacidad de orquestar el desarrollo de un organismo con pleno funcionamiento.

Casi 40 años después de estos experimentos con anfibios, se transfirió el núcleo de una célula epitelial mamaria adulta para generar un mamífero clonado: la oveja Dolly⁷. Poco después se clonó el primer ratón, Cumulina⁸. Para demostrar sin lugar a dudas que los animales clonados provenían de células completamente diferenciadas (y que no eran producto de células madre contaminantes), se clonaron ratones usando núcleos de células B y células T maduras⁹. Durante la maduración, los genomas de estos tipos de células inmunes experimentan reordenamientos de ADN, los que luego fueron detectados en los clones.

Esta rica historia de transferencia nuclear mostró que la diferenciación celular puede revertirse y restablecerse la identidad celular a las primeras etapas embrionarias. Este trabajo pionero formó las bases para el campo de la reprogramación, que tiene el objetivo principal de manipular la diferenciación celular para producir cualquier tipo deseado de célula.

En la década de 1980, los primeros trabajos de reprogramación revelaron que no solo es posible restablecer células a estadio del desarrollo embrionario temprano, sino también que era posible cambiar por completo la identidad de una célula. Por ejemplo, un estudio¹⁰ mostró que la fusión de una célula muscular del ratón con un amniocito humano (una célula fetal que flota en el líquido amniótico) para producir una célula con dos núcleos: uno humano y uno de ratón, dio como resultado la rápida expresión de genes específicos de músculo humano. Esto demostró que los factores producidos en una célula diferenciada (en este caso, la célula muscular del ratón) podían inducir la expresión de genes reprimidos en otro tipo de célula diferenciada (en este caso, el amniocito humano). Junto con los

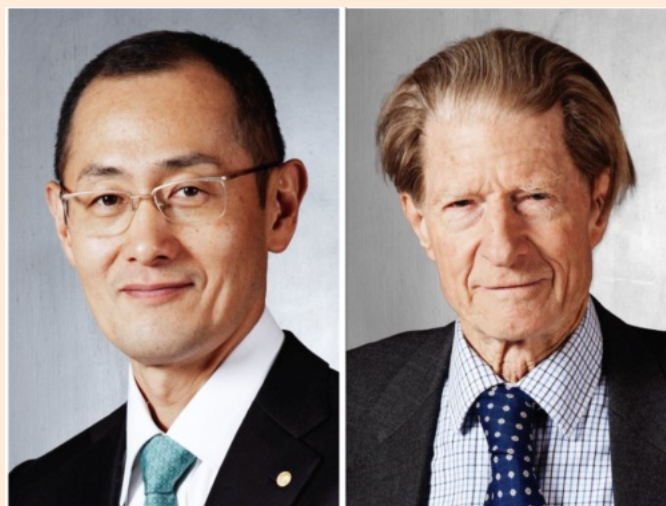


Figura 2: John B. Gurdon (derecha) y Shinya Yamanaka (izquierda) ganadores del Premio Nobel de Medicina por descubrir que las células maduras pueden ser reprogramadas. (Fuente: The Nobel Foundation).

estudios de transferencia nuclear, estos experimentos fundamentales establecieron que los factores producidos en los óvulos y las células diferenciadas pueden dirigir el destino celular al regular la expresión génica.

Un momento clave llegó en 1987, cuando se identificó un único factor capaz de reprogramar la identidad celular; se demostró que la expresión de una proteína llamada MyoD (un factor de transcripción) convierte las células de fibroblastos en células musculares contráctiles¹¹. En 2006 Gurdon era algo pesimista en cuanto a que en breve se lograra la reprogramación celular mediante un conjunto definido de factores. Ese año afirmó: "En un futuro lejano puede ser posible convertir las células de un adulto a un estado embrionario sin necesidad de usar óvulos"¹². Sin embargo, solo unos meses después, Kazutoshi Takahashi y Shinya Yamanaka informaron que se podía restablecer células diferenciadas a un estado pluripotente, es decir, un estado del cual podrían diferenciarse múltiples tipos celulares, a través de la expresión de solo cuatro factores de transcripción¹³ (Figura 1d). En 2012, Gurdon y Yamanaka recibieron el Premio Nobel de Fisiología o Medicina por sus trabajos (Figura 2).

Bibliografía

1. Weismann, A. *The Germ-Plasm: A Theory of Heredity* (transl. Parker, W. N. & Ronnfeldt, H.) (Scott, 1893).
2. Gurdon, J. B., Elsdale, T. R. & Fischberg, M. *Nature* 182, 64–65 (1958).
3. Briggs, R. & King, T. J. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 38, 455–463 (1952).
4. DiBerardino, M. A. & Hoffner, N. J. *Results Probl. Cell Differ.* 11, 53–64 (1980).
5. King, T. J. & Briggs, R. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 41, 321–325 (1955).
6. Gurdon, J. B. *J. Embryol. Exp. Morphol.* 10, 622–640 (1962).
7. Campbell, K. H., McWhir, J., Ritchie, W. A. & Wilmut, I. *Nature* 380, 64–66 (1996).
8. Wakayama, T., Perry, A. C., Zuccotti, M., Johnson, K. R. & Yanagimachi, R. *Nature* 394, 369–374 (1998).
9. Hochedlinger, K. & Jaenisch, R. *Nature* 415, 1035–1038 (2002).
10. Blau, H. M., Chiu, C. P. & Webster, C. *Cell* 32, 1171–1180 (1983).
11. Davis, R. L., Weintraub, H. & Lassar, A. B. *Cell* 51, 987–1000 (1987).
12. Gurdon, J. B. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 22, 1–22 (2006).
13. Takahashi, K. & Yamanaka, S. *Cell* 126, 663–676 (2006).
14. Cohen, D. E. & Melton, D. *Nature Rev. Genet.* 12, 243–252 (2011).
15. Morris, S. A. & Daley, G. Q. *Cell Res.* 23, 33–48 (2013).
16. Vierbuchen, T. & Wernig, M. *Nature Biotechnol.* 29, 892–907 (2011).
17. Passier, R., Orlova, V. & Mummery, C. *Cell Stem Cell* 18, 309–321 (2016).
18. Mandai, M. et al. *N. Engl. J. Med.* 376, 1038–1046 (2017).