

## Reprogramación de fibroblastos humanos a células madre pluripotentes

### Nuevo paradigma en medicina regenerativa

*La sucesión de investigadores es comparable a un solo hombre que aprende indefinidamente*

*Blaise Pascal (1623-1662)*

La investigación básica –la del descubrimiento– se asienta sobre hechos ya comprobados, como reza la cita de Pascal. Sus éxitos varían en importancia desde la adición de mínimos datos nuevos (*unos granos de arena*) versus los que marcan un cambio grande (*una piedra*) e introducen un nuevo paradigma, una nueva teoría. Tal descubrimiento se conoce en inglés como *breakthrough* que se puede traducir como un gran adelanto, rompiendo la barrera del conocimiento. En esta categoría cabe el anuncio de *Nature* en su edición del 10 de enero 2008 con el título *A new year and a new era*<sup>1</sup> dando un gran paso hacia el sueño de la medicina regenerativa. Manipulando cultivos de fibroblastos de piel humana, investigadores japoneses bajo la dirección de Shinya Yamanaka han conseguido generar células madre (*stem cells*) pluripotenciales<sup>2</sup>, confirmando en células somáticas humanas lo que habían descubierto con fibroblastos de ratón hace dos años<sup>3</sup>. A estos fibroblastos “reprogramados” los denominaron con la sigla iPS (*induced Pluripotent Stem cells*), células madre pluripotentes. Dichas células se obtuvieron con la transfección, vale decir la introducción de ADN exógeno al interior de una célula eucariota; en este caso, fibroblastos de piel, tanto murinos como humanos fueron transfectados con cuatro factores de transcripción, tales como Oct4, Sox2, Klf4, Myc, empleando un retrovirus como vector. Esta reprogramación de fibroblastos humanos fue casi simultáneamente<sup>1</sup> confirmada por Yu et al<sup>4</sup> de *University of Madison-Wisconsin* y por Park et al<sup>5</sup> de *Harvard Medical School*.

Más llamativo todavía es el trabajo publicado en *Science* del 14 de febrero 2008 por el mismo grupo japonés<sup>6</sup> anunciando la reprogramación de células epiteliales de hígado y de estómago de ratones adultos empleando la misma metodología, incluso con algunas ventajas sobre el fibroblasto (menos sitios de inserción del retrovirus). En el Japón el impacto nacional de estos descubrimientos hizo que el Ministerio de Ciencia prometiera amplio apoyo al grupo dirigido por Shinya Yamanaka en la Universidad de Kyoto<sup>7</sup>. No hay duda que pronto estos resultados serán confirmados en células epiteliales humanas.

Estas células pluripotenciales iPS serían el equivalente de las células embrionarias, teniendo la capacidad de generar células diferenciadas e inclusive de producir teratomas en ratones inmunosuprimidos<sup>6</sup>.

Dicha reprogramación obviamente va “contra el dogma” al atribuirle a la célula diferenciada la posibilidad de volver atrás hacia su origen de célula madre pluripotencial, similar a la célula embrionaria. Por lo antidogmático, esto recuerda el descubrimiento de la enzima transcriptasa reversa que permite el paso de ARN a ADN, cuyo hallazgo llevó a la denominación y clasificación de los retrovirus y les valió el Premio Nobel 1975 a Temin y Baltimore<sup>8</sup>.

Esta reprogramación hacia células madre es similar a la que Wilmut et al<sup>9</sup> obtuvieron con la inserción de un núcleo de una célula somática en el ovocito enucleado (*somatic cell nuclear transfer*) en la oveja

Dolly, lo que constituyó la primera clonación en un mamífero y el *breakthrough* de 1996. En el 2004, Hwang et al<sup>10</sup> en Corea anunciaron que habían reproducido este procedimiento con células humanas consiguiendo un clon humano, pero esos resultados eran fraudulentos, lo que despertó una amplia polémica.

Siguieron los intentos de clonar un primate no humano con miles de dificultades<sup>11</sup> hasta que en noviembre de 2007 Byrne et al<sup>12</sup> de *Oregon National Primate Center*, empleando una variante de la SCNT (*Somatic Cell Nuclear Transfer*) con fibroblastos de piel de *Rhesus macacus* adultos, consiguieron dos líneas de células embrionarias. Antes de publicar tal primicia, la clonación de un primate, *Nature* tomó una inusual medida, “*keeping in mind that extraordinary claims require extraordinary proof*”; se pidió a los autores, para no repetir la triste historia del coreano Hwang, que mandaran material a Alan Trounson de *Monash University of Victoria, Australia*, en la forma de tejido dador y líneas de células embrionarias para confirmar la clonación<sup>13</sup>.

En síntesis, nos enfrentamos con dos *breakthroughs*: la reprogramación de células somáticas y la clonación de un primate no humano. Ambos procedimientos apuntan a una medicina regenerativa, lo que vale decir conseguir células madre capaces de reemplazar células enfermas, específicas para cada enfermo. De llegar al fin deseado, es obvio que la reprogramación tiene muchas ventajas ya que elimina toda relación con las células embrionarias y con la reproducción, evitando en gran medida las controversias levantadas por los comités de ética. Sin embargo, ya apareció un editorial en *Nature* titulado *An inconvenient truth. Research on human embryonic stem cells must go on*<sup>14</sup>. No hay duda que el progreso no puede detenerse y que algunos investigadores seguirán trabajando hasta conseguir la clonación en el hombre.

¿Qué aportan estos descubrimientos a la visión actual de la causa del cáncer? A lo publicado anteriormente<sup>15,16</sup> se añade un nuevo paradigma anticipado en la última línea de una revisión sobre oncoimmunología experimental<sup>17</sup>: *One could tentatively predict that in the near future the next paradigm will be dubbed “the stem cell cancer theory”*. Se puede postular entonces que el fibroblasto, la célula epitelial, etc., se reprogramarían a célula madre pluripotente como primer paso hacia su transformación neoplásica. Esto ampliaría la explicación del *breakthrough* de Houghton et al<sup>17-19</sup> que el cáncer gástrico asociado al *Helicobacter pylori* se originaba en células madre provenientes de la médula ósea: con la nueva teoría, tales células madre no serían otras que células epiteliales reprogramadas *in situ*. En cuanto a la causa en sí del cáncer, el rompecabezas continúa armándose poco a poco, pero siguen faltando piezas.

Christiane Dosne Pasqualini

e-mail: chdosne@hotmail.com

1. Pera MF. A new year and a new era. *Nature* 2008; 451:135-6.
2. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 2007; 131: 861-72.
3. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006; 126: 663-76.
4. Yu J, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, et al. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science* 2007; 318: 1917-20.
5. Park IH, Zhao R, West JA, et al. Reprogramming of human somatic cells to pluripotency with defined factors. *Nature* 2008; 451: 141-6.
6. Aoi T, Yae K, Nakagawa M, et al. Generation of pluripotent stem cells from adult mouse liver and stomach cells. *Science*. 2008; Feb 14 [Epub ahead of print]
7. Cyranoski D. Stem cells: a national project. *Nature* 2008; 451: 229.
8. Pasqualini CD. Virus oncogénicos: Premio Nobel de Medicina y Fisiología 1975. *Medicina (Buenos Aires)* 1975; 35: 46.

9. Campbell KH, McWhir J, Ritchie WA, Wilmut I. Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line. *Nature* 1996; 380: 64-6.
10. Hwang WS, Ryu YJ, Park JH, et al. Evidence of a pluripotent human embryonic stem cell line derived from a cloned blastocyst. *Science* 2004; 303: 1669-74.
11. Wilmut I, Taylor J. Primates join the club. *Nature* 2007; 450: 485-6.
12. Byrne JA, Pedersen DA, Clepper LL. Producing primate embryonic stem cells by somatic cell nuclear transfer. *Nature* 2007; 450: 497-502.
13. Editorial. Replicator review. *Nature* 2007; 450: 547-8.
14. Editorial. An inconvenient truth. Research on human embryonic stem cells must go on. *Nature* 2007; 450: 585-6.
15. Pasqualini CD. La etiología del cáncer. Vigencia de cinco paradigmas sucesivos. *Medicina (Buenos Aires)* 2003; 63: 757-60.
16. Pasqualini CD. Papel bivalente del sistema inmune en el crecimiento tumoral. *Medicina (Buenos Aires)* 2004; 64: 277-80.
17. Pasqualini CD, Ruggiero RA, Bustuoabad OD, Neponnaschy I, Piazzon I. Experimental onco-immunology revisited. *CCTR (Current Cancer Therapy Reviews)* 2005; 1: 289-298.
18. Houghton JM, Stoicov C, Nomura S, et al. Gastric cancer originating from bone marrow-derived cells. *Science* 2004; 306: 1568-71.
19. Marx J. Bone marrow cells: the source of gastric cancer? *Science* 2004; 306: 1455-6.

- - - -

### **Le scientifique et l'homme de foi**

*En chacun de nous, il y a deux hommes: le savant, celui qui a fait table rase, qui par l'observation, l'expérimentation et le raisonnement veut s'élever à la connaissance de la nature, et puis l'homme sensible, l'homme de tradition, de foi ou de doute, l'homme de sentiment, l'homme qui pleure ses enfants qui ne sont plus, qui ne peut hélas! prouver qu'il les reverra, mais qui le croit et l'espère, qui ne veut pas mourir comme un vibrion, qui se dit que la force qui est en lui se transformera. Les deux domaines sont distincts et malheur a celui qui veut les faire empiéter l'un sur l'autre dans l'état si imparfait des connaissances humaines.*

### **El científico y el hombre de fe**

En cada uno de nosotros hay dos hombres: el sabio, el que hizo tabla rasa, el que por la observación, la experimentación y el razonamiento quiere alcanzar el conocimiento de la naturaleza, y por el otro lado, el hombre sensible, el hombre de tradiciones, de fe o de dudas, el hombre de sentimientos, el hombre que llora los hijos que perdió, que no puede por desgracia, probar que los verá de nuevo, pero que cree y lo espera, el que no quiere morir como un vibrión, el que se dice que la fuerza que hay en él se transformará. Los dos dominios son distintos y ¡ay! del que quiera invadir el uno desde el otro en el estado tan imperfecto de los conocimientos humanos.

Louis Pasteur (1822-1895)

Pasteur, un homme, une oeuvre. *Le lettre de l'Institut Pasteur, 1995*