

Plasticidad celular: convirtiendo una célula en otra

Federico Pereyra-Bonnet

INTRODUCCIÓN

En ciencia, muchas veces correr detrás de la pelota es una opción interesante. Se informa un nuevo descubrimiento desde revistas del calibre de *Science*, *Cell* o *Lancet* y los laboratorios de alrededor del mundo redireccionan sus líneas de investigación hacia este nuevo objetivo. Sin embargo, cuando el recurso es comparativamente inferior, entrar en esa carrera es muchas veces un esfuerzo que, en el mejor de los casos, lo coloca a uno en la periferia de la ciencia de primer nivel. Una estrategia tal vez más interesante sea intentar adivinar dónde va a picar la pelota y pararse justo abajo para alcanzarla.

Los estudios basados en células madre han puesto en evidencia la asombrosa plasticidad que tienen las células, es decir, la facilidad con que pueden ser manipuladas para convertirlas en células de diferentes linajes.^{1,2} Ahora bien, si solo nos focalizamos en la palabra plasticidad, es un camino casi directo llegar a preguntarse si esta plasticidad es una característica única de las células madre o tal vez es una característica universal que poseen todas las células, aun las diferenciadas.

El nacimiento por clonación de la oveja Dolly, demostró que una célula somática ya diferenciada (no célula madre) puede viajar atrás en el tiempo y dar lugar a todas las células de un organismo hasta conformar un individuo entero.³ Poco a poco este y otros nuevos hallazgos, como las células madre pluripotentes inducidas,⁴ fueron reforzando el concepto de plasticidad, dejando como pregunta fértil para el debate el verdadero alcance de la plasticidad celular.

Cómo actúa la plasticidad celular

La expresión de determinados genes dentro de una célula está condicionada por el ambiente o “nicho” celular. Así por ejemplo, en el hígado, los genes hepáticos están encendidos y los genes relacionados específicamente con otros tipos celulares están apagados. Vemos claramente que el “ambiente hepático” influye y determina cuáles genes se expresan y cuáles genes se silencian en una célula hepática. En este caso como en algunos otros, el ambiente se atreve a retar el mando de los genes, tomando el control celular. La forma en que el ambiente ejerce presión sobre los genes ganando la pulseada sobre el control de la expresión se manifiesta a

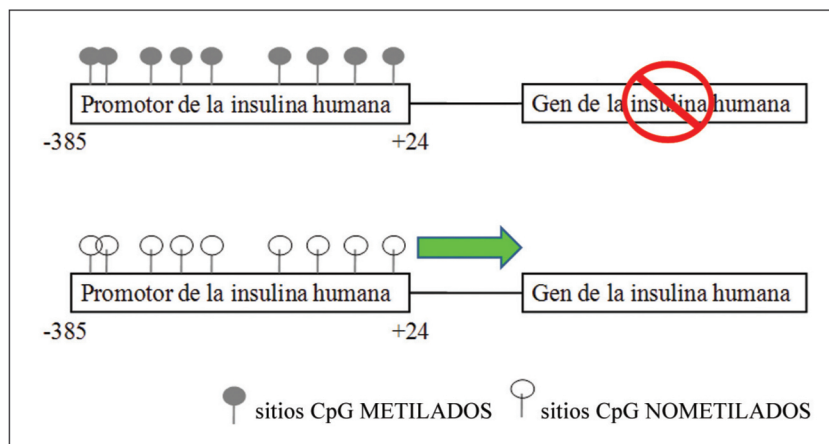


Figura 1. Metilaciones que “silencian” la expresión del gen de la insulina humana. Si el promotor está metilado en 9 sitios específicos (binucleótidos citosinas-guanina: CpG) el gen no se expresa; por el contrario, si esos sitios se encuentran desmetilados, el gen sí se expresa (flecha verde).

* Colaboradores: M. L. Gimeno, M. Ielpi, J. Cardozo, C. Giménez, M. Loressi, L. Litwak.

Entregado: 25/09/12

Aceptado: 5/10/2012

Instituto de Ciencias Básicas y Medicina Experimental del Hospital Italiano de Buenos Aires.
 Correspondencia: federico.pereyra@hospitalitaliano.org.ar

través de señales sobre el ADN que indican a la maquinaria de expresión qué genes deben expresarse y qué genes no. En su conjunto, estas señales sobre el ADN y sus proteínas asociadas (histonas) se conocen como epigenética (del griego *epi*, en o sobre, y genética). Una definición más estricta indica que la epigenética es la regulación heredable de la expresión génica sin cambio en la secuencia de nucleótidos. Hasta ahora existe un considerable consenso acerca de que los patrones de metilaciones, acetilaciones y ubicuitinaciones sobre los promotores de los genes e histonas, son los que determinan si ese gen se expresa o no.⁵⁻⁸ Por ejemplo, en un reciente informe se demostró que 9 metilaciones sobre sitios específicos del promotor del gen de la insulina humana determinan que ese gen esté activo o esté silenciado (Fig. 1).⁹ Existe un puñado de informes actuales que demuestran que, por manipulación genética (transgénesis), se puede modificar la epigenética presente en las células y convertir por ejemplo fibroblastos en células nerviosas,¹⁰ de tipo cardiomiocito¹¹ y células progenitoras sanguíneas.¹² Estos informes de reprogramación celular evidencian la plasticidad celular, pero, sin embargo, usan estrategias de modificación genética para llevarla a cabo. Recién cuando se desarrolle una técnica que pueda aprovechar la plasticidad celular para convertir una célula de un linaje a otro sin utilizar modificaciones genéticas, un paso significativo hacia su aplicación en medicina regenerativa podrá ser avizorado.

NUESTRO APORTE

En nuestro hospital estamos explorando la posibilidad de manipular la plasticidad celular solo usando agentes químicos. Bajo la dirección del Dr. Pablo Argibay y colaboradores* en el Instituto de Ciencias Básicas y Medicina Experimental, conjuntamente con el Servicio de Endocrinología (Dr. León E. Litwak) y la Unidad de Trasplante de

Páncreas (Dr. Sung Ho Hyon), estamos llevando a cabo un proyecto que consiste en convertir células de la piel de pacientes con diabetes tipo 1, en células que expresen insulina solo usando agentes químicos.

Para ello se realizaron biopsias de piel de pacientes con diabetes tipo 1 que fueron llevadas al laboratorio para establecer cultivos *in vitro* de fibroblastos epidérmicos. A estos cultivos *in vitro* se los trató químicamente durante 30 días en un protocolo de múltiples etapas con diferentes factores de crecimiento y agentes químicos (Fig. 2). Las moléculas químicas utilizadas son moléculas relacionadas con la génesis pancreática, como la nicotinamida, IGF-1 y bFGF, entre otras. Durante el tratamiento químico, la morfología de los fibroblastos fue cambiando hasta agruparse en conjuntos celulares similares a los islotes pancreáticos (véase Fig. 2). Estos islotes de tipo pancreático fueron analizados con la técnica de *microarrays*, que permite identificar la expresión de más de 14 000 genes a la vez. Tan poderosa herramienta nos permitió observar que los fibroblastos tratados químicamente cambiaron su expresión génica asemejándose a islotes pancreáticos. Por ejemplo, estas células tratadas químicamente expresaron genes como insulina, glucagón y somatostatina, así como también expresaron genes marcadores de linaje pancreático como *PDX1* y *NGN3*. Sorpresivamente, los genes relacionados con marcadores típicos de fibroblastos epidérmicos presentaron una marcada disminución en su expresión comparados con los fibroblastos control. En otras palabras, las células tratadas químicamente dejaron de ser fibroblastos para asemejarse a islotes de tipo pancreático, una prueba contundente de la sorprendente plasticidad celular en células que no son células madre.

Completamos los ensayos incluyendo un análisis de inmunocitoquímica donde hallamos la proteína de glucagón y otro ensayo de medición de péptido-C donde observamos

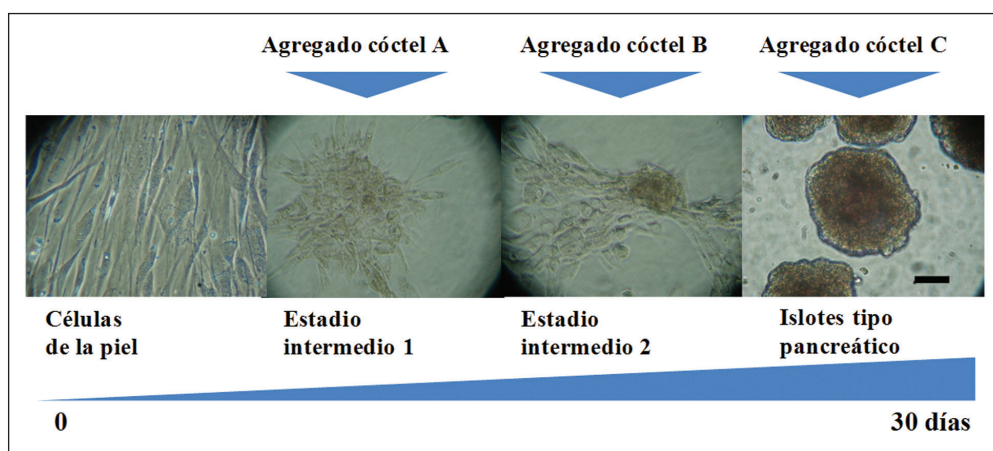


Figura 2. Cronograma del tratamiento y cambios morfológicos experimentados por los fibroblastos de pacientes con diabetes tipo 1 al ser tratados con drogas químicas para que se asemejen a islotes pancreáticos. La plasticidad celular se evidenció morfológica y genéticamente. Las estructuras obtenidas al final del tratamiento fueron morfológicamente semejantes a islotes pancreáticos y expresaron genes como insulina, glucagón y somatostatina. Barra 200 μm.

existencia de este péptido en las células tratadas químicamente. Tomándolos en conjunto, estos resultados verifican que las células obtenidas son semejantes a islotes pancreáticos y se demuestra que es posible “encender” y “apagar” genes usando solo tratamientos basados en drogas.

Con estos resultados estamos en condiciones de asegurar que la plasticidad celular está presente en células que no son células madre, y que entonces en teoría existe el potencial de que cualquier célula del cuerpo puede ser convertida en otra modificando solo su ambiente.

IMPACTO

Nuestros resultados demuestran que puede manipularse el destino celular, es decir, transformar una célula de una estirpe en otra, solo usando drogas químicas. En la tabla 1 resumimos las aplicaciones y el impacto a corto y mediano plazo para la utilización de células de tipo pancreático productoras de insulina convertidas a partir de fibroblastos

de pacientes con diabetes tipo 1. Nótese que tanto en forma inmediata como a corto y mediano plazo esta técnica puede impactar sensiblemente en la calidad de vida de los pacientes diabéticos.

CONCLUSIONES

Lejos del esplendor y la popularidad de los que gozan las células madre, las técnicas de conversión celular basada en la plasticidad celular están obteniendo similares resultados, con la ventaja potencial de escapar a varios de los problemas que actualmente frenan el desembarco de las células madre en la clínica. Los investigadores en el laboratorio se transformarán en verdaderos alquimistas celulares cuando se descubran combinaciones específicas de drogas que permitan convertir células de cualquier linaje a otro. La conversión celular que utiliza la plasticidad celular intrínseca de las células no está corriendo detrás de la pelota: está esperando en el lugar del pique.

TABLA 1. Resumen de las aplicaciones y el impacto del desarrollo

	Inmediato	Corto plazo	Mediano plazo
Aplicación	Ensayos para testear drogas <i>in vitro</i>	Reprogramación <i>in situ</i> de células beta progenitoras	Medicina regenerativa
Impacto	Permitirá descubrir nuevas drogas para el tratamiento de la diabetes	Permitirá desarrollar nuevos tratamientos clínicos para restablecer las funciones pancreáticas en los diabéticos	Permitirá mejorar sensiblemente la calidad de vida de los pacientes diabéticos

REFERENCIAS

- Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*. 1998;282(5391):1145-7.
- Itskovitz-Eldor J, Schuldiner M, Karsenti D, et al. Differentiation of human embryonic stem cells into embryoid bodies compromising the three embryonic germ layers. *Mol Med*. 2000;6(2):88-95.
- Wilmot I, Schnieke AE, McWhir J, et al. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature*. 1997;385(6619):810-3.
- Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*. 2007;131(5):861-72.
- Boyes J, and Bird, A. DNA methylation inhibits transcription indirectly via a methyl-CpG binding protein. *Cell*. 1991;64:1123-34.
- Kass SU, Pruss D, Wolffe AP. How does DNA methylation repress transcription? *Trends Genet*. 1997;13(11):444-9.
- Siegfried Z, Cedar H. DNA methylation: a molecular lock. *Curr Biol*. 1997;7(5):R305-7.
- Jirtle RL, Skinner MK. Environmental epigenomics and disease susceptibility. *Nat Rev Genet*. 2007;8(4):253-62.
- Kuroda A, Rauch TA, Todorov I, et al. Insulin gene expression is regulated by DNA methylation. *PLoS One*. 2009;4(9):e6953.
- Vierbuchen T, Ostermeier A, Pang ZP, et al. Direct conversion of fibroblasts to functional neurons by defined factors. *Nature*. 2010;463(7284):1035-41.
- Ieda M, Fu JD, Delgado-Olguin P, et al. Direct reprogramming of fibroblasts into functional cardiomyocytes by defined factors. *Cell*. 2010;142(3):375-86.
- Szabo E, Rampalli S, Risueño RM, et al. Direct conversion of human fibroblasts to multilineage blood progenitors. *Nature*. 2010;468(7323):521-6.