

Fabricando fotorreceptores a partir de células de la piel

Un grupo de científicos de la Facultad de Medicina de la Universidad de Wisconsin en Madison (Estados Unidos), dirigido por el Profesor David Gamm, ha logrado con éxito obtener en cultivo células de la retina a partir de las llamadas “células madre pluripotentes inducidas” humanas. Para ello, han reproducido en parte el desarrollo normal de la retina humana en el laboratorio. Ello permite vislumbrar un futuro en el cual retinas dañadas por una enfermedad degenerativa podrían repararse por células obtenidas a partir de la piel del propio paciente, previamente reprogramadas para convertirlas en células madre.

Un grupo de investigación del Centro Waisman de la Universidad de Wisconsin en Madison dirigido por el Dr. David Gamm, profesor de oftalmología y ciencias de la visión, e integrado por el Dr. Jason Meyer y otros investigadores, anunció su descubrimiento el pasado 24 de Agosto en la prestigiosa revista *Proceedings of the National Academy of Sciences* de los Estados Unidos. Los resultados obtenidos constituyen un importante paso adelante en el campo de la terapia celular de las enfermedades neurodegenerativas de la retina.

En primer lugar, confirman que pueden obtenerse distintos tipos de células retinianas humanas a partir de las llamadas células madre pluripotentes inducidas (o células iPS, de sus siglas en inglés *induced pluripotent stem cells*), utilizando para ello las técnicas de laboratorio puestas a punto en Wisconsin. Se trata de células de la piel que han sido “reprogramadas” genéticamente para convertirlas en células pluripotentes, es decir, con el potencial de desarrollarse en cualquier tipo de tejido del organismo humano. En

segundo lugar, muestra que el proceso que ocurre en el laboratorio es similar (es decir, mimetiza) al desarrollo normal de la retina humana, de forma que la maduración de las distintas neuronas de la retina *in vitro* sigue una secuencia de eventos en el tiempo que obedece al mismo programa establecido por la naturaleza. Ello es muy destacable, dado que la célula de partida es muy distinta a una célula de la retina y que todo el proceso tiene lugar en una placa de Petri de plástico.

El equipo lo consiguió cultivando las células iPS en presencia de un cocktail de factores añadidos al medio de cultivo y siguiendo un protocolo muy bien diseñado, con lo cual las células iPS se transformaron en células de la retina parcialmente desarrolladas, entre ellas fotorreceptores. Éstos son las neuronas de la retina que absorben la luz y transforman los impulsos luminosos en señales eléctricas nerviosas, las cuales son transmitidas al cerebro para que éste las interprete en forma de imagen, proporcionando la sensación de la visión. David Gamm también piensa que ésta puede ser la forma de dar un salto desde lo que sabemos sobre cómo se construye una retina en ratones, ranas y moscas a aplicarlo a la retina humana.

El trabajo ha sido posible gracias a la gran tradición en investigación sobre células madre existente en la Universidad de Wisconsin-Madison. Pocos años antes, en Noviembre de 2007, el Dr. James Thomson, profesor de la Facultad de Medicina y director de medicina regenerativa del Instituto de Investigación Morgridge en el campus de dicha universidad, anunció que había conseguido obtener (“derivar”) células iPS humanas a partir de la piel.

Las células madre pluripotentes inducidas (iPS) constituyen uno de los mayores logros de la biología reciente. Fueron obtenidas por primera vez en 2006 en el ratón por el Dr. Shinya Yamanaka, en el Instituto de Ciencia Médica de la Universidad de Tokyo. Son muy similares a las células madre embrionarias humanas (hES) en su morfología, pluripotencia y otras propiedades, como que pueden cultivarse en el laboratorio durante períodos de tiempo muy largos. Sin embargo, una notable diferencia es que las células iPS no proceden de embriones humanos ni requieren donación de óvulos, con lo cual se elimina el debate moral y los problemas bioéticos suscitados por las células hES. Además, evitan el problema del rechazo inmunológico que ocurre al transplantar células derivadas de un embrión a otra persona. Al año siguiente, Yamanaka consiguió obtener por primera vez células iPS humanas en Japón a la vez que Thomson en Wisconsin.

Se demostró, así, que las células completamente diferenciadas de un adulto pueden revertirse a un estadio cuasiembrionario, dándose “marcha atrás al reloj celular”. Ello se consigue introduciendo mediante retrovirus en las células adultas 4 genes (llamados OCT4, SOX2, NANOG y LIN28) que son responsables de mantener la pluripotencia en las células madre, es decir, de que éstas se conserven en un estado indiferenciado (“primitivo”), pero con el potencial de convertirse en determinadas condiciones en cualquier tipo celular. A partir de entonces, numerosos investigadores en todo el mundo se centraron en dirigir la diferenciación de células iPS hacia tipos concretos de células con las que realizar trasplantes para sustituir tejidos dañados o enfermos, con vistas a desarrollar tratamientos revolucionarios (por ejemplo, neuronas dopaminérgicas para la terapia de la enfermedad de Parkinson). Hoy día ya se han derivado células iPS a partir de la piel, hígado, páncreas, estómago y cerebro, y se ha conseguido convertirlas en células del músculo, intestino, cartílago,

corazón y neuronas del cerebro. El equipo de Wisconsin tuvo previamente un éxito similar a la hora de generar múltiples tipos de células especializadas de la retina utilizando células hES. A continuación, aplicó los mismos métodos de cultivo a células iPS, que se comportaron de forma similar y con los resultados publicados este año. Ello subraya las similitudes entre células hES e iPS. Sin embargo, David Gamm enfatiza que también existen diferencias entre ellas, y que es preciso seguir investigando para comprender su potencial y sus limitaciones. Una ventaja de las células hES es que no necesitan ser inducidas a un estadio primitivo, dado que ya son células madre. Sin embargo, las células iPS pueden derivarse de forma directa, técnicamente simple y segura a partir de la persona con la enfermedad en la retina que las necesita.

El equipo de Wisconsin utilizó células de la piel (fibroblastos) y las revirtió a células iPS. Una de las líneas celulares obtenidas (denominada IMR90-4) resultó ser especialmente buena a la hora de generar tipos celulares de la retina. En concreto, a lo largo del programa de cultivo obtuvieron a partir de ellas células que presentaban la morfología y propiedades de células progenitoras retinianas, precursores de fotorreceptores, fotorreceptores, y células del epitelio pigmentario de la retina. Según Jason Meyer, ya son capaces de producir un buen número de fotorreceptores y otros tipos de células de la retina que mueren en diversas enfermedades neurodegenerativas. Aunque el trabajo está aún en un estadio muy temprano, abre el camino a tratamientos que se espera permitirán regenerar la retina utilizando células cultivadas a partir de la piel del paciente.

Otra aplicación de este descubrimiento en un futuro más inmediato sería utilizar estas células en cultivo con fines investigadores, como son:

Estudiar la base molecular de enfermedades genéticas oculares. Por ejemplo, células de la piel de un paciente con retinosis pigmen-

taria podrían reprogramarse para convertirlas en células iPS, y éstas en células retinianas. A continuación, se estudiarían en el laboratorio los mecanismos moleculares y genéticos mediante los cuales éstas sufren degeneración.

Realizar escrutinios de nuevos fármacos para tratar dichas enfermedades. Las células anteriores podrían utilizarse para ensayar un gran número de potenciales medicamentos orientados a tratar o curar la enfermedad, evaluando su seguridad, efectividad y ausencia de efectos secundarios. Dado que es muy raro que dos enfermos con ceguera genética tengan la misma mutación en el mismo gen, esta estrategia podría permitir el desarrollo de terapias personalizadas.

Comprender el desarrollo del ojo humano. Estas células constituirían un modelo *in vitro* para estudiar todos los sucesos clave que tienen lugar durante la generación de células neurales especializadas en general, y de las células de la retina humana en particular.

Con respecto a su utilización con fines terapéuticos, se deben superar dos grandes escollos antes de poder aplicar esta tecnología a nivel clínico. El primero reside en el hecho de utilizar retrovirus como vehículo a la hora de introducir los genes en las células para inducir la pluripotencia. En efecto, la utilización de estos virus produce alteraciones permanentes y no controladas en el genoma de la célula, que pueden resultar perjudiciales.

Otro obstáculo a la aplicación clínica de las células iPS es que uno de los genes utilizados en la reprogramación de la células (concretamente, OCT4) puede producir tumores. No obstante, varios grupos de investigadores en todo el mundo están tratando de desarrollar técnicas alternativas al uso de retrovirus para la reprogramación de las células, así como de identificar otros genes que permitan este fenómeno sin el riesgo de tumorigénesis.

Así, en el futuro y si esta tecnología se ha perfeccionado y solucionado los problemas mencionados, los oftalmólogos podrían ser capaces de sustituir células o reparar daños en la retina transplantando células “terapéuticas” cultivadas en el laboratorio obtenidas a partir de la piel del propio paciente. La clave para perfeccionarla es comprender mejor cómo se desarrollan las células de la retina humana, con el objeto de poder reproducir este proceso en el laboratorio de la forma más controlada posible y sin que aparezcan otros tipos de células que no pertenecen a la retina. Esta estrategia terapéutica podría aplicarse, por ejemplo, a la degeneración macular, la cual es la causa principal de pérdida de la visión en personas mayores.

También podría utilizarse para tratar la retinosis pigmentaria, que causa visión en túnel y ceguera. En este contexto, ya a principios de este año investigadores de la Universidad de Washington en Seattle demostraron que células retinianas derivadas a partir de células hES tenían potencial para reparar la retina en ratones ciegos modelo de amaurosis congénita de Leber, restaurando parcialmente la visión. El Dr. Gamm estima que los ensayos clínicos utilizando células hES o iPS humanas para sustituir tejido de la retina dañado podrían comenzar dentro de unos 5 años.

Le agradecemos a Julián Esteve Rudd sus aportaciones a este artículo. Las investigaciones del equipo del Dr. David Gamm han sido financiadas por los Institutos Nacionales de la Salud (NIH), la Fundación Lucha contra la Ceguera (FFB) y otras instituciones de los Estados Unidos.

Para mayor información:

MEYER JS, SHEARER RL, CAPOWSKI EE, WRIGHT LS, WALLACE KA, MCMILLAN EL, ZHANG S-C AND GAMM DM (2009)

Modeling early retinal development with human embryonic and induced pluripotent stem cells. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 106: 16698-16703.

UNIVERSITY OF WISCONSIN-MADISON (2009)

Retina cells created from skin-derived stem cells. ScienceDaily. <http://www.sciencedaily.com/releases/2009/08/090824151258.htm>

HORNYAK T (2009)

Marcha atrás del reloj celular. Investigación y Ciencia 389: 34-35.

FOUNDATION FIGHTING BLINDNESS (2009)

Saving vision with stem cells. FFB Written Articles. http://www.blindness.org/index.php?option=com_content&view=article&id=1884:saving-vision-with-skin-cells&catid=64:macular-degeneration&Itemid=120

YU J, VODYANIK MA, SMUGA-OTTO K, ANTOSIEWICZ-BOURGET J, FRANE JL, TIAN S, NIE J, JONSDOTTIR GA, RUOTTI V, STEWART R, SLUKVIN II AND THOMSON JA (2007)

Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. Science 318: 1917-1920.

PINILLA I, MARTÍN NIETO J Y CUENCA N (2007)

Utilización potencial de células madre en enfermedades degenerativas retinianas. Arch. Soc. Esp. Oftalmol. 82: 127-128.

