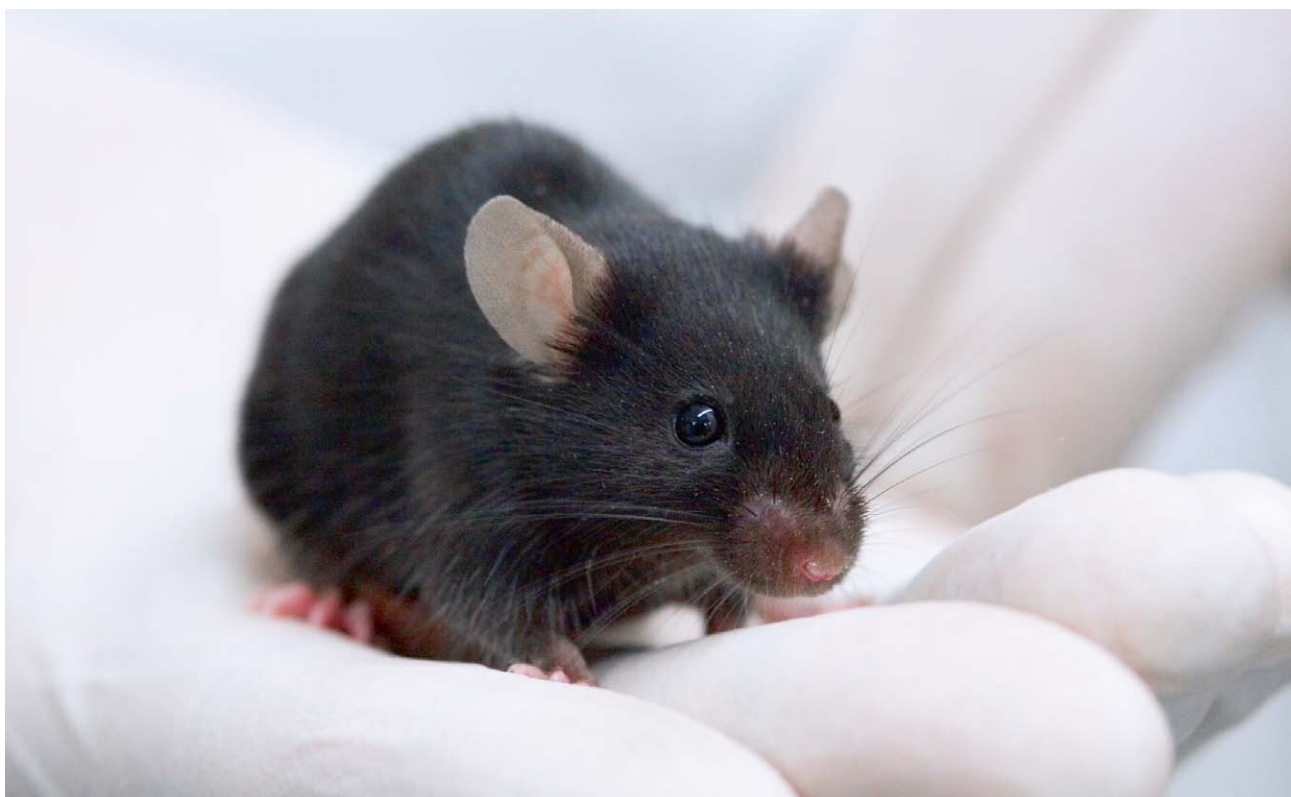


MEDICINA REGENERATIVA

## Frenar el envejecimiento mediante la reprogramación celular

Una estrategia novedosa alarga la vida de los ratones y mitiga los síntomas asociados a la edad

ELENA VICARIO ORRI Y ERIC VÁZQUEZ-FERRER



LA REPROGRAMACIÓN PARCIAL de las células logra revertir algunos signos del envejecimiento en los ratones. Mejora la capacidad de regeneración de algunos órganos, corrige ciertas alteraciones de los tejidos y alarga la esperanza de vida.

**O**btener cualquier tipo de célula en una placa de Petri, estudiar las etapas tempranas del desarrollo humano o incluso generar órganos en el laboratorio son algunas de las posibilidades que nos brindan las células madre. Estas se definen como aquellas que tienen la capacidad de regenerar un organismo pluricelular completo. Antes de 2006, las células madre empleadas en el laboratorio procedían de material embrionario, con sus obvias limitaciones éticas. Por este motivo, el descubrimiento de la reprogramación celular en 2006 revolucionó el campo de la medicina regenerativa.

El logro lo protagonizó un grupo de investigadores liderado por Shinya Yamanaka, de la Universidad de Kyoto, quien en 2012 recibió por ello el premio Nobel de fisiología o medicina. El equipo demostró que, al incorporar a las células cuatro genes que codificaban unas moléculas conocidas desde entonces como factores de Yamanaka, podía convertir células de la piel a un estadio de pluripotencia parecido al de las células embrionarias. El proceso se conoce como reprogramación celular, y las células generadas se llaman células madre pluripotenciales inducidas. Estas células han abierto en gran medida el abanico de posibilidades en el campo de la biomedicina. Entre otras aplicaciones, se han empleado para modelizar enfermedades o para valorar la eficacia de fármacos en determinadas dolencias.

Pero, por encima de todo, el descubrimiento de la reprogramación celular supuso un cambio de paradigma en el campo de la medicina regenerativa. La visión de que el desarrollo embrionario era un proceso unidireccional, en el que unas células pluripotenciales se diferenciaban y adquirían un destino celular concreto e irreversible, fue reemplazada por la idea de que se trataba de un

© DRA. SCHWARTZ/ISTOCKPHOTO

proceso maleable e incluso bidireccional. La reprogramación ha revelado que las células adultas o diferenciadas, como las cutáneas, pueden rejuvenecerse y regresar a un estadio de pluripotencia desde el cual pueden autorrenovarse y dar lugar a tipos diversos de células, como las del hígado, de los músculos o nuevamente de la piel.

Ese avance ha implicado el replanteamiento del envejecimiento, también considerado desde siempre un fenómeno unidireccional e inevitable. Si se puede convertir una célula diferenciada en una pluripotencial como las de los embriones; es decir, si se la devuelve a su punto de partida, ¿es posible entonces rejuvenecer las células, algo que no exige retroceder tanto en el tiempo? ¿Y un organismo entero? ¿Existe la posibilidad de frenar o revertir el envejecimiento?

En estudios dirigidos por Juan Carlos Izpisua Belmonte, en el laboratorio de Expresión Génica del Instituto Salk de Estudios Biológicos en San Diego, y en los que participó uno de nosotros (Vázquez-Ferrer) se demostró que la activación intermitente de los mencionados factores de Yamanaka, normalmente asociados a un estadio embrionario, puede revertir las características de la vejez en ratones vivos. Los resultados de esos estudios, publicados en 2016 en *Cell* y en *Trends in Molecular Medicine*, no solo han ofrecido información sobre los mecanismos celulares que impulsan el envejecimiento, sino que también apuntan a posibles enfoques terapéuticos para mejorar la salud humana y la longevidad. Desde entonces, otras publicaciones más recientes han confirmado el rol crucial de los cambios epigenéticos en el mecanismo de reversión del envejecimiento y han profundizado en la reprogramación in vivo de células específicas de un tejido para recuperar la pérdida de función, y alargar así, indirectamente, la esperanza de vida.

### Rejuvenecer células in vitro

El envejecimiento puede definirse como el deterioro progresivo en la capacidad que tienen una célula o un organismo para resistir el estrés, los daños o las enfermedades. Representa el mayor factor de riesgo para la mayoría de las enfermedades: a medida que se cumplen años, va aumentando el riesgo y la vulnerabilidad de padecer enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas, cáncer y obesidad, entre otras dolencias; y también empeora

su pronóstico. Por esta razón, conseguir revertir el envejecimiento o ralentizarlo ha atraído una gran atención de la comunidad científica.

Los recientes avances en reprogramación celular han permitido analizar el envejecimiento en el laboratorio, tanto el fisiológico (por causas naturales) como el patológico (producido por enfermedades). De este modo, se han reprogramado in vitro fibroblastos (un tipo de células del tejido conjuntivo) de individuos centenarios o de pacientes con progeria, una enfermedad en la que los afectados envejecen de modo acelerado desde el nacimiento. Las células reprogramadas muestran una mejoría en varios rasgos propios del envejecimiento: disminuye la concentración de proteínas que regulan la senescencia celular y los niveles de estrés oxidativo, los telómeros (extremos de los cromosomas) se alargan y las marcas epigenéticas (modificaciones químicas del ADN) desaparecen. Se ha logrado, por tanto, un rejuvenecimiento de las células en el laboratorio.

Pero si bien existen numerosos estudios que han demostrado que la reprogramación celular revierte la edad de las células en placas de Petri, el paso que supone la reprogramación celular en organismos enteros vivos plantea un reto mucho más difícil.

### El salto de in vitro a in vivo

La posibilidad de reprogramar células en animales vivos usando los factores de Yamanaka fue descrita por primera vez en 2013 en *Nature* por el grupo de Manuel Serrano, entonces en el Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas. Los investigadores crearon unos ratones, a los que se denominó 4F, que eran portadores de los cuatro factores de Yamanaka. La activación de esos factores está controlada por un gen que, a su vez, puede activarse a través de la administración de una sustancia, la doxiciclina, la cual se ofrece a los ratones con la bebida. Los investigadores demostraron que era posible poner en marcha la reprogramación celular en los ratones mediante la administración de la doxiciclina.

Sin embargo, este y otros intentos de inducir la reprogramación celular en animales vivos se habían topado siempre con el mismo problema: las células reprogramadas tendían a dividirse más rápido, lo que daba lugar a la aparición de teratomas (tumores que contienen células

o tejidos de las tres capas germinales). Como consecuencia, los animales sufrían una elevada mortalidad.

En nuestros estudios dirigidos por Izpisua Belmonte, nos propusimos asimismo reprogramar células en ratones vivos y buscamos la manera de evitar ese inconveniente. En primer lugar, trabajamos con ratones que eran portadores de los factores de Yamanaka (4F) y a los que, además, se les había introducido una mutación en el gen *Lmna* que provoca la progeria. Estos ratones viven menos tiempo y muestran numerosos síntomas asociados a la edad, como la pérdida de peso o la alteración de varios órganos.

En la reprogramación celular de los ratones con progeria, estudiamos distintas combinaciones en las que variamos el número de copias de los genes de los factores de Yamanaka y el número de días de inducción de los factores (que controlamos mediante la administración de la doxiciclina). En concordancia con los experimentos anteriores, si inducíamos los factores de Yamanaka durante cuatro días consecutivos, los ratones sufrían una gran pérdida de peso y una alta mortalidad, seguramente propiciadas por la dediferenciación (pérdida de identidad) de las células y la posterior disfunción de los órganos vitales.

El protocolo que pareció más adecuado fue el de inducir la expresión de los factores de forma cíclica, dejándolos activos durante dos días e inactivándolos durante los cinco días siguientes. De este modo, con solo dos días de tratamiento ya se podían detectar los factores en la sangre de los ratones, pero ello no se traducía en una pérdida de peso ni en mortalidad, aun repitiendo el ciclo hasta 35 veces. Tampoco observamos signos de cáncer o pluripotencia en ninguno de los órganos que estudiamos. Asimismo, descubrimos una gran diferencia entre los ratones que llevaban una sola copia del transgén de los factores de Yamanaka y los que llevaban dos copias. Por último, comprobamos que ocho semanas de inducción cíclica de los factores en ratones con dos copias sí que originaba un incremento de la proliferación celular y provocaba la formación de teratomas en el hígado, los riñones y el páncreas.

### Reprogramación incompleta

El primer punto que destacar es que nuestra estrategia, la inducción corta de los factores de Yamanaka, logró una repro-

gramación celular parcial. Lo comprobamos cuando, al aislar fibroblastos de los ratones, observamos que no habían recuperado el estadio de pluripotencia (el destino final de la reprogramación), ya que no presentaban marcadores (moléculas características) de pluripotencia. En cambio, las células reprogramadas seguían manteniendo su identidad original, puesto que todavía expresaban algunos marcadores propios de los fibroblastos. Este logro reviste especial importancia, porque la reprogramación parcial puede aportar el beneficio de eliminar los fenotipos propios del envejecimiento sin que las células pierdan su identidad y función. Otra ventaja añadida es que no propicia la formación de tumores.

Una vez demostrado que la administración cíclica de doxiciclina evitaba las consecuencias negativas de la reprogramación celular in vivo, estudiamos los cambios relacionados con el envejecimiento. Aunque los ratones Laki 4F siguieron mostrando su característica pérdida de peso, observamos en ellos un notable incremento de la esperanza de vida, ya que vivieron un 30 por ciento más que los animales con progeria no sometidos al tratamiento. Además, varios de sus tejidos experimentaron una mejoría: los correspondientes al aparato digestivo tenían mucha mejor apariencia, la renovación celular aumentó en muchos órganos, como el estómago, los riñones o la piel, y se restauró el número de células

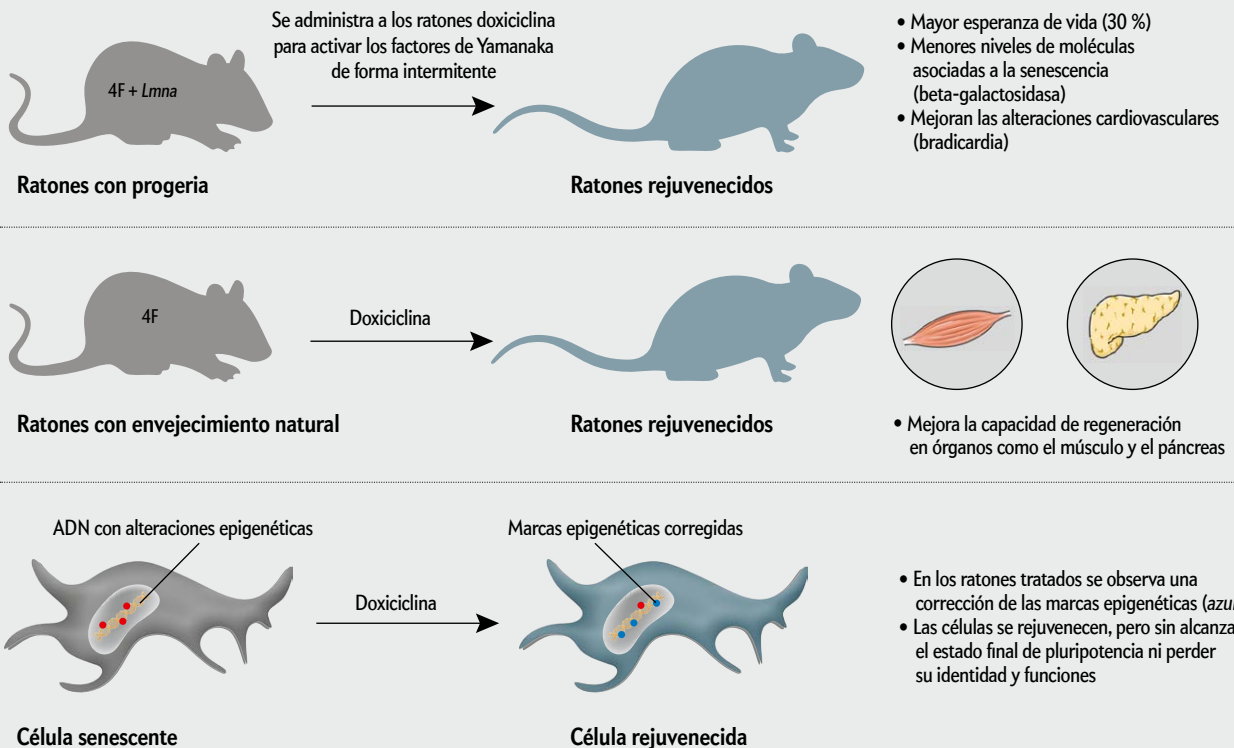
satélite del músculo (las encargadas de regenerar el tejido).

Uno de los principales problemas que sufren los ratones con progeria son las alteraciones cardiovasculares. Pero, después de la reprogramación celular, incluso este problema se mitigó y no se observó el característico desarrollo de la bradicardia, o ritmo cardíaco lento, según mostraban los análisis por electrocardiograma. Finalmente, también presentaban una menor expresión de la proteína beta-galactosidasa, un marcador asociado a la senescencia. Es importante destacar que todos estos cambios, que apuntan a una reversión de los fenotipos propios del envejecimiento, son independientes a la proteína progerina, la causante del síndrome de enve-

## REPROGRAMACIÓN CELULAR PARCIAL

AL APLICAR A RATONES ENVEJECIDOS una variante de la técnica de reprogramación celular desarrollada por el premio nóbel Shinya Yamanaka, los investigadores han conseguido mejorar ciertas deficiencias asociadas a la edad. La nueva estrategia consiste en reprogramar las células de los animales pero no hasta el final, sino de forma incompleta, activando los factores de Yamanaka de modo intermitente.

Se ha trabajado con ratones transgénicos cuyas células llevan cuatro genes correspondientes a los factores de Yamanaka (4F). A un grupo de estos ratones se les introduce, además, una mutación (*Lmna*) que les provoca progeria (envejecimiento prematuro), mientras que a otro grupo de ratones se los deja envejecer de forma natural.



En las células de los dos grupos de ratones envejecidos, el número y la posición de las marcas epigenéticas, unas moléculas que se añaden al genoma y regulan la expresión de los genes, se hallan alteradas (rojo).

jecimiento acelerado en estos ratones. Más bien se deben a una remodelación de las marcas epigenéticas, una serie de marcas químicas que se acumulan sobre el genoma y controlan la expresión de los genes sin alterarlos en sí mismos.

Por último, para estudiar el envejecimiento fisiológico (natural) utilizamos ratones 4F y los dejamos envejecer. Nos fijamos a continuación en dos rasgos característicos de los ratones envejecidos. El primero hace referencia al páncreas. Con la edad, las células beta de este órgano tienen menos capacidad de regeneración. En cambio, los ratones sometidos a la reprogramación celular se recuperaban mejor del daño pancreático y mostraban en general una mejor función del órgano, cosa que no ocurrió en los ratones en los que no se activaron los factores de Yamanaka. El segundo rasgo que investigamos fue la sarcopenia, la pérdida de masa muscular asociada al envejecimiento. En este caso, administrando la doxiciclina intramuscularmente para inducir la reprogramación celular, los ratones viejos

mostraron una expansión de las células madre del músculo, capaces de regenerar el tejido muscular dañado.

Llegados aquí, la pregunta fundamental que uno se plantea es: ¿nos hallamos más cerca ahora de la juventud eterna? Nuestro trabajo ofrece pruebas de que el envejecimiento no es un proceso unidireccional y podría ser aliviado si sacamos provecho de la plasticidad celular in vivo. La reprogramación aplicada a ratones vivos constituye un gran avance respecto a la realizada en cultivos celulares, y ello abre las puertas a prometedoras estrategias contra el envejecimiento. Sin embargo, su aplicación en humanos todavía queda lejos. Hay un largo camino por recorrer para averiguar de forma exacta el mecanismo de rejuvenecimiento observado en las células de los animales tratados, así como para encontrar un método viable en la práctica clínica.

**Elena Vicario Orri**, doctora en biomedicina, trabaja en la revista *Frontiers*, en Londres.

**Eric Vázquez-Ferrer** realizó sus estudios de doctorado en el Instituto Salk de Estudios Biológicos, en San Diego, California. Actualmente es investigador posdoctoral en el Instituto MRC de Ciencias Médicas del Imperial College, en Londres.

#### PARA SABER MÁS

##### Reprogramming in vivo produces teratomas and iPSC cells with totipotency features.

María Abad et al. en *Nature*, vol. 502, págs. 340-345, octubre de 2013.

##### Anti-aging strategies based on cellular reprogramming.

A. Ocampo, P. Reddy y J. C. Izpisua Belmonte en *Trends in Molecular Medicine*, vol. 22, págs. 725-738, agosto de 2016.

##### In vivo amelioration of age-associated hallmarks by partial reprogramming.

A. Ocampo et al. en *Cell*, vol. 167, págs. 1719-1733, diciembre de 2016.

#### EN NUESTRO ARCHIVO

##### El poder terapéutico de nuestras células.

Konrad Hochedlinger en *lyC*, julio de 2010.

##### Una década de reprogramación celular.

Megan Scudellari en *lyC*, octubre de 2016.

#### CLIMA

## Los ciclones tropicales se ralentizan

En las últimas siete décadas, la velocidad a la que se desplazan los ciclones tropicales ha disminuido. El fenómeno podría causar inundaciones al aumentar la cantidad de precipitaciones tormentosas

CHRISTINA M. PATRICOLA

Los ciclones tropicales figuran entre las catástrofes más letales y costosas. Su poder destructivo no solo deriva de los fuertes vientos, sino también de las inundaciones y de las coladas de barro asociadas a las marejadas ciclónicas y a las intensas lluvias. La cantidad total de precipitaciones tormentosas en una región puede ser extrema con independencia de la velocidad máxima del viento, ya que resulta proporcional a la tasa de pluviosidad e inversamente proporcional a la velocidad de traslación del ciclón; es decir, a la rapidez con que este atraviesa la zona.

En el pasado, algunos estudios habían analizado la evolución de las lluvias torrenciales asociadas a los ciclones tropicales del último siglo y su proyección futura. Sin embargo, la velocidad de avance no había recibido tanta atención. En un artículo publicado hace poco en *Nature*, James Kossin, de la Administración Nacio-

nal de la Atmósfera y los Océanos (NOAA) de EE.UU., ha estudiado los cambios en este parámetro a escala global, así como las variaciones regionales sobre cuencas oceánicas concretas. Su trabajo concluye que la velocidad a la que se desplazan los ciclones ha disminuido, lo que sugiere que la cantidad total de precipitaciones regionales asociadas a estos fenómenos podría haber aumentado.

En su artículo, Kossin ha analizado 68 años de observaciones realizadas entre 1949 y 2016, el período más largo para el que existen datos a escala global. En ese tiempo, la incertidumbre asociada a la velocidad de traslación es mínima, ya que la ubicación de los ciclones se conoce con gran exactitud. Por el contrario, identificar tendencias en el número y la intensidad de los ciclones resulta más difícil, ya que algunos de ellos no podían detectarse en la época previa a la llegada

de los satélites, en los años setenta del siglo pasado. Kossin ha inferido una disminución del 10 por ciento en la velocidad de traslación de los ciclones tropicales a lo largo de ese período: una tendencia que supera rigurosos tests estadísticos y que se encuentra dominada por los ciclones oceánicos.

El autor concluye que los cambios en la velocidad de avance de los ciclones generados sobre terreno continental (de mayor relevancia para la sociedad que los que se producen en el océano) varían notablemente por regiones. No se trata de un hecho sorprendente, ya que solo el 10 por ciento de los datos originales corresponden a tales ciclones, y categorizarlos por zonas reduce aún más el conjunto de datos, lo que dificulta separar cualquier posible tendencia del ruido estadístico. Con todo, el estudio sí observa una ralentización estadísticamente significativa, la cual