

ÓVULOS Y ESPERMATOZOIDES A PARTIR DE CÉLULAS TRONCALES EMBRIONARIAS

M. Soledad Fernández G. (M. Sc.)

Las células troncales potencialmente inmortales capaces de auto-renovarse, están en el foco de la investigación para la cura de enfermedades degenerativas y son la clave al misterio del desarrollo humano y del envejecimiento. Desde la terapia génica, ninguna área del conocimiento ha generado tanto entusiasmo y debate apasionado como la investigación en células troncales debido a que el tema está cargado de problemas políticos y éticos. Las células troncales han generado esperanzas para una gran variedad de pacientes que podrían beneficiarse de los trasplantes y de la terapia de reemplazo para tratar enfermedades como diabetes o enfermedad de Parkinson.

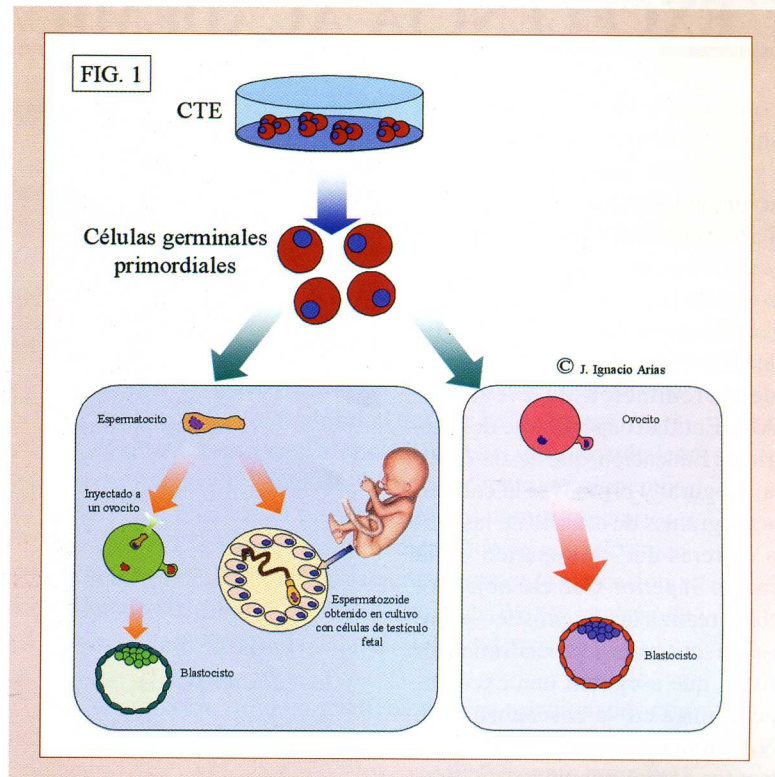
Las células troncales embrionarias (CTE), derivadas de embriones de cinco días de desarrollo de ratón o de humanos (blastocistos) (ver Fernández, 2002), son células totipotentes que pueden diferenciarse en muchos tipos celulares diferentes en cultivo y al parecer ellas también pueden generar células germinales primordiales, que luego pueden dar origen a espermatozoides y óvulos. Un óvulo fecundado es potencialmente inmortal ya que la fusión de un óvulo con un espermatozoide no sólo da origen a un nuevo organismo sino que a una serie de generaciones. Actualmente tres grupos de investigadores en el mundo afirman poder obtener ambos tipos celulares conocidos como células germinales, cultivando CTE. Toyooka et al. (2003) y Geijsen et al. (2004) han obtenido células semejantes a espermatozoides cultivando CTE de ratón, aún más estos últimos autores inyectan estas células semejantes a espermatozoides en óvulos de ratón y obtienen desarrollo temprano. Por otra

parte Hübner et al. (2003) obtuvieron células semejantes a óvulos al cultivar CTE de ratón. De esta manera al parecer es posible producir células germinales con atributos de espermatozoides y óvulos *in vitro*. Estos resultados sugieren la posibilidad de obtener células germinales a partir de CTE humanas en cultivo, idea que desata problemas éticos así también como probabilidades de avances biomédicos sin precedentes.

Las células troncales embrionarias tienen la potencialidad excepcional, dependiendo de las condiciones de cultivo, de multiplicarse indefinidamente o de diferenciarse en un tipo especializado de células. Para dirigir la diferenciación de las células troncales hacia óvulos o espermatozoides (Fig.1) Geijsen et al.

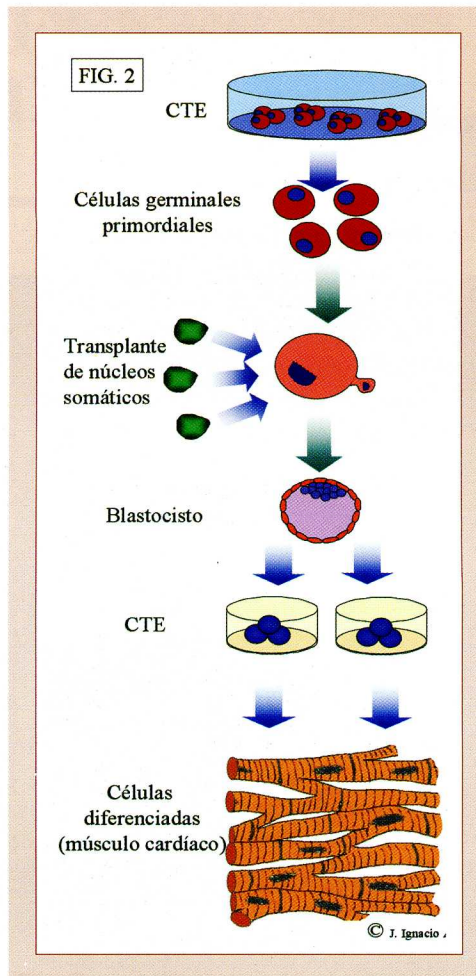
(2004) y Toyooka et al. (2003), cultivaron CTE obteniendo agregados semejantes a embriones tempranos; Hübner et al. (2003), dejaron que los agregados de CTE se diferenciaron espontáneamente. El resultado fue que tanto en las estructuras semejantes a embriones tempranos, como entre las células diferenciadas, había células que parecían células germinales primordiales, las cuales podían reconocerse por la expresión de ciertos genes marcadores. Posteriormente, aislaron algunas de estas células germinales primordiales, precursoras de espermatozoides y óvulos, y las dejaron proliferar en cultivo.

El siguiente paso fue transformar las células germinales primordiales en espermatozoides u óvulos, lo cual es un proceso complejo que, *in vivo*, ocu-



re en microambientes específicos. Para alcanzar esto *in vitro*, estos grupos adoptaron diferentes métodos. Geijsen et al. (2004), dejaron que el proceso ocurriera espontáneamente en las estructuras semejantes a embriones; Toyooka et al. (2003), cultivaron las células germinales primordiales con células gonadales fetales normales. En el caso de Hübner et al. (2003), dejaron que las células germinales primordiales formaran agregados nuevamente. Los dos primeros grupos obtuvieron células semejantes a espermatozoides y el tercero células semejantes a óvulos (posiblemente dependiendo del método usado). En esta etapa, el número de cromosomas debe reducirse a la mitad de manera de recuperar el número diploide de cromosomas después de la fecundación. Esto aparentemente ocurre aunque se necesita mayor confirmación.

Los espermatozoides y óvulos deben además adquirir las características propias de gametos o impronta gamética (genómica) (Surani, 2001) (ver recuadro), que regulan su función complementaria necesaria cuando el desarrollo embrionario comienza después de la fecundación. Sin embargo no se sabe si los espermatozoides y óvulos generados de esta manera tienen sus improntas gaméticas apropiadas. Esta información es crucial, porque los espermatozoides y óvulos pueden parecer normales aún sin las marcas apropiadas, pero su función se vería afectada después de la fecundación cuando comienza el desarrollo. De esta manera, aunque Geijsen y sus colegas obtuvieron blastocistos, cuando inyectaron sus células semejantes a espermatozoides a óvulos no fecundados, no es posible hacer ninguna predicción sobre el desarrollo avanzado de estos embriones tempranos. En el caso de los óvulos obtenidos por Hübner et al. (2003), estos se desarrollaron espontáneamente a blastocistos cuando ellos fueron separados de las células que los rodea-



ban, a pesar de que los óvulos maduros se mantienen detenidos en su desarrollo hasta la fecundación. Estos blastocistos muestran un patrón de expresión génica adecuada, pero su potencial total de desarrollo es desconocido.

¿Qué se puede hacer con estos óvulos y espermatozoides sintéticos?

¿Podríamos, por ejemplo, generar embriones viables a partir de estas células germinales sintéticas? Podría dársele este uso para el cruzamiento de animales, por ejemplo, aunque para esto los investigadores tienen aún que obtener CTE de más especies de mamíferos. Quizás también podría ser posible obtener células germinales de

CTE humanas, si es así, esto permitiría hacer estudios en células germinales humanas, acerca de las cuales se sabe muy poco. El uso de estas células podría aclarar las causas de la infertilidad y de los tumores de células germinales. Podría además ser posible el uso de espermatozoides sintéticos para tratar la infertilidad masculina. Por otra parte el sistema de cultivo podría usarse para examinar muchos procesos complejos, como por ejemplo el rol de genes claves y el mecanismo que regula la impronta gamética y la reducción a la mitad del número de cromosomas.

Quizás más importante, sin embargo, es la obtención, sin límites en número, de óvulos humanos derivados de CTE lo que tendría un gran impacto en medicina. Estos óvulos sintéticos no necesitan ser perfectos porque su material genético sería extraído y ellos se usarían sólo como receptores de núcleos o material genético de células adultas, como por ejemplo células de piel. Si estos óvulos reconstituidos pueden reprogramar el núcleo adulto y desarrollarse hasta blastocisto, los investigadores podrían obtener nuevas CTE de ellos (Fig.2). Estas células, por su parte podrían producir tipos celulares específicos para transplantes, para tratar problemas humanos específicos. El progreso en esta área actualmente está limitado por la escasez en el número de óvulos humanos, el uso de los cuales involucra consideraciones éticas legítimas.

Los óvulos humanos obtenidos en cultivo podrían aún tener un uso más interesante. Siguiendo el mismo procedimiento, podría ser posible usar estos óvulos para generar CTE que produzcan tejidos enfermos, para esto, el núcleo adulto, inyectado en el óvulo sintético, sería tomado de pacientes con enfermedades complejas, como diabetes. Estas CTE proveerían de una fuente ilimitada de células enfermas,

permitiendo el estudio de enfermedades que actualmente resulta imposible, lo que llevaría como resultado el descubrimiento de nuevos tratamientos.

Por último la simple posibilidad de estudiar células germinales humanas en cultivo permitiría conocer algo más sobre el origen y propiedades de estas interesantes células.

ESTO NOS PERMITIRÍA MANEJAR NUESTRO DESTINO DE UNA MANERA INSOSPECHADA

BIBLIOGRAFÍA

- Fernández, M. S. (2002), .TecnoVet 8(1): 5-8.
- Geijsen, N., Horoschak, M., Kim, K., Eggan, K., Daley, G. (2004). Nature 427(6970): 106-107

IMPRONTA GAMÉTICA:

Es un fenómeno epigenético que en la mayoría de los casos ocurre durante la gametogénesis. Consiste en la modificación de ciertos genes lo que da como resultado que los genomas parentales en mamíferos no sean funcionalmente equivalentes, por lo cual se requiere la complementariedad de los genomas materno y paterno. Esto queda demostrado por la incapacidad de desarrollo de embriones biparentales diploides ginogénéticos (dos genomas maternos) o biparentales androgenéticos (dos genomas paternos).

- Hübner, K., Fuhrmann, G., Christenson, L., Kehler, J., Reinbold, R., De la Fuente, R., Wood, J., Strauss J., Boiani, M., Schöler, H. (2003). Science 300(5623): 1251-1256
- Surani, M.A. (2001). Nature 414:122-128
- Toyooka, Y., Tsunckawa, N., Akasu, R., Noce, T. (2003). Proc. Natl. Acad. Sci. 100: 141457-11462

M. Soledad Fernández G. (M. Sc.)
Departamento de Ciencias
Biológicas Animales.
Facultad de Ciencias
Veterinarias y Pecuarias.
Universidad de Chile.

PURINA LIFE PLAN PUEDE AYUDAR A EXTENDER LOS MEJORES AÑOS DE SU PERRO EN UN 15%

PURINA LIFE PLAN es un programa de alimentación que puede revolucionar la salud y longevidad de los perros.

Está basado en un estudio de investigación de Purina de 14 años sobre restricción de alimentación que no tiene precedentes. Se ha demostrado que alimentando a su perro durante su vida según la condición corporal ideal, puede ayudar a extender sus años saludables en un 15%.

Consulte a su veterinario sobre la alimentación de su perro según el Sistema de Condición Corporal de Purina.

 Nestlé PURINA

