

no refuta en modo alguno el neodarwinismo, sino que lo completa en el marco de una teoría evolutiva mucho más comprehensiva. Para entender esto es útil distinguir entre microevolución y macroevolución. El primer proceso, basado en mecanismos neodarwinistas de mutación y selección, sería gradual y estaría implicado en el ajuste fino de los organismos a su medio ambiente. La macroevolución, en cambio, consistiría sobre todo en innovaciones evolutivas generadas a partir de cambios en los genes reguladores del desarrollo.

En el futuro asistiremos, sin duda, al establecimiento de correlaciones sorprendentes entre novedades evolutivas y actividad de genes responsables del desarrollo. Y de forma más apasionante aún, tal vez podamos hablar de Evo-Devo

experimental. La imaginación aquí no conoce límites. Por ejemplo, los factores dpp/BMP se expresan radialmente en la larva de cnidarios pero definen el eje dorsoventral en animales bilaterales. ¿Qué pasaría si fuéramos capaces de forzar una expresión polarizada, no radial, en la larva de un cnidario? ¿Y si además activamos genes que inducen mesodermo? ¿Obtendríamos un organismo bilateral en el laboratorio? Es sólo un experimento mental, sin garantías de que podamos desvelar lo que realmente ocurrió en el origen de los animales bilaterales, pero ilustra bien no sólo las posibilidades de una Evo-Devo experimental sino también lo que nos puede deparar el futuro de la Biología Evolutiva y del Desarrollo.

LAS CÉLULAS MADRE, UNA TECNOLOGÍA Y UNA REALIDAD CIENTÍFICA SINGULAR

José Becerra Ratia

Catedrático de dpto. de Biología Celular, Genética y Fisiología, Facultad de Ciencias. Universidad de Málaga.

El sueño del hombre, en lo que a la biología regenerativa se refiere, ha sido regenerar tejidos nuevos a partir de los viejos, es decir imitar lo que algunos animales consiguen de forma natural: la regeneración de forma y función de tejidos y órganos lesionados. Mientras tanto la biónica con el desarrollo de toda clase de artilugios diseñados para recuperar funciones perdidas (prótesis de todo tipo, mecanismos electrónicos, etc.) y los trasplantes de órganos y tejidos a partir de donantes vivos o muertos, cubren el hueco sin dejar de lado el sueño hasta ahora imposible. Pero, como dijo Victor Hugo «no hay nada tan poderoso como una idea cuyo momento ha llegado». La moderna biología, los avances de la biología del desarrollo y, sobre todo, lo que se intuye detrás de la tecnología que gira entorno a las células madre (CM) y la bioingeniería tisular, han abierto un camino de esperanza cuyo final sólo se atisba. La vieja idea de conseguir la regeneración de tejidos y órganos por sí mismos se está haciendo realidad, su momento ha llegado.

Los experimentos realizados en la Universidad de Wisconsin (Thomson et al. *Science* 282:1145-1147. 1998) por los que las células de la masa interna del blastocisto temprano humano (5-7 días) pueden cultivarse, expandirse y dirigir su diferenciación hacia diferentes tipos celulares procedentes de las tres hojas blastodérmicas (pluripotencia), abrieron un camino y revalorizaron un concepto, el de célula madre o troncal (*stem cell*): célula capaz de auto-perpetuación y diferenciación hacia linajes diversos.

Tras estos hechos surge la polémica sobre el uso de embriones humanos en investigación y, tras la polémica, ráfagas de luz que alumbran un camino apasionante. Junto al hecho indudable de la pluripotencialidad de las células madre embrionarias (CME) emergen las células madre del adulto o somáticas (CMA) cuya pluripotencialidad

se discute pero cuya multipotencialidad ya las coloca en posición ventajosa, sobre todo por la ausencia de problemas éticos y morales y por las ventajas que supone la posibilidad de terapias antológicas, siempre deseables.

Las CMA se consideran células con cualidades de embrionaria que quedan como pobladoras de los tejidos adultos, en los que realizan recambios naturales que aseguran la correcta biología de órganos y tejidos durante toda la vida del individuo. A los ejemplos tan conocidos como la regeneración cotidiana de la piel o la continua reposición de células sanguíneas, a partir de CM de los estratos basales del epitelio cutáneo o de la médula ósea, respectivamente, hay que unir ahora otras posibles reparaciones del tejido nervioso o miocárdico a partir de CM residentes en ambos tejidos. La presencia de CM en estos tejidos, y en muchos otros, está siendo comprobada día a día y la participación de las mismas en procesos regenerativos locales queda fuera de toda duda.

A la multipotencialidad de las CMA, ya de por sí un hecho relevante y lleno de posibilidades, según la cual, estas células son capaces de diferenciarse hacia diferentes linajes, pero siempre dentro de la hoja embrionaria de la que procede el tejido en el que se encuentran, hay que unir ciertas «transgresiones» a la norma. Es decir, cada día son más los datos que indican, por ejemplo, que a partir de CM hematopoyéticas (mesodérmicas) pueden obtenerse neuronas (ectodérmicas) o células hepáticas (endodérmicas); y al contrario, a partir de CM del sistema nervioso central o del hígado pueden obtenerse células diferenciadas capaces de repoblar otros tejidos correspondientes a hojas blastodérmicas diferentes. Esto es, la «gran ventaja» de las CME puede ser conquistada también por las CMA.

Pero ¿cómo puede entenderse, científicamente, esta pluripotencialidad de las CMA? ¿Cómo una célula que durante el desarrollo ha quedado formando parte de un tejido puede dar lugar a otras de hojas blastodérmicas diferentes?

Para poder explicar estos datos experimentales, hasta el momento se barajan cuatro hipótesis. La primera es la que supone que cuando, por ejemplo, se obtienen células capaces de repoblar el hígado a partir de CM hematopoyéticas de la médula ósea, lo que ocurre es que la población medular no es homogénea, y pueden haber otros tipos celulares que fuesen los responsables de esa «transición» médula-hígado. Esta explicación se está discutiendo continuamente puesto que cada vez son más las pruebas de que, aún partiendo de poblaciones «no contaminadas», se obtienen tales transiciones.

La segunda hipótesis es que las CM hematopoyéticas instaladas, por ejemplo, en el miocardio, lo que hacen es fusionarse con miocardiocitos locales, siendo ésta la razón de la adquisición de fenotipo miocárdico por las células medulares implantadas en el corazón. La existencia de fusiones celulares entre células implantadas y del huésped es un hecho científicamente demostrado pero que, sin embargo, no se cree que suponga un porcentaje tan elevado como para explicar los resultados que se obtienen. Por lo tanto, esta es una hipótesis parcialmente desechada por una cuestión estadística.

La tercera explicación estaría basada en auténticas transdiferenciaciones. Es decir, las CM implantadas en el miocardio o en el hígado sufrirían fenómenos de transdiferenciación hacia células del tejido hospedador, como consecuencia de influjos inductivos locales. Esta hipótesis no está descartada, aunque se desconoce la naturaleza y los mecanismos de tales procesos de reprogramación, pero que pueden no ser diferentes a los que actúan en la reprogramación nuclear que ocurre tras la transferencia nuclear a ovocitos enucleados (clonación), o los que ocurren en los fenómenos de des-diferenciación o re-diferenciación que presiden la regeneración espontánea de miembros de anfibios y peces. Se han indicado en estos fenómenos en las señalizaciones vía receptores del ácido retinoico y *Sonic Hedgehog*, así como genes específicos homeobox.

Por último, la cuarta hipótesis sería la que trata de explicar los hechos por elevación; es decir, en realidad lo que ocurre es que las CMA son realmente pluripotenciales, tanto como las embrionarias. Esta hipótesis parece verosímil, al menos bajo dos puntos de vista. El primero tiene que ver con el concepto de nicho, como lugar donde se dan unas determinadas condiciones microambientales que orientan la diferenciación hacia un determinado destino, en función de interacciones específicas. El concepto de *stem cell niche* se esgrime tanto para explicar la orientación de la biología de las CM residentes habituales de un tejido, como para predecir dicha orientación de cualquier célula madre que sea introducida en ese ambiente, aunque proceda de otra localización (Fuchs et al., *Cell* 116(6): 769-78, 2004).

El segundo punto de vista tiene que ver con una corriente de opinión con grandes apoyos experimentales, que daría la vuelta a todo el conocimiento actual en favor de una explicación más lineal: probablemente existe un solo tipo de CMA capaz de circular por vía sanguínea y de realizar hospedajes, transitorios o permanentes, en los diferentes tejidos y órganos donde se diferenciaría, haciendo posible la reparación de cualquier tejido sometido a una agresión. La mayor parte de los resultados y argumentaciones a favor de esta corriente están basados en estudios realizados con médula ósea y sangre periférica, desde los estudios de Huss et al. (*Stem Cell*, 18:252-60, 2000) que descubre la posibilidad de cultivar tipos celulares con fenotipo mesenquimático a partir de sangre periférica, hasta los que descubren la existencia de hasta tres tipos de CM en la médula ósea, además de las consabidas hematopoyéticas (Verfaillie, *Trends in Cell Biology* 12 (11):502-508, 2002): CM mesenquimáticas (MSC), que en la médula parecen formar el estroma, pero que en diversas circunstancias y condiciones, tanto *in vitro* como *in vivo*, son capaces de dar lugar a osteoblastos, condroblastos, adipocitos, mioblastos, etc, y hasta derivados neuroectodérmicos; células *side population* (SP), separadas por técnicas citofotométricas, capaces de dar diferentes tipos celulares, no todos mesodérmicos; y, por último, las células progenitoras multipotenciales adultas (MAPC) que a pesar de su nombre, parecen tan pluripotenciales como las propias embrionarias.

Se abre paso, por tanto, la idea de que en la sangre circulante encontramos, además de las CM hematopoyéticas, otras CM que pueden participar en la homeostasis, reparación y reposición de tejidos de órganos sólidos. Las pruebas sugieren que un daño ocurrido en un tejido provoca la liberación de «agentes reclutadores» de CM, primero a partir del pool de CM intrínsecas al propio tejido y si no fuese suficiente, de poblaciones extrínsecas, vía torrente circulatorio. Necesitamos saber mucho más sobre este posible mecanismo y muy especialmente, cómo modular las señales moleculares capaces de dirigir las CM de la sangre periférica a los órganos específicos para participar en la función de dichos órganos a través de su diferenciación hacia linajes específicos, dándonos la posibilidad de mejorar y restaurar una función perdida en particular.

¿Significa todo esto que en el control de las CMA está el futuro de la medicina regenerativa y no en las CME? En parte sí, pero no lo sabemos, y por ello debemos seguir investigando en ambos frentes. Objetivamente, la CMA son menos proliferantes que las CME y esto parece ser una cualidad imprescindible para conseguir terapias reparativas. La actividad telomerasa que alarga los telómeros de los cromosomas, cualidad esta consustancial con cualquier célula que prolifera, es mucho menor en las adultas que en las embrionarias. Esto deberá poder dominarse si queremos usar las adultas en terapia celular. Aunque, permítaseme un par de opiniones personales sobre este asunto.

Las CMA son poco proliferantes porque su misión es

mantenerse en los tejidos del adulto sin proliferar hasta que son «llamadas» para hacerlo. Entonces es cuando algunas de sus hijas, las que ya no van a ser madres en sentido estricto, y que proceden de una división asimétrica de aquellas, inician procesos «febriles» de proliferación para ayudar a reparar el daño ocurrido. El ejemplo más claro de esto lo encontramos en el mundo vegetal. En el centro de la población meristemática de la raíz, donde la proliferación es la cualidad de todas las células, encontramos un grupo de ellas con una bajísima tasa de división, las que forman el llamado centro quiescente. Durante años, desde que fuera descubierto en los '50 del siglo pasado, del centro quiescente se ha dicho de todo y en realidad, hoy se sabe que lo forman las auténticas CM de la raíz, son las iniciales de toda la población meristemática. Su baja tasa proliferativa asegura su permanencia como reserva continua de células iniciales. Son, sin embargo, sus hijas las que se dividen a toda velocidad cuando salen de la «zona de influencia» de este auténtico *stem cell niche*. Parece, por tanto, que sería más positivo el control de la división asimétrica de la CM, como señal reguladora de la formación de una célula progenitora, que nunca más volverá a ser madre, pero que su destino es proliferar para formar un «blastema reparador» destinado a la diferenciación hacia un linaje especializado, que será el que repare el daño producido.

Podría pensarse, así mismo, que tampoco fuesen necesarias muchas CM para una determinada reparación, ni que tampoco fuese preciso inocularlas en un estadio final de diferenciación. Quizás es más lógico pensar que lo que se necesita es un número no elevado de progenitores (posteriores a la división asimétrica de la CM) que pudieran actuar de molde o cebo para que, en

el ambiente tisular adecuado, se terminara el trabajo de forma espontánea.

Las CME, por el contrario, sólo saben dividirse, puede decirse que su especialidad es la proliferación y, además, «no están acostumbradas» a responder a estímulos diferenciadores; ellas nunca han estado en un «ambiente diferenciado» y, por lo tanto, éste puede ser su gran problema a la hora de usarlas en medicina regenerativa. Tenemos que aprender a dominar su división asimétrica que será la que dé paso a un proceso diferenciador. En la medida en que esto no sea posible, o sea deficiente, la posibilidad de que estas células implantadas en un huésped provoquen un proceso neoplásico, será una dificultad que frenará su uso en terapia regenerativa. Pero a pesar de todo, necesitamos el conocimiento que se genere en los estudios con CME. Aunque no llegáramos nunca a usarlas en la clínica humana, el potencial científico que encierran justifica su investigación. De su estudio se van a derivar grandes avances básicos sobre diferenciación celular que, entre otras cosas, podrán ser muy importantes para la comprensión de la prevención y tratamiento de enfermedades genéticas. Los estudios con este tipo de células, con esta tecnología, van a suponer un empuje importante en el campo tan deprimido, y por otra parte tan esperanzador, de la terapia génica. Y por si esto fuera poco, que no lo es, las células madre proporcionan excelentes sistemas experimentales para el ensayo de nuevas drogas o tests de toxicidad de éstas en células humanas, con todo el potencial terapéutico que esto supone.

En cualquier caso, su estudio habrá merecido la pena.

TENDENCIAS EN BIOLOGÍA VEGETAL: REFLEXIONES DE UN FISIÓLOGO VEGETAL.

Miguel Ángel Quesada

Profesor Titular, Departamento de Biología Vegetal, Universidad de Málaga

Lo que sigue es una visión personal, desde mi perspectiva profesional, de una temática compleja que es posible enfocar desde distintas posiciones. Como opinión que es, supone una visión parcial y de contenidos seleccionados.

Fisiología vegetal y Biología vegetal, pugna o metamorfosis:

Las preguntas que clásicamente intenta responder la Fisiología Vegetal son: ¿cómo funcionan los vegetales? y ¿cómo adquieren los vegetales las formas que soportan esas funciones? Es decir, se ocupa de comprender los mecanismos de funcionamiento y los procesos de crecimiento y desarrollo, intentando hacerlo en última instancia al nivel de integración que conocemos como organismo.

Desde el punto de vista metodológico, la

aproximación experimental predomina fuertemente, con una aplicación clásica del método científico mediante elaboración de hipótesis, experimentación, aceptación o no de hipótesis, e inicio de un nuevo ciclo.

Escribir sobre **tendencias** sería recapitular el grado de respuestas que se ha conseguido, ver lo que queda pendiente y analizar las aproximaciones experimentales que están propiciando más y mejores respuestas.

Aparentemente, el título más sencillo para este artículo sería «Tendencias en Fisiología Vegetal» y pasar directamente al análisis. Sin embargo, sustraería de esta reflexión el debate existente en torno a la propia naturaleza de la disciplina que dice mucho acerca de dónde viene y a dónde va.

La **Fisiología Vegetal** está sometida a tensión y, según se publicó el año 1996 en la prestigiosa revista americana