

espacio-temporal específico. Nada parecido a la idea que tienen algunos de que el escenario visual se proyecta a modo de 'foto' sobre el cerebro.

Es por tanto la activación de ciertas regiones corticales la que determina la visión y, en condiciones normales, esa activación ocurre cuando los estímulos visuales alcanzan la retina y desde aquí el tálamo y la corteza visual. Esta activación es necesaria desde etapas tempranas del desarrollo para que ocurra una maduración correcta de los circuitos nerviosos y se dé una visión normal. Si no hay activación de esas regiones visuales, como es el caso de los ciegos de nacimiento, esas áreas no se desarrollan normalmente y pierden su función 'visual', con lo cual no se pueden formar imágenes mentales (o al menos así se pensaba).

¿Qué ocurre con aquellas áreas corticales 'visuales' que no reciben los estímulos visuales para los que estaban destinadas?

Los estudios de privación sensorial realizados en animales sugieren que puede existir una reorganización de los circuitos corticales implicados en el análisis de la información sensorial. Este tipo de experimento consiste en privar de un determinado sentido al animal, la visión en este caso (cerrándole los ojos, por ejemplo), en etapas muy tempranas del desarrollo postnatal. En estos experimentos se observa que aquellas regiones de la corteza cerebral que estaban destinadas a recibir impulsos de naturaleza visual, y convertirse por tanto en áreas visuales, al no ser

estimuladas por señales provenientes del ojo se ven colonizadas por axones provenientes de regiones adyacentes, que están especializadas en recibir señales de otras modalidades sensoriales. Esta reorganización intermodal podría implicar que las áreas genéticamente determinadas a convertirse en áreas visuales son reconvertidas a áreas auditivas o somatosensoriales cuando hay una ausencia completa de estimulación sensorial visual.

Es probable que este tipo de reorganización de los circuitos nerviosos ocurra en aquellas personas que nacen sin ver, por lo que las otras modalidades sensoriales (tacto y audición, especialmente) disponen de una mayor superficie cortical para expandirse. ¿Es por ello por lo que las personas ciegas tienen muy 'agudizados' los otros sentidos? Más que probable.

Esta reorganización, sin embargo, no explicaría el hecho de la formación de imágenes mentales, aunque rudimentarias, en ciegos congénitos. Ciertamente podría conseguirse la activación de las áreas 'visuales' por otros estímulos no visuales (táctiles o auditivos), pero esa activación no debería conducir a la formación de imágenes. Si las personas ciegas de nacimiento experimentan algún tipo de sensación visual (aunque sea en sueños), sin haber tenido nunca una experiencia visual, la explicación más probable es que ciertas regiones corticales estén determinadas para 'formar imágenes' cuando son activadas, independientemente de dónde provenga la señal.

APLICACIÓN CLÍNICA DE CÉLULAS MADRE: UN LARGO CAMINO CON PROBLEMAS POR RESOLVER

José Becerra Ratia

Las células madre (*stem cells*) o células troncales han hecho irrupción en el mundo científico de tal forma que hoy resulta imposible sustraerse al impacto que están causando en la biología y la biomedicina. Las posibilidades demostradas, y sobre todo las que se intuyen con todo fundamento, son de tal importancia que el sitio que la investigación con células madre reclama es difícil de disputar. Ni siquiera la controversia ética o moral que suscitan ha hecho sino aumentar su interés y su impacto social. La posibilidad, nada remota, de encontrar a través de ellas tratamiento para patologías que hasta ahora no presentan solución o ésta es muy parcial, desborda todas las expectativas. Poder tratar la diabetes autoinmune (tipo 1), el Parkinson o el Alzheimer de manera cuasi revolucionaria, con eficacia insospechada y con parámetros más propios de la medicina natural que de la convencional

(sustancias químicas, drogas, etc.) ha hecho que la sociedad occidental se haya movilizado para allegar recursos, reunir voluntades y vencer barreras aparentemente infranqueables.

Pero es que además, bajo el punto de vista meramente científico, el estudio de la biología de las células madre va a aumentar sensiblemente el conocimiento de los mecanismos moleculares que gobiernan la proliferación y diferenciación de estas células, lo que va a servir no sólo para entender las posibilidades clínicas que encierran sino también para avanzar en asuntos tan importantes como el desarrollo y mantenimiento de los organismos, el envejecimiento o la aparición y progreso de neoplasias.

¿Significa esto que la biomedicina se ha encontrado súbitamente con un campo nuevo de grandes posibilidades que ha permanecido oculto

al avance científico? En realidad desde hace tiempo se sabe que tras el nacimiento quedan unas células embrionarias remanentes, diseminadas por los diferentes órganos y tejidos, que son capaces de responder a estímulos regenerativos e iniciar un proceso de autorrenovación, tras el cual algunas de ellas son capaces de diferenciarse hacia linajes especializados, propios del tejido en el que se encuentran. Así sabemos que reparamos nuestra piel, renovamos nuestras células sanguíneas, cicatrizamos los huesos o incluso reponemos la masa hepática amputada. Estas son las que han sido llamadas **células madre del adulto o somáticas** (*adult stem cells*) por encontrarse como parte constituyente de los individuos durante toda su vida postnatal (Anderson *et al. Nat. Med.*, 7:393-395. 2001).

Lo más novedoso ha sido el hallazgo de que las células embrionarias, constituyentes de la masa interna del blastocisto temprano (de 4-5 días en el caso del humano) puedan multiplicarse en el laboratorio, y a partir de ellas diferenciarse en los diferentes tipos celulares, y ahora sí, procedentes de cualquiera de las tres hojas blastodérmicas. Esto fue lo que consiguieron en la Universidad de Wisconsin, en 1998. Nacieron así las **células madre embrionarias** (*embryonic stem cells*) (Thomson *et al. Science* 282:1145-1147. 1998).

Todavía existe un tercer tipo denominado **células madre germinales o fetales** (*embryonic germ stem cells*) que tienen parecidas potencialidades que las anteriores y que pueden encontrarse en la llamada cresta gonadal de los fetos humanos de 5 a 10 semanas (Shamblott *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:13726-13731. 1998). De ellas se derivarán las células gaméticas durante la vida fértil del individuo.

Las diferencias entre unas y otras son apreciables, aunque no muy bien establecidas. Por ejemplo, se dice que las embrionarias y germinales son **pluripotentes**, es decir pueden dar lugar a células de cualquiera de las tres hojas embrionarias (ectodermo, mesodermo y endodermo). Por el contrario, las del adulto parecen capaces de originar otras de alguna de las hojas pero no de todas; por ello se les atribuye la cualidad de la **multipotencialidad**, reservando la **totipotencialidad** para las células de la mórula, anteriores a la segregación de la masa interna del blastocisto, cuando cualquiera de ellas puede dar lugar a un embrión completo. Esta es la razón por la que se dice que las células madre del adulto presentan menos plasticidad que las embrionarias, aunque cada vez hay más datos que indican que esta "deficiencia" puede ser claramente superable, y que cualquier célula del adulto puede ser genéticamente reprogramable en las condiciones

ambientales adecuadas, para dar lugar a células especializadas de cualquier tejido.

Otra característica que diferencia a unos tipos de otros es la posibilidad de replicación indefinida en cultivo. Mientras que las embrionarias sí presentan esa cualidad, las del adulto la tienen más limitada. Esto podría ser un serio *handicap* para el uso de este tipo celular en terapia regenerativa, toda vez que se necesita un gran número de ellas para hacerla posible. Sin embargo, los datos que aparecen diariamente en la literatura apuntan la posibilidad de que la mejora de las condiciones técnicas de cultivo acabarán con el problema. No obstante, se sabe fehacientemente que las células humanas pluripotentes son relativamente fáciles de cultivar durante muchas generaciones hasta conseguir su inmortalidad. A partir de ese momento, las líneas celulares podrían mantenerse indefinidamente y obtener de ellas células diferenciables hacia cualquier tipo celular, sin necesidad de nuevos embriones. Hasta la actualidad se han establecido casi medio centenar de líneas celulares pluripotentes humanas que muestran interesantes características tales como mantenimiento del número normal de cromosomas y posibilidad de dar lugar a células que expresan cualidades de diferenciadas, producir insulina, presentar actividad contráctil propia de células cardíacas, células sanguíneas, producción de determinadas sustancias propias del tejido nervioso, del hueso, del cartílago, etc. Además, las células humanas pluripotentes presentan telomerasa activa. La telomerasa es una enzima que mantiene la longitud de los telómeros cromosómicos que, a su vez, son importantes para mantener la capacidad de replicación. Es decir, telómeros largos indican mantenimiento de la capacidad proliferativa por muchas generaciones. Y este es el caso de las células pluripotentes humanas (Amit *et al. Dev. Biol.*, 227:271-278. 2000).

Aunque la polémica, o más bien la incertidumbre, sobre la conveniencia de usar células madre embrionarias o del adulto para terapias celulares en humanos sigue abierta, hay algunas consideraciones que deben tenerse en cuenta: los dos tipos son diferentes pero los dos presentan grandes posibilidades potenciales de uso clínico. Los trabajos futuros deberán decir cuáles son sus posibilidades proliferativas, de diferenciación, supervivencia y rechazo por el huésped. Probablemente unas de ellas sean mejores para ciertas aplicaciones, mientras otras lo serán para otras. De momento no es posible predecir casi nada. Más bien lo único que cabe es hacerse múltiples preguntas al respecto, cuyas respuestas sólo las podrán atisbar los avances imprescindibles en la biología celular de las células madre.

Algunas de las preguntas que necesitan respuesta antes de pasar a la realización de aplicaciones clínicas concretas pueden ser de este tipo:

¿Existe una célula madre universal capaz de circular y situarse en un tejido determinado para, ante la necesidad, generar células de ese tejido? ¿Cuáles son los factores responsables de la permanencia de las células madre en los lugares donde existe un daño a reparar? ¿Cuáles son los controles que dirigen un camino de diferenciación celular y no otro? ¿Mediante qué mecanismos pueden mantenerse en cultivo las células embrionarias en proliferación y cuáles son los que disparan su diferenciación? ¿Podemos conocer los mecanismos genéticos que permiten la diferenciación de células embrionarias en cada una de las procedentes de las tres hojas blastodérmicas, de tal forma que podamos manipular las del adulto para que inicien tal o cual camino de diferenciación? ¿Cuáles son las fuentes de células madre adultas en el cuerpo? ¿Cómo permanecen indiferenciadas en un “entorno diferenciado”? ¿Cuántos tipos de células madre adultas hay y en qué tejidos las podemos encontrar? ¿Cómo podremos manipularlas para mejorar su baja capacidad proliferativa actual? ¿Cuál será el estado de diferenciación más apropiado para el trasplante?...

Estas y otras muchas preguntas esperan respuesta de los cientos de laboratorios que actualmente están empeñados en esta investigación. A los problemas científicos por resolver debemos añadir las medidas de seguridad que precisan tomarse antes de transferir a un organismo células que deben ser “manipuladas” en el laboratorio. Es decir, sólo después de conocer los procesos básicos que subyacen en la proliferación y diferenciación de este tipo de células y de desarrollar todo un programa de seguridad pre- y post-implante, podremos embarcarnos en programas de terapia celular con garantías de éxito y sin peligros gratuitos. Las células madre transplantadas son entidades biológicas dinámicas que interactúan y

son influenciadas por la fisiología del receptor. Antes de ser transplantadas deben mantenerse en condiciones que promueven su expansión por autorrenovación de progenitores indiferenciados o la adquisición de propiedades de diferenciación indicativas de cada fenotipo. El trasplante de tipos celulares no completamente diferenciados supone el reajuste de su metabolismo, de su programa genético, como consecuencia de las órdenes recibidas en el microambiente en el que son incluidas. La capacidad de proliferación y diferenciación inherente a este tipo de células son un reto para evaluar su seguridad. El desorden proliferativo o los errores de diferenciación post-implante son asuntos de extrema gravedad y de impredecibles consecuencias para no ser tenidos en cuenta con todo rigor.

Aunque todo el mundo científico está de acuerdo en la necesidad de ser cautelosos antes de iniciar casos clínicos con células madre, existen matices entre unos y otros. Mientras unos proponen esperar los próximos cinco años para estar seguros de introducir células madre con fines reparativos, otros piensan, sencillamente, que es necesario saber mucho más sobre la biología básica de las células madre humanas antes de explotar su valor terapéutico, independientemente de los años que deban transcurrir.

MEDIDA DE PROTECCIÓN	CME	CMG	CMA (autólogos)
Examen del donante: - Agentes infecciosos - Valoración genealogía - Pruebas genéticas moleculares	++	++	++
Uso controlado y prácticas estandarizadas de procedimientos para el establecimiento de líneas celulares	++	++	++
Desarrollo de alternativas al cultivo con fibroblastos irradiados de ratón (<i>cell feeder layer</i>) (Cheng y cols. 2003)	++	++	No necesario
Caracterización detallada de líneas celulares: - Morfología celular, antígenos de superficie, marcadores - Bioquímicos, expresión de genes, análisis de cariotipo - Actividad biológica...	++	++	++
Estudios preclínicos en modelos animales: - Enfermedades modelo: migración e integración celular - Análisis exhaustivo de toxicidad - Potencial proliferativo	++	++	+
Monitorización de pacientes y seguimiento intensivo a largo plazo	++	++	++

++, más importante; +, menos importante.
CME: células madre embrionarias;
CMG: células madre germinales;
CMA: células madre del adulto

En el cuadro se reproducen en parte las medidas de seguridad que deben implementarse, según la propuesta realizada por el *National Institute of Health* de los Estados Unidos de América, antes de arriesgarse en la aplicación clínica de las células madre, independientemente de su origen (NIH, 2001).

Como puede observarse, todas tienen riesgo potencial y a todas deben afectar las medidas de seguridad, pero las embrionarias lo precisan en mayor grado. Finalmente, el riesgo seguro de

rechazo inmunológico que presentan las embrionarias es algo que preocupa menos, ya que se confía en poder “domesticar” las células mediante terapia génica para suprimirles esa capacidad. En todo caso, el desarrollo farmacológico permite dominar con garantías el rechazo inmunológico, aunque no exento de toxicidad y riesgo de inducción neoplásica. Así mismo, según avance el conocimiento, la clonación terapéutica podría ser una solución definitiva a este problema. Pero este es otro asunto que deberá tratarse separadamente.

BACTERIAS TERMÓFILAS. AL LÍMITE DE LO TOLERABLE

Elena Sánchez Fernández

Las bacterias termófilas son aquellas que se desarrollan a temperaturas superiores a 45°C, pudiendo superar incluso los 100°C (hipertermófilos) siempre que exista agua en estado líquido, lo que se consigue si la presión es elevada como ocurre en las profundidades oceánicas. Actualmente se están descubriendo muchas especies nuevas de bacterias termófilas en chimeneas hidrotermales de las profundidades marinas, como es el caso de *Rhodothermus obamensis* en la Bahía Tachibana (Japón) con un crecimiento óptimo a 80°C [Int J Syst. Bact, **46**:1099-1104 (1996)], *Deferribacter desulfuricans* en la montaña marina de Suiyo (Japón) con un crecimiento óptimo a 60-65°C [Int J Syst. Evol Microbiol, **53**:839-846 (2003)], *Marinithermus hydrothermalis* aislada a una profundidad de 1.385 metros [Int J Syst. Evol Microbiol, **53**:59-65 (2003)], o *Thermodesulfobacterium hydrogeniphilum* con un crecimiento óptimo a 75°C [Int J Syst. Evol Microbiol, **52**:765-772 (2003)], entre otros.

Existen organismos marinos capaces de desarrollarse alrededor de las chimeneas hidrotermales gracias a su asociación simbiótica con bacterias termófilas. Estas bacterias usan los sulfuros que les proporciona el organismo marino para convertirlos en una fuente de materia orgánica con la que el animal se desarrolla. Estos organismos marinos poseen adaptaciones bioquímicas para soportar la toxicidad del sulfuro (hemoglobinas modificadas, más volumen de sangre del habitual) y adaptaciones para eliminar este azufre tóxico. Así, en estas fuentes hidrotermales se cita al Filo *Pogonophora* con bacterias simbióticas en el interior de su trofosoma, al Filo *Annelida* (concretamente tubícolas de la Clase *Polychaeta*) o a la Clase *Bivalvia* con bacterias asociadas a las branquias (*Lucinidae*).

Los termófilos se caracterizan a nivel de

membrana porque poseen una proporción alta de lípidos saturados de cadena larga, lo que hace que tenga la fluidez adecuada a altas temperaturas. En cuanto a las proteínas, se ha visto que poseen gran estabilidad debido a enlaces de tipo covalente e interacciones hidrofóbicas.

El estudio de los termófilos se inició hace unos cuarenta años pero se ha ido intensificando cada vez más ya que poseen enzimas diferentes que les permiten trabajar en condiciones extremas y que tienen multitud de aplicaciones industriales. Se han aislado enzimas como α -amilasas, DNasas y serínproteasas de la bacteria termófila marina *Pyrococcus furiosus*, xilanasas termoestables de la bacteria *Rhodothermus marinus*, etc.

Las industrias dedicadas a blanquear papel, textil y otros productos ven mejor usar para el blanqueo el peróxido de hidrógeno que el cloro tóxico, aunque sería deseable eliminar el peróxido una vez utilizado para que el agua empleada en el proceso pueda reutilizarse o eliminarse al ambiente sin problema. Actualmente, el peróxido del proceso se diluye en grandes cantidades de agua limpia que suele tener alto coste o se trata con agentes como bisulfito de sodio o hidrosulfito que dejan sal en el agua. Las enzimas catalasas convierten el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno, pero los procesos de blanqueado industrial se llevan a cabo a elevadas temperaturas, con lo que las catalasas disponibles comercialmente se estropean rápidamente. Se han encontrado, en el Parque Nacional de Yellowstone, bacterias termófilas que producen catalasas termoestables que podrían emplearse en el proceso de blanqueado sin que la elevada temperatura les afecte en absoluto [Chemical & Engineering News, 26 Mayo (2003)].

Otra gran utilidad industrial de las bacterias termófilas sería la degradación de los PCBs (policlorobifenilos). Estos compuestos son muy