

La clave del desarrollo del embrión está en la diferenciación celular.

Diferenciación celular

HECTOR MAYANI V. y
MA TERESA PARAS*

Dentro de la gran variedad de campos que encierra la Biología existe en particular uno que, por su naturaleza, complejidad e implicaciones, es realmente fascinante: la diferenciación celular.

¿Cómo es que a partir de una sola célula —óvulo fecundado o cigoto— se origina un organismo tan complejo como un árbol, un pez o un ser humano? ¿Por qué, si nuestras neuronas y las células de nuestra piel contienen la misma información genética en sus respectivos núcleos, son morfológica y funcionalmente tan diferentes? ¿Cómo "sabe" una célula eritroide cuándo debe empezar a sintetizar hemoglobina y cuándo debe dejar de hacerlo? Preguntas como éstas han sido formuladas por hombres de ciencia desde há tiempo. Con los avances alcanzados hoy día en áreas como la bioquímica, biología celular y biología molecular, se ha dado respuesta a varias de ellas, sin embargo, conforme nos introducimos en este campo son más los cuestionamientos surgidos que las respuestas encontradas.

El objetivo fundamental del presente artículo no es exponer con detalle los modelos propuestos para explicar la diferenciación celular, pues ello requeriría no uno, sino varios artículos. En realidad,

* Profesores del Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, UNAM

intentamos presentar un panorama general desde nuestro muy particular punto de vista sobre este interesante tema, buscando que el presente artículo sirva, de alguna manera, a gente interesada en el estudio de la biología.

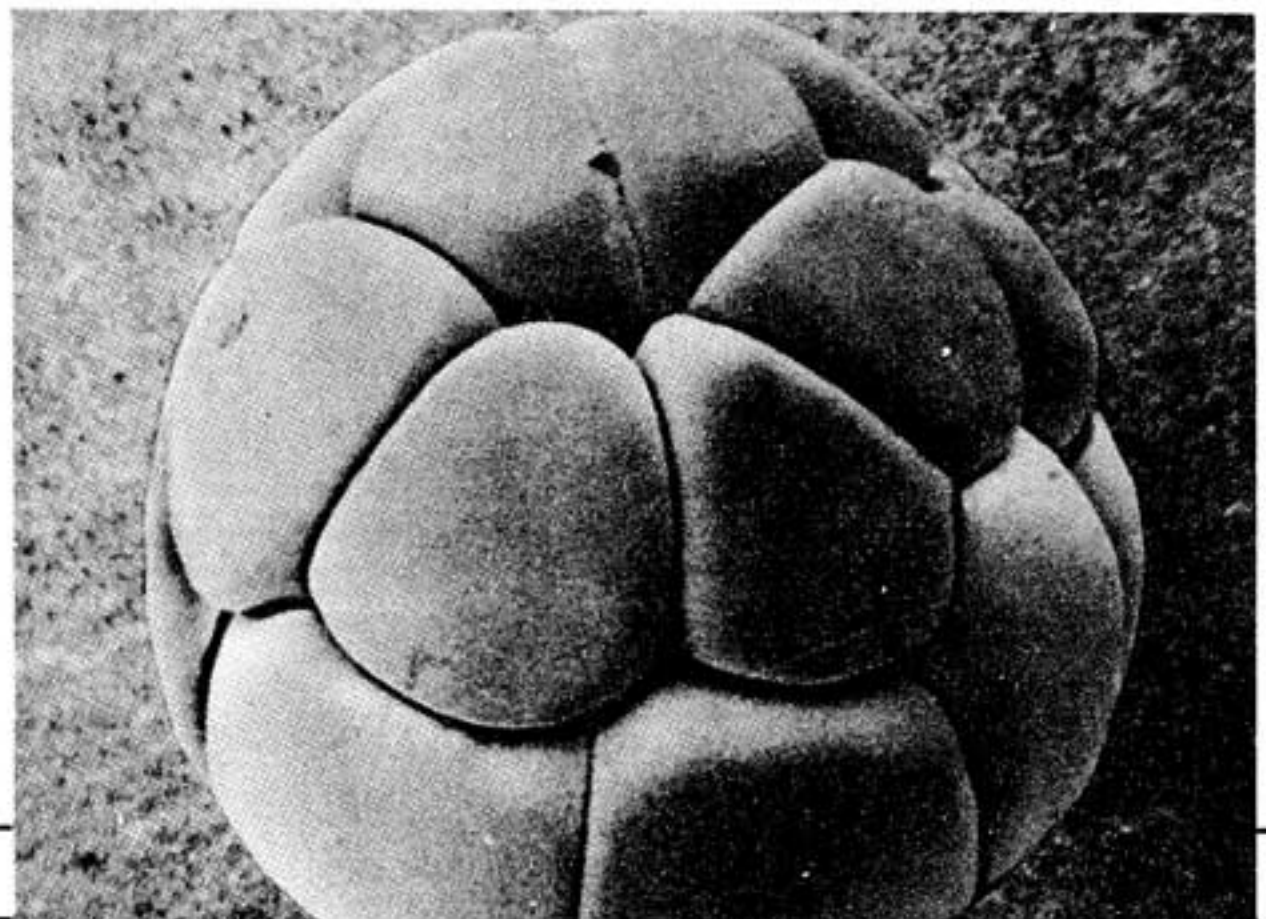
UNA VISION HISTORICA

Mucho antes de que el hombre supiera algo acerca de las células, y mucho menos algo acerca de las moléculas, ya estaba familiarizado con uno de los misterios más tangibles de la naturaleza: un huevo, tan sencillo en apariencia pero capaz de producir un organismo vivo, completo y

perfecto en cada uno de sus detalles y de una complejidad difícil de imaginar.

Es probable que desde el momento en que el hombre colocó huevos de gallina en incubadoras artificiales (y esto nos remonta a hace varios siglos) se le ocurriese abrirlos de vez en cuando y observar así el sorprendente espectáculo de la transformación del huevo en pollito. Incluso Aristóteles describió un hecho importante: la cabeza del embrión se desarrolla más de prisa que su cola. Desde ese momento, un fenómeno que hasta entonces había sido considerado como algo muy

Etapa en el desarrollo de un huevo de rana



normal y bastante común, tomó particular relevancia despertando enorme interés entre las generaciones siguientes; el hombre había descubierto que el desarrollo del pollo se inicia aún antes de que éste nazca.

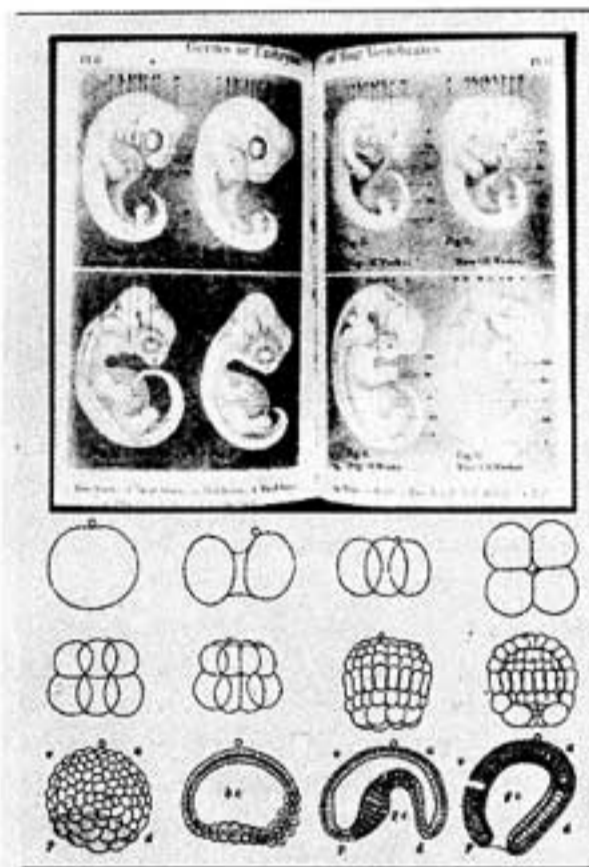
Poco a poco los estudios con embriones de aves fueron haciéndose más intensos y profundos, de tal forma que lo denominado como embriología descriptiva y comparativa tuvo un gran desarrollo durante los siglos XVIII y XIX. A principios del presente siglo, y sobre todo en la década de los treinta, el crecimiento embrionario además de ser analizado desde el punto de vista morfológico, empezó a estudiarse bajo los conceptos de la química, lo cual trajo consigo descubrimientos sorprendentes. Para entonces, además de los huevos de aves, se utilizaron también los de erizo de mar y anfibios (particularmente rana), lográndose así describir y caracterizar diferentes etapas dentro del desarrollo embrionario y algo aún más prodigioso, se encontraron grandes semejanzas en el desarrollo prenatal de distintas especies animales.

Toda la información que se fue obteniendo al respecto a partir de la profusión de experimentos realizados, condujo a un postulado fundamental: la clave de la embriología radica en la diferenciación celular; esto es, el secreto está en conocer de qué manera una célula se diferencia de otras y logra especializarse para llevar a cabo funciones particulares y a raíz de tal aserto muchas de las investigaciones subsiguientes ya no tomaron como unidad de estudio a todo el embrión, sino a la propia célula, buscando hallar en ella respuestas a las preguntas planteadas mucho tiempo atrás.

Cuando se iniciaron los primeros experimentos sobre diferenciación celular, los conocimientos que se tenían sobre la morfología y fisiología de la célula eran lo suficientemente amplios como para orientar los estudios hacia conocer los posibles papeles del núcleo, el citoplasma y el medio extracelular en este proceso.

Uno de los primeros pasos consistió en encontrar un tipo celular apropiado que sirviera como modelo o sistema experimental. Así, algunos investigadores continuaron enfocando su atención al óvulo fecundado (cigoto), mientras que otros decidieron emplear otros tipos celulares como fibroblastos, células epiteliales, musculares, hematopoyéticas, pancreáticas, etc. Incluso, más recientemente se han hecho estudios en ciertos hongos y,

sorprendentemente, en algunos organismos procariontes, ya se ha considerado a la esporulación bacteriana como un sistema de diferenciación "simple". La gran variedad de sistemas de estudio ha enriquecido enormemente el conocimiento actual sobre la diferenciación celular, pues en general los resultados obtenidos en uno de ellos confirman, complementan o aclaran los obtenidos en otros.



A fines del siglo XIX se hicieron estudios comparativos sobre el desarrollo embriológico de diversos organismos.

Los experimentos de Briggs, King y Gurdon en los años 50 y 60 arrojaron un importante caudal de información al respecto. Lo que estos investigadores hicieron fue trasplantar el núcleo de una célula intestinal de rana a un óvulo no fecundado de la misma, cuyo núcleo había sido previamente eliminado; una vez logrado esto, el óvulo comenzó a dividirse y desarrollarse hasta dar origen a un renacuajo normal, y éste a una rana madura. Posteriormente se realizaron experimentos similares empleando otros tipos celulares del mismo organismo como donadores de núcleos y el resultado fue muy parecido. Tales experimentos condujeron a postular que: 1) todas las células de un organismo contienen la misma información genética en sus núcleos; 2) la diferenciación y especialización celular es un problema de regulación génica y no de ganancia o pérdida de genes; 3) el citoplasma y probablemente el medio extracelular, son factores que influyen en la expresión

de los genes. En consecuencia el siguiente paso fue tratar de establecer con detalle los factores y mecanismos involucrados en la regulación de la expresión génica.

LA EXPRESION GENICA Y LA DIFERENCIACION CELULAR.

A principios del presente siglo, Dienert demostró que en la levadura, las enzimas responsables de la utilización de la lactosa son sintetizadas, sólo cuando este azúcar está presente en el medio nutritivo; es decir, la célula no gasta su energía en producir enzimas que no le son necesarias. De esta forma quedó establecido que las células de levadura poseían la capacidad de regular la producción de sus enzimas, capacidad que —se pensó— debería poseer toda célula. Sin embargo, no se pudo dar una explicación más amplia sobre el fenómeno por una razón muy sencilla: la síntesis de cualquier enzima es un proceso que involucra al material genético de la célula y en aquel entonces éste no era conocido.

Años más tarde, los trabajos de Avery, Macleod y McCarty en 1944 y de Hershey y Chase en 1952, demostraron que el material genético es el ácido desoxirribonucleico (ADN). Paralelamente, los estudios encaminados a conocer la estructura del ADN alcanzaron resultados impresionantes que culminaron con el modelo de la doble hélice propuesto por Watson y Crick en 1953. Lo anterior trajo consigo grandes avances, de tal manera que se pudo empezar a dar respuesta a la pregunta ¿cómo regula la célula la síntesis de sus enzimas?

En 1961, F. Jacob y J. Monod, utilizando como sistema de estudio a la bacteria *Escherichia coli*, propusieron un modelo que explicaba detalladamente el mismo fenómeno observado por Dienert años atrás, el modelo del Operón. De acuerdo a éste, el genoma bacteriano tiene dos tipos de genes: los estructurales y los reguladores. Los primeros son aquellos cuya información determina la estructura primaria de proteínas específicas; mientras que los genes reguladores son los que, de acuerdo a señales particulares, determinan que uno o varios genes estructurales sean o no transcritos. Por ejemplo: cuando la lactosa no está en el medio, los genes estructurales de las enzimas involucradas en la degradación de dicho azúcar no son transcritos, por estar presente un represor (proteína codificada por el gen regulador). Ahora bien, cuando la lactosa sí está en el medio, el repre-

sor es inactivado y los genes estructurales transcritos.

Más recientemente ha sido propuesto otro modelo para explicar la regulación génica en procariontes: el modelo de atenuación, el cual ha sido involucrado en las vías biosintéticas de enzimas que intervienen en la producción de aminoácidos como histidina y triptofano. Es importante destacar que este modelo no reemplaza al de Jacob y Monod, sino que, de acuerdo a las evidencias que se tienen, ambos mecanismos están presentes en la regulación de los genes bacterianos, aunque no necesariamente actúan sobre los mismos genes.

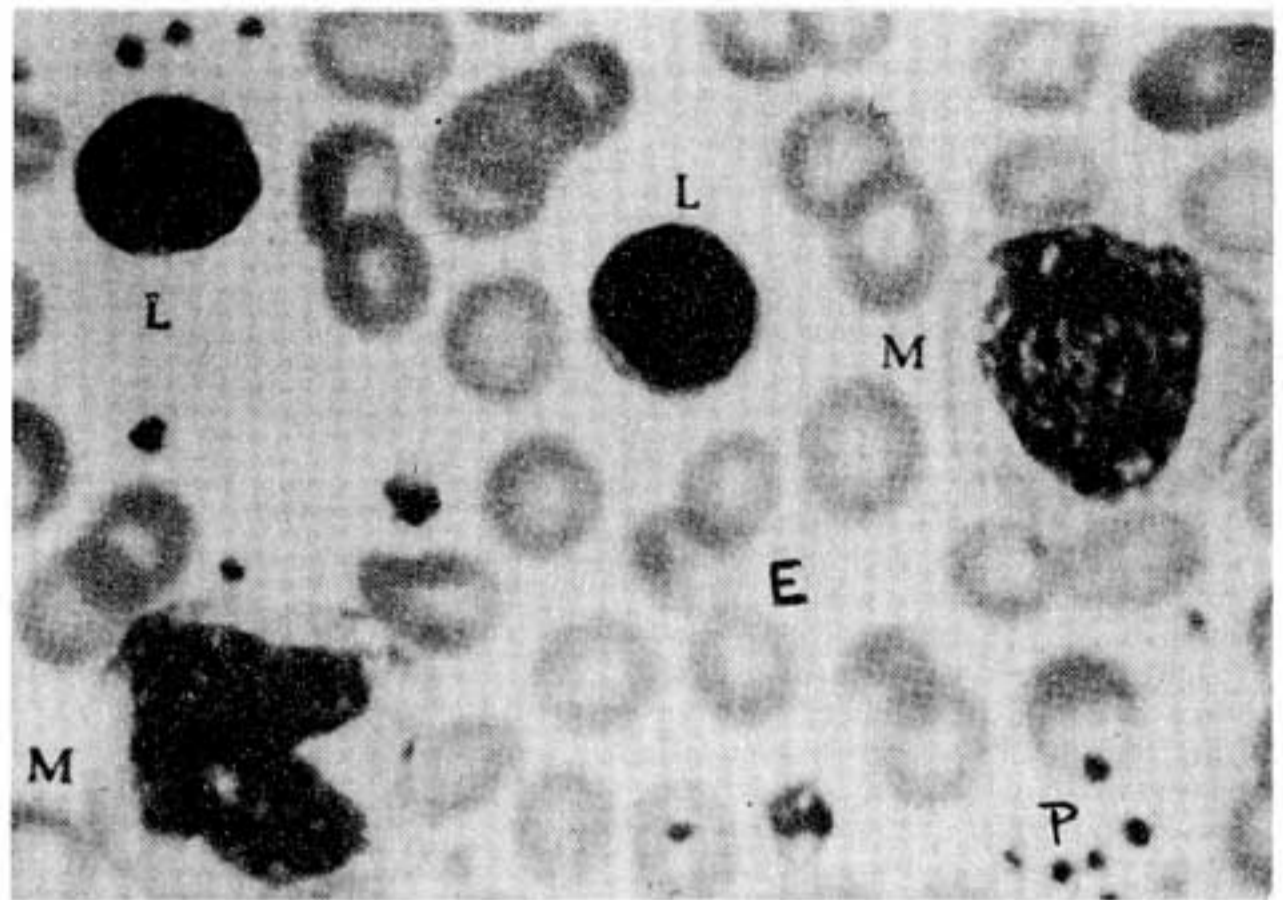
Los trabajos anteriores, llevados a cabo por Jacob y Monod (Operón Lac) y Ch. Yanofsky y colaboradores (modelo de atenuación) reafirmaron que: 1) efectivamente, la célula es capaz de regular la producción de los tipos y cantidades de proteínas que requiere, y 2) el ambiente extracelular tiene influencia en dicha regulación.

Ahora bien, para explicar la regulación de la expresión génica en células eucariotes (nucleadas), la empresa se presenta más difícil, pues existen grandes diferencias con respecto a las células procariontes, que hacen al genoma eucariote bastante más complejo. Mencionaremos a continuación algunas de ellas:

- La cantidad de ADN en células eucariotes es mayor (de 2 a 5 órdenes de magnitud) que en células procariontes
- El genoma eucariote se encuentra dividido en varios cromosomas, mientras que el genoma bacteriano presenta un solo cromosoma circular
- La diploidía solamente se presenta en células eucariotes
- En los organismos procariontes, la transcripción y traducción del ADN son procesos simultáneos, mientras que en eucariotes están separados espacial y temporalmente
- El ADN de los eucariotes está asociado a proteínas, histonas y no histonas, que juegan papeles importantes en su arreglo espacial, su replicación y su transcripción.

Pese a todo lo anterior, no hay que perder de vista que los mecanismos enzimáticos básicos para la replicación, transcripción y traducción del ADN en procariontes y eucariotes son muy similares.

En 1969, Britten y Davidson propusieron un modelo para explicar la regulación génica en eucariotes. Según éste, el genoma eucariote contiene varios "si-



La hematopoyesis es un caso particular de diferenciación celular bastante interesante, en el que a partir de un tipo celular determinado (denominado CF-U-L-M) tienen su origen los Linfocitos (L), Monocitos (M), Plaquetas (P), Eritrocitos (E) y Granulocitos.

tios sensores" que pueden reconocer a distintos agentes, como: inductores metabólicos, inductores hormona-receptor, o bien, nucleótidos reguladores. Cuando el agente inductor se une al sitio sensor, provoca que un gen adyacente a este último (gen integrador) origine una molécula de ARN (activador) que puede unirse a distintos sitios llamados "receptores", los cuales pueden estar en el mismo cromosoma o en otro. La unión de ARN activador al sitio receptor provoca que se inicie la transcripción de los genes estructurales adyacentes a éste.

Ahora bien, aunque en términos generales el modelo parece lógico, la gran cantidad de evidencias obtenidas en los últimos quince años indican que la regulación de la expresión génica en eucariotes es mucho más compleja de lo que dicho modelo sugiere.

Diversos estudios han demostrado que sólo una porción de todo el ADN presente en el genoma eucariote es expresado, ello es, existe una gran cantidad de material genético del que se desconoce su función precisa. Es interesante el hecho de que al comparar la cantidad de ADN presente en el núcleo de una célula de organismos como la rana o el sapo, 15.7×10^{-9} mg y 7.3×10^{-9} mg respectivamente, resulta ser mayor que la presente en el núcleo de una célula de humano (6.0×10^{-9} mg).

A nivel de microscopía electrónica, ha podido observarse que existen regiones de la cromatina (material intranuclear compuesto por ácidos nucleicos y proteínas) cuyo aspecto es muy denso, mientras que otras son bastante claras. Usando marcadores radiactivos se ha demostrado que las zonas densas son transcripcionalmente inactivas y se les ha denominado heterocromatina. Por su parte, las zonas claras muestran actividad de transcripción (síntesis de ARN mensajero) y constituyen la Eucromatina. La cantidad de ambas formas de cromatina en el núcleo de una célula depende del tipo celular que se trate, del estado metabólico y del grado de diferenciación.

Interactuando fuertemente con el ADN se encuentran cinco tipos de proteínas básicas denominadas histonas. Cuatro de ellas forman un complejo octamérico que se asocia a las cadenas de ADN constituyendo el Nucleosoma; el quinto tipo de histona pudiera desempeñar el papel de "seguro", aparentemente reforzando la unión del complejo proteínico y el ADN. Aunque su papel es fundamentalmente estructural se antoja pensar que las histonas pudieran intervenir en la regulación de la expresión génica, sin embargo, no se sabe con exactitud de qué manera lo hacen.

En el núcleo celular existen, además, las no histonas, proteínas cuya variedad es mucho mayor que las histonas. Dentro

de ellas se encuentran las proteínas que constituyen los complejos enzimáticos para la replicación y transcripción del ADN; existen también varios tipos de proteínas contráctiles que actúan durante la división celular. Es importante recalcar que últimamente se han encontrado bastantes más tipos de proteínas no histonas, cuyas funciones —aunque no son bien conocidas— pudieran estar implicadas en la regulación génica.

Estudios recientes realizados en distintos tipos celulares, han demostrado que la expresión de los genes en eucariontes puede verse regulada por modificaciones covalentes en los distintos componentes de la cromatina; particularmente, se ha observado que existe una relación inversa entre la metilación del ADN y la expresión génica, esto es, ciertas secuencias del genoma eucarionte cuando se encuentran metiladas no son transcritas.

La regulación de la expresión génica en eucariontes puede ocurrir también a nivel post-transcripcional, es decir, una vez que ya ha sido sintetizada la molécula de ARN mensajero, pues se sabe que ésta sufre cambios antes de salir al citoplasma, como la adición de CAP en el extremo 5' y de poli A en el extremo 3'; también se ha probado que el ARNm recién sintetizado es fragmentado, quedando excluidos ciertos segmentos denominados intrones (que no serán traducidos). Incluso, la envoltura nuclear parece estar involucrada en la regulación post-transcripcional, ya que algunos estudios han confirmado que el número de poros, por unidad de área de dicha envoltura, está en relación directa con la actividad transcripcional de la célula, y hay que recordar que es precisamente a través de esos poros por los que pasa el ARNm hacia el citoplasma para su posterior traducción.

Hasta aquí hemos mencionado únicamente algunos factores y niveles de organización estructural intranucleares involucrados en la regulación de la expresión génica; ahora es necesario recalcar que toda la actividad que se efectúa dentro del núcleo y cuya resultante es que ciertos genes se expresen y otros no, está sujeta a la presencia y acción de moléculas que provienen del medio extracelular. Dichas moléculas inductoras son generalmente proteínas producidas en células específicas y son características de cada órgano, pudiendo consumir su acción lejos del sitio donde fueron producidas. Por ejemplo, la eritropoyetina es una proteína inducida principalmente en el riñón y que desempeña su actividad en la médula ósea, regulando la diferenciación de las células eritroides.



¿Cómo es que a partir de un óvulo fecundado se origina un organismo tan complejo como el ser humano?

Es evidente entonces, que la diferenciación celular resulta un proceso verdaderamente complejo, debido a los muchos y muy variados factores y mecanismos que, actuando de manera conjunta, están involucrados en él. Actualmente diversos laboratorios del mundo interesados en este problema practican investigaciones, valiéndose para su estudio de distintas líneas celulares, como: células musculares, epiteliales, nerviosas, germinales, hematopoyéticas, etc.

Aunque hablar sobre las implicaciones que tiene el estudio de la diferenciación celular podría ser tema de otro artículo, solamente quisiéramos mencionar que existen ciertas enfermedades de difícil curación en la actualidad, tales como la anemia aplásica, algunos tipos de cáncer y malformaciones ocurridas durante el desarrollo prenatal, cuyo origen se debe a alteraciones en los mecanismos de diferenciación celular.

El estudio de la diferenciación celular puede ser la clave para resolver problemas tan complejos, como el cáncer.

LECTURAS RECOMENDADAS

1. Branchet, J. (1975). **Introducción a la embriología molecular**. H. Blume Edic. Madrid, España.
2. Fischberg, M. y Blackler, A. (1961). **Cómo se especializan las células**. *Sci. Am.* (Sept.).
3. Gurdon, J.B. (1968) **Núcleos transplantados y diferenciación celular**. *Sci. Am.* (dic.).
4. Wolpert, L. (1978) **Pattern formation in biological development**. *Sci. Am.* 239 (4).
5. Jacobson, A.G. (1966). **Introductory processes in embryonic development**. *Science* 152:25-34.
6. Felsenfeld, h. and Mehhee, J. (1982) **Methylation and gene control**. *Nature* 296:602-603.
7. Balinsky, B.I. (1981) **An introduction to Embriology**. Sanders College Publishing, U.S.A.
8. Goldwasser, E. (1975) **Erythropoietin and The differentiation of red blood cells**. *Fed. Proc.* 34: 2285-2292.
9. Alberts, B; *et. al* (1983) **Molecular Biology of The Cell**. Garland Publishing Inc. U.S.A.

