

# Células madre: fundamentos y experiencias de terapia celular

Stem Cells: Fundamentals and experiences with cellular therapy

Paola Valero-Palencia, MgSc, Arraiz Naillet, MgSc, PhD, Maricarmen Chacín, BSc, Roberto Añez, BSc, Alexandra Toledo, BSc, Maikol Pacheco, BSc, Endrina Mujica, BSc, Andrea Mujica, BSc, Valmore Bermúdez, MD, MPH, PhD

\*Centro de Investigaciones Endocrino-Metabólicas "Dr. Félix Gómez" Facultad de Medicina, Universidad del Zulia

Correo Electrónico: paolavalero@gmail.com.

Recibido: 31/01/2011

Aceptado: 26/03/2011

## Resumen Abstract

Una célula indiferenciada que posee la capacidad de replicarse de forma casi ilimitada y diferenciarse dando lugar a diversos tipos de células especializadas es llamada célula madre o célula troncal. Las células madre se pueden clasificar de acuerdo a tres criterios: potencial de diferenciación, tejido de origen y capacidad de repoblación tisular. Las células madre son un componente importante en un embrión puesto que gracias a ellas se puede desarrollar un individuo completo. La presencia de estas células en tejidos adultos permite su renovación, teniendo como ejemplos más conocidos la piel, la córnea, los huesos y las células sanguíneas; sin embargo, su potencial de diferenciación es limitado en comparación con las células madre embrionarias, de manera que su progenie usualmente son células del tejido de origen. En la actualidad, se han realizados grandes avances en la terapia celular con células madre en enfermedades neurológicas, cardíacas, oftalmológicas, musculares, traumatológicas y endocrinológicas en modelos de experimentación animal y en algunos casos en humanos, pero debido al potencial desarrollo de tumores con las células madre embrionarias y a las dificultades para el cultivo proliferativo de las células madre adultas, los avances en la medicina regenerativa son muy lentos. La obtención de progenitores celulares adultos, representa una alternativa de investigación prometedora en el estudio de la biología de las células madre y el diseño de nuevos enfoques terapéuticos.

**Palabras clave:** Células madre, diferenciación celular, células madre embrionarias, células madre adultas, terapia celular.

Undifferentiated cell that possesses capacity to replicate in an almost unlimited way and differentiating giving birth to several kinds of specialized cells is called mother cell or stem cell. Mother cells may be classified attending to three criteria: Differentiation potential, according to origin tissue and to its capacity of tissular re-growing. Mother cells are an important component of an embryo because they are responsible for promoting developing of a complete individual. Presence of these cells in many adult tissues allows their renovation having examples in skin, cornea, bones and blood cells; although their potential for differentiation is limited comparing them with embryo mother cells so their progenic cells are usually cells derived from original tissue. Actually great advances have been made about therapy with mother cells in neurological, cardiac, ophthalmologic, muscular, traumatological and endocrinological diseases in animal experimenting models and in some human cases but due to the possibility of tumors developing with embryo mother cells and to difficult proliferative culture of adult mother cells advances in regenerative medicine are slow. Obtaining adult cell parents represents a promising alternative in the study of mother cells biology and design of new therapeutic approaches.

**Key Words:** stem cell, cellular differentiation, embryo mother cells, adult mother cell, cell therapy.

# Introducción

Célula madre o *stem cell* se define como una célula progenitora, autorenovable, capaz de regenerar uno o más tipos celulares diferenciados<sup>1,2</sup>. Es decir; Una célula madre es una célula que posee las mismas características fenotípicas de una célula normal indiferenciada que tiene capacidad de autorrenovarse mediante divisiones mitóticas o bien de continuar la vía de diferenciación para la que está programada y, por lo tanto, producir uno o más tejidos maduros, funcionales y plenamente diferenciados en función de su grado de multipotencialidad<sup>1-4</sup>.

La mayoría de tejidos de un individuo adulto poseen una población específica propia de células madre que permiten su renovación periódica o su regeneración cuando se produce algún daño tisular. Algunas células madre adultas son capaces de diferenciarse en más de un tipo celular como las células madre mesenquimales y las células madre hematopoyéticas; mientras que otras se cree que son precursoras directas de las células del tejido en el que se encuentran, como las células madre de la piel o las células madre gonadales (células madre germinales). Es común que en documentos especializados se las denomine *stem cells*, en inglés, donde *stem* significa tronco, traduciendo muy a menudo como "células troncales"<sup>2,5-7</sup>.

Las células madre tienen dos características importantes que las distinguen de otros tipos de células. La primera de ellas es que son células no especializadas que se renuevan ilimitadamente. La segunda es que bajo ciertas condiciones fisiológicas o experimentales, se las puede inducir a que se conviertan en células con funciones especiales tales como células musculares cardíacas o células  $\beta$  pancreáticas<sup>2,5</sup>.

## Características y clasificación de las células madre

### Características

**Las células madre son capaces de dividirse y de renovarse por periodos largos.** Contrariamente a las células musculares, a las células sanguíneas o las neuronas, las cuales normalmente no renuevan; las células madre pueden replicarse casi en forma indefinida. Una población pequeña de células madre incubada por muchos meses en el laboratorio puede producir millones de células. Si las células hijas continúan siendo no especializadas como la célula madre inicial, estas serán capaces de auto renovarse a largo plazo al igual que las células madre de la cual se originaron<sup>7</sup>.

**Las células madre son no especializadas.** Una de las características fundamentales de una célula madre es que no tiene ninguna estructura de tejido específica que le permita realizar funciones especializadas, su principal función es la de replicación. Una célula madre no puede trabajar con sus células vecinas para bombear sangre

a través del cuerpo (como una célula del músculo del corazón); no puede llevar las moléculas de oxígeno a través de la circulación sanguínea (como una célula de la sangre); y no puede encender señales electroquímicas a otras células que permitan que el cuerpo se mueva o hable (como una neurona)<sup>6</sup>.

**Las células madre pueden dar lugar a células especializadas.** Las células madre no especializadas dan lugar a las células especializadas, mediante un proceso conocido como "diferenciación". Actualmente se está empezando a entender las señales interiores y exteriores de las células que accionan la diferenciación de la célula madre. Las señales internas son controladas por los genes de una célula, que se entremezclan a través de filamentos largos de ADN y llevan instrucciones codificadas y funciones para todas las estructuras de la célula. Las señales externas para la diferenciación de la célula incluyen productos químicos secretados por otras células, el contacto físico con las células vecinas, y ciertas moléculas del micro ambiente en el que se encuentran<sup>6,7</sup>.

**Las células madre adultas por lo general generan los mismos tejidos del órgano en el cual residen.** Una célula madre adulta de sangre situada en la médula da lugar normalmente a muchos tipos de células de la sangre, tales como los glóbulos rojos (o endoteliales de los vasos sanguíneos), glóbulos blancos (monocitos, linfocitos y polimorfonucleares) y plaquetas. Hasta hace poco tiempo, se pensaba que una célula de la sangre situada en la médula no podía dar lugar a células de un tejido muy diferente, como por ejemplo las células nerviosas del cerebro. Sin embargo, un número de experimentos y hallazgos durante los últimos años han demostrado que a partir de células madres alojadas en un tejido se puede dar lugar al desarrollo de células de tejidos totalmente diferentes del que se encuentran, fenómeno que se conoce como "plasticidad". Ejemplos de dicho fenómeno son: las células madre de sangre que se convierten en neuronas, las células madre del hígado que se pueden utilizar para producir insulina, y las células madre hematopoyéticas que pueden desarrollarse en el músculo del corazón.

### Clasificación

Las células madre se pueden clasificar de tres maneras: A) Según su capacidad de re-población tisular *in vivo*. B) Según su potencial de diferenciación; C) Según el tejido de origen en: células madre embrionarias o adultas,

#### A) Según su capacidad de repoblación tisular

Las células madres se clasifican según el tiempo que les toma restaurar un tejido lesionado en: células con un corto periodo de regeneración, con un periodo de regeneración a mediano plazo o con un largo plazo de regeneración<sup>8</sup>.

Los tejidos del cuerpo van sufriendo un desgaste natural a lo largo de la vida de un individuo; sin embargo, para mantener un adecuado funcionamiento el organismo po-

see una capacidad de renovación<sup>8-10</sup>. Existen tejidos cuyas células se encuentran en continua renovación, entre los que se encuentran las células sanguíneas, las células germinales, la epidermis y los epitelios que revisten los órganos como el tubo digestivo o el riñón<sup>9</sup>. En estos tejidos hay dos tipos de células: unas células diferenciadas que viven generalmente unos días; y unas células madres que generan en cada ciclo celular una célula especializada para reemplazar la célula muerta, y otra célula que permanece indiferenciada para conservar la fuente de células madre<sup>10-12</sup>.

Esta capacidad de renovación, fue ampliamente aprovechada por la medicina regenerativa tradicional. Estos conocimientos fueron usados para tratar fracturas en huesos, corregir malformaciones, quemaduras, piel perdida en quemaduras, células sanguíneas en determinadas enfermedades. Todo ello sin más dificultades que superar los problemas inmunológicos del posible rechazo<sup>13</sup>. Así, el nuevo hueso formado tras una fractura no se desarrolla a partir de las células óseas diferenciadas sino de células madre óseas, que están contenidas en la trama arquitectural del hueso, y que son estimuladas por la destrucción de este tejido a dividirse y repararlo<sup>9</sup>.

En el organismo también hay tejidos formados por células que podríamos llamar permanentes, cuya pérdida, al menos en principio, parece irremplazable. Es el caso del sistema nervioso, corazón, tiroides o hígado. Se trata de células bien diferenciadas, muy especializadas, generalmente incapaces de dividirse y, en ningún caso, capaces de formar otro tipo celular diferente<sup>8</sup>.

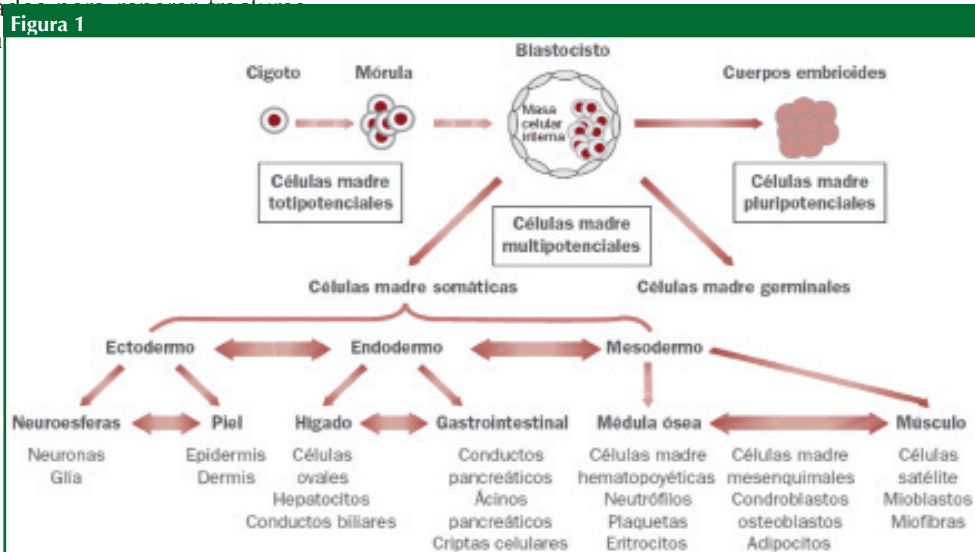
Varias investigaciones demostraron, que en tejidos dañados constituidos por células permanentes puede inducirse la regeneración a partir de células madre quiescentes; es decir, células madres que se encuentran ocultas, habitualmente en hibernación en el tejido lesionado, pueden activarse ante determinados estímulos para dividirse y dar lugar a células hijas que se diferencian reemplazando así las células perdidas por la lesión<sup>7,14</sup>. Así ocurre con el músculo esquelético, cuyas células, aunque no se dividen, se pueden regenerar a partir de mioblastos<sup>5</sup>.

No todos los tejidos son capaces de regeneración ante una lesión. La destrucción de tejido muscular cardiaco durante los infartos de miocardio o de tejido nervioso en los infartos cerebrales, o degeneración progresiva de ambos tejidos durante enfermedades degenerativas o simplemente con el envejecimiento, no son procesos reparables por los mecanismos naturales de renovación<sup>7,13,15</sup>.

### B) Según su potencial de diferenciación

De acuerdo al tipo de tejido que originan; es decir, según su potencial de diferenciación existen cuatro tipos de células madre: totipotentes, pluripotentes, multipotentes y unipotentes:

a) *Células Totipotentes*: El término “totipotencial” (del latín totus, que significa completo) hace referencia al potencial que tienen estas células de generar un embrión completo (tejido embrionario y extraembrionario)<sup>15</sup>. Corresponde a las células más primitivas, producto inmediato de la fecundación con capacidad de diferenciarse hacia todos los tejidos que forman los órganos de un organismo (figura 1)<sup>16</sup>.



Modelo Jerárquico de las células madre de acuerdo con su potencial. Las células madres totipotenciales encontradas en la Mórula del embrión. Las pluripotenciales encontradas en los cuerpos embrioides. Las células multipotenciales localizadas en el blastocisto. Las células madres unipotenciales localizadas en los tejidos adultos.

b) *Células Pluripotentes*: El término “Pluripotencial” (del latín plures, que significa muchos o varios) es utilizado para describir las células madre que pueden dar origen a progenitores que forman cualquiera de las tres capas germinales embrionarias: mesodermo, endodermo y ectodermo. Es importante destacar que para que una célula madre pueda considerarse como pluripotente tiene que cumplir las siguientes condiciones: una única célula debe ser capaz de diferenciarse a progenitores especializados procedentes de cualquier capa embrionaria; demostrar la funcionalidad *in vitro* e *in vivo* de las células en las que se ha diferenciado; y, finalmente, que se produzca un asentamiento claro y persistente de éstas en el tejido blanco, tanto en presencia como en ausencia de daño en los tejidos en los cuales se injerta<sup>12</sup>. Estas células se desarrollan aproximadamente en el cuarto día de la fertilización del ovulo y pueden diferenciarse a cualquier tipo celular, excepto a células totipotenciales y de la placenta (figura 1)<sup>4</sup>.

c) *Células Multipotentes*: Las células madre multipotenciales son aquellas que pueden dar origen a precursores relacionados solamente con una de las tres capas embrionarias; por ejemplo, células madre que dan origen a

tejidos derivados exclusivamente del endodermo como tejido pancreático o pulmonar<sup>8,15</sup>. Estas células se encuentran en la circulación periférica de un recién nacido y pueden ser recuperadas de sangre de placenta colectada del cordón umbilical (figura 1)<sup>4</sup>.

d) *Células unipotentes*: corresponden a las células que solo pueden generar células diferenciadas a lo largo de una sola línea celular, tal como su nombre lo refiere (del latín *unus*: uno). La mayoría de las células madre de un tejido específico que no ha sufrido ningún tipo de agresión o daño son del tipo unipotencial y son las responsables de la fase fisiológica de auto-renovación tisular, donde la cantidad de células perdidas es igual al número de nuevas células. Sin embargo, si el tejido es alterado en su estructura básica a través de un fenómeno lesivo y se requiere de diversos tipos celulares para su reparación, se pueden activar células del tipo multipotencial para reparar el daño (Ver figura 1)<sup>1</sup>.

### C) Según el tejido de Origen.

Las células madre se pueden obtener del embrión o de un organismo adulto, de ahí se deriva la clasificación en células madre embrionarias y de células madre adultas<sup>2,6</sup>.

a) *Las células madre embrionarias*: pueden ser obtenidas a partir de las primeras etapas de formación del embrión solamente durante los primeros cuatro días después de la fertilización<sup>8,17</sup>, justo en el momento en el que el cigoto se ha constituido como mórula las células expresan dos genes CDX-2 y OCT  $\frac{3}{4}$ , mientras las células pasan a la siguiente ronda de división CDX-2 es regulado inhibitoriamente en las células más internas, mientras que OCT  $\frac{3}{4}$  se mantiene suprimido en las células más externas la distinta regulación de estos genes se mantiene en las divisiones sucesivas; después de 10 ciclos de división para comenzar el proceso de segmentación de 2 hasta 32 blastómeros (68 h). Éstas son entonces precursores totipotenciales con capacidad de proliferar indefinidamente *in vitro*<sup>4</sup>. El primer reporte acerca del aislamiento de células madre embrionarias provenientes de blastocistos humanos proviene de 1994 cuando se determinó que estas células *in vitro* se diferencian espontáneamente en "cuerpos embrionarios", Estructuras que contienen elementos de las tres capas germinales a partir de las cuales se pueden formar varios tipos de células<sup>7,8</sup>.

Los blastómeros del trofoblasto se multiplican rápidamente y se separan de las células centrales para conformar una cavidad entre el trofoblasto (futura placenta) y el embrioblasto (futuro individuo), llamado blastocelo, adquiriendo el preembrión el nombre de blastocisto. Las células de un blastocisto ya no son totipotentes, puesto que una sola de estas no es capaz de generar un individuo completo. Las células de la capa externa del blastocisto producen CDX-2 esta capa trofoblástica se convertirá en la placenta; por otro lado en el interior OCT  $\frac{3}{4}$  se encuentra en un pequeño grupo de células con una enorme capacidad para diferenciarse esta masa interna interna

esta formada por células con potencial de diferenciación para producir todas las estirpes celulares del cuerpo una habilidad conocida como pluripotencialidad. Las células de la masa celular interna del blastocisto ahora son células pluripotentes<sup>4</sup>.

La ventaja más resaltante del uso de células madre embrionarias en investigación es su habilidad de proliferar indefinidamente, son capaces de generar una gran variedad de grupos celulares, lo que permite que bajo ciertas condiciones puedan ser manipuladas *in vitro* con el fin de producir precursores de un linaje específico y contribuir así al tratamiento de enfermedades en las que existen tejidos claramente comprometidos como diabetes y Parkinson; además, pueden ser utilizadas para el estudio de enfermedades producidas durante el desarrollo embrionario y contribuir a identificar sus bases genéticas; sin embargo, al tratarse de células muy indiferenciadas, éstas pueden inducir la formación de ciertas neoplasias<sup>17,18</sup>.

b) *Las células Madres Adultas*: se pueden encontrar en la mayoría de los tejidos de un individuo totalmente desarrollado, como la médula ósea, el sistema gastrointestinal, el músculo esquelético, el hígado, el páncreas y el pulmón. Las células madres adultas más estudiadas, hasta ahora, son las que se derivan de la médula ósea; allí se han identificado por lo menos tres grupos: células madre estromales, células madre hematopoyéticas y un grupo que algunos autores identifican como "side population" y del cual se conoce muy poco<sup>2,5,15</sup>.

*Las células madre estromales* también conocidas como células madres mesenquimales, se han identificado por marcadores de superficie que han permitido aislarlas como SH2, SH3, CD29, CD44, CD71 y CD90. Éstas no expresan antígenos de superficie típicos de las células madre hematopoyéticas como el CD34 y CD45; y además, son capaces de diferenciarse a tejidos mesodérmicos funcionales como osteoblastos, condroblastos, adipocitos y mioblastos esqueléticos; Éstas constituyen un modelo muy útil en aplicaciones clínicas para ciertas enfermedades tanto en terapia regenerativa como en terapia génica<sup>7,19</sup>.

*Las células madre hematopoyéticas*, responsables de la renovación constante de las células sanguíneas, aparecen en el embrión entre la tercera y cuarta semana de gestación, estas células migran desde el saco vitelino hasta el hígado y el bazo y por último llegan a la médula ósea a través de la circulación fetal durante el segundo y tercer trimestre de gestación. Estas células han sido aisladas de sangre periférica y de médula ósea; estas células multipotenciales tienen la capacidad de diferenciarse en dos grupos de progenitores hematopoyéticos: progenitor mielóide y progenitor linfóide, los cuales a su vez se diferencian hacia linajes de células sanguíneas especializadas (Figura 2)<sup>2,5,13,20,21</sup>.

Figura 2



Modelo de diferenciación celular de la célula madre hematopoyética. Una Células Madre pluripotente genera células madres unipotenciales de diferentes linajes celulares<sup>13</sup>.

Las llamadas "side population cells (SP)" han sido aisladas tanto a partir de médula ósea como de músculo utilizando técnicas de citometría de flujo (FACS). Se sabe que las SP son capaces de diferenciar a HSC en humanos, roedores y otras especies. Además algunos estudios describen que las SP podrían dar lugar a otros tipos de células especializadas e integrarse en distintos tejidos *in vivo*<sup>21,22</sup>.

Las células madres multipotenciales adultas (MAPCs) son una población celular de la médula ósea cuyo descubrimiento ha suscitado la atención del mundo científico ya que se han descrito como auténticas células pluripotenciales con una capacidad diferenciadora muy similar a las células madre embrionarias<sup>22</sup>. Las MAPCs han sido aisladas tanto de médula ósea humana como de líneas celulares murinas. Estas son capaces de proliferar *in vitro* más de 120 divisiones celulares sin un aparente envejecimiento ya que mantienen unos niveles altos de telomerasa durante todo el tiempo de cultivo.

Evidencias obtenidas tanto *in vivo* como *in vitro* muestran que las células madres adultas extraídas de un tejido determinado, tienen la capacidad de producir células con una característica de otros tejidos cuando se transfieren a un microambiente diferente al original. De una forma muy particular se ha prestado atención a la capacidad de las células madre adultas de la médula ósea de producir células con propiedades muy similares a hepatocitos, neuronas y cardiomiocitos (Figura 3).

Figura 3



Plasticidad de las células madre adultas. Las células madres hematopoyéticas pueden diferenciarse en músculo esquelético, músculo cardíaco, hepatocitos, entre otros<sup>8</sup>.

Se ha descrito que las MAPCs no expresan CD34, CD44, MHC I, MHC II, CD45 y c-kit; expresan niveles bajos de Flk-1, Sca-1 y Thy-1, y altos de CD13, SSEA-1 (ratón/rata) y SSEA-4 (humano). Al igual que las células madre embrionarias, en las MAPCs se detecta la activación de

los factor de transcripción Oct-4 y Rex-1, factores que son necesarios para mantener la célula en un estado proliferativo e indiferenciado. *In vitro*, las MAPCs pueden ser inducidas a diferenciarse en tejidos derivados del mesodermo como hueso, cartílago, adipocitos, músculo esquelético, estroma hematopoyético; endotelio como células hepáticas o a tejidos derivados del ectodermo como neuronas, astrocitos y oligodendrocitos<sup>2,8</sup>.

### Diferencias entre células madres embrionarias y adultas

Las células madres embrionarias y adultas se diferencian en el número y en los tipos diferenciados de células en las que pueden convertirse. Las células madre embrionarias pueden convertirse en cualquier tipo de célula del cuerpo porque son pluripotentes y en algunos casos totipotentes. Las células madre adultas por el contrario presentan un potencial de diferenciación mas limitado se diferencian primordialmente a las líneas celulares del órgano en el que residen, es decir son multipotentes y en algunos casos unipotentes. Por otro lado, existe cierta evidencia que demuestra la plasticidad de las células madre adultas, por lo que pueden ser consideradas pluripotentes<sup>13,23-25</sup>.

Las células madre embrionarias crecen relativamente fácil en cultivos *in vitro*, lo que las convierte en excelentes candidatos para experimentación; las células madre adultas están en tejidos maduros y aun no se ha logrado desarrollar métodos que permitan su cultivo proliferativo *in vitro*<sup>5</sup>.

### Nuevos enfoques terapéuticos con células madres

#### Terapia celular

Las células madres han sido utilizadas inicialmente para la regeneración de tejidos destruidos o dañados, como ocurre en el caso de las enfermedades neurodegenerativas, la diabetes o la patología cardíaca; y finalmente como vehículo terapéutico de genes, por ejemplo en el caso de enfermedades monogénicas como la hemofilia o incluso como vehículo de terapias antitumorales o antiangiogénicas<sup>2</sup>.

#### A) Terapia celular en enfermedades neurológicas

Las células madre tienen un enorme potencial como

células capaces de reconstruir las neuronas y estructuras dañadas en enfermedades como el Parkinson, la esclerosis lateral amiotrófica, la enfermedad de Alzheimer, la esclerosis en placas, los infartos cerebrales o las lesiones medulares<sup>26-29</sup>. En la enfermedad de Parkinson (EP) se han realizado trasplantes en humanos utilizando células de origen fetal con resultados aceptables<sup>13</sup>. Estudios *in vitro* e *in vivo* han demostrado que tanto las células madre embrionarias como las adultas son capaces de diferenciarse a neuronas dopaminérgicas. Sin embargo, no está claro hasta qué punto dichas células son capaces de restablecer los circuitos neuronales destruidos en la EP y por tanto eliminar los síntomas de la enfermedad<sup>29</sup>.

Estudios recientes sugieren que las células madre embrionarias poseen la capacidad de diferenciarse a neuronas y facilitar la recuperación motora en animales con lesiones espinales<sup>26</sup>. En modelos animales se ha probado que las células de la glía envolvente o las células mesenquimales de la médula ósea favorecen el recrecimiento de los axones<sup>30</sup>. Un estudio reciente ha demostrado en un modelo de esclerosis múltiple en ratón (encefalitis autoinmune experimental) que la inyección de neuroesferas (células madre neurales), tanto por vía intravenosa como intratecal, promueve la remielinización multifocal<sup>31</sup>. Estudios realizados en animales sugieren que las células de médula ósea son reclutadas a las zonas de infarto cerebral y que contribuyen a la mejoría funcional cuando son inyectadas focalmente e incluso intravenosamente<sup>8</sup>.

### **B) Terapia celular en enfermedades cardiovasculares**

Existen diversas fuentes de células madre que podrían utilizarse para reparar el tejido cardíaco necrosado y que incluyen cardiomiocitos fetales, células madre cardíacas, células madre de médula ósea o células madre embrionarias diferenciadas hacia músculo cardíaco. Sin embargo las células con las que mayor experiencia existe en modelos animales son las células satélites o mioblastos<sup>32</sup>.

En la actualidad diversos estudios, tanto en modelos animales como en humanos, se han utilizado células madre del músculo en individuos con infarto al miocardio (IM). El primer implante de mioblastos autogénicos en un paciente con IM se realizó en junio del 2000<sup>32,33</sup> un total de 5 ensayos clínicos se han publicado desde entonces en pacientes con antecedentes de accidentes cardíacos en los que se han implantado mioblastos autogénicos en combinación con la cirugía de bypass aortocoronario o de forma percutánea endocavitaria<sup>34</sup>, obteniéndose resultados satisfactorios. Sin embargo, no se ha podido demostrar que las células diferenciadas en estos pacientes sean capaces de transmitir las señales electromecánicas derivadas de las células musculares cardíacas o de transdiferenciarse a células musculares cardíacas.

También se han utilizado células madre mononucleadas de médula ósea, células enriquecidas en progenitores hematopoyéticos o endoteliales y los resultados se han monitorizado mediante resonancia magnética,

ecocardiografía o tomografía por emisión de positrones. Algunos estudios han utilizado pacientes controles a los que no se les han implantado células madres; en cualquier caso los pacientes han recibido tratamientos adicionales. Los resultados de los estudios son positivos, demostrando que el tratamiento con células es capaz de mejorar la función cardíaca y de contribuir a la mejora funcional de los pacientes, tanto en modelos agudos como crónicos<sup>32</sup>.

### **C) Terapia celular en oftalmología**

Durante situaciones patológicas, como traumatismos, lesiones por sustancias químicas o físicas, el síndrome de Stevens Johnson o el penfigoide ocular; la capacidad de regeneración de las células limboconiales responsables de mantener la córnea se ve afectada originando un daño permanente<sup>35</sup>. Para estos casos el autotrasplante de limbo conjuntival es más eficaz que el trasplante de córnea, ya sea autotrasplante usando células del ojo contralateral si este se encuentra sano ó con células de un donante cuando el daño es bilateral, Se pueden usar células histocompatibles de un donante vivo, o células no compatibles de donante cadáver<sup>36</sup>.

Las células del limbo junto con membrana amniótica se han utilizado con éxito para promover una rápida reepitelización de la córnea. La duración de estos trasplantes parece ser el problema más importante, ya que mientras unos reportes afirman que estos son permanentes otros estudios indican que la viabilidad de las células del donante no se mantiene indefinidamente<sup>35</sup>.

### **D) Terapia celular en traumatología**

Desde hace tiempo ya, es bien conocida la capacidad de reconstruir huesos, cartílagos y tendones dañados que poseen los organismos vivos, gracias a esto una persona que ha sufrido graves fracturas en un accidente de tránsito es capaz de recurar la movilidad de su cuerpo<sup>9</sup>. El autotrasplante de células madres adultas puede ser un tratamiento eficaz para la reparación de la superficie articular.

Las células madre mesenquimales (MSCs) pueden obtenerse a partir de médula ósea, pero también de grasa e incluso de otros tejidos. *In vitro*, son capaces de autorrenovarse y proliferar extensamente, sin perder su capacidad de diferenciarse hacia osteoblasto, condrocitos, adipocitos o incluso músculo esquelético según las condiciones en las que se cultivan. Por esta razón se ha utilizado para la reparación de lesiones óseas extensas, defectos cartilaginosos y lesiones traumáticas<sup>5,13,19,24</sup>.

### **E) Terapia celular en endocrinología**

Funcionamiento de órganos como el hígado, el riñón y el páncreas continuamente son afectados por enfermedades o traumas severos, por lo que usualmente deben realizarse trasplantes de órganos completos para mejorar la calidad de vida de los pacientes. Estos trasplantes desencadenan respuestas inmunológicas severas, que han sido tratadas tradicionalmente con inmunosupreso-

res<sup>13</sup>. Recientemente se ha sugerido que las propiedades inmunomoduladoras de las células madres sobretodo las mesenquimáticas o MSCs puede ser explotada para el trasplante de órganos con el fin de evitar el rechazo de los mismos<sup>37</sup>. En contraposición a los agentes farmacológicos más usados que utilizan solo una vía fisiológica MSCs trabajan empleando varios mecanismos y tienen un efecto potencial en las vías regenerativas<sup>38</sup>. Estas capacidades de las MSCs las convierte en los candidatos más apropiados para el trasplante de órganos y regeneración de tejidos.

#### a) Terapia celular para la reparación de tejido hepático

Grandes avances se han realizado en la regeneración del tejido hepático, recientemente se ha reportado que la administración de derivados de MSCs por vía intravenosa o perfusión extracorporal con un birreactor provee beneficios significativos de supervivencia en ratas con fallas hepáticas crónicas<sup>38</sup>. Análisis histopatológicos del tejido hepático después de la implantación mostró una dramática reducción de infiltrados de leucocitos en el hígado, muerte celular hepática y duplicación del ducto biliar. Por otro lado, tomografías computarizadas de leucocitos transferidos mostraron que MSC-CM desvía células inmunes funcionales del tejido lesionado indicando que la terapia muestra propiedades antiinflamatorias útiles para el trasplante de hígado sin embargo, aun no se han reportado datos clínicos en humanos con fallas hepáticas.

#### b) Terapia celular para la reparación de riñón

Lesiones agudas y crónicas de riñón presentadas tras el trasplante de este órgano presentan una compleja patofisiología entre los que se encuentran isquemia inflamación y filtración linfocitaria. Estudios tanto *in vitro* como *in vivo* indican que MSCs puede interferir con cualquiera de estos patologías y ofrecer efectos benéficos empleando múltiples mecanismos. Morigi y colegas sugirieron que injertos de MSCs en riñones dañados y induce la restauración de la estructura y función renal favoreciendo la diferenciación de MSCs en células epitelial tubular en modelos animales de daño renal inducido por cisplatino<sup>39</sup>. Por el contrario otros investigadores sugieren que el tratamiento con MSCs esta asociado con el mejoramiento de la función renal pero es independiente de la diferenciación de las células<sup>40,41</sup>. Hasta ahora no hay reportes del efecto de MSCs de modelos de trasplante de riñón en animales.

#### c) Terapia celular para la reparación de tejido pancreático

El incremento de pacientes diabéticos, ha desencadenado un mayor interés en el desarrollo de células capaces de producir insulina. Tomando en cuenta las dificultades del trasplante de islotes pancreáticos, La posibilidad de utilizar células madre con capacidad de diferenciarse en células  $\beta$  se ha planteado como una estrategia mucho más atractiva<sup>6,42</sup>. Las características de las células madre pancreática aun son un misterio, sin embargo distintos estudios sugieren el potencial de células obtenidas a par-

tir de hígado, conductos pancreáticos o islotes pancreáticos, o incluso células de médula ósea para producir células secretoras de insulina<sup>43</sup>. En cualquier caso, una de las principales limitaciones con cualquiera de los tipos celulares descritos es que el porcentaje de células secretoras de insulina que se pueden obtener es muy pequeño, lo cual limita su aplicación terapéutica<sup>44</sup>.

Lee y colaboradores observaron que ratones diabéticos tratados con MSC humanos mostraron un incremento de islotes pancreáticos y células  $\beta$  funcionales, esto aumenta la posibilidad de usar MSCs en humanos para aumentar la secreción de insulina<sup>41</sup>. Los mecanismos combinados de apoyo a la función pancreática y las propiedades inmunomoduladoras de MSCs proveen grandes beneficios que para el control de la diabetes<sup>43,45</sup>.

Diversos grupos de investigación están evaluando el uso potencial del tejido fetal como fuente de células progenitoras de islotes pancreáticos. Realizando implantes en ratones con células madres fetales humanas frescas (de tejido pancreático), islotes humanos purificados y cultivo de islotes (células diferenciadas), se encontró un mayor contenido de insulina en los islotes purificados y células madres; sin embargo dicho contenido de insulina disminuía en todas las muestras a excepción de las provenientes de islotes purificados. Cuando los islotes cultivados fueron implantados en los ratones, el incremento en la concentración de insulina se mantuvo por un periodo de tres meses; sugiriendo que las células progenitoras que se encontraban en los islotes cultivados fueron capaces de reproducirse y diferenciarse en islotes funcionales, mientras que los islotes purificados, ya diferenciados no lograron proliferar y entraron en un estado de agotamiento<sup>46</sup>. Los grandes problemas para mantener un cultivo eficiente de progenitores pancreático, así como la baja eficiencia en la diferenciación hacia islotes funcionales, hace que el uso de células madres para tratar la diabetes sea aun un sueño.

Otra fuente de progenitores pancreáticos son las células multipotenciales aisladas de ductos pancreáticos, las cuales pueden diferenciarse a células pancreáticas ó endocrinas. Dichas células endocrinas diferenciadas secretan bajas cantidades de insulina al ser expuestas a bajas concentraciones de glucosa; y altas concentraciones de insulina, cuando son expuestas a altas concentraciones de glucosa<sup>47</sup>. Las células multipotenciales pueden crecer indefinidamente y además pueden mantenerse en cultivo por largo tiempo, lo que las convierte en candidatos ideales para el tratamiento de la diabetes; siendo posible utilizar las células del ducto de los pacientes. Sin embargo, estas células son sensibles al ataque autoinmune por lo que aun representan un problema para pacientes con DMTI.

Otro grupo de investigadores implantaron en células embriogénicas de ratón parte del gen de la insulina fusionado a un gen de resistencia a antibióticos. Las células fueron posteriormente cultivadas en presencia de anti-

bióticos y en variadas concentraciones de glucosa. Las células sobrevivientes que respondieron óptimamente a las concentraciones de glucosa liberando insulina; fueron implantadas en ratones diabéticos, encontrándose en estos una mejoría de los síntomas<sup>48</sup>.

Uno de los avances mas recientes, fue un estudio en el cual 23 pacientes diabéticos autoinmunes entre 13-31 años de edad, con una DMTI de aproximadamente 37 días de diagnóstico sin historia de cetoacidosis u otras complicaciones; fueron sometidos a un trasplante con células madres hematopoyéticas autólogas extraídas de su propia médula ósea<sup>49</sup>. Las células madres fueron liberadas de la médula usando ciclofosfamida y el factor estimulador de granulocitos y macrófagos, la sangre fue posteriormente extraída. Las células progenitoras del tipo CD34 fueron colectadas a razón de 3 millones por kilogramo de peso. Utilizando el protocolo de trasplante de médula ósea las células fueron implantadas en el páncreas y se hicieron mediciones de glucosa y péptido C durante 58 meses después del trasplante encontrándose que 20 de los pacientes revirtieron los efectos de la enfermedad. 8 de estos pacientes recayeron a los 2 meses y reiniciaron el tratamiento con insulina a bajas dosis. Los 12 pacientes restantes permanecieron libres de las inyecciones con insulina por 31 meses. Estos 12 pacientes mostraron una mayor concentración de péptido C en sangre durante los meses 24 y 36 después del trasplante<sup>49</sup>.

Aunque se reportan algunos resultados satisfactorios, se requieren otras investigaciones para evaluar la capacidad de este tratamiento para cambiar la historia natural de la diabetes tipo 1.

## Conclusiones

A pesar de los grandes avances en investigación sobre el potencial terapéutico de las células madres en los últimos años, las aplicaciones clínicas de la terapia celular no ha arrojado resultados concluyentes que permitan proponer la aplicación de estos nuevos enfoques terapéuticos en nuestro medio a corto o mediano plazo. Las células madres embrionarias presentan niveles bajos de expresión de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de clases I y II, y al diferenciarse, estas moléculas no alcanzan los niveles esperados de órganos adultos lo que las convierte en excelentes candidatos para el trasplante celular, sin embargo, se ha reportado que las células madres embrionarias son altamente tumorigénicas<sup>27</sup>.

Por otro lado el trasplante con células madres adultas se encuentra limitado por problemas de rechazo, por lo cual el uso de las células madre adultas estaría limitado a trasplantes autogénicos no serían rechazados por el sistema

inmunológico. Esto representa una ventaja significativa; pues el rechazo inmunológico es una complicación seria que solamente puede ser disminuido o evitado con drogas inmunosupresoras.

## Referencias

1. Weissman I, Anderson D, Gage F. Stem and progenitor cells: origins, phenotypes, lineage commitments, and transdifferentiations. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2001; 17: 387-403.
2. Prosper F. Células Madres Adultas. *Cardiov Risk Factors* 2004; 31(1): 11-18.
3. Oyarzún E. Células Madres: Nuevas Fronteras para la Medicina. *Rev Chil Obstet Ginecol* 2005; 70(4): 211-212.
4. Flores F, Panigua J. Las Células Madres Embrionarias Totipotenciales. *Rev Fac Med UNAM* 2006; 49 (6): 235-236.
5. Prósper F, Pérez A, Cosín J, Panizo A, Rifón J, Hernández M, Pérez-Calvo J, Rábago G, Inogés S, Rocha E, Herreros J. Utilización de Células Madre en Terapia Regenerativa Cardíaca. *Rev Med Univ* 2002;46 (2): 24-28.
6. Weir G. Las células madre, ¿la clave de la futura cura de la diabetes?. *Diabetes Voice* 2008; 53 (2): 29-31.
7. Jiang Y, Vaessen B, Lenvik T, Blackstad M, Reyes M, Verfaillie C. Multipotent progenitor cells can be isolated from postnatal murine bone marrow, muscle, and brain. *Exp Hematol* 2002; 30(8):896- 904.
8. Rodríguez V. Células Madre: Conceptos Generales y Perspectivas de Investigación. *Univers Sci* 2005; 10 (1): 5-14.
9. Junqueira L, Carneiro J. *Histología básica*, 1983. Ed. Salvat. pp. 506.
10. Liechty K, Mackenzie T, Shaaban A, Radu A, Moseley A, Deans R. Human mesenchymal stem cells engraft and demonstrate site-specific differentiation after in utero transplantation in sheep. *Nat Med* 2000; 6(11): 1282-1286.
11. Masuya, M; Drake, C y Fleming, P. Hematopoietic origin of glomerular mesangial cells. *Blood* 2003; 101:2215- 2218.
12. Lechner V. Stem Cells: Proyecciones en Ingeniería en Tejido. *Rev Ped Elec.*2007; 4(1):0718-0918.
13. Körbling M, Zeev E. Adult Stem Cells for Tissue Repair. A New Therapeutic Concept?. *N Engl J Med* 2003; 349: 570-582.
14. Thomson J, Itskovitz-Eldor J, Shapiro S, Waknitz M, Swiergie, J, Marshall V, Jones J. Embryonic Stem Cell Lines Derived From Human Blastocysts. *Science*. 1998; 282: 1145- 1147.
15. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S. Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival. *Proc Natl Acad Sci* 2000; 98:10344-10349.
16. Castagnino J. Células Madres Embrionarias. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2005; 39 (3): 277-278.
17. Verfaillie C. Pluripotent stem cells. *Transfusion clinique et biologique: journal de la Société française de transfusion sanguine* 2009; 16(2):65-69.
18. Pera M, Reubinoff J, Trounson A. Human Embryonic Stem Cells. *J*



- Cell Science 2000; 113: 5-10.
19. Lapidot T, Petit I. Current Understanding Of Stem Cell Mobilization: The Roles Of Chemokines, Proteolytic Enzymes, Adhesion Molecules, Cytokines, And Stromal Cells. *Experimental Hematology* 2002 ; 30: 973-981.
  20. Asahara T, Masuda H, Takahashi T, Kalka C, Pastore C, Silver M. Bone Marrow Origin Of Endotelial Progenitor Cells Responsible For Postnatal Vasculogenesis In Physiological And Pathological Neovascularization. *Circ Res* 1999 85(3): 221-228.
  21. Asakura A, Seale P, Girgis-Gabardo A, Rudnicki M. "Myogenic Specification Of Side Population Cells In Skeletal Muscle". *J Cell Biol* 2002; 159 (1): 123-34.
  22. Bello B, Izergina N, Caussinus E, Reichert H. Amplification of neural stem cell proliferation by intermediate progenitor cells in *Drosophila* brain development. *Neural Development* 2008; 3 (5): 1-17.
  23. Ogawa M. Changing Phenotypes Of Hematopoietic Stem Cells. *Exp Hematol* 2002; 30: 3-6.
  24. Tsai R, Kittappa R, McKay R. Plasticity, Niches, And The Use Of Stem Cells. *Develop Cell* 2002; 2: 707-712.
  25. Sethe S, Scutt A, Stolzing A. Aging Of Mesenchymal Stem Cells. *Ageing Res Rev* 2006; 5: 91-116.
  26. Seung K. Human neural stem cells genetically modified for brain repair in neurological disorders. *Neuropathology* 2004; 24(3):159-171.
  27. Serakinci N, Guldborg P, Burns J, Abdallah B, Schrodder H, Jensen T, Kassem, M. Adult human mesenchymal stem cell as a target for neoplastic transformation. *Oncogene* 2004; 23:5095-5098.
  28. McKay R, Kittappa R. Will Stem Cell Biology Generate New Therapies for Parkinson's Disease?". *Neuron* 2008; 58: 659-661.
  29. Dunnett S, Bjorklund A, Lindvall O. Cell therapy in Parkinson's disease - stop or go?. *Nat Rev Neurosci* 2001; 2(5):365-9.
  30. Ramon-Cueto A, Cordero M, Santos-Benito, F, Avila J. Functional recovery of paraplegic rats and motor axon regeneration in their spinal cords by olfactory ensheathing glia. *Neuron* 2000; 25(2):425-35.
  31. Pluchino S, Quattrini A, Brambilla E, Gritti A, Salani G, Dina G. Injection of adult neurospheres induces recovery in a chronic model of multiple sclerosis. *Nature* 2003; 422(6933):688-694.
  32. Urbanek K, Quaini F, Tasca G, Torella D, Castaldo C, Nadal-Ginard B, Leri Kajstura J, Quaini E, Anversa P. Intense myocyte formation from cardiac stem cells in human cardiac hypertrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100(18): 10440-10445.
  33. Leri A, Kajstura J, Anversa P, Frishman W. Myocardial Regeneration and Stem Cell Repair. *Curr Probl Cardiol* 2008; 33:91-153.
  34. Herreros J, Prosper F, Perez A, Gavira J, Garcia-Velloso M, Barba J. Autologous intramyocardial injection of cultured skeletal muscle-derived stem cells in patients with non-acute myocardial infarction. *Eur Heart J* 2003; 24(22): 2012-2020.
  35. Li W, Hayashida Y, Chen Y, Tseng Y. Niche regulation of corneal epithelial stem cells at the limbus. *Cell Res* 2008; 17:26-36.
  36. Tseng S, Prabhasawat P, Barton K, Gray T, Meller D. Amniotic membrane transplantation with or without limbal allografts for corneal surface reconstruction in patients with limbal stem cell deficiency. *Arch Ophthalmol* 1998; 116:431-44.
  37. Devine S, Hoffman R. Role of mesenchymal stem cells in hematopoietic stem cell transplantation. *Curr Opin Hematol* 2000; 7:358-363.
  38. Brooke G, Cook M, Blair C. Therapeutic applications of mesenchymal stromal cells. *Semin Cell Dev Biol* 2007; 18:846-58.
  39. Morigi M, Imberti B, Zoja C. Mesenchymal stem cells are renoprotective, helping to repair the kidney and improve function in acute renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15:1794-1804.
  40. Kunter U, Rong S, Djuric Z. Transplanted mesenchymal stem cells accelerate glomerular healing in experimental glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17:2202-2212.
  41. Lee R, Seo M, Reger R. Multipotent stromal cells from human marrow home to and promote repair of pancreatic islets and renal glomeruli in diabetic NOD/scid mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103:17438-43.
  42. Efrat S. Cell replacement therapy for type 1 diabetes. *Trends Mol Med* 2002; 8(7):334-339.
  43. Hess D, Li L, Martin M, Sakano S, Hill D, Strutt B. Bone marrow-derived stem cells initiate pancreatic regeneration. *Nat Biotechnol* 2003; 21 (7):763-70.
  44. Clayton E, Doupé P, Klein A, Winton D, Simons B, Jones P. A single type of progenitor cell maintains normal epidermis. *Nature* 2003; 446:185-189.
  45. Taira M, Inaba M, Takada K. Treatment of streptozotocin-induced diabetes mellitus in rats by transplantation of islet cells from two major histocompatibility complex disparate rats in combination with intra bone marrow injection of allogeneic bone marrow cells. *Transplantation* 2005; 79:680-687.
  46. Beattie GM, Otonkoski T, Lopez AD, Hayek A. Functional beta-cell mass after transplantation of human fetal pancreatic cells: differentiation or proliferation? *Diabetes* 1997; 46, 244-248.
  47. Bonner-Weir S, Taneja M, Weir GC, Tatarkiewicz K, Song KH, Sharma A, O'Neil JJ. In vitro cultivation of human islets from expanded ductal tissue. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2000; 97: 7999-8004.
  48. Soria B, Roche E, Berná G, Leon-Quinto T, Reig JA, Martin F. Insulin-secreting cells derived from embryonic stem cells normalize glycemia in streptozotocin-induced diabetic mice. *Diabetes* 2000; 49:157-162.
  49. Couri C, Oliveira M, Stracieri A, Moraes D, Pieroni F, Barros G, Madeira M, Malmegrim K, Foss-Freitas M, Simões B, Martinez E, Foss M, Burt R, Voltarelli J. C-Peptide Levels and Insulin Independence Following Autologous Nonmyeloablative Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Newly Diagnosed Type 1 Diabetes Mellitus. *JAMA.* 2009; 301(15):1573-1579.