

# Células Troncales Adultas

**José J. Minguell U. y Alejandro Erices O.**

Bioquímicos.

Laboratorio de Criopreservación y Trasplante de Médula Osea, Clínica Las Condes

Programa Terapias Genéticas y Celulares, INTA, Universidad de Chile

En el año 1998 se describe el aislamiento, cultivo y caracterización de células troncales (CT) humanas embrionarias, a partir de blastocistos o de células germinales primordiales. Estos trabajos desatan fuertes controversias-éticas, morales y legales, sin embargo éstas no logran opacar el impacto que se visualiza para el uso de CT en biomedicina. Pero, no sólo los tejidos embrionarios sino que también los tejidos de un organismo adulto (post-nacimiento) presentan CT. En una condición de funcionamiento fisiológico de un organismo adulto, las CT cumplen la importante función de reemplazar la dotación de células diferenciadas que en cada tejido, se pierden por uso o por envejecimiento celular. En este trabajo se discuten las principales características de las CT adultas: plasticidad, autorrenovación y diferenciación, como asimismo las perspectivas para su uso en terapias biológicas.

## Células troncales adultas

En el año 1998, dos investigadores americanos en forma independiente, pero simultánea, describen el aislamiento, cultivo y caracterización de CT humanas embrionarias, a partir de blastocistos o de células germinales primordiales (1,2). Junto a las controversias éticas, morales y legales desatadas por estos estudios, el mundo de la Biomedicina es impactado por los alcances terapéuticos, que la utilización de estas CT puede tener. Así, estos estudios refuerzan la posibilidad de introducir en la clínica médica una nueva modalidad terapéutica: la terapia con CT orientada al reemplazo de poblaciones celulares, tejidos u órganos envejecidos o enfermos.

## Biología de las células troncales

No sólo los tejidos embrionarios, cualquiera sea su estado de desarrollo, sino que también los tejidos de un organismo adulto (post-nacimiento) presentan CTA. En una condición de funcionamiento fisiológico (normal, estado estable) de un organismo adulto, las CT cumplen la importante función de reemplazar la dotación de células diferenciadas que, en cada tejido, se pierden por uso o por envejecimiento celular. De tal manera, cada tejido debe disponer de una dotación de CT que aporten las células que lo conforman. Esto no implica que cada tejido tenga un particular tipo de CT o que cada CT sólo genere las células diferenciadas o maduras para un solo tipo de tejido. Aunque a la fecha no se ha probado que cada tejido tenga su "propia" CT, estudios recientes han demostrado que a pesar del dogma de la no existencia de cierto tipo de CT, la célula troncal neuronal y la pancreática, ambas elusivas, han sido aisladas de tejidos adultos de varios mamíferos, incluyendo el humano (3-6).

Sin embargo, la discusión acerca de la existencia o no de CT para todos los tipos de tejidos adultos, ha perdido vigencia con hallazgos recientes que apoyan el concepto de plasticidad de las CTA. Contrariamente al dogma de que una célula troncal sólo genera células diferenciadas con "características propias" del tejido en que reside, éstas

pueden cambiar su "destino" y "comprometerse" en la producción de células de otro(s) tejido(s). Así, existe una fuerte evidencia experimental que ha demostrado que la CT hematopoyética (residente en la médula ósea) no sólo genera todos los tipos de células de la sangre, sino que además puede originar células nerviosas, de la piel o del hígado. A su vez, CT neuronales implantadas en la médula ósea, originan células hematopoyéticas. Las evidencias anteriores y otras que documentan la plasticidad de las CTA, se resumen en la Tabla 1.

Tabla 1 Plasticidad de células troncales adultas			
Célula troncal	>> Tejido "convencional"	>> Tejido "no convencional"	Referencias
Hematopoyética	Sangre	Nervioso, epitelial, hepático	7,8
Neuronal	Nervioso	Sangre, músculo	9,10
Muscular	Muscular	Nervioso, Sangre	11,12
Mesenquimática	Oseo, cartílago, tendón, adiposo, músculo, otros	Nervioso	13

Aunque la mayoría de los estudios sobre plasticidad se han realizado en el sistema murino, es evidente que la extensión de estas observaciones a CT humanas, como asimismo la comprensión de los mecanismos que la controlan (14,15), harán aún más atractiva la posibilidad de usar las CTA con fines terapéuticos.

Dos son las propiedades más importantes de una CTA: su capacidad de "autogenerarse" (self-renewal) y su capacidad de diferenciarse a uno o varios linajes celulares maduros (troncales mono o multipotentes).

La "autogeneración" de una CT está fuertemente asociada a su condición de ser una célula que es capaz de salirse del ciclo celular (proliferativo) y permanecer en un estado no proliferativo o Go. Bajo circunstancias de alto requerimiento de reemplazo (pérdida o envejecimiento) de las células maduras que derivan de la célula troncal, ésta abandona su estado de Go y entra en ciclo celular para progresar en éste, desde la fase de crecimiento (G1) hasta llegar a la fase de mitosis (M). Es probable que en este momento, una de las células hijas siga un camino proliferativo y de especialización y la otra regrese a la condición no proliferativa, Go. De este modo la concentración tisular de la CT es mantenida, asegurándose así su permanencia durante toda la vida de la especie, incluso en condiciones de alta demanda de células maduras. Se ha calculado que la dotación de células troncales hematopoyéticas en la médula ósea murina, es tal que es capaz de mantener el proceso hematopoyético por un período de tiempo que se extienda, incluso más allá (30%) de la expectativa de vida de la especie. Los mecanismos celulares y moleculares implicados en la autogeneración de una CTA, distan aún mucho de ser completamente comprendidos. En este proceso participan interacciones de la CT consigo misma y con otras células, como también interacciones mediadas por citoquinas/factores de crecimiento, moléculas de la matriz extracelular y señales que regulen los procesos de muerte celular programada (apoptosis) (14-16).

La capacidad de una CTA de diferenciarse a uno o varios (mono o multipotencia) linajes celulares maduros es el mecanismo por el cual la CT "alimenta" de células especializadas y maduras a los tejidos, órganos y sistemas de un organismo adultos (17). La célula troncal epitelial es considerada una célula monopotente (origina solo el linaje epitelial) (18), en cambio la hematopoyética, es considerada multipotente basado en su capacidad de originar todas las células de la sangre (mieloides/linfoides, eritrocitos y plaquetas) (19). La célula troncal mesenquimática ubicada en el estroma de la médula ósea, es también multipotente pues origina linajes celulares que derivarán

entre otros a células óseas, cartilaginosas, musculares, adiposas y de soporte hematopoyético (20).

El tránsito desde la condición troncal al de la célula especializada es progresivo, altamente regulado e implica en muchos casos migración dentro de un mismo tejido o bien un cambio de tejido. En la Figura 1, se han esquematizado los compartimentos celulares que caracterizan la jerarquía proliferativa y de diferenciación de la célula troncal mesenquimática desde su condición de reposo proliferativo, no comprometida en eventos de diferenciación (uncommitted) y localizada en el estroma de la médula ósea (21), hasta originar células diferenciadas y maduras, propias de las diferentes tipos de tejidos mesenquimáticos (20).

Entre los compartimentos extremos, existe uno intermedio en el cual la CT experimenta una serie de cambios celulares, moleculares y de entorno (microambientes) que la conducen a la adquisición progresiva de una condición de compromiso (committed) con la diferenciación y maduración de los linajes terminales (22,23).

## Células troncales adultas y su potencial uso clínico

La abundante literatura acerca de las propiedades biológicas de las CT, tanto embrionarias como adultas, sugiere que éstas podrán ser usadas en el desarrollo de terapias celulares dirigidas al tratamiento de un vasto repertorio de enfermedades. Si bien es cierto que aún falta mucha información acerca de varios aspectos de la biología de las CT, na cabe duda que el intenso trabajo científico en curso en diferentes laboratorios tanto académicos como de empresas de biotecnología, permitirá dentro del corto plazo identificar aquellos aspectos celulares o moleculares de las CT, aún contradictorios o desconocidos. Esta información permitirá decidir, ajeno a la fuente de obtención de las CT (embrionarias o adultas), cuál es el tipo de CT más adecuado para desarrollar una terapia dirigida contra una particular enfermedad. Se ha dicho que la terapia con CT "revolucionará la práctica médica", por cuanto ofrecerá al paciente una mejor calidad de vida, como asimismo una expectativa más prolongada de subsistencia libre de enfermedad.

El uso terapéutico de las CTA no es nuevo. Desde la década de los 50, la célula troncal hematopoyética, en su versión de trasplante de médula ósea a la más reciente de trasplante de células troncales periféricas, viene siendo utilizada exitosamente en la clínica hemato-oncológica. A su vez, cultivos ex vivo de células troncales epiteliales obtenidas de trozos de piel o de tejido corneal (limba), son utilizados para trasplantes destinados a pacientes con quemaduras severas o daño corneal, respectivamente. Estos tipos de terapias con CTA presentan una característica muy atractiva, cual es que las CT seleccionadas y expandidas en el laboratorio, provienen de la misma persona a la cual le serán transplantadas. En estas condiciones la posibilidad de rechazo inmunológico es inexistente.

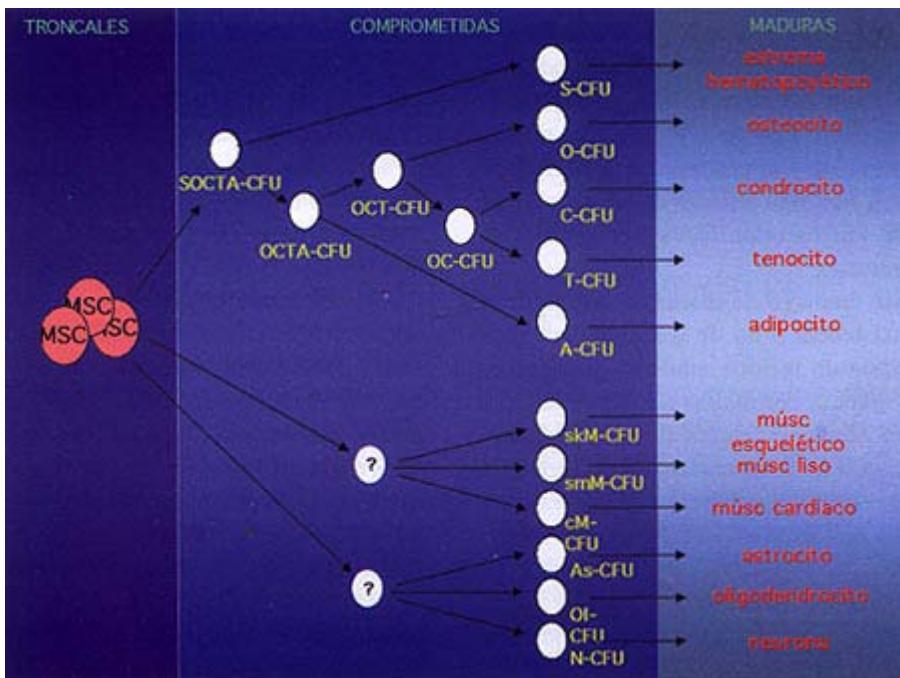


Figura 1.

Diagrama ilustrativo de la jerarquía proliferativa y de diferenciación de la célula troncal mesenquimática.

Se muestran tres compartimentos principales: el de la izquierda que contiene las células troncales mesenquimativas (*uncommitted*), el del centro que contiene los progenitores en vías de compromiso (*committed*) y el de la derecha que contiene las células derivadas (*especializadas/maduras*). La capacidad de autogeneración (*self-renewal*) de la célula troncal o de alguna de sus células progenitoras se va perdiendo hacia la derecha, en cambio la adquisición de un potencial de diferenciación va creciendo hacia la izquierda. MSC: célula troncal mesenquimática; CFU: progenitores comprometidos a diferenciarse hacia células: O=osteoblásticas, C=condroblásticas, A=adipocíticas, T=tenocitos, S=estroma hematopoyético, skM=músculo esquelético, smM=músculo liso, cM=músculo cardíaco, As=astrocitos, Ol=oligodendroctos, N=neuronas (reproducido de referencia 24).

Sin embargo, el éxito alcanzado con el uso de CTA en los ejemplos anteriores no puede ser extrapolado a otras situaciones. Dado que las CTA están normalmente presentes en bajas cantidades en los diferentes tejidos u órganos y además que su separación y aislamiento es difícil, será necesario perfeccionar los sistemas de expansión *ex vivo* para aumentar su número, en condiciones en que la CT permanezca como tal (*uncommitted*) y no se diferencie.

Esto aparece como una seria limitante para el tratamiento de enfermedades agudas, donde probablemente no se dispone de tiempo suficiente para efectuar las manipulaciones *ex vivo*. A su vez, en enfermedades causadas por defectos genéticos es de suponer que el error genético está también presente en las CT del paciente, de allí que su uso en trasplantes no será apropiado. Una limitación adicional se asocia al hecho que las CT de pacientes mayores pueden presentar una alta tasa de anormalidades acumuladas en su DNA.

A pesar de lo anterior y de otras limitantes, la investigación, utilizando CTA, es muy extensa y está dirigida a establecer condiciones seguras para su uso en diversas aplicaciones clínicas. En la Tabla 2, se detallan algunas de las potenciales aplicaciones clínicas de las CTA, según información reciente.

<b>Tabla 2</b> <b>Potenciales usos de células troncales adultas en el tratamiento de ciertas enfermedades</b>
--

Célula troncal o progenitoras derivadas	Enfermedad "blanco"	Referencias
Neuronal	Parkinson, Alzheimer, daño médula espinal, esclerosis múltiple, apoplejía	25,26,27
Musculares cardíacas	Infarto miocardio, fallas cardíacas congestivas	28,29
Productoras de insulina	Diabetes	5,6,30
Mesenquimáticas	Osteoartritis, distrofia muscular, osteoporosis	31,32
Hematopoyéticas	Cáncer, inmunodeficiencias, leucemias, enfermedades hematológicas hereditarias	33
Hepáticas	Hepatitis, cirrosis	34,35
Epiteliales (piel)	Quemaduras severas, cicatrizaciones, folículo piloso	36,37
Retina	Degeneración mácula	38
Dentales	Estructuras dentales	39
Sangre cordón umbilical	Terapias in útero	23,40

Es indudable que la información existente acerca de la generación, derivación hacia linajes específicos y propiedades de las CT humanas, tanto de origen embrionario (totipotentes) como de tejidos adultos (multipotentes) representa uno de los más espectaculares logros de las ciencias biológicas, en particular de la biología celular y biología molecular. A pesar que aún quedan muchas "cajas negras" por abrir, es un asunto sin discusión que la utilización de estas células (ya sea en modalidades de terapias celulares o genéticas) producirá un impacto en el corto plazo, en la oferta de procedimientos terapéuticos disponibles para pacientes que sufren de enfermedades catalogadas como irreversibles o incurables. La decisión final acerca de si la opción es utilizar CT embrionarias adultas, dista aún mucho de ser tomada, pero claramente no se trata de un asunto "todo o nada" como aparece presentado al público. Es probable que esta visión, habitualmente presentada en los medios de comunicación, sea la consecuencia de vastos y diversos intereses (y motivaciones) en juego. Se ha calculado que sólo en USA, alrededor de 128 millones de personas pueden ser ayudadas por procedimientos que utilicen terapias con células troncales (41). Ambas opciones son viables y no excluyentes. Es probable que terapias utilizando CT embrionarias sean las más adecuadas para determinadas enfermedades, siendo esto válido también para las CTA. O como lo ha expresado un distinguido científico inglés: "... *in the end, the therapeutic approach will be the one that's easiest to follow* ".

Para que estos beneficios alcancen a todos los pacientes, no sólo aquellos de países industrializados, es requisito que los actores involucrados en el desarrollo de las ciencias biomédicas al igual que el público en general, no sólo se eduquen en el tema sino que se transformen en efectivos agentes de cambio en los países en desarrollo. De no ser así, sólo seremos espectadores de esta verdadera revolución biomédica y nos conformaremos con esperar que estos procedimientos estén a la venta en el mercado, para beneficio exclusivo de aquellos que los puedan adquirir.

## Bibliografía

1. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS et al. *Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts*. *Science* 1998; 282: 1145-7.
2. Shambrott MJ, Axelman J, Wang S et al. *Derivation of pluripotent stem cells from cultured human primordial germ cells*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 13726-31.
3. Gage FH. *Mammalian neural stem cells*. *Science* 2000; 287: 1433-8.
4. Palmer TD, Schwartz PH, Taupin P et al. *Progenitor cells from human brain after death*. *Nature* 2001; 411: 42-3.
5. Gymr V, Kerr-Conte J, Belaich S et al. *Adult human cytokeratine 19-positive cells reexpress insulin promoter factor 1 in vitro: further evidence for pluripotent ancreatic stem cells in humans*. *Diabetes* 2000; 49: 1671-80.
6. Bonner-Weir S, Taneja M, Weir GC et al. *In vitro cultivation of human islets from expanded ductal tissue*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 7999-8004.
7. Petersen BE, Bowen WC, Patrene KD et al. *Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells*. *Science* 1999; 284: 1168-70.
8. Krause DS, Theise ND, Collector MI et al. *Multi-organ, multilineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell*. *Cell* 2001; 105: 369-77.
9. Bjornson CR, Rietze RL, Reynolds BA et al. *Turning brain into blood: a hematopoietic fate adopted by adult neural stem cells in vivo*. *Science* 1999; 283: 534-7.
10. Galli R, Borello U, Gritti A et al. *Skeletal myogenic potential of human and mouse neural stem cells*. *Nat Neurosci* 2000; 3: 986-91.
11. Gussoni E, Soneoka Y, Strickland CD et al. *Dystrophin expression in the mdx mouse restored by stem cell transplantation*. *Nature* 1999; 401: 390-?39.
12. Jackson KA, Mi T, Goodell MA. *Hematopoietic potential of stem cells isolated from murine skeletal muscle*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 14482-6.
13. Kopen GC, Prockop DJ, Phinney DG. *Marrow stromal cells migrate throughout forebrain and cerebellum and they differentiate into astrocytes after injection into neonatal mouse brains*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 10711-16.
14. Watt FM, Hogan BL. *Out of Eden: stem cells and their niches*. *Science* 2000; 287: 1427-30.
15. Wulf GG, Kathyjo AJ, MA Goodell. *Somatic stem cell plasticity: Current evidences and emerging concepts*. *Exp hematol* 2001; 29: 1361-70.
16. Hall AK. *Stem cell is a stem cell is a stem cell*. *Cell* 1983; 33: 11-12.
17. van der Kooy D, Weiss S. *Why stem cells?* *Science* 2000; 287: 1439-41.
18. Slack JMW. *Stem cells in epithelial tissues*. *Science* 2000; 287: 1431-3.
19. Bhatia M, Wang JC, Kapp U et al. *Purification of primitive human hematopoietic cells capable of repopulating immune-deficient mice*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 5320-5.
20. Caplan AI. *The mesengenic process*. *Clin Plast Surg* 1994; 21: 429-35.
21. Conget P, Allers C, Mingue JJ. *Identification of a discrete population of human bone-marrow derived mesenchymal cells exhibiting properties of uncommitted progenitors*. *J Hematother Stem Cell Res* 2001; 10: 749-58.

22. Conget PA, Minguell JJ. *Phenotypical and functional properties of human bone marrow mesenchymal progenitor cells*. *J Cell Physiol* 1999; 81: 67-73.
23. Erices A, Conget P, Minguell JJ. *Mesenchymal progenitor cells in human umbilical cord blood*. *Br J Haematol* 2000; 109: 235-42.
24. Minguell JJ, Erices A, Conget P. *Mesenchymal stem cells*. *Exp Biol Med* 2001; 226: 507-20.
25. Magavi SS, Leavitt BR, Macklis JD. *Induction of neurogenesis in the neocortex of adult mice*. *Nature* 2000; 405: 951-5.
26. Kondo T, Raff M. *Oligodendrocyte precursor cells reprogramme to become multipotent CNS stem cells*. *Science* 2000; 289: 1754-7.
27. Schwarz EJ, Alexander GM, Prockop DJ et al. *Multipotential marrow stromal cells transduced to produce L-DOPA: engraftment in a rat model of Parkinson disease*. *Hum Gene Ther* 1999; 10: 2539-49.
28. Beltrami AP, Urbancic K, Jajstura J et al. *Evidence that human cardiac myocytes divide after myocardial infarction*. *N Engl J Med* 2001; 344: 1750-7.
29. Rosenthal N. *High hopes for the heart*. *N Engl J Med* 2001; 344: 1785-7.
30. Serup P, Madsen OD, Mandrup-Poulsen T. *Islet and stem cell transplantation for treating diabetes*. *British Medical J* 2001; 322: 29-32.
31. Pitterger MF, Mackay AM, Beck SC et al. *Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells*. *Science* 1999; 284: 143-7.
32. Minguell JJ, Conget P, Erices A. *Biology and clinical utilization of mesenchymal progenitor cells*. *Braz J Med Biol Res* 2000; 33: 881-7.
33. Ikehara S. *Treatment of autoimmune diseases by hematopoietic stem cells transplantation*. *Exp Hematol* 2001; 29: 661-9.
34. Shafritz DA. *Rat liver stem cells: Prospects for the future*. *Hepatology* 2000; 32: 1399-400.
35. Strain AJ, Crosby HA. *Hepatic stem cells*. *Gut* 2000; 46: 743-5.
36. Toma JG, Akhavan M, Fernández KJ et al. *Isolation of multipotent adult stem cells from the dermis of mammalian skin*. *Nature Cell Biol* 2001; 3: 778-84.
37. Oshima H, Rochat A, Kedzia C et al. *Morphogenesis and renewal of hair follicles from adult multipotent stem cells*. *Cell* 2001; 104: 233-45.
38. Tropepe V, Coles BL, Chiasson BJ et al. *Retinal stem cells in the adult mammalian eye*. *Science* 2000; 287: 2032-6.
39. Gronthos S, Mankani M, Brahim J et al. *Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 13625-30.
40. Ende N, Chen R. *Human umbilical cord blood cells ameliorate Huntington's disease in transgenic mice*. *J Med* 2001; 32: 231-40.
41. Perry D. *Patients' voices: the powerful sound in the stem cell debate*. *Science* 2000; 287: 1423.

