

CÉLULAS MADRE: USOS PRESENTES Y FUTUROS

DR. FRANCISCO BARRIGA C.
PROFESOR ADJUNTO.
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA.
HEMATO-ONCOLOGÍA INFANTIL.
HOSPITAL CLÍNICO UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CHILE.
fbarriga@med.puc.cl

RESUMEN

Las células madre son la base de la medicina regenerativa, cuyo objetivo es la reparación de tejidos dañados por diversas enfermedades. Células madre adultas se han identificado en una multiplicidad de tejidos y se usan en la actualidad en muchas áreas de la medicina. El uso mejor conocido es el trasplante de células hematopoiéticas que se utiliza desde hace décadas en el tratamiento de enfermedades hematológicas (leucemia). A pesar de las expectativas de la comunidad científica y los medios de comunicación, la mayoría de las otras aplicaciones de las células madre son experimentales. Múltiples barreras deben resolverse para su aplicación: integración a tejidos dañados y supervivencia prolongada en los mismos, proliferación de suficientes números de células para hacer esta función, diferenciación en las estirpes deseadas, entre otras. Una de las áreas de evaluación de terapia con células madre que ejemplifican estas dificultades es la reparación de tejido miocárdico dañado por enfermedad coronaria.

SUMMARY

Stem cells are the basis of regenerative medicine, which focuses on the repair of damaged tissue resulting from various diseases. Adult stem cells have been identified in multiple tissues and are currently used in several areas of medicine. The best known use is the transplantation of hematopoietic stem cells, which has been ongoing for decades for the treatment of hematological diseases like leukemia. Despite great expectations in the scientific community and media, most clinical uses of stem cells remain experimental. Multiple

biological barriers need to be overcome to incorporate these therapies: integration of stem cells into damaged tissues and long term functioning in them, proliferation of enough quantities of stem cells to repair tissue, differentiation into desired lineages, among others. One of the areas currently undergoing extensive evaluation of stem cell therapy is the repair of damaged myocardium secondary to ischemic heart disease.

Key words: Stem cells, embryonic stem cells.

INTRODUCCIÓN

Las células madre (células stem, células troncales, células precursoras) preconizan una revolución en todos los ámbitos de la medicina moderna. La identificación y caracterización de estas células es objeto de investigación intensa y amplia en múltiples centros y países y la cantidad de recursos destinados a ello son enormes. Todo este esfuerzo apunta a un objetivo relativamente simple: conseguir que estas células actúen como reparadoras de tejidos dañados o regeneradoras de funciones perdidas por enfermedad. A esto se le ha llamado en un sentido amplio medicina regenerativa y abarca conceptualmente desde usos actuales de las células madre en el tratamiento de enfermedades hematológicas a la mejoría de enfermedades comunes que constituyen causas más frecuentes de morbilidad y mortalidad. El área de la medicina que más se puede beneficiar inicialmente de estas terapias es el trasplante de órganos. El trasplante de médula ósea, ahora mejor denominado como trasplante de precursores hematopoiéticos, es un trasplante de células madre más que de un tejido u órgano. Idealmente si se pudieran de-

sarrollar tejidos para reparar órganos a partir de células madre esto podría retrasar o prevenir completamente el trasplante.

La expectativa que las terapias basadas en células madre puedan ofrecer en el futuro es también muy alta entre la comunidad científica, los medios de comunicación y el público en general. Esta expectativa está alimentada por reportes de experiencias anecdóticas de equipos técnicos que pintan como realidad algo que todavía está en un futuro más o menos distante. Afortunadamente esto no ha impedido la labor perseverante y callada de múltiples grupos científicos que han conseguido avances significativos en las últimas décadas. Hasta la fecha y con la excepción del uso en trasplante hematopoiético, la mayor evidencia de las propiedades y posibles aplicaciones de células madre proviene de estudios en animales de laboratorio (1). Estos estudios permiten un cauto optimismo y han generado gran interés en dedicar recursos a esta área de la investigación. Pensar hoy que la infusión de extractos celulares que tengan una abundancia de células madre (sangre de cordón umbilical, médula ósea, células mesenquimáticas obtenidas por cultivo celular, etc.) permitirá que las mismas vayan automáticamente a tejidos dañados, se aniden y regeneren su funcionalidad, es una esperanza basada en muy poca evidencia científica. Como todo en biomedicina, los progresos serán lentos, llenos de obstáculos y derroteros falsos, y requerirán de nuevos paradigmas que cambien diametralmente nuestros conceptos.

Las células madre pueden clasificarse desde un punto de vista muy general en embrionarias y adultas. Las primeras provienen de embriones animales y humanos, de los cuales se han desarrollado múltiples líneas celulares. El uso de células embrionarias humanas está rodeado de una gran controversia ética debido a que abre la posibilidad de la clonación de tejidos u organismos a partir de células totipotenciales. La obtención de células madres embrionarias implica la muerte del embrión. Por el contrario las células madre adultas son células en un estado más diferenciado que ya tienen un programa de desarrollo hacia estirpes definidas. Estas células son objeto de la mayor investigación actual y su uso no contradice ningún principio ético cuando son obtenidas con el consentimiento pleno de los individuos que las donan y usan. Esta breve revisión se centrará únicamente en los usos posibles y actuales de células madre adultas. Analizaré el uso y las dificultades del mismo en dos áreas en las que ya hay experiencia clínica: el trasplante de precursores hematopoiéticos y el uso de células madre para reparar tejido miocárdico dañado por enfermedad coronaria. En ambas áreas existe una amplia experiencia clínica con resultados reproducible que han permitido el estudio de la biología de las células madre.

Irónicamente el trasplante de precursores hematopoiético comenzó también de manera empírica y experimental sin ningún conocimiento real de su biología pero fue efectivo y reproducible y se continua desarrollando ampliamente junto con el conocimiento de su biología. Como en muchos episodios de la historia de la medicina la creatividad de los clínicos motivados por dar a sus pacientes una solución a su patología

puede llevar a observaciones biológicas fundamentales, de la misma manera como la investigación biológica puede permitir el desarrollo racional de terapias innovadoras. El uso actual de las células madre se mueve entre estos dos paradigmas

La capacidad de las células madre de ser útiles para el tratamiento de enfermedades depende de la posibilidad de ser manipuladas para conseguir objetivos definidos en la Tabla 1. Estos objetivos han sido ampliamente conseguidos en trasplante hematopoiético pero aún eluden los esfuerzos para aplicar esta terapia en infarto miocárdico.

TABLA 1. CARACTERÍSTICAS DE LAS CÉLULAS MADRE PARA PODER USARSE DE MANERA EFECTIVA EN MEDICINA REGENERATIVA Y TRASPLANTE (4)

- Proliferar extensamente y generar suficiente cantidad de tejido.
- Diferenciarse en los tipos celulares requeridos.
- Sobrevivir en el receptor después del trasplante.
- Integrarse al tejido circundante después del trasplante.
- Funcionar adecuadamente por la duración de la vida del receptor.
- No dañar al receptor.
- Evitar el problema del rechazo inmune.

TRASPLANTE DE PRECURSORES HEMATOPOIÉTICOS

Los objetivos de este trasplante están en la Tabla 1. Prácticamente todos los trasplantes de este tipo comienzan con un período de condicionamiento o preparación en que el paciente recibe altas dosis de quimioterapia y/o radioterapia para tratar su cáncer (generalmente leucemia) y depletar el sistema inmune, lo que permite el prendimiento del injerto. El injerto que se usa en ese tipo de trasplante no constituye ni el 0,01% de las células madre que tiene un organismo adulto y sin embargo en pocas semanas ese injerto es capaz de regenerar toda la función hematopoiética alcanzando recuentos celulares en médula ósea y sangre periférica absolutamente normales. Los precursores hematopoiéticos se diferencian en todos los tipos celulares (hematíes, granulocitos, linfocitos, monocitos, plaquetas) recuperando la funcionalidad que tenían antes del trasplante. Estas células del donante sobreviven inicialmente hasta que se produce uno de los fenómenos más centrales para cualquier intento de usar células madre en medicina regenerativa, lo que se llama homing o anidamiento: las mismas deben hacerse un nicho u hogar en el estroma del órgano en el que proliferarán o se repararán. En el caso del trasplante hematopoiético, este nicho ocurre efectivamente en la médula ósea, a la que se integran. Las células del estroma de la médula tienen un extenso repertorio de receptores y proteínas en su superficie que anclan las células madre cuando estas transitan por sus

sinusoides. Una vez ancladas, reciben nutrición y estímulos de proliferación y diferenciación del mismo estroma (2). Este fenómeno es definitivo en la mayoría de los casos y las células transplantadas mantienen su funcionamiento durante toda la vida del receptor. Los pacientes que consiguen la curación de su enfermedad de base persisten en la mayoría de los casos con un injerto estable de origen del donante. A pesar de los avances que se han conseguido en este campo hay dos aspectos del trasplante hematológico que no se han podido obviar: el daño que produce en el receptor el uso de la quimioterapia o radioterapia preparatoria y las barreras inmunes al trasplante alogénico que pueden determinar un rechazo o enfermedad de injerto versus huésped.

CÉLULAS MADRE EN LA REPARACIÓN DE TEJIDO MIOCÁRDICO POSTERIORMENTE A UN INFARTO.

Esta es una de las áreas de más interés actual en la aplicación de células madre. Múltiples trabajos han sido publicados o están en desarrollo para establecer y mejorar esta terapia. A pesar del entusiasmo y el esfuerzo dedicado todavía es un campo incipiente en el que tendremos que esperar a una mayor interacción entre los hallazgos básicos y resultados clínicos. El desarrollo de estas terapias subraya los puntos explicados en la Tabla 1. Las vallas en su aplicación en la actualidad son:

1. Determinar el tipo de célula madre a utilizar. Tres son las que se han considerado: células madre hematopoiéticas, mesenquimáticas y miocárdicas. Las dos primeras se han utilizado en clínica por la facilidad de su obtención y por su potencial de diferenciarse en músculo estriado.

2. Determinar la vía de administración de las células madre: movilización periférica, inyección intracoronaria o inyección intramiocárdica. Esto está directamente relacionado al fenómeno de homing. Si las células madre con capacidad de diferenciarse a una célula miocárdica tienen sistemas de anidamiento, anclaje y subsistencia similares a las de los precursores hematopoiéticos, entonces podría servir simplemente movilizar estas células a la circulación para que se aniden al pasar por el músculo dañado. Los experimentos clínicos basados en este principio han resultado poco efectivos (3). Muchos estudios están centrándose en la actualidad en la inyección intracoronaria de células madre hematopoiética y mesenquimática. Un estudio randomizado usando precursores hematopoiéticos post infarto en humanos demostró un incremento significativo en la fracción de eyección a los seis meses del mismo (4), pero ese mismo grupo comprobó una nula mejoría en el análisis de 18 meses (5). Además la mortalidad no fue diferente en ambos grupos. Estos resultados apuntan a que probablemente existen mecanismos de homing para estas células, que son capaces de regenerar tejido infartado o producir neovascularización, pero los efectos no se mantienen en el tiempo. Nuevamente mucho trabajo en investigación básica será necesaria para explicar el fenómeno e intentar desarrollar condiciones para prolongar el efecto positivo. Estudios con mayor número de pacientes serán necesarios para definir si esta aproximación es efectiva. Pocos han explorado la inyección intramiocárdica por el riesgo

TABLA 2. OBJETIVOS DEL TRASPLANTE DE CÉLULAS MADRE HEMATOPOIÉTICAS

- Terapia de soporte o rescate en el tratamiento de enfermedades malignas, luego de dosis mieloablativas de quimio-radioterapia (alogénicos o autólogos).
- Corrección de enfermedades que causan defectos en las células progenitoras hematopoiéticas (alogénico).
- Inmunoterapia adoptiva: los linfocitos T presentes en el injerto son capaces de controlar enfermedades malignas (alogénico).
- Reeduación del sistema inmune: delección clonal de linfocitos autorreactivos (autólogo o alogénico).

asociado y la dificultad de definir con precisión la topografía del daño inducido por el infarto.

3. Determinar en qué momento de la evolución del infarto es necesario aplicarlas; precozmente o después que el daño ya esté establecido pero antes de la cicatrización definitiva. Esto también guarda relación con la disponibilidad de células madre autólogas en tiempos cortos. Las células hematopoiéticas son fáciles de movilizar y de conseguir en poco tiempo. En teoría se podría disponer de un concentrado de estas células (CD34) en pocas horas si se necesita. Por el contrario las células madre mesenquimáticas, que también se pueden diferenciar a miocitos al menos en modelos de laboratorio, requieren de un cultivo primario de dos semanas para poder purificar una cantidad suficiente que sea útil. Esto es un impedimento para su uso en la fase aguda postinfarto, por lo que habría que plantear la conveniencia de tener estas células, autólogas o alogénicas, previamente congeladas para usar en este fin. Debido a que las mismas no generan aparentemente una respuesta inmune y por el contrario pueden inducir tolerancia inmune podría ser una ventaja para el uso de células alogénicas.

4. Conocer los mecanismos de acción del efecto regenerativo potencial de la aplicación de las células, lo que llevaría a contestar muchas de las preguntas anteriores. Tres son los mecanismos aducidos teóricamente: integración al músculo cardíaco y diferenciación en miocitos; fusión celular con miocitos presentes en el tejido dañado; formación neovascular. Hay resultados de laboratorio que apoyan en parte a cualquiera de estas tres teorías.

Finalmente tampoco se conoce el potencial de daño que la aplicación de células madre en el miocardio pueda tener, ya que no se conocen los mecanismos de homing ni las señales diferenciadoras del tejido miocárdico.

El uso de células madre mesenquimáticas, que también poseen la capacidad de diferenciarse a tejido conectivo, hueso o cartílago podría provocar más daño que bien si por ejemplo induce proliferación de la íntima de la arteria por donde se inyecta.

En resumen, las expectativas del uso de las células madre en medicina son altas y han estimulado un enorme interés y conseguido grandes recursos para su investigación. Si bien en áreas como el trasplante hematopoiético ya han dado resultados muy positivos permitiendo tratar con éxito a muchos pacientes, la mayoría de otras aplicaciones potenciales está en una fase preclínica. Es esperable que en un futuro no muy lejano veamos la madurez en áreas específicas de la medicina regenerativa y la incorporación de otras patologías a este campo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M, Reitsma M, Dohse M, Osborne L, et al: Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo: *Nature Medicine* 6, 1229 - 1234 (2000).
2. Taichman, R. S.: Blood and bone: two tissues whose fates are intertwined to create the hematopoietic stem-cell niche *Blood* 2005;105:2631-2639.
3. Abdel-Latif, A; Bolli, R; Tleyjeh, I; Montori, VM; Perin, EC; Hornung, CA, et al: Adult Bone Marrow-Derived Cells for Cardiac Repair: A Systematic Review and Meta-analysis. *Arch Intern Med.* 2007;167:989-997.
4. Wollert K ,Meyer G ,Lotz J , Ringes S, Lichtenberg S, Lippolt, P: Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomised controlled clinical trial . *Lancet* 2004; 364 :141 – 148.
5. Wollert K ,Meyer G ,Lotz J , Ringes S, Lichtenberg S, Lippolt, P : Eighteen Months' Follow-Up Data From the Randomized, Controlled BOOST (Bone marrow transfer to enhance ST-elevation infarct regeneration) Trial. *Circulation* 2006;113:1287-1294.
6. Birgit Assmus, M.D.: Transcoronary Transplantation of Progenitor cells after myocardial Infarction: *New England Journal Medicine* 355; 12.
7. Tracy Hampton: Stem Cells probed as Diabetes Treatment: *JAMA* 20 Diciembre 2006; 296: 2785-2786.
8. Ingrid Kuehnle and Margaret a Goodell: The Therapeutic Potential of Stem Cells from Adults: *BJM*, 2002; 325: 372-376.
9. The promises and Challenges of Regenerative Medicine, 20-22 2004: Kobe, Japan; *Stem Cells* 2005; 23:707-709.
10. Clinical Trials a service of US National Institute of Health: www.clinicaltrials.gov