



CÉLULAS MADRE

Las células madre (CM) también son llamadas stem cell (inglés), células tronco o células troncales. Se caracterizan por tener dos características: se auto-renuevan y se diferencian a diferentes tipos de linajes celulares. En cuanto a su funcionalidad, se les reconoce dos particularidades: son capaces de hacer repoblación funcional y de transdiferenciarse para producir células de una capa germinal diferente a la propia.¹

Las CM residen en un microambiente dinámico, especializado, denotado como “nicho”, que proporciona señales extracelulares para permitir su supervivencia y diferenciación. Por otra parte, el nicho ayuda a mantener un equilibrio dinámico entre la quiescencia, la autorrenovación y diferenciación de las CM.^{2,3}

La auto-renovación es la capacidad de producir células idénticas a sí misma, se realiza ilimitadamente durante toda la vida del individuo.⁴ La célula madre puede realizar procesos de división mitótica tanto simétrica como asimétrica. La división simétrica genera células idénticas a sí misma y con la división asimétrica produce una célula idéntica y otra célula diferenciada. Tener los dos tipos de división es lo que le permite mantener una determinada población de CM indiferenciadas en los tejidos, con lo cual asegura la supervivencia de las diferentes líneas celulares. Este proceso está genéticamente regulado por mecanismos como los proporcionados por la vía Notch⁵ y algunos factores de transcripción como el BMI-1 y HoxB4 encargados de promover la auto-renovación celular.⁶

La diferenciación sucede con el cambio en el fenotipo de la célula, se activan factores de transcripción que van a realizar interacción con otros factores de las células del nicho, la matriz extracelular y los factores de crecimiento que se encuentran en el microambiente. En esta interacción se presiona la diferenciación hacia las diferentes

¹ Woodbury D, Schwarz EJ, Prockop DJ, and Black IB. Adult Rat and Human Bone Marrow Stromal Cells Differentiate Into Neurons. *Journal of Neuroscience Research*. 2000; 61:364–370

² Fuchs E, Tumber T, Guasch G. Socializing with the neighbors: stem cells and their niche, *Cell* 2004; 116:769–778.

³ Morrison SJ, Spradling AC. Stem cells and niches: mechanisms that promote stem cell maintenance throughout life. *Cell* 2008; 132:598–611.

⁴ Fliedner TM. The Role of Blood Stem Cells in Hematopoietic Cell Renewal. *Stem Cells*. 1998; 16: 361-374.

⁵ Bray SJ. Notch signaling: a simple pathway becomes complex. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2006; 7: 678-689.

⁶ Antonchuk J, Sauvageau G, Humphries R. HOXB4-induced expansion of adult hematopoietic stem cells ex vivo. *Cell*. 2002; 109: 39-45.



líneas celulares,⁷ es un proceso genéticamente controlado en el que están involucrados genes como Wnt,⁸ Nanog, Oct3 y Sox 2.⁹

La diferenciación depende del potencial de la célula madre, las conocemos como totipotentes, pluripotentes, multipotentes, bipotentes y unipotentes. El potencial de las CM también se ha asociado con la etapa de desarrollo en las que se encuentran: CM totipotentes, CM embrionarias pluripotentes, CM somáticas multipotentes y las CM progenitoras unipotentes.¹⁰

Las CM totipotenciales se encuentran en las primeras etapas del desarrollo embrionario, cuando ocurren las primeras divisiones de un óvulo fertilizado en etapa de cigoto. Poseen la capacidad de formar un organismo completo, de ellas se genera tejido embrionario y extraembrionario.¹¹

Las CM pluripotentes tienen la capacidad de diferenciarse en las CM que dan origen a las tres capas embrionarias (endodermo, mesodermo y ectodermo) de las cuales se originan los diversos tejidos del organismo. Se pueden obtener a partir de la masa celular interna del blastocisto aproximadamente siete días después de la fertilización, se conocen como CM embrionarias. De igual forma, se han identificado como pluripotentes las CM obtenidas de los teratocarcinomas, sin embargo han mostrado inconvenientes para su utilización ya que producen diferentes tipos de tumores en los animales transplantados y las células hacia las que se diferencian no siempre han mostrado funcionalidad.¹²

La CM multipotentes han sido definidas tradicionalmente como aquellas que dan origen a precursores relacionados solamente con una de las tres capas embrionarias. Sin embargo, hoy en día se sabe que gracias al fenómeno de transdiferenciación¹³ y a la

⁷ Giraldo J, Madero J, Avila M, et al. Stem cells. Rev Colomb Obstet Ginecol.2003;54(2):87-96.

⁸ Rattis F, Voermans C, Reya T. Wnt signaling in the stem cell niche. *Curr Opin Hematol* 2004; 11:88-94

⁹ Ambrosetti DC, Scholer HR, Dailey L, Basilico C. Modulation of the activity of multiple transcriptional activation domains by the DNA binding domains mediates the synergistic action of Sox2 and Oct-3 on the fibroblast growth factor-4 enhancer. *J Biol Chem* 2000;275: 23387-23397.

¹⁰ Arias ME, Felmer R. Biología de las CM embrionarias (ES cells) en distintas especies: potenciales aplicaciones en biomedicina. *Arch Med Vet* 2009; 41: 185-195

¹¹ Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998;282:1145-7.

¹² Andrewa PW. From teratocarcinomas to embryonic stem cells. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2002; 357:405-407.

¹³ Poulosom R, Forbes SJ, Hodivala-Dilke K, Ryan E, Wyles S, Navaratnarasah S, Jeffery R, Hunt T, Alison M, Cook T. Bone marrow contributes to renal parenchymal turnover and regeneration. *J Pathol* 2001; 195, 229-235.



propiedad de plasticidad que poseen, al proporcionarles un microambiente adecuado se pueden diferenciar a células de diferente capa embrionaria.^{14,15,16,17,18}

Recordemos que del endodermo se generan: sistema digestivo, hígado, páncreas. Del mesodermo se generan: médula ósea y músculo y del ectodermo se generan neuronas y piel.

Para poder considerar una célula madre adulta como pluripotente debe cumplir tres condiciones: que sea capaz de diferenciarse a células especializadas de cualquier capa embrionaria; que demuestre funcionalidad in vivo e in vitro y que produzca un asentamiento claro y persistente.¹⁹

Las CM bipotentes y unipotentes han perdido capacidad de autorrenovación, son las precursoras que dan origen a una o dos líneas celulares.

Por otro lado, acorde con su origen las CM se clasifican en embrionarias, CM germinales, las CM de teratocarcinomas, las CM somáticas o del adulto y las CM de clonación terapéutica o CM inducidas.

Se caracterizan como CM embrionarias (CME) aquellas que proceden de la masa interna de embriones en estado de blastocisto. Tienen la capacidad de división asimétrica ilimitada, se mantienen indiferenciadas, presentan marcadores de indiferenciación como el factor de transcripción Oct4. Son pluripotentes, como se explicó, quiere decir que se pueden diferenciar hacia cualquiera de las tres capas embrionarias.^{20,21}

¹⁴ Galli R, Borello U, Gritti A. Skeletal myogenic potential of human and mouse neural stem cells. *Nat Neurosci* 2000; 3: 986-991

¹⁵ Krause DS, Theise ND, Collector MI, Henegariu D, Hwang S, Gardner R, et al. Multi-organ, multi-lineaje engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. *Cell*. 2001;105:369-77

¹⁶ Jackson KA, Majka SM, Wang H. Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells. *J. Clin Invest*. 2001; 107: 1395-1402.

¹⁷ Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M. Purified hematopoietic stem cell can differentiate into hepatocytes in vivo. *Nat Med*. 2000; 6:1229-1234.

¹⁸ Grant MB, May Ws, Caballero S, Brown GA, Guthrie SM, Mames RN. Adult hematopoietic stem cells provide functional hemangioblast activity during retinal neovascularization. *Nat Med* 2002; 8:607-612.

¹⁹ Krause DS, Theise ND, Collector MI, Henegariu D, Hwang S, Gardner R, et al. Multi-organ, multi-lineaje engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. *Cell*. 2001;105:369-77

²⁰ Marshall VS, Waknitz MA y Thomson JA. Isolation and maintenance of primate embryonic stem cells. *Methods Mol Biol*. 2001; 158:11-18.

²¹ Smith AG. Embryo-derived stem cells: of mice and men. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2001; 17:435-462.



El término CME fue introducido en 1981 por Evans y Kaufman.²² El primer reporte de su aislamiento in vitro se dio posteriormente, allí se reporta que in vitro se diferencian hacia estructuras denominadas cuerpos embrioides los cuales pueden ser manipulados con diferentes factores de crecimiento para inducir su diferenciación hacia células de las tres capas germinales.²³

Las CME que han sido utilizadas para investigación en terapia celular provienen de diferentes fuentes, una de ellas son los embriones sobrantes de los procesos de fecundación in vitro que están en fase de blastocisto y la otra de los embriones humanos obtenidos de clonación terapéutica.

Las CM embrionarias germinales (CMEG) se obtienen de la cresta gonadal de embriones de 5 a 9 semanas de gestación, son las precursoras de los gametos y tienen las mismas propiedades de las CME.^{24,25}

Dadas las fuentes de obtención de las CME y CMEG, se ha generado una gran controversia ética en el ámbito internacional, hay países donde se aprueba su utilización como en el caso de los Estados Unidos, Reino Unido y Australia y otros donde está restringido el trabajo con este tipo de células como en el caso de los países Europeos. La discusión se ha centrado en determinar si el embrión humano se debe considerar o no como una persona.²⁶

Como una alternativa frente a la controversia ética suscitada por la utilización de CME un grupo de investigadores desarrollaron las CM inducidas o CM pluripotentes inducidas (CMOi), que son un "tipo" de CM generadas in vitro que se obtienen mediante la enucleación de un ovulo al cual se le implanta el núcleo de una célula somática que pueden ser fibroblastos o células de la piel.²⁷ El desarrollo de estas células se fundamentó en los hallazgos de los científicos John B Gurdon y Shiya Yamanaka, los cuales recibieron el premio Nobel de Medicina y Fisiología en el año 2012. El Dr. Gurdon

²² Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature* 1981;292:154-156.

²³ Thomson JA., Itskovitz J., Shapiro SS., Waknitz MA., Swiergiel JJ., Marshall VS., Jones JM. Embryonic Stem Cell Lines Derived from Human Blastocysts. *Science*. 1998, 282: 1145-1147.

²⁴ Shambloott MJ, Axelman J, Wang S. Derivation of pluripotent stem cells from cultured human primordial germ cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998;95:13726-31.

²⁵ Shambloott MJ, Axelman J, Littlefield JW, Blumenthal P, Huggins GR, Cui Y, Cheng L y Gearhart JD. Human embryonic germ cells derivatives express a broad range of developmentally distinct markers and proliferate extensively in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001; 98: 113-118.

²⁶ Travieso Y, Posada A, Fariñas L. Las CM en la terapia celular, consideraciones éticas. *Rev Cubana Invest Bioméd*. 2007. 26 (4) versión on line.

²⁷ Takahashi, K., and S. Yamanaka. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006; 126(4):663-676.



de la Universidad de Cambridge del Reino Unido sentó las bases de la clonación en experimentos realizados en ranas en 1962.²⁸ Y el Dr. Yamanaka de la Universidad de Kioto proporcionó las bases de las investigaciones con CM transformando células somáticas en células pluripotentes.^{29,30}

Las CMPi han proporcionado un gran avance para la medicina regenerativa, no obstante al igual que las CME han mostrado potencial teratogénico, las investigaciones de hoy en día están dirigidas a tratar de disminuir este potencial teratogénico para poder utilizarlas en la terapia celular y molecular en medicina regenerativa.

Las CM del teratocarcinoma como su nombre lo indica provienen de los teratocarcinomas, son tumores en las gónadas que derivan de células germinales, estas CM son pluripotentes, conservan su capacidad de diferenciación hacia células de las tres capas germinales, sin embargo, su origen tumoral imposibilita su uso clínico, solamente han sido utilizadas para estudiar la biología de estas CM.³¹

Las CM somáticas o del adulto (CMA), se encuentran en la mayoría de los tejidos de los individuos, se consideran multipotenciales y se mantienen durante toda la vida, son las encargadas tanto de la generación de los órganos y tejidos como del mantenimiento y renovación de estos tejidos.^{32,33}

Los principales tejidos de donde se han aislado CMA, son la médula ósea, el tejido nervioso, los músculos el hígado, el páncreas, de igual forma se han aislado de sangre de cordón umbilical y de la sangre periférica una vez son movilizadas de la médula ósea.

De la médula ósea se han aislado al menos 5 clases de CM: las CM hematopoyéticas (CMH) CM mesenquimales (CMM), CM ovaes, CM de población lateral y las últimas identificadas llamadas células progenitoras adultas multipotenciales (MAPC).³⁴

²⁸ Gurdon JB. The developmental capacity of nuclei taken from intestinal epithelium cells of feeding tadpoles. *J Embryol Exp Morphol* 1962; 10: 622-640.

²⁹ Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, and Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 2007; 131(5):861-872

³⁰ Zhang Y. From "Old" Cloning to "Young" Cellular Reprogramming: Nobel Prize 2012 Spotlighted the Stem Cell Work. *Clon Transgen* 2012; 1:1

³¹ Andrewa PW. From teratocarcinomas to embryonic stem cells. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2002; 357:405-407.

³² Edlund T y Jessell TM. Progesion from extrinsic to intrinsic signaling in cell fate specification: a view from the nervous system. *Cell* 1999; 96:211-224.

³³ Vats A, Bielby RC, Tolley NS, Nerem R y Pilak JM. Stem cells. *Lancet.* 2005; 366(9485):592-602.

³⁴ Weissman IL, Anderson DJ, Gage F. Stem and progenitors cells: origins, phenotypes, lineage commitments and tansdifferentiations. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2001; 17:387-403.



Las CMH, se vienen utilizando desde mediados del siglo XX en terapias de repoblación funcional especialmente en el tratamiento de diferentes tipos de leucemia. Las fuentes de CMH han sido la médula ósea,³⁵ las movilizadas que se recuperan de sangre periférica y las que se obtienen de sangre de cordón umbilical.³⁶

Su fenotipo se caracteriza por ser CD34+ y no expresar ningún marcador de linaje.

Las investigaciones de los últimos años han aportado evidencia que demuestra que a pesar de estar definidas como células multipotentes, las CMH tienen potencial pluripotente al producir, bajo condiciones reguladas, células de otras capas germinales como es el caso de hepatocitos,³⁷ tejido nervioso,³⁸ músculo cardíaco,³⁹ músculo esquelético,^{40,41} esta capacidad de las CM se conoce con el nombre de plasticidad.^{42,43}

Respecto a su utilización clínica, las CM se están utilizando principalmente en tres campos: para el ensayo de diferentes tipos de medicamentos sobre líneas celulares particulares; en el reemplazo celular para diferentes patologías y para la corrección de enfermedades de origen congénito.

En medicina regenerativa, las CM se siguen utilizando con gran éxito en pacientes con enfermedades de origen hematológico como leucemias, linfomas, aplasias entre otros. Adicionalmente, en medicina regenerativa se están utilizando y hay evidencia clínica que demuestra el éxito obtenido en el tratamiento de cirrosis, diabetes, retinopatías, enfermedades coronarias y del sistema nervioso.^{44,45,46}

³⁵ Armitage JO. Medical progress: bone marrow transplantation. *N Engl J Med* 1994; 330: 827-838

³⁶ ³⁶ Flidner TM. The Role of Blood Stem Cells in Hematopoietic Cell Renewal. *Stem Cells*. 1998; 16: 361-374.

³⁷ Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M, Reitsma M, Dohse M, Osborne L. Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo. *Nat Med* 2000; 6: 1229-1234.

³⁸ Martin E, Watt SM. Stem cell plasticity. *Br J Haematol* 2003; 122: 877-891.

³⁹ Orlic D, Kaistura J, Chimenti S, Jakoniuk I, Anderson SM, Li B. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 2001; 410: 701-705.

⁴⁰ Krause DS, Theise ND, Collector MI, Henegariu O, Hwang S, Gardner R. Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. *Cell* 2001; 105: 369-377.

⁴¹ Hernández Ramírez, Porfirio. Medicina regenerativa y CM. Mecanismos de acción de las CM adultas. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* 2009; 21(1) versión on line.

⁴² Quesenberry PJ, Dooner G, Colvin G y Abedi M. Stem cell biology and the plasticity polemic. *Exp Hematol* 2005; 33:389-394.

⁴³ Laflamme MA, Myerson D, Saffitz JE, Murry CE. Evidence for cardiomyocyte repopulation by extracardiac progenitors in transplanted human hearts. *Circ Res* 2001; 90: 634-640.

⁴⁴ Hernández-Ramírez R y Dorticós-Balea E. Medicina regenerativa. CM embrionarias y adultas. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* 2004; 20 (3) versión on line.

⁴⁵ Mato Matute, ME. CM: un nuevo concepto de medicina regenerativa. *Rev Cubana Endocrinol*. 2004; 15 (2) versión on line.

⁴⁶ Körbling M, Estrov Z. N. Potential Clinical Applications of Hematopoietic Tissue-Derived Adult Stem Cells for Tissue Repair or Replacement *Engl J Med* 2003;349:570-582.