

LAS CÉLULAS TRONCALES SOMÁTICAS: BIOLOGÍA Y RELEVANCIA CLÍNICA*

Héctor MAYANI

SUMARIO: I. *Introducción*. II. *¿Qué es una célula troncal?* III. *Tipos de células troncales generadas durante el desarrollo*. IV. *¿Cómo se identifican las células troncales somáticas?* V. *Frecuencia y localización espacial de las células troncales*. VI. *¿Cómo se regula la función celular?* VII. *Cambios en la función de las células troncales relacionados con la ontogenia*. VIII. *Plasticidad de las células troncales*. IX. *Terapia celular*. X. *Conclusiones*. XI. *Lecturas recomendadas*.

I. INTRODUCCIÓN

Las células troncales somáticas son células no diferenciadas con una alta capacidad de autorenovación, que pueden dar origen a uno o más tipos de células especializadas con funciones específicas en el organismo. La caracterización a fondo de estas células ha sido difícil debido a que su frecuencia en los distintos tejidos corporales es extremadamente baja y a que su identificación no se basa en su morfología sino en ensayos inmunofenotípicos y funcionales. Sin embargo, en la última década se han logrado avances significativos en el estudio de estas células tanto a nivel celular como molecular. La mayor parte del conocimiento

* La investigación en el laboratorio del autor está apoyada por recursos del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) y el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt; México).

que tenemos sobre la biología de las células troncales somáticas proviene del trabajo realizado con células troncales hematopoyéticas. Sin embargo, más recientemente, se ha producido una gran cantidad de información sobre células troncales nerviosas y epiteliales. La importancia de la investigación con células troncales ha rebasado el campo de la biología básica y está contribuyendo en la actualidad al desarrollo de nuevos enfoques para el tratamiento de trastornos hematológicos, neurológicos, autoinmunes y metabólicos (terapia celular).

Hace más de cuarenta años se reconoció que en algunos tejidos existen células “maestras” capaces de dar origen a todos los distintos tipos celulares del tejido en el que se localizan. Estas *células troncales* somáticas se identificaron por primera vez en el sistema hematopoyético de ratones, sin embargo, a lo largo de los años, se ha demostrado su presencia en otros tejidos como la epidermis, el músculo, el hígado y hasta en el cerebro.

En los últimos años se ha generado gran expectativa y controversia alrededor de las células troncales. Actualmente, cientos de laboratorios de todo el mundo están trabajando en la identificación, purificación, cultivo *in vitro* y manipulación genética de células troncales provenientes de distintas fuentes. Algunas compañías biotecnológicas han puesto su atención en estas células. En 1999, la prestigiosa revista *Science* consideró el hallazgo sobre el “verdadero” potencial y plasticidad de las células troncales como el “descubrimiento del año”, y durante los últimos dos años los gobiernos de Estados Unidos de América y varios países europeos han debatido sobre el financiamiento y el uso experimental de las células troncales embrionarias humanas (CTE; un tipo particular de células troncales generadas en la embriogénesis temprana).

Más allá de los intereses sociales, políticos, morales y económicos, es evidente que la biología de las células troncales es un asunto candente, particularmente en la biología y la medicina, debido a su relevancia para el entendimiento de procesos biológicos básicos como la proliferación y la diferenciación celulares, y

también por su posible uso para el tratamiento de diversos trastornos como las enfermedades de Parkinson y Alzheimer, la diabetes y el cáncer.

En los últimos años se ha generado una gran cantidad de información sobre la biología de las células troncales, lo que ha dado como resultado el desarrollo de nuevos conceptos y la reconsideración de muchos conceptos “clásicos”. En este contexto, el objetivo principal de este artículo es hacer una revisión breve pero lo más completa posible sobre esta “nueva” biología de las células troncales. Es importante observar que la mayor parte del conocimiento que tenemos sobre la biología de las células troncales se ha generado en estudios sobre las células troncales hematopoyéticas (CTH), tanto de murinos como de humanos; por lo tanto, en esta revisión se hará un mayor énfasis en estas células formadoras de sangre y se revisarán con menor profundidad las células nerviosas y epiteliales.

II. ¿QUÉ ES UNA CÉLULA TRONCAL?

La definición de célula troncal debe basarse en términos funcionales, ya que estas células no poseen características morfológicas que puedan distinguirlas del resto de las células del tejido a las que pertenecen. De acuerdo con esto, las células troncales se han definido como células no diferenciadas con una alta capacidad de autorenovación que pueden dar origen a uno o más tipos de células especializadas con funciones específicas en el organismo; las células troncales se sitúan al inicio del linaje de un tejido determinado.

En la mayoría de los casos, entre las células troncales y su progenie totalmente diferenciada existe una población intermedia de células progenitoras comprometidas con una capacidad proliferativa limitada y un restringido potencial de diferenciación. Una de las principales funciones de esta población intermedia es incrementar el número de células diferenciadas por cada división

de las células troncales. En tejidos como la epidermis interfolicular, el resultado final es la generación de un amplio número de células maduras del mismo tipo, el queratinocito. En contraste, en tejidos como la sangre, de una sola CTH se pueden originar grandes cantidades de 9 distintos tipos de células maduras (eritrocitos, plaquetas, neutrófilos, basófilos, eosinófilos, monocitos, linfocitos T, linfocitos B, y células NK). La tasa de producción de células maduras a partir de las células troncales varía considerablemente entre los distintos tejidos. En la epidermis y la sangre, donde las células maduras tienen una vida muy corta, se generan millones de células diariamente (en un hombre de 70 kilos se producen 1010 eritrocitos y 4×10^8 leucocitos cada hora). En contraste, la producción de células maduras es muy baja en tejidos con una regeneración o recambio celular limitados como el cerebro o el hígado (una estimación conservadora indica que en ratas y ratones cada día se produce una neurona por cada 2,000 neuronas existentes).

III. TIPOS DE CÉLULAS TRONCALES GENERADAS DURANTE EL DESARROLLO

A lo largo del desarrollo de los mamíferos se generan diversos tipos de células troncales. El huevo fertilizado, o cigoto, es una célula troncal *totipotencial* capaz de producir todos los tipos celulares de un animal, incluyendo a las células que no formarán parte del embrión, como las células de la placenta. Hasta el estadio de mórula (8 células), cada célula es idéntica a las otras; todas son células troncales totipotenciales. Conforme avanza el desarrollo, el embrión alcanza el estadio de blastocisto, en el que cada célula que forma parte de la masa celular interna es capaz de producir todas las células del embrión, pero no las estructuras extraembrionarias. Estas células troncales *embrionarias* (CTE), ampliamente utilizadas en la generación de animales transgénicos, tienen la capacidad de formar cualquier célula del organismo

completamente diferenciada; sin embargo, bajo condiciones de cultivo específicas, pueden ser inducidas a una proliferación ilimitada sin diferenciación.

A partir de las CTE se producen diferentes células somáticas, incluyendo aquellas que dan origen al sistema nervioso central, a los nervios periféricos, la sangre, el hígado, el páncreas, el músculo, etcétera. Sin embargo, durante el desarrollo se produce un tipo diferente de células troncales no somáticas: las células troncales *germinales*, que migran a las gónadas en desarrollo (crestas genitales) y eventualmente dan lugar a los gametos.

IV. ¿CÓMO SE IDENTIFICAN LAS CÉLULAS TRONCALES SOMÁTICAS?

Como se mencionó anteriormente, las células troncales somáticas no poseen características morfológicas que puedan utilizarse para su identificación; por lo tanto, actualmente la forma de reconocer estas células involucra tanto análisis inmunofenotípicos como ensayos funcionales *in vivo* e *in vitro*. La mayoría de las células troncales hematopoyéticas (CTH) humanas expresan los antígenos CD34 y CD90, así como un bajo nivel de *c-kit* (CD117) y no expresan los antígenos CD38, HLA-DR, CD45RA, CD71 o cualquier otro antígeno específico de algún linaje celular (por lo tanto, son células linaje negativas. Es interesante observar que, al contrario del “dogma” establecido hace una década, los reportes recientes indican que una subpoblación de CTH no expresa el antígeno CD34, es decir, son células CD34⁻ CD38⁻ linaje negativas; de hecho, las CTH CD34⁺ pueden generarse a partir de estas últimas. Las CTH de murino expresan un alto nivel de Sca-1, H-2K, y AA4.1, y un bajo nivel de *c-kit* y CD90 y son también células linaje negativas. En cualquier momento, la mayor parte de la población de CTH, tanto de humanos como de murino, están en la fase G₀ del ciclo celular.

Funcionalmente, las CTH se identifican por su capacidad de repoblar *in vivo* todo el sistema hematopoyético de animales mie-

losuprimidos. Estos estudios se realizan transplantando CTH de murino en ratones irradiados; en el caso de las CTH, se pueden realizar estudios similares introduciendo estas células a ratones inmunodeficientes (SCID, por sus siglas en inglés). *In vitro*, las CTH se definen por su capacidad de iniciar y sostener la hematopoyesis a largo plazo en cultivos líquidos en presencia de una capa de células adherentes formada por elementos del estroma.

La identificación de las células troncales del sistema nervioso central (SNC) — aquellas que dan origen a las neuronas, los astrocitos y los oligodendrocitos— depende también del uso de distintos marcadores, aunque dicha caracterización está muy atrasada con respecto a las CTH. Entre los pocos marcadores que se han descrito para las células del SNC, la nestina, proteína del filamento intermedio, es la más utilizada. Otros marcadores, como la GFAP, la vimentina y la A2B5, se han utilizado también para la identificación de células nerviosas primitivas.

La actividad de célula troncal de las células nerviosas primitivas se ha probado tanto *in vivo* como *in vitro*. Las células troncales nerviosas pueden transplantarse en cerebro de ratas adultas, donde son capaces de producir neuronas y glía, entre otras células. Es interesante observar que la capacidad de diferenciación de estas células depende en gran medida del tejido en el que sean transplantadas, lo cual sugiere que el microambiente en el que se desarrollan influye de alguna manera en su diferenciación. Las neuronas generadas *in vivo* después del trasplante de células troncales (CT) tienen actividad eléctrica y conexiones funcionales, exhiben eventos *pos* sinápticos espontáneos e inducidos y responden a la aplicación local de glutamato.

In vitro, las CT del SNC son capaces de crecer en cultivos líquidos como monocapas adherentes o como agregados flotantes conocidos como neuroesferas. Cuando estas últimas estructuras se cultivan en condiciones apropiadas pueden dar lugar a diferentes tipos celulares maduros (por ejemplo, neuronas y glía).

CÉLULAS TRONCALES SOMÁTICAS

7

V. FRECUENCIA Y LOCALIZACIÓN ESPACIAL DE LAS CÉLULAS TRONCALES

En cualquier tejido la frecuencia de CT es muy baja. Esto es particularmente cierto en el sistema hematopoyético de mamíferos. En la vida posnatal, la médula ósea se convierte en el sitio principal de producción de células sanguíneas y la mayoría de las CTH se localizan en este tejido. Aquí, la proporción de CTH es de 1 por cada 2×10^5 células de médula ósea (es decir, conforman el 0.01% -0.005% del total de células de médula ósea. Se estima que en humanos normales hay aproximadamente 50 millones de CTH, algunas de las cuales pueden producir hasta 10^{13} células sanguíneas maduras en un periodo de vida normal. Al contrario de lo que algunos pueden pensar, la localización exacta de las CTH dentro de la médula ósea no es azarosa. La mayoría de estas células se localizan dentro de la región endosteal, mientras que los progenitores comprometidos hacia un linaje determinado y las células maduras se distribuyen lejos de esta región, predominantemente en la región central de la médula ósea, cerca de los vasos sanguíneos.

Las células troncales nerviosas también parecen estar localizadas en áreas específicas del SNC. Varias regiones del cerebro de roedores adultos se han identificado como fuentes ricas de dichas células: la zona subventricular y la zona subgranular del giro dentado del hipocampo. También existe evidencia de que un número significativo de células troncales nerviosas se localiza en la zona subependimal; de hecho, las células obtenidas de esta región son capaces de autorenovarse y diferenciarse en neuronas y glía. Recientemente se aislaron células troncales nerviosas del bulbo olfatorio de humanos adultos y se estableció que aproximadamente 1% del total de células de este tejido son CT capaces de autorenovarse y de producir neuronas, astrocitos y oligodendrocitos.

En la capa epidérmica de la piel, las CT se localizan en la membrana basal. Es interesante observar que la frecuencia de cé-

lulas troncales en este tejido parece ser mayor que la frecuencia de células troncales en médula ósea y cerebro. De hecho, se ha sugerido que aproximadamente 10% de la población de células de la membrana basal son CT.

VI. ¿CÓMO SE REGULA LA FUNCIÓN CELULAR?

La viabilidad, autorenovación, proliferación, compromiso y diferenciación de las CT depende de factores tanto intrínsecos como extrínsecos. Los primeros involucran a una variedad de moléculas reguladoras presentes en la célula de acuerdo con el tejido o linaje al que pertenece; los segundos, incluyen a todos los tipos celulares y sus productos que forman parte del microambiente en el que la célula se desarrolla. En otras palabras, la función de las CT depende en última instancia de factores reguladores intrínsecos que son modulados por señales externas.

1. *Elementos intrínsecos*

Los factores reguladores intrínsecos de la función de las CT incluyen proteínas responsables de inducir divisiones celulares simétricas y asimétricas, factores de transcripción nuclear que controlan la expresión de los genes, reguladores moleculares del ciclo celular; y moléculas que actúan como relojes mitóticos y que establecen el número de ciclos de división posibles dentro de la población de amplificación. Como se mencionó anteriormente el destino de las CT puede estar influenciado por ciertas proteínas citoplasmáticas o membranales heredadas por cada célula hija durante la división mitótica. Las divisiones simétricas y asimétricas de las CT pueden depender de una distribución homogénea o heterogénea de dichas proteínas. La nota 1 parece ser un claro ejemplo.

Existe evidencia abundante de que los factores de transcripción controlan el destino de las CT. Por ejemplo, dentro del siste-

ma hematopoyético, es posible que la expresión coordinada de los genes que determinan un linaje específico esté mediada, por lo menos en parte, por la activación/supresión programada de factores de transcripción específicos para determinados tejidos o estadios celulares, dirigida por el microambiente en el que la célula se encuentra. De hecho, cada linaje hematopoyético parece estar controlado por combinaciones únicas de factores de transcripción, cada uno de los cuales puede ser expresado individualmente en varios linajes. La lista de estas proteínas nucleares es bastante amplia e incluye factores como SCL, PU.1, GATA-1, GATA-2, CBF, NF B y la familia de genes homeóticos, entre otros. Los cambios en algunos de estos factores pueden causar cambios significativos en el balance celular y de linajes dentro del sistema hematopoyético. Se ha establecido claramente que algunos de estos factores son absolutamente necesarios para que se realice la hematopoyesis. Por ejemplo, se ha demostrado que la generación de células hematopoyéticas durante el desarrollo es totalmente dependiente de la presencia de SCL; sin esta molécula no hay producción de células sanguíneas y los animales mueren. Por lo tanto dicho factor de transcripción debe estar presente en las CTH embrionarias y fetales.

También se han reconocido algunos factores de transcripción como clave en la regulación de la función de las CT nerviosas y epiteliales. Entre las distintas proteínas, los miembros de la familia de genes bHLH, particularmente las *neurogeninas*, parecen jugar un papel esencial en la promoción de la neurogénesis durante el desarrollo. Parece ser que también un gen bHLH, el factor de transcripción *Mathl*, está involucrado en la generación de enterocitos, células goblet, células enteroendócrinas y de Paneth a partir de una CT multipotencial en el epitelio del intestino delgado de ratón.

Las etapas del ciclo celular están fuertemente asociadas con la función de las células en cada paso de la hematopoyesis. Para la autorenovación de las CTH es necesario un ciclo celular lento o quiescencia; para la expansión efectiva de la población de células

progenitoras se requiere un ciclo celular rápido y para la expresión de varias funciones de las células totalmente diferenciadas, la suspensión del ciclo celular es apropiada y en algunas ocasiones necesaria. No se conocen completamente los mecanismos de regulación del ciclo celular de las CTH; sin embargo, algunas de las moléculas involucradas en este proceso están siendo identificadas. Para mencionar un ejemplo, recientemente se demostró que la quiescencia se mantiene gracias a un regulador del punto de control G_1 , el inhibidor de la cinasa dependiente de ciclina $p21^{cip1/waf1}$. De hecho, los estudios realizados *in vivo* en ratones demuestran que la ciclina $p21^{cip1/waf1}$ es el interruptor que gobierna la entrada de las células troncales al ciclo celular, y que en su ausencia, la permanencia de las células en el ciclo celular conduce al agotamiento de la reserva de CT.

Existe una fuerte evidencia sobre el papel de la longitud de los telómeros como reloj mitótico en células somáticas. Durante el desarrollo de los tejidos somáticos, los telómeros se acortan progresivamente conforme las células se dividen; una vez que estas estructuras cromosomales alcanzan una longitud crítica, la célula es incapaz de dividirse y envejece.

En los estudios con células del sistema hematopoyético se ha observado esta misma función de los telómeros en las CT, particularmente en relación con la capacidad de proliferación de estas células “maestras”. De hecho, los estudios *in vitro* con CTH humanas purificadas a partir de distintas fuentes demuestran que el potencial proliferativo de células con telómeros largos —como las células derivadas de hígado fetal— es significativamente mayor al de células con telómeros cortos —como las células de la médula ósea de adultos—. A este respecto es importante observar que la telomerasa, complejo enzimático que mantiene los telómeros añadiendo secuencias teloméricas repetidas (TTAGGG) al extremo 3' de los cromosomas humanos, muestra una actividad basal en las CTH que disminuye conforme las células se inducen hacia la proliferación.

La longitud de los telómeros en las CTN humanas es muy similar a la observada en las CTH humanas (esto es, los fragmentos de restricción de los telómeros en ambos tipos celulares miden aproximadamente 12kpb). De modo similar a las CTH, las CTN expresan bajos niveles de telomerasa; y es interesante observar que su actividad disminuye hasta niveles no detectables después de que las células han sido inducidas a proliferar en cultivo. Por lo tanto, parece ser que la biología de los telómeros y la telomerasa en ambos tipos celulares muestra similitudes significativas.

Otras moléculas involucradas en la función de las CT incluyen a ciertos oncogenes y genes supresores de tumores. Entre los últimos, es particularmente importante el papel recientemente reportado del gen supresor de tumores *Pten*, como regulador de la proliferación de las CTN y del tamaño del soma de las neuronas.

2. Elementos extrínsecos

Las CT se desarrollan dentro de microambientes específicos constituidos por distintos tipos celulares y sus productos. En conjunto estos elementos externos proporcionan señales que controlan la conducta de las CT, modulando la expresión y actividad de los elementos intrínsecos presentes en la célula.

En la vida posnatal, la formación de células sanguíneas se realiza principalmente en la médula ósea. Aquí, las CT están rodeadas de distintos tipos celulares, incluyendo células del estroma (fibroblastos, adipocitos, macrófagos y células endoteliales) y células accesorias (como los linfocitos). Estas células producen y secretan una variedad de proteínas, incluyendo la matriz extracelular y citocinas, que afectan la fisiología de las CT. Dicho microambiente hematopoyético es crucial para la regulación de la hematopoyesis y la alteración de algunos de sus componentes puede contribuir al desarrollo de enfermedades hematológicas.

Las citocinas hematopoyéticas son componentes clave del microambiente hematopoyético y hasta la fecha se han identificado

más de 20 reguladores hematopoyéticos incluyendo interleucinas, factores estimuladores de colonias, quimiocinas, entre otros. De hecho, este grupo de proteínas —producidas tanto por células del estroma como por células accesorias— constituyen los signos básicos que regulan la función de las CT. Las citocinas pueden presentarse ante las CT blanco como moléculas solubles o como moléculas unidas a membranas, y ejercen sus efectos a través de receptores específicos en la membrana celular. El hecho de que algunas citocinas se presenten como proteínas unidas a membranas implica que debe existir una interacción directa entre la célula productora de citocinas y la célula que contiene el receptor para dicha citocina. Las actividades principales de las citocinas sobre las CT parecen ser: prevenir la muerte celular y promover la división. Sin embargo, todavía existe controversia acerca de si las citocinas regulan la autorenovación versus la diferenciación, así como el compromiso de las CTH hacia un linaje celular específico.

Algunos estudios *in vitro* sugieren que las citocinas afectan el compromiso del linaje hematopoyético. Sin embargo, la mayor parte de la evidencia experimental generada en las últimas tres décadas apoyan la noción de que la autorenovación y la diferenciación de las CTH, así como el compromiso hacia un linaje específico, se produce a través de mecanismos moleculares que no parecen estar influenciados por las citocinas hematopoyéticas. Por ejemplo, y siguiendo con esta última noción, se ha demostrado recientemente que mientras que la sobreexpresión del factor de transcripción PU.1 induce la diferenciación hacia un linaje mielomonocítico en células eritroleucémicas de murino, la expresión del receptor de eritropoyetina por las células progenitoras pluri-potenciales no induce la diferenciación hacia el linaje eritroide, ni la expresión del receptor para el factor estimulador de colonias de macrófagos induce la diferenciación hacia el linaje monocítico en estas mismas células; estos resultados sugieren que, a diferencia de las citocinas hematopoyéticas, los factores de transcripción son moléculas clave en el compromiso de las CTH. El papel

de las citocinas en la diferenciación hematopoyética será el de factores permisivos que promuevan la sobrevivencia, la proliferación y la maduración de las células progenitoras generadas por las CTH. Por lo tanto, aunque el compromiso y la diferenciación parecen estar reguladas por una compleja red de elementos intrínsecos, a nivel de la población de CT la hematopoyesis se considera un proceso estocástico.

Las CTN también dependen de la presencia de ciertas citocinas para su sobrevivencia y proliferación *in vivo* e *in vitro* como por ejemplo, el factor básico de crecimiento de fibroblastos y el factor de crecimiento epidérmico. Es interesante observar que, en contraste con las CTH, parece no haber duda de que las señales externas generadas por el microambiente juegan un papel instructivo en el destino de las CTN. De hecho, los experimentos *in vivo* en los que se implantaron CTN en cerebro de roedores demuestran que el destino de las células implantadas parece estar dictado por el ambiente local más que por las propiedades intrínsecas de las células. Por tanto, cuando las células se implantaron en el cerebro en desarrollo, las células troncales fetales y las células progenitoras inmortalizadas migraron junto con las células del hospedero y se diferenciaron en el tipo celular específico de la región blanco. Los estudios en los que CT obtenidas del hipocampo de adultos se expanden *in vitro* y se implantan de regreso en el hipocampo demuestran la generación de nuevas neuronas y glía; sin embargo, estas mismas células generaron neuronas del bulbo olfatorio cuando se implantaron en la corriente rostral migratoria.

In vitro, el destino de las CTN parece estar regulado por señales externas. El factor de crecimiento derivado de plaquetas induce a las CT a diferenciarse en neuronas; en contraste, el factor neurotrófico ciliar y la hormona tiroidea T3 actúan instructivamente sobre las CT para generar clones de astrocitos y oligodendrocitos, respectivamente. Estas observaciones difieren claramente de las hechas con CTH derivadas de distintos tejidos hematopoyéticos (hígado fetal, médula, timo, bazo y sangre) expuestas a ambientes de diferenciación mieloide o linfoides utilizando sistemas *ex*

vivo. En estos estudios, las capacidades funcionales de las CTH siempre se relacionaron con el tejido original y las alteraciones en el medio de diferenciación *ex vivo* no condujo a cambios en el resultado.

VII. CAMBIOS EN LA FUNCIÓN DE LAS CÉLULAS TRONCALES RELACIONADOS CON LA ONTOGENIA

¿Cambia la función de las células troncales somáticas durante la ontogenia? La respuesta a esta pregunta parece ser afirmativa, al menos para las CTH. La observación de que las CTH pueden encontrarse en el saco vitelino, el hígado fetal y en varios tejidos hematopoyéticos de mamíferos adultos contribuyó al concepto clásico de que las CT representan un tipo único de células inmortales presentes en números variables en los tejidos en distintos estados de desarrollo. Sin embargo, los estudios recientes tanto *in vivo* como *in vitro*, han demostrado que las CTH muestran cambios funcionales significativos durante la ontogenia, lo que sugiere que estas células no son iguales a lo largo del desarrollo. Cuando las CTH de hígado fetal o médula ósea adulta de ratón se transplantaron en ratones irradiados, se observó que el potencial de repoblación de las primeras excedió al de las últimas. Los estudios *in vitro* con células hematopoyéticas troncales/progenitoras de humano obtenidas de distintas fuentes, también demostraron que las células derivadas de tejidos fetales (es decir, el hígado) poseen potenciales de proliferación y expansión superiores a los de las células derivadas de tejidos adultos (médula ósea). Interesantemente, los potenciales de proliferación y expansión de las CTH provenientes de la sangre de cordón umbilical son superiores a los de las células de médula ósea, pero inferiores a las de las células de hígado fetal. Por lo tanto, se puede concluir que la tasa de recambio y el potencial de proliferación de las CTH disminuyen marcadamente durante el desarrollo de los mamíferos.

Las observaciones anteriores se correlacionen con el hecho de que las CTH derivadas del hígado fetal poseen telómeros más lar-

gos que las CTH derivadas de la sangre de cordón umbilical o de la médula ósea, y que las células de sangre de cordón umbilical, por su parte, poseen telómeros más largos que las células de médula ósea. Con base en éstos y otros estudios sobre la biología de la CTH, Lansdorp ha sugerido que la longitud del telómero actúa como un reloj mitótico en las CTH, determinando la capacidad proliferativa de dichas células. Estos hallazgos son difíciles de reconciliar con el concepto de que la CT es un tipo celular inmortal e invariable. En otras palabras, es posible que no exista una “verdadera” autorenovación de las CT. Sin embargo, considerando el tamaño de la población de CT en el momento del nacimiento, el hecho de que una CTH pueda generar hasta 10^{13} células maduras y la dinámica de la población de CT, la falta de una “verdadera” autorenovación no tendrá impacto sobre la hematopoyésis, ya que el número de CTH que un individuo posee puede ser más que suficiente para mantener la producción de células sanguíneas durante toda su vida.

VIII. PLASTICIDAD DE LAS CÉLULAS TRONCALES

Hasta hace poco tiempo, el concepto general con respecto a la biología de las células troncales somáticas era que su potencial de diferenciación estaba restringido a un sistema orgánico individual; en este sentido, las CTH producirían únicamente células sanguíneas; las CTN darían lugar únicamente a neuronas, astrocitos y oligodendrocitos; las células satélite del músculo a células musculares y así sucesivamente. Sin embargo, durante los últimos 5 años, los estudios *in vivo*, principalmente en ratones, han generado una gran cantidad de evidencia que indica que este concepto pudiera no ser cierto. Aunque éste sigue siendo un tema controversial y la evidencia no es concluyente, parece ser que la plasticidad de diferenciación de las células troncales somáticas es mayor de lo que se había estipulado.

1. *Plasticidad de las células troncales hematopoyéticas*

Hace solamente cuatro años se reportó que las células de médula ósea son capaces de generar células musculares *in vivo*. Esto se demostró en estudios animales en los que se transplantó médula ósea completa en ratones. Utilizando marcadores específicos, se demostró que las células de médula trasplantadas dieron lugar a miocitos en el hospedero. Estudios posteriores con CTH purificadas demostraron que estas células tienen el mismo potencial miogénico que la médula ósea completa. Otra indicación del potencial miogénico de las células derivadas de la médula proviene de estudios en los que las células purificadas de médula ósea de ratones adultos regeneraron vasos sanguíneos y cardiomiocitos al ser inyectadas en ratones con infarto de miocardio.

En otro grupo de experimentos con un modelo de trasplantes similar al anterior, se demostró que las células de médula ósea pueden dar origen también a hepatocitos y otras células hepáticas. Los hepatocitos derivados de médula ósea también pueden desarrollarse en humanos, como se demuestra en estudios con pacientes femeninas que recibieron trasplantes de médula ósea de donadores masculinos. En estudios más recientes con ratones se demostró que la población de CT de médula ósea con el potencial de generar hepatocitos tiene el siguiente inmunofenotipo: Sca-1⁺ CD90^{low} CD117⁺ Lin⁻.

Las células de médula ósea pueden generar también células nerviosas. El trasplante de células de médula ósea de ratón adulto marcadas genéticamente, en ratones adultos irradiados letalmente, produjo el desarrollo en el SNC de células derivadas del donador que expresan proteínas neuronales; esto se observó hasta 6 meses después del trasplante. En un estudio diferente, las células de médula ósea de adulto se transplantaron en una cepa de ratones incapaces de producir células mieloides o linfoides. Cuatro meses después del trasplante, el sistema hematopoyético de los organismos transplantados se repobló en su totalidad, y se de-

tectaron también células derivadas del donador que expresaban antígenos específicos de las neuronas.

Es importante observar que la plasticidad de las CTH se ha demostrado a nivel de una sola célula; de hecho, la inyección intravenosa de una sola CTH produjo una progenie que se diferenció en células epiteliales en hígado, pulmón, riñón e intestino. Esta evidencia apoya fuertemente la existencia de CTH con un potencial de diferenciación no hematopoyético. Todavía se tiene que esclarecer si todas las CTH o sólo una subpoblación de estas células tienen dicho potencial.

2. *Plasticidad de las células troncales nerviosas*

Las CTN también muestran un potencial de diferenciación anteriormente insospechado. En un reporte temprano se demostró la presencia de un gran número de células con las propiedades de las CTH en cerebro adulto. Sin embargo, en el estudio no se demostró que esas células tenían origen nervioso. Esto último fue demostrado recientemente en estudios en los que se cultivaron CTN derivadas de embriones o ratones adultos en neuroesferas y posteriormente, la progenie clonal de una de las CTN iniciales se inyectó por vía intravenosa en ratones irradiados subletalmente. Las células nerviosas transplantadas fueron capaces de poblar la médula ósea y reconstituir la hematopoyesis en estos ratones. Es interesante observar que dichas células también generaron neuronas, astrocitos y oligodendrocitos *in vitro*, argumentando contra la posibilidad de que estas células fueran en realidad células hematopoyéticas errantes que por alguna razón estuvieran residiendo en el cerebro.

En contraste con estos estudios, Moeshead y sus colegas acaban de presentar evidencia que indica que la generación de células sanguíneas a partir de CTN no es un fenómeno común. En su estudio, se transplantaron 128 células de neuroesferas de murino en animales hospederos, y aunque estas células fueron capaces de

generar progenie de tipo nervioso *in vivo*, los autores nunca observaron una contribución a la hematopoyesis; indicando que la capacidad hematopoyética es una propiedad rara, si acaso existente, de las CTN.

Recientemente se demostró también el potencial miogénico de las CTN. Células troncales nerviosas, derivadas de ratones o humanos, fueron cultivadas junto con mioblastos o inyectadas en el músculo esquelético de ratones adultos. El resultado fue la diferenciación de estas células en miocitos a través de un proceso que requirió el contacto directo de las CTN con las células musculares (115). Interesantemente, la diferenciación en miocitos también puede presentarse espontáneamente en cultivos de baja densidad de CTN.

En otro estudio reciente, se inyectaron CTN de adulto en embriones tempranos de pollo o ratones. En ambos modelos animales se encontró progenie de las CTN en distintos tejidos del hospedero. Es notable que estas células se diferenciaron en distintos tipos de células embrionarias, incluyendo hepatocitos, cardiomiocitos, células epidérmicas, que representan a las tres capas embrionarias (es decir, ectodermo, mesodermo y endodermo). En el mismo estudio, esta observación se confirmó a nivel de una sola célula.

3. *Plasticidad de las células troncales musculares*

Algunos estudios reportados recientemente indican que las células progenitoras primitivas derivadas de músculo son capaces de generar células sanguíneas *in vivo*. Estas células fueron aisladas de músculo con base en el flujo de la tinción Hoescht 33342; su perfil de marcadores de superficie, determinado por análisis inmunofenotípico, es distinto al de las CTH, lo que indica que no se trata de éstas últimas. Inicialmente se pensó que estas células musculares con potencial hematopoyético eran células satélite musculares; sin embargo, los datos recientes sugie-

CÉLULAS TRONCALES SOMÁTICAS

19

ren que una célula más primitiva, con potencial miogénico y hematopoyético pudiera ser la fuente de estas células en músculo.

Sin embargo, es importante observar que otros reportes indican que las células con potencial hematopoyético localizadas en músculo son realmente células hematopoyéticas derivadas de la médula ósea (que expresan los antígenos CD45 y Sca-1) que por razones desconocidas residen en el músculo. Este asunto tiene que ser investigado con mayor detalle, ya que la evidencia presentada hasta ahora es confusa y controversial.

IX. TERAPIA CELULAR

La terapia celular se ha definido como la transferencia de células vivas a un individuo hospedero intacto con la intención de introducirle nuevas funciones o de corregir funciones defectuosas. El atractivo y la promesa de la terapia celular se derivan del hecho de que las células blanco pueden ser manipuladas *ex vivo*, tanto a nivel celular como molecular.

Sin lugar a dudas, los trasplantes de células hematopoyéticas constituyen el mejor ejemplo actual de terapia celular basada en CT que está siendo aplicada a la clínica. Por este procedimiento, las CTH alogénicas o autólogas (normalmente transplantadas en combinación con células progenitoras y maduras) reconstituyen la hematopoyesis de individuos cuyo sistema hematopoyético ha sido afectado por un trastorno hepatopoyético (por ejemplo, leucemia o anemia aplásica) o por radioterapia y/o quimioterapia, como parte del tratamiento de un tumor sólido. Tradicionalmente, las células hematopoyéticas transplantadas se obtienen de médula ósea; sin embargo, durante los últimos 10 años se han utilizado con mayor frecuencia CTH de sangre periférica movilizada y más recientemente de sangre de cordón umbilical.

El trasplante de células hematopoyéticas se ha convertido en un método de terapia estándar; sin embargo, el trasplante de CTH manipuladas *ex vivo* se encuentra todavía en una fase ini-

cial. Como se mencionó previamente en esta revisión, se han diseñado diversos enfoques experimentales para la expansión *ex vivo* de CTH y su progenie inmediata (progenitores hematopoyéticos), con poblaciones celulares de células purificadas o de células primitivas enriquecidas, con el objetivo final de generar nuevas CTH, células progenitoras o células maduras. Por otro lado, también se han desarrollado estrategias para la manipulación genética de estas células. La evidencia experimental en modelos animales, y los estudios de laboratorio con células animales, indican que los trasplantes de CTH manipuladas *ex vivo* serán de gran relevancia en el futuro inmediato. Existen dos reportes sobre el tratamiento de niños con inmunodeficiencia severa combinada (SCID, por sus siglas en inglés), por medio del trasplante de CTH genéticamente modificadas.

En el primer estudio, se identificaron tres mujeres heterocigotas para la deficiencia de adenosin desaminasa (ADA) cuyos fetos eran ADA deficientes. Después del nacimiento a término de sus hijos, se colectaron células de sangre de cordón umbilical (SCU), y se obtuvieron las células CD34⁺ por métodos estándar. Las células CD34⁺ fueron transducidas por medio del vector retroviral LASN, que contenía el gen TK-neo —que confiere la resistencia al fármaco G418, usado como marcador— y un ADNc de ADA humana normal. Al cuarto día después del nacimiento, las células CD34⁺ *transducidas* fueron reintroducidas a sus respectivos donadores por infusión i.v. Después de 18 meses de realizado el trasplante, se observó la presencia del vector LASN en granulocitos y células mononucleares de la médula ósea de los tres pacientes en una proporción aproximada de 1/10,000 células. Una frecuencia similar se observó en los leucocitos de sangre periférica. Se encontró también que una pequeña pero significativa proporción de progenitores mieloides era resistente a G418. De acuerdo con este reporte, no se han presentado efectos adversos a causa de la administración de células de SCU después de 18 meses del trasplante. La administración continua de terapia de reemplazo de la enzima ADA permitió a los pacien-

tes el desarrollo de una función inmune normal y permanecer libres de infecciones.

En el segundo y más reciente estudio, se utilizaron células CD34⁺ de médula ósea genéticamente modificadas para tratar a dos pacientes (11 y 8 meses de edad, respectivamente) con el trastorno hereditario SCID-X1, y ligado a X caracterizado por un bloqueo temprano en la diferenciación de las células T y N, causado por mutaciones en el gen del receptor de la citocina γ_c , subunidad de los receptores de las interleucinas γ_2 , γ_4 , γ_7 , γ_9 , y γ_{15} . Las células CD34⁺ con el transgen γ_c , obtenidas de estos pacientes, fueron reintroducidas en ambos. Después de un periodo de seguimiento de 10 meses, en los recuentos de células T, B y NK en ambos pacientes se detectaron células *transducidas* y su función fue comparable a las células control obtenidas de pacientes de la misma edad. Este reporte representa la primera prueba real de que la terapia génica, junto con un procedimiento de terapia celular, puede producir la corrección total de un fenotipo enfermo y proporcionar un beneficio clínico.

El trasplante *in útero* de CTH también ha surgido como una modalidad potencialmente valiosa dentro del campo de la terapia celular. Como se ha demostrado en estudios recientes, este enfoque se ha aplicado con éxito para el tratamiento de SCID; sin embargo, en otros trastornos el injerto ha sido mínimo o nulo, lo que sugiere la presencia de barreras importantes al injerto dentro del ambiente fetal. Se espera que en el futuro cercano, se determinen los mecanismos involucrados en dichas barreras y que el trasplante de CTH *in útero* se transforme en una modalidad posible de terapia celular.

A partir de los estudios analizados anteriormente y considerando una serie de estudios reportados en la última década, que no fueron discutidos en esta revisión, es evidente que la terapia celular con CTH será perfectamente posible en el futuro inmediato. También es evidente que la terapia celular irá más allá del uso de CTH para el tratamiento de los trastornos hematológicos. De

hecho, la generación *ex vivo* de neuronas, hepatocitos o músculo cardiaco a partir de sus respectivas CT tendrá implicaciones significativas en el tratamiento de distintos trastornos. Es más, muchos de los estudios discutidos anteriormente en este artículo en los que se demuestra la plasticidad de las células troncales somáticas (CTS), proporcionan evidencia de que estas CT, bajo una correcta manipulación *ex vivo* y procedimientos preclínicos y clínicos apropiados, podrán ser de una utilidad extraordinaria en la clínica. Por ejemplo, la generación de neuronas o células musculares a partir de CTH, y viceversa, podrá convertirse en un procedimiento de gran relevancia para el tratamiento de enfermedades neurológicas, autoinmunes y metabólicas, como lo indican los estudios en modelos animales.

X. CONCLUSIONES

Durante los últimos años, la biología de las CTS se ha convertido en un área de gran importancia; por un lado, ha contribuido al estudio de mecanismos básicos involucrados en la proliferación y la diferenciación celular; por otro lado, ha probado ser esencial para el desarrollo de la terapia celular, campo emergente de la biomedicina de relevancia para el tratamiento de varios trastornos. En este contexto, el estudio de las células troncales embrionarias (CTE) es igualmente importante, ya que se ha probado que estas células poseen un potencial de proliferación y diferenciación extraordinario, tanto *in vivo* como *in vitro*. Sin embargo, la gran preocupación que surge cuando se trabaja con CTE en estudios orientados a la clínica, es el aspecto ético asociado con el uso y mal uso de embriones. A este respecto, la investigación con CTS tiene una ventaja significativa sobre la investigación con CTE.

Es evidente que la plasticidad demostrada por distintos tipos de CTS tanto *in vitro* como *in vivo*, tendrá una gran relevancia clínica en los años venideros. Por ejemplo, un banco de CTH, nerviosas o musculares, expandidas a partir de una reserva de do-

nadores tipificados para el antígeno HLA podrá proporcionar CT transplantables para una gran variedad de enfermedades. Aunque es difícil decir cuando se llevarán a cabo los primeros estudios clínicos con CTS, una cosa es segura: primero tenemos que aprender a manipularlas con seguridad, lo cual representa una tarea formidable y nada fácil.

La biología de las CT no sólo es un campo fascinante en sí mismo, sino que la investigación en esta área de la biomedicina debería representar una prioridad en la medicina moderna. Actualmente, millones de personas en el mundo son afectadas por alguna enfermedad que pudiera ser curada por medio de la terapia celular. Sólo en los Estados Unidos, casi 60 millones de personas están afectadas por enfermedades cardiovasculares; 30 millones sufren algún trastorno autoinmune; 16 millones están afectadas por la diabetes; más de 8 millones tiene algún tipo de cáncer y más de 5 millones de personas sufren algún trastorno neurológico como son las enfermedades de Alzheimer o Parkinson. En algunos países en desarrollo estas enfermedades son también problemas de salud importantes. En México, por ejemplo, actualmente las enfermedades cardiovasculares, el cáncer y la diabetes ocupan el primero, segundo y cuarto lugares, entre las causas de muerte en la población en general (de acuerdo con el Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática; INEGI, México). Por lo tanto, el impacto que la investigación en CT tendrá en la medicina en los años por venir es más importante de lo que imaginamos.

XI. LECTURAS RECOMENDADAS

ALBERTS B. *et al.*, *Molecular Biology of the Cell*, 3a. ed., Nueva York, Garland Publishing Inc., 1994.

DRAPER JS, Fox V. *Human Embryonic Stem Cells: Multilineage Differentiation and Mechanisms of Self-Renewal*, Arch Med Res, 2003.

- HORWITZ, E. M., *Stem Cell Plasticity: The Growing Potential of Cellular Therapy*, Arch Med Res, 2003.
- MAYANI, H., *A Glance into Somatic Stem Cell Biology: Basic Principles, New Concepts and Clinical Relevance*, Arch Med Res, 2003.
- y LANSDORP, P. M., *Biology of Human Umbilical cord Blood-Derived Hematopoietic Stem/Progenitor Cells*, Stem Cells, 1998.
- MCKAY, R., *Stem Cells-Hype and Hope*, Nature, 2000.
- ODORICO, J. S. *et al.*, *Multilineage Differentiation from Human Embryonic Stem Cell Lines*, Stem Cells, 2001.
- SZILVASSY S. J., *The Biology of Hematopoietic Stem Cells*, Arch Med Res, 2003.