

ANALES
DE LA
REAL ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA

AÑO 2004 - TOMO CXXI
CUADERNO CUARTO
SESIONES CIENTÍFICAS
SOLEMNE SESIÓN



Edita: REAL ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA

Depósito Legal: M. 5.020.—1958
I.S.S.N. 0034-0634

Fotocomposición e impresión: Taravilla. Mesón de Paños, 6 - 28013 Madrid

XV SESIÓN CIENTÍFICA

DÍA 5 DE OCTUBRE DE 2004

PRESIDIDA POR EL EXCMO. SR.
D. HIPÓLITO DURÁN SACRISTÁN

**IMPLICACIONES TERAPÉUTICAS
DE LA DIFERENCIACIÓN DE CÉLULAS MADRE
HUMANAS PRESENTES EN TEJIDOS ADULTOS,
HASTA OTROS TIPOS CELULARES**

***THERAPEUTIC IMPLICATIONS
OF THE DIFFERENTIATION OF ADULT STEM
CELLS INTO OTHER CELL TYPES***

Por el Excmo. Sr. D. ENRIQUE BLÁZQUEZ FERNÁNDEZ

Académico de Número

Resumen

Durante los últimos años se ha generado un gran interés sobre las células madre dado su potencial uso terapéutico. Estas son células no especializadas, con capacidad de autorreplicación y de diferenciación en otros tipos celulares, siendo las de origen embrionario totipotentes y de uso restrictivo por razones éticas, mientras que las presentes en algunos tejidos adultos son multipotentes y de aplicación clínica. Entre estas últimas las mejor estudiadas son las de la médula ósea, que pueden ser hematopoyéticas productoras de diferentes tipos de células sanguíneas y células mesenquimales que pueden diferenciarse a hepatocitos, condrocitos, osteocitos, adipocitos, cardiocitos y células nerviosas. Aunque estos hechos son esperanzadores quedan muchos estudios que realizar hasta la obtención de terapias con células madre, y su verificación en modelos animales. Se cree que en este

siglo además de las terapias tradicionales habrá que contar con la terapia celular con células madre, para cuyo desarrollo serán muy importantes los parámetros científicos, clínicos y éticos.

Abstract

During last years stem cells have generated a great interest because its potential therapeutic use. These are unspecialised cells, with ability to self-renewal and to differentiate into other cell types, being embryo cells totipotent and of restrictive use for ethical reasons, while adult stem cells are multipotent and of potential clinical use. Between the latter the best studied are the cells of the bone marrow: hematopoietic producing blood cell lines and mesenchymal that may be transformed into hepatocytes, chondrocytes, osteocytes, adipocytes, cardiocytes and neural cells. Although these facts are promising many studies must be done until to get stem cells therapies, as well as verify these treatments in animal models. It is believed that in this century besides traditional therapies we will have to take into account cell therapies with stem cells, in whose development will be very important the scientific, clinical and ethical parameters.

INTRODUCCIÓN

El reconocimiento del papel de las células madre o troncales sobre la regeneración de algunos órganos o tejidos viene de muy antiguo, aunque su aislamiento y utilización «*in vivo*» e «*in vitro*» en los últimos años ha generado grandes expectativas terapéuticas que aún no han sido consolidadas (1, 2).

Las células madre son consideradas como no especializadas, situadas en un estadio temprano de desarrollo, que bajo determinadas condiciones se pueden dividir y diferenciar en distintos tipos celulares presentes en otros tejidos y órganos. Además pueden autoreplicarse dando lugar a otras dos células madre. Estas células pueden ser totipotentes como las células embrionarias capaces de diferenciarse en todos los tipos celulares necesarios para el completo funcionamiento de un organismo, o pueden ser pluripotentes como las líneas celulares embrionarias con potencialidad para generar la mayoría de los tipos celulares pero sin capacidad para producir la existencia de un organismo, mientras que las células multipotentes se pueden diferenciar en un número limitado de tipos celulares. Estas últimas células madre están presentes en algunos tejidos adultos pero su potencial de desarrollo es inferior al de las células madre embrionarias.

A su vez, existen diversas fuentes de células madre, procedentes de embriones a una edad temprana, presentes en algunos tejidos fetales o en la sangre del cordón umbilical, situadas en algunos tejidos adultos, e incluso células adultas que han sido reprogramadas hasta conseguir células troncales. Las posibilidades terapéuticas de estas células es extraordinaria. De hecho, órganos dañados por enfermedades o trauma necesitados de nuevas células podrían ser obtenidas tras la diferenciación de células madre, para restaurar las funciones perdidas y activar la reparación de los daños producidos. El tratamiento de quemaduras extensas y fracturas complejas se podrían beneficiar de estas células, así como los diabéticos con células pancreáticas ², los enfermos de Parkinson, Alzheimer, esclerosis múltiple, osteoartritis, distrofias musculares e infarto de miocardio entre otras muchas.

CÉLULAS MADRE EMBRIONARIAS

Estas son células que conservan la potencialidad de diferenciarse en una amplia variedad de tejidos, habiéndose conseguido su crecimiento en el laboratorio, fundamentalmente a partir de embriones correspondientes a diferentes especies de animales. No obstante, los estudios con estas células se encuentran en sus inicios, desconociéndose su auténtico potencial para generar nuevas células, los riesgos para producir células tumorales o su envejecimiento precoz, y los auténticos inductores para la diferenciación en otros tejidos celulares. Se pueden obtener *in vitro*, de cinco a seis días después de la fertilización a partir de la porción interna del blastocisto (150 a 200 células madre). Después de que se alcanza este estado disminuyen las posibilidades de obtener células madre porque paulatinamente desaparecen al diferenciarse en todos los tipos celulares.

Hasta no hace mucho tiempo los embriones eran creados a partir de un óvulo y un espermatozoide, pero con la técnica del reemplazamiento nuclear utilizada para crear la oveja Dolly, los embriones pueden ser formados sin el concurso del espermatozoide. El reemplazamiento nuclear consiste en la introducción del núcleo de una célula somática en un óvulo enucleado. Este proceso es conocido como clonación, y se ha realizado con éxito en distintos mamíferos.

CÉLULAS MADRE FETALES O REPROGRAMADAS A PARTIR DE CÉLULAS ADULTAS

Células madre muy parecidas a las células madre embrionarias han sido obtenidas de los tejidos reproductores fetales. Estas células son consideradas como pluripotentes, dada su gran capacidad para diferenciarse en un gran número de tipos celulares. Se han obtenido de tejidos fetales después de abortos y cultivadas *in vitro*, aunque esto sólo se ha podido realizar por un tiempo máximo de 21 días.

Un viejo objetivo ha sido siempre reprogramar células adultas hasta convertirlas en células indiferenciadas, capaces de ser transformadas en otros tipos celulares. Sin embargo, nos encontramos alejados del conocimiento técnico necesario para conseguir dicha retrodiferenciación o para mantener los nuevos tipos celulares que fueran diferenciados. De esta forma podrían obtenerse células con unas características inmunológicas iguales a las otras células del organismo, y por tanto, sin posibilidad de ser rechazadas. Asimismo, se dispondría de una fuente casi inagotable de células madre, para las cuales no habría impedimentos legales. A pesar del gran interés que despiertan estas expectativas, en la actualidad no se disponen de los medios técnicos para obtener dichas células.

CÉLULAS MADRE PRESENTES EN TEJIDOS ADULTOS

Durante muchos años se ha aceptado que las células madre localizadas en los tejidos de mamíferos adultos tenían una capacidad diferenciadora limitada, lo cual habría sido aprovechado para uso clínico. En esta dirección las células madre hematopoyéticas han restablecido este sistema después de la ablación de la médula ósea, así como células madre han sido utilizadas para regenerar piel y córnea. No obstante, las observaciones recientes sobre la presencia en algunos tejidos adultos de células con características pluripotentes han levantado grandes expectativas (3), dadas las numerosas aplicaciones clínicas que poseen.

Al igual que las células madre embrionarias, aquellas presentes en tejidos adultos comparten características comunes, como la perpetuación mediante autorreplicación y la diferenciación en células maduras con fenotipos morfológicos y funcionales correspondientes

a tipos celulares bien definidos. Normalmente las células madre generan un tipo o tipos celulares intermedios antes de alcanzar el estado diferenciado final. Una de las principales funciones de las células madre adultas es mantener el número adecuado de células mediante la restitución de las células muertas por lesión o enfermedad, pero también existen células madre con capacidad de diferenciarse en tipos celulares distintos a los del tejido donde están localizadas. Por ejemplo, las células madre hematopoyéticas son generadas de una forma constante en la médula ósea para hacer frente a las necesidades de los diferentes tipos celulares sanguíneos, y también poseen células madre que pueden generar células nerviosas, hepatocitos y miocitos entre otras. En el epitelio intestinal las células madre están situadas en las bases de las criptas, físicamente separadas de las células que ellas producen localizadas en la luz intestinal, indicando que necesitan una localización y medio interno apropiados para el desarrollo de sus actividades.

Las células madre mejor estudiadas son las presentes en la médula ósea, pero otras han sido recientemente definidas, tales como las células madre nerviosas, mesenquimales y epidermales, que cumplen todos los criterios básicos ya citados. Otras células madre, como las corneales, endoteliales y angioblastos también cumplen todos los criterios pero sólo se pueden diferenciar en un tipo celular.

Se ha propuesto que las células madre de tejidos adultos podrían contribuir a la reparación tisular, mediante diferentes mecanismos conocidos como transdiferenciación, transdeterminación, fusión celular, producción de factores tróficos, desdiferenciación o por una verdadera acción multipotente característica de las células madre. Como *transdiferenciación* se entiende la transformación de una célula madura en el fenotipo y función de otra célula totalmente diferenciada. Este mecanismo se manifiesta en el desarrollo del esófago, cuando las fibras musculares lisas se transforman en fibras de músculo esquelético. La *transdeterminación* es el cambio de dirección de células diferenciadas de células madre hacia otros linajes celulares. Esto ocurre durante el desarrollo de la *Drosophila melanogaster*. Gran parte de nuestro conocimiento sobre la fusión celular procede de los estudios con células heterocarióticas fusionadas *in vitro*. De esta manera genes silentes pueden ser activados, como por ejemplo la síntesis de proteínas musculares humanas que ocurre en fibroblastos humanos fundidos con células musculares de ratón. La formación de células heterocariotas indica que el fenoti-

po de las células diferenciadas puede ser modificado sin replicación del ADN ni división celular. Nos referimos a la *desdiferenciación* celular cuando las células maduras pueden retrodiferenciarse hacia un modelo jerárquico de restricción de linaje. De esta forma, algunos anfibios después de una lesión traumática pueden regenerar las extremidades, cola e incluso el cerebro por desdiferenciación de las células presentes en el área lesionada. Las células madre también pueden facilitar factores tróficos que contribuyen a la recuperación funcional aparte de los correspondientes a los del reemplazamiento celular. La producción de estos factores podría promover la supervivencia, resistencia a la enfermedad, migración y diferenciación de precursores humanos. De hecho, las células de la médula ósea producen una amplia variedad de citoquinas y producen efectos paracrinos. Asimismo, las células madre pueden permanecer más allá del período embrionario, y si se les proporcionan las señales apropiadas pueden diferenciarse en células de múltiples linajes. Las células madre presentes en tejidos adultos pueden contribuir a la reparación de tejidos lesionados, cuando desde ellos se liberan sustancias que estimulan su llegada y diferenciación. Investigaciones centradas en el estudio de estos mecanismos serían de gran interés para el tratamiento de muchas enfermedades.

Todos estos mecanismos podrían ser incluidos dentro de un capítulo amplio dedicado a la plasticidad celular (4). Sin embargo, esta denominación se aplica ampliamente para designar a las células madres de tejidos adultos que pueden diferenciarse en tipos celulares correspondientes a otros tejidos. Aunque actualmente en la literatura científica no existe un nombre formalmente aceptado para este proceso, se le suele reconocer como plasticidad celular o *transdiferenciación*.

Al menos, cuatro diferentes explicaciones se han propuesto para una mejor comprensión de la plasticidad celular. En primer lugar células madre para un determinado tejido pueden existir en otro tejido no relacionado, como ha sido probado para células hematopoyéticas en músculo y para células ovoides en la médula ósea. De esta forma, el cambio de linaje celular no es causado por una sola célula madre, sino por la presencia de múltiples células madre que pueden dar la impresión de plasticidad celular. Una segunda percepción de plasticidad podría ser causada por las células trasplantadas que se fusionan con células huésped de un linaje diferente, en la siguiente transferencia de información genética.

La polémica suscitada por la sugerencia de que el proceso de fusión celular no está implicado en la diferenciación de las células madre ha sido clarificado elegantemente por Y.-Y. Jang y colaboradores (5). Utilizando sistemas de cocultivos celulares han demostrado que las células madre contribuyen a la regeneración del hígado lesionado por tetracloruro de carbono o hepatectomía parcial, mediante la diferenciación hasta hepatocitos funcionales sin ningún tipo de fusión.

Desde la clonación de la oveja Dolly se han generado muchas evidencias indicativas de que una célula adulta puede ser reprogramada para adquirir pluripotencia cuando el núcleo es introducido en el citoplasma de un óvulo. La desdiferenciación y rediferenciación celulares pueden explicar la regeneración espontánea de las extremidades de anfibios y peces. Por tanto, esta plasticidad celular podría ocurrir a través de la desdiferenciación y rediferenciación o por una reprogramación nuclear. También, células pluripotentes podrían persistir después del desarrollo embrionario. Mediante varios estudios sabemos que las células madres embrionarias se caracterizan a nivel molecular por la presencia del factor de transcripción oct-4, el cual también está presente en las células adultas. También sabemos que la oct-4 es necesaria para mantener el fenotipo indiferenciado de las células madre embrionarias y es responsable de los estadios tempranos de la embriogénesis y diferenciación celular. Otra característica de las células embrionarias es la presencia de la telomerasa, lo que les permite un número ilimitado de divisiones celulares. Todas estas observaciones tienen importancia científica, pero también sugieren las aplicaciones de la plasticidad celular a la Medicina Clínica.

Plasticidad de las células madre hematopoyéticas de la médula ósea

La mayoría de los estudios con las células madre presentes en tejidos adultos se han realizado con las procedentes de la médula ósea, quienes se diferencian no sólo a células hematopoyéticas, sino también a células con características de células musculares, miocárdicas, endotelio, neuroectodermo, piel, hepatocitos, epitelio gastrointestinal y pulmón. En la mayoría de los estudios, las células de la médula ósea fueron administradas *in vivo*, habiéndose sido iden-

tificadas con posterioridad por la presencia de marcadores genéticos como la proteína verde fluorescente, la β -galactosidasa ó por el reconocimiento del cromosoma Y.

Se considera que las células madre se han diferenciado apropiadamente cuando después de su administración han adquirido las características morfológicas, fenotípicas y funcionales correspondientes al nuevo tipo celular. Por tanto, no es suficiente que aparezca sólo un parámetro como pueden ser la expresión de distrofina o de albúmina. Sin embargo, contamos con experiencias muy positivas como la obtenida con la administración de células madre que diferenciadas a hepatocitos en ratones con el modelo de la tirosinemia hereditaria (letal por deficiencia de la enzima fumaril acetoacetato hidrolasa), fueron recuperados. Otros autores han demostrado que en ratones y en humanos con isquemia miocárdica la administración de células madre de la médula ósea ha dado lugar a la aparición en el área infartada de cardiomioblastos con una significativa mejoría de la función cardiaca. Asimismo, en las lesiones de retina inducidas por radiación en animales de experimentación, la administración de células madres de la médula ósea indujo la aparición de células endoteliales con actividad funcional en capilares neoformados.

Plasticidad de las células mesenquimales de la médula ósea

Aparte de las células madres hematopoyéticas, la médula ósea posee células madres mesenquimales, con capacidad diferenciadora (6) tanto *in vitro* como *in vivo*. Estas células pueden ser cultivadas *ex vivo* y diferenciadas en células de origen mesodérmico, como condroblastos, osteoblastos, mioblastos de músculo esquelético, fibroblastos y adipocitos. Cuando se introducen *in vivo* se diferencian en los mismos tipos celulares. Además, se ha descrito recientemente que también pueden adquirir características de células endoteliales, endodérmicas y neuroectodérmicas. Durante estos procesos, las células muestran plasticidad pero también capacidad de autoreplicarse.

Aunque varios autores han descrito que las células madre mesenquimales pueden diferenciarse en otras células con características morfológicas y fenotípicas de neuronas o glia, hasta el momento no han mostrado que posean actividades electrofisiológicas propias de las neuronas.

Plasticidad de las células del músculo esquelético y otros tejidos

Además de la médula ósea otros tejidos muestran plasticidad celular, como por ejemplo el músculo esquelético. Se ha descrito que desde este tejido se pueden generar células hematopoyéticas con características fenotípicas y funcionales positivas. Sin embargo, otros autores han sugerido que estas células procederían de células madre hematopoyéticas presentes en el músculo esquelético.

Asimismo, a partir de la dermis de ratón y humanos se pueden diferenciar *in vitro* células con el fenotipo de neuronas y células de glia, músculo liso y adipocitos. No obstante, estas células no fueron caracterizadas funcionalmente, ni *in vivo* se realizaron estudios de repoblación celular.

Por otra parte, con el uso de líneas celulares de páncreas humano o tejido pancreático fetal se han obtenido células con características de hepatocitos, mientras que el cultivo por largos períodos de tiempo de células ovales, progenitoras de hepatocitos y epitelio biliar, pueden también inducir la expresión de insulina. Estas células cuando son transplantadas *in vivo*, pueden revertir la intolerancia a la glucosa de ratones diabéticos por estreptozotocina.

Plasticidad de las células nerviosas

El dogma que establecía que el tejido cerebral no puede regenerarse permaneció intacto hasta mediados de los 90 del pasado siglo, cuando algunos científicos observaron que en algunas áreas del cerebro humano adulto, como el hipocampo o el bulbo olfatorio, existían células madre que bajo determinadas circunstancias podían diferenciarse en neuronas o células de glia (7, 8). Asimismo, se encontró que las nuevas células nerviosas procedían de células madre, lo cual abría un nuevo horizonte para la regeneración del sistema nervioso central adulto con enfermedades degenerativas tan graves como la enfermedad de Parkinson, la esclerosis lateral amiotrófica, así como en cuadros producidos por accidentes vasculares del cerebro o por traumas. Ante estos hechos se han desarrollado dos tipos de estrategias para tratar a los futuros pacientes, mediante la diferenciación de las células madre en neuronas en el laboratorio para su posterior implantación, o administrar las células madre di-

rectamente en la región afectada. Otra estrategia podría estar relacionada con la administración de factores como hormona de crecimiento, factores tróficos y otras moléculas de señalización que ayuden a las células a sobrevivir y crecer a la vez que estimulan las células madre presentes en el paciente.

UTILIZACIÓN DE CÉLULAS MADRE CON FINES TERAPEUTICOS

La potencialidad de las células madre para el tratamiento de diferentes entidades nosológicas ha generado grandes expectativas de aplicación terapéutica inmediata, cuando aún se necesitan desarrollar muchos estudios al respecto. En cierta medida estos hechos recuerdan lo ocurrido a finales de los 1980 con la terapia génica, con el uso de vectores retrovirales primitivos carentes de suficiente verificación en modelos animales o ensayos clínicos. Esto ha hecho que hasta recientemente no se hayan obtenido resultados con eficacia clínica probada, lo cual debe alertar a los especialistas en medicina regenerativa para proceder con rigor y cautela, evitando proyectos que no puedan ser cumplidos. Actualmente, muchas son las preguntas que se pueden plantear acerca del uso de las células madre en la clínica humana, tales como ¿cuáles son las células madre óptimas para usar con fines terapéuticos?, ¿es la plasticidad celular una propiedad de las células adultas que proporcionan oportunidades terapéuticas?, ¿qué tipo de enfermedades son las mejores candidatas para estos tratamientos y cuál es la vía apropiada para realizar una terapia efectiva con células madre?

Tejidos como la médula ósea o el gastrointestinal, con una gran capacidad proliferativa representan un buen modelo para las terapias fundamentadas con células madre. En el nicho donde se localizan, las citoquinas, factores y estímulos de la diferenciación son fundamentales para la transformación de las células madre. De ahí los éxitos que se pueden obtener con los trasplantes de médula ósea. También la manera en la que la enfermedad incapacita las funciones de las células madre puede ser un buen indicador de la efectividad del tratamiento con ellas. En parte, esto explica los buenos resultados obtenidos tras el trasplante de médula ósea en pacientes con fracaso de la médula ósea como el síndrome de Fanconi y la anemia de Diamond-Blackfan y de varias inmunodeficiencias de origen genético. Sin embargo, en los casos donde las células madre

están afectadas por factores como los desencadenados por un ataque autoinmune, el reemplazamiento con células madre se debe acompañar con un tratamiento neutralizador del insulto inicial. Estos son los casos de los trasplantes de médula ósea para el tratamiento de la médula aplásica de etiología autoinmune o de la diabetes tipo 1. Otras lesiones que destruyen el nicho celular hacen imposible reestablecer la regeneración después de un trasplante de células madre, como en la fibrosis de la médula ósea, en la metaplasia mieloidea, varios desórdenes mieloproliferativos y cirrosis hepática entre otros. Tejidos como cerebro, pulmón, corazón y riñón tienen escasa capacidad proliferativa, y ante una injuria poseen escasa actividad reparadora, por lo que son candidatos para la terapia con células madre no presentes en sus tejidos. Sin duda, estos tejidos constituyen un desafío importante para la aplicación de terapias celulares. Podemos afirmar que nuestros conocimientos acerca de los mecanismos implicados en la diferenciación de las células madre están en su infancia, puesto que mucho tenemos aún que aprender sobre los programas de diferenciación específica mediante la manipulación del microentorno celular, contenido y presencia de citoquinas y sobre la activación y expresión de baterías de genes. Por tanto, nos queda un largo camino que recorrer de forma lenta, con precaución para alcanzar con éxito las terapias fundamentadas en las células madre. Otro requisito importante es la verificación de las diferentes terapias celulares en modelos animales antes de su aplicación en humanos. Aunque la utilización de animales para estos propósitos tienen clara limitaciones, ellos siguen siendo la mejor opción.

También las células madre pueden ser de utilidad en la terapia génica, mediante la introducción por ingeniería genética de un gen exógeno cuyo déficit produce determinada enfermedad. Esto ofrece ventajas sobre la terapia génica convencional, cuyo vehículo es un vector con los problemas de estabilidad y perdurabilidad que ello conlleva.

La utilización de células embrionarias en terapia celular está limitada por consideraciones éticas y por problemas potenciales de regulación celular que pudiera dar lugar a tumores o envejecimiento celular temprano. Sin embargo, parte de estas controversias desaparecen cuando las células madre derivan de tejidos adultos, con una capacidad de diferenciación más amplia de lo que se pensaba, aunque con menor potencialidad que las células embrionarias. Así, las

células madre mesenquimales obtenidas a partir de la médula ósea del mismo individuo constituyen una buena herramienta para la reparación de tejidos de origen mesodérmico, ya que son inmunocompatibles, de fácil obtención en el mismo paciente y se pueden conseguir en cantidades significativas mediante expansión en cultivo. Ellas se pueden diferenciar en osteocitos, condrocitos y adipocitos, así como pueden expresar fenotipos de células nerviosas, endoteliales, de músculo liso y esquelético y cardiocitos. Cuando a pacientes con infarto de miocardio se han inyectado estas células intravenosamente o en el lugar de la lesión, se ha visto que anidan en el foco patológico, evitando una remodelación deletérea y facilitando la recuperación (9). Asimismo, no se han observado rechazos inmunológicos y en cambio se ha descrito una persistente acción *in vivo*. Por otra parte, se ha descrito que el trasplante de médula ósea en pacientes con osteogénesis imperfecta mejora su fragilidad ósea, presumiblemente por las células madre mesenquimales administradas.

Recientemente se ha comprobado que células de la médula ósea de humanos y roedores trasplantadas a hígado se pueden diferenciar hasta células ovales consideradas como células madre hepáticas, y hepatocitos (10). De hecho, estas células pudieron reemplazar a las células de ratón originarias con tirosinemia hereditaria. También células nerviosas se han obtenido a partir de células hematopoyéticas y de piel (11, 12). La administración de células madre o de ellas diferenciadas a células nerviosas *in vitro* en animales de experimentación usados como modelos de la enfermedad de Parkinson, ha tenido resultados prometedores con mejoría de las manifestaciones de esta enfermedad. Las células madre presentes en la zona subventricular y el giro dentado han sido estimuladas por el factor TGF α en animales modelo de la enfermedad de Parkinson por administración de 6-hidroxidopamina, con la consiguiente migración de estas células hasta las áreas dañadas y su diferenciación a neuronas dopaminérgicas, así como la mejoría de las manifestaciones de la enfermedad.

Muchas otras afecciones del sistema nervioso central pueden ser objeto del tratamiento con células madre. Entre ellas las lesiones de la médula espinal en las que la completa recuperación está alejada en el tiempo, pero que la recuperación de algunas funciones parciales como mejoría en la utilización de un miembro, restauración del control de la vejiga o mejoría de las sensaciones dolorosa pueden ser objetivos cercanos. En muchas lesiones medulares no hay una

sección del tejido nervioso, pero los axones que sobreviven a esas injurias no pueden transmitir mensajes debido a la ausencia de oligodendrocitos, células de glia que producen la mielina. De hecho la administración de estas células procedentes de células madre a ratas con lesiones medulares mejoraron sensiblemente sus manifestaciones patológicas.

También las células madre mesenquimales de la médula ósea humana, pueden diferenciarse en adipocitos en el laboratorio tras la estimulación con insulina y fosfoglicerato entre otras moléculas. En nuestro grupo de investigación, las Dras. María del Carmen Sanz y Patricia Vázquez, dentro de un programa dirigido a conocer la capacidad de estas células para diferenciarse en otros tipos celulares con actividades biológicas específicas, encontraron que, tras tres días de estimulación aparecieron células adiposas que mostraron positividad para parámetros bioquímicos como la lipoproteína lipasa y el receptor del PPAR³² y características morfológicas específicas de este tipo celular. Sorprendentemente los péptidos GLP-1 y GLP-2 inhibieron el proceso de diferenciación celular, lo cual es de interés para la modulación de este proceso pero también sugiere un papel para ellos dentro del período embrionario.

Durante el pasado siglo las terapias utilizadas en la clínica humana se enriquecieron profundamente con las aportaciones de la Farmacología que previsiblemente continuarán, pero en este siglo se deberá contar también con la terapia celular dentro de un contexto más amplio dedicado a la Medicina Regenerativa, centrada en la terapia génica y en las terapias derivadas de la utilización de las células madre. Pero para esto último se necesitará recorrer un largo camino con objeto de establecer los fundamentos y procedimientos encaminados a la realización de estas terapias, mediante el desarrollo de parámetros científicos, clínicos y éticos.

BIBLIOGRAFÍA

1. ANNAS, G.J., CAPLAN, A. y ELIAS, S. «Stem cell politics, ethics and medical progress». *Nat. Med.* 5: 1339-1341 (1999).
2. FRANKEL, M.S. «In search of stem cell policy». *Science* 298: 1397 (2000).
3. VERFAILLIE, C.M. «Adult stem cells: assessing the case for pluripotency». *Trend in Cell Biol.* 12: 502-508 (2002).
4. MOORE, B.E. y QUESENBERRY, P.J. «The adult hemopoietic stem cell plasticity debate: idols vs new paradigms». *Leukemia* 17: 1205-1210 (2003).

5. JANG, Y.-Y., COLLECTOR, M.I., BAYLIN, S.B., DIEHL, A.M. y SHARKIS, S.J. «Hematopoietic stem cells convert into liver cells within days without fusion». *Nature Cell Biol.* 6: 532-539 (2004).
6. PROCKOP, D. «Marrow stromal cells as stem cells for non-hematopoietic tissues». *Science* 276: 71-74 (1997).
7. MCKAY, R. «Stem cells in the central nervous system». *Science* 276: 66-71 (1997).
8. DOETSCH, F., COILLE, I., LIM, D.A., GARCIA VERDUGO, J.M. y ÁLVAREZ-BUYLLA, A. «Subventricular zone astrocytes are neural stem cells in the adult mammalian brain». *Cell* 97: 703-716 (1999).
9. PITTENGER, M.F. y MARTIN, B.J. «Mesenchymal stem cells and their potential as cardiac therapeutics». *Circ. Res.* 95: 9-20 (2004).
10. MITAKS, T. «Hepatic stem cells: from bone marrow cells to hepatocytes». *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 281: 1-5 (2001).
11. EGLITIS, M.A. y MEZCY, E. «Hematopoietic cells differentiate into both microglia and macroglia in the brains of adult mice». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94: 4080-4085 (1997).
12. JOAMIDES, A., GAUGHWIN, PH., SCHWIENING, H.M., STERLING, J., COMPSTON, A. y CHANDRAN, S. «Efficient generation of neural precursor from adult human skin: astrocytes promote neurogenesis from skin-derived stem cells». *Lancet* 364: 172-178 (2004).

INTERVENCIONES

Prof. Segovia de Arana

El doctor Blázquez ha hecho una síntesis muy clara de la apasionante Medicina regenerativa, que sin ninguna duda constituye una nueva perspectiva para nuestros conocimientos médicos. Los problemas técnicos, sociales, éticos y económicos que suscita esta nueva Medicina son numerosos y a su solución tendrán que aplicarse a fondo los diferentes protagonistas de la Sanidad moderna.

El estudio de los procesos de diferenciación y desdiferenciación de las células troncales, embrionarias y adultas, es muy atractivo y el doctor Blázquez nos ha mostrado algunos ejemplos de los ecanismos implicados. Como ocurrió con la introducción de la terapia génica, las aplicaciones terapéuticas de la Medicina regenerativa no son tan rápidos como los avances científicos y tecnológicos e incluso pueden dar lugar a tratamientos peligrosos como la posibilidad de producir tumores con el empleo de células troncales embrionarias. Me gustaría conocer la opinión del doctor Blázquez sobre el estado actual de la producción de insulina en diabéticos tratados con células troncales.

Prof. Félix Pérez

En primer lugar, quiero felicitar al Dr. Blázquez Fernández por su magnífica conferencia «Implicaciones terapéuticas de la diferenciación de células madre humanas presentes en tejidos adultos hasta otros tipos celulares», por su magnífica conferencia de singular interés por su contenido y perspectivas de aplicación en medicina regenerativa.

Es evidente que las investigaciones sobre células madre representan un tema muy delicado desde el punto de vista ético y moral. Existe un enfrentamiento —para mí insoslayable— entre la investigación científica sobre este tema y la ética.

Las células madre no solamente pueden obtenerse —método cómodo y rápido— del blastocisto, lo cual significa la interrupción de un proceso gestacional (aborto). En los tejidos existen células madre al menos unipotentes capaces de sustituir a las células muertas por apoptosis al recibir las señales que pondrán en marcha su multiplicación. El propósito fundamental es utilizar estas células en medicina regenerativa.

Los blastocistos congelados (bancos) no todos tienen viabilidad. Nosotros, antes de hacer un trasplante de embriones —reproducción animal—, detectamos los blastocistos patológicos (inviabiles) para el éxito fecundante que, sin embargo, contienen blastómeros útiles para el referido fin.

De otra parte, la totipotencia de las células embrionarias del blastocisto van perdiendo estas facultades a medida que desaparecen grupos metélicos (desmitilización), tema muy importante a tratar.

En todo caso, el interesante planteamiento ideológico nos ha de descubrir facultades de las células madre que no solamente restituyen a otras degeneradas, etc., sino que ofrecen capacidad estructural.

Si amputamos la cola de la lagartija, ésta se reproduce, y lo mismo ocurre tras la amputación de una extremidad en la salamandra. Tampoco hay que olvidar el interés de las células madre contenidas en sangre del cordón umbilical.

Mi felicitación reiterada al Prof. Blázquez Fernández por su magnífica y oportuna exposición.

PALABRAS FINALES DEL PRESIDENTE DE HONOR PROF. DURÁN SACRISTÁN

La conferencia que ha dado el Prof. Blázquez Fernández ha sido óptima, ha sido muy oportuna, porque el problema de las células madre en este momento constituye el horizonte de la investigación y de la esperanza en medicina más importante que hay. La realidad es que cuando uno va viendo bibliografía al respecto, cada vez se acumulan más los trabajos relativos a los estudios que se hacen de las células madre con el propósito de buscar la utilidad terapéutica de las mismas.

Me ha parecido muy bien la descripción que has hecho de las células madre, las embrionarias, las titulares, las del adulto, las de todos los orígenes en general. Realmente es sorprendente que las que son más positivas en su posibilidad de hacer una actividad totipotencial de regenerarse a sí mismas integralmente y de hacer células hijas, éstas son las embrionarias, las que comportan dificultades éticas, científicas y de todo orden.

Yo he visto que en la bibliografía se prodigan mucho los cordones umbilicales para obtener nidos, mucho epitelio para encontrar células madre de origen epitelial que son muy sensibles, y particularmente las células procedentes de los tejidos que tradicionalmente son las células madre de competencia. Es sorprendente, como se ha dicho siempre, que el sistema nervioso no es capaz de regenerarse ni de estructurarse, y, sin embargo, en las bibliografías modernas se ven muchas publicaciones, y tú las has mencionado, de estructuras que proceden directamente del sistema nervioso, que son células neuronales, células muy cualificadas y muy especiales dentro del sistema nervioso, que surgen del propio cerebro aun cuando él no tiene un carácter totipotencial, como tienen las demás estructuras que son pródigas en esto. Es sorprendente por eso que el mismo cerebro sea capaz de producir células madre que puedan ser utilizadas en otros destinos. La riqueza de las células madre en el cordón umbilical está enfatizada por todas partes y se habla de ellas con desenfado y sin ninguna preocupación especial.

La verdad es que el capítulo y el horizonte de estos elementos es infinito; hay mucho tanteo ya respecto a la terapéutica, pero hay que cuidarse mucho porque las células madre pueden constituir riesgos muy elevados en la terapéutica, porque el descontrol de la función totipotencial de muchas células madre en un momento deter-

minado es peligroso, tal y como anuncian distintos trabajos de personas que están instruidas en estas materias.

Yo te quiero felicitar porque has hecho una exposición exhaustiva de cómo está planteado esto hoy día, porque estás haciendo ensayos en tus propios laboratorios que están en la línea de investigación actual. Creo que en lugares como esta Real Academia Nacional de Medicina, que son lugares de excepción, o lugares de sabiduría más alta, el tema de las células madre tiene que ser considerado con bastante sosiego, porque hay muchos puntos todavía oscuros y sobre todo muchos riesgos anunciados en la perspectiva y en la panorámica de este tipo totipotencial de células que no hay quien las controle en un momento determinado. Es sabido que las embrionarias conducen fácilmente a tumores, pero es sabido que otras células, incluso del adulto, también han dado sustos a este respecto en distintos laboratorios.

La Real Academia Nacional de Medicina lo que hace con esta conferencia del Prof. Blázquez hoy es inaugurarse en este tema, que es un tema fantástico y que seguramente dará aquí mucho que hablar en el futuro, y a ver si puede ser que sustituya a otros caprichos que hemos tenido casi crónicamente en esta Academia, porque me parece que España ya tiene varios puntos donde estos temas están intranquilizando mucho, y así se empieza para que después se pueda aportar un resultado positivo en general. Para nosotros, los cirujanos, nos seduce la idea de que un sistema de producción de célula madre pueda arreglar pérdidas de sustancias, heridas, erosiones y destrucciones titulares bastante ampliamente. Si uno ayuda, la regeneración tisular para el cirujano es incalculable por ahora, pero evidentemente abierta a un futuro más próximo. Con esto no he dicho nada más que ratificar lo que todos ustedes han pensado.

Se levanta la sesión.