

EXTRA

**ANDALUCIA
INVESTIGA**



monográfico | abril 03 | difusión gratuita | www.andaluciainvestiga.com



MONOGRÁFICO CÉLULAS MADRE

p.3
introducción

uno p.4
el potencial de las células madre

dos p.4
las células madre según su origen

tres p.5
las células madre embrionarias

cuatro p.5
células germinales embrionarias

cinco p.6
células madre adulto

seis p.7
aplicaciones terapéuticas: un amplio abanico de posibilidades

siete p.8
regeneración de tejidos

ocho p.9
grandes dificultades

nueve p.10
manipulación genética

diez p.10
más allá de la ciencia: el tema ético

once p.11
opinión: a favor y en contra

doce p.12
más información

Andalucía Investiga no se hace responsable de las opiniones de los autores de los artículos. Se autoriza la copia y difusión parcial de los contenidos de esta publicación previo permiso del Programa de Divulgación Científica "Andalucía Investiga".
 Revista disponible en formato PDF en www.andaluciainvestiga.com

Consejera de Educación y Ciencia:

Cándida Martínez López

Secretario General de Universidades e Investigación:

Francisco Gracia Navarro

Director del Consorcio Parque de las Ciencias:

Ernesto Páramo Sureda

Coordinador del Programa de Divulgación Científica:

Juan Montes Valverde

Equipo de redacción:

Leticia Díaz Alcaide

Carmen Guerrero Martínez

Vicente López García

Miguel López Gómez

Lourdes López Pérez

Diego Márquez González

Elisa Mejías Pérez

Ana M^a Pérez Moreno

Adán Rodríguez Torregrosa

Diseño y maquetación:

Limón Publicidad & Comunicación



Andalucía Investiga
 Programa de Divulgación Científica de Andalucía
 Plan Andaluz de Investigación
 Parque de las Ciencias
 Avd. del Mediterráneo s/n
 18006 Granada, España
 Telf.: 958 37 78 05
info@andaluciainvestiga.com
www.andaluciainvestiga.com
www.parqueciencias.com

UN COMPROMISO SOCIAL

En los últimos meses, todo lo relacionado con las investigaciones con células madre acapara uno de los focos científicos de atención preferente para los medios de comunicación. La sociedad está muy pendiente de unos trabajos en los que tiene puestas muchas esperanzas de cara a la posible consecución de soluciones para males como el Parkinson o la diabetes, que hoy no las tienen. En torno a las células madre, las expectativas son muchas veces demasiado altas, los debates confusos y las intenciones no siempre loables.

Desde el primer número de la revista Andalucía Investiga, se quiere contribuir a clarificar los conceptos básicos que rodean a este complejo tema: los diferentes orígenes de las también denominadas células troncales, las aplicaciones que se están desarrollando en los laboratorios, la situación en los países de nuestro entorno... Con esta vocación de compromiso social nace este Monográfico Células Madre que cuenta con un amplio material gráfico y una consistente elaboración teórica.

El grupo de investigación de Endocrinología Celular y Molecular de la Universidad de Córdoba demuestra en el artículo que a continuación le presentamos un profundo conocimiento científico y una gran capacidad divulgativa. Este especial se convierte así en una herramienta de una gran utilidad, antes de entrar en las controversias éticas que la sociedad ha de plantearse desde el rigor y la comprensión que no siempre acompañan al debate público sobre las células madre.

La investigación con células madre se ha convertido en un tema de candente actualidad. En torno a la cuestión, hay muchos interrogantes. ¿Por qué se ha creado un debate de tal magnitud? ¿Qué es una célula madre? ¿Qué posibilidades terapéuticas presentan? Estas son algunas de las preguntas a las que se pretende dar respuesta en este artículo elaborado por el grupo de investigación de Endocrinología Celular y Molecular del Departamento de Biología Celular, Fisiología e Inmunología de la Universidad de Córdoba.

Por Socorro García Navarro
Mario Durán Prado
Elena Delgado Niebla
Raúl M. Luque
Juan Ramón Peinado
Francisca Rodríguez Pacheco
Marcelo Molina Sánchez
Antonio Ruiz Navarro
Justo P. Castaño
M^a del Mar Malagón

OBTENCIÓN DE CÉLULAS MADRE Y SU APLICACIÓN TERAPÉUTICA

Las células madre [CN] son células indiferenciadas, no especializadas, que poseen simultáneamente la capacidad de renovarse a sí mismas por división celular durante largos periodos de tiempo (auto-renovación) y que, bajo ciertas condiciones fisiológicas o experimentales, pueden ser inducidas a transformarse en diferentes tipos celulares especializados con características morfológicas y funciones específicas (pluripotencia). Estas propiedades hacen de las células madre un recurso extraordinariamente prometedor y útil tanto para la investigación básica como para su aplicación clínica.

El concepto actual de célula madre y el debate sobre su posible uso comenzó hace ya más de 20 años cuando se consiguió por vez primera aislar y mantener en cultivo células madre procedentes de embriones de ratón -células madre embrionarias [CME]-, si bien no fue hasta 1998 en que, tras muchos años de estudio, se aislaron y cultivaron células madres de embriones y fetos humanos. En los pocos años transcurridos desde entonces, se han ido incrementando los conocimientos sobre su enorme potencial para generar células sanas que reemplacen células enfermas en un organismo adulto, despertando así un inusitado interés por su estudio, que ha arrastrado y puesto de actualidad a otro tipo de célula madre, no

embrionaria, que viene siendo utilizada en clínica desde hace más de 40 años, las denominadas células madre de adulto [CMA]. En conjunto, los resultados obtenidos hasta ahora y, sobre todo, las grandes expectativas que se han creado ante su posible uso terapéutico, han generado una gran excitación mediática y un enconado debate social, científico e incluso político sobre las cuestiones éticas derivadas del uso de embriones humanos.

Sin embargo, tanto el gran debate como las expectativas de uso terapéutico generados no siempre se sustentan en una base de conocimientos sólida y suficientemente contrastada. Hemos de tener en cuenta que el estudio de las células madre, pese a constituir una de las áreas más fascinantes de la biología, apenas ha iniciado su singladura, y son más las cuestiones que necesitan ser contestadas que los conocimientos adquiridos. Sólo la investigación nos permitirá adquirir un mayor conocimiento sobre las células madre, incrementando las posibilidades de su utilización no sólo en nuevas terapias y estrategias de prevención de enfermedades, sino también en el escrutinio de nuevos medicamentos y toxinas, así como en el conocimiento de las malformaciones congénitas.

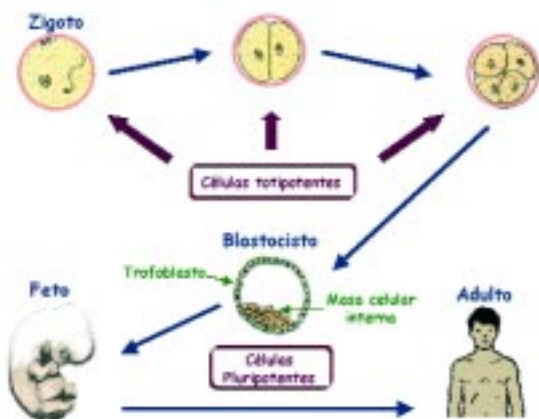
1

EL POTENCIAL DE LAS CÉLULAS MADRE

Con este monográfico, intentaremos comprender mejor las diferencias existentes entre las distintas clases de células madre, sus posibles aplicaciones, así como las cuestiones científicas, médicas y éticas relacionadas. Pero antes consideramos imprescindible definir previamente algunos conceptos básicos que nos ayudarán a una mejor comprensión, y lo haremos en el contexto del desarrollo embrionario humano.

Este comienza cuando un espermatozoide fecunda a un óvulo, dando lugar a una célula, el huevo fecundado o cigoto, considerado como paradigma de célula totipotente, pues generará todas las células y tejidos del embrión y de la placenta y, finalmente, el organismo adulto, que en el caso de los mamíferos, consta de más de 200 tipos celulares distintos altamente especializados.

Esquema del desarrollo humano.



La división del cigoto

A continuación, el cigoto comienza a dividirse, siendo las células resultantes de las primeras divisiones también totipotentes, de manera que si se separan cada una de ellas podría dar lugar a un embrión, obteniéndose así varios individuos genéticamente idénticos. Los gemelos monozigóticos son el reflejo natural de este hecho.

Hacia el quinto día, el embrión es una esfera hueca, el blastocisto, cuyas células han sufrido su primera especialización. Así, la capa superficial de células, el trofoblasto, originará la placenta,

mientras, la masa celular interna, constituida por unas 30 células, dará lugar al embrión propiamente dicho. Aunque estas últimas han perdido la capacidad de originar por sí solas un organismo completo, sí pueden dar lugar a cualquiera de los tipos celulares que lo integran, es decir, son pluripotentes.

Más tarde, el embrión se implanta en el útero materno y prosigue su desarrollo, a lo largo del cual las células se van especializando y se transforman en células madre comprometidas, que van viendo poco a poco restringida su potencialidad. Nos encontraríamos, finalmente, ante células multipotentes, pues sólo podrán originar los tipos celulares propios de un tejido determinado. De hecho, durante el desarrollo embrionario, estas células darán lugar a los distintos tejidos que componen un individuo y que están prácticamente diferenciadas al final de la gestación. No obstante, en un individuo ya formado, en algunos tejidos se mantienen poblaciones discretas de células madre multipotentes que permiten el reemplazo de las células que se pierden con el desgaste normal o por enfermedad. Estaríamos ante las denominadas células madre de adulto, un ejemplo de las cuales serían las células madre hematopoyéticas, origen de todas las células de los sistemas sanguíneo e inmune.

2

LAS CÉLULAS MADRE SEGÚN SU ORIGEN

En la actualidad, tanto en humanos como en animales, se conocen tres clases de células madre: (1) las células madre embrionarias que proceden del embrión, (2) las células germinales embrionarias, obtenidas del tejido gonadal del feto, respectivamente, siendo ambas pluripotentes y (3) las células madre de adulto, que son multipotentes, aunque los últimos resultados apuntan a que poseen una capacidad mayor de la que originariamente se pensaba. Pese a diferir en su origen, características y funciones, los tres tipos celulares citados comparten algunos caracteres generales que las hacen diferentes a cualquier otra célula del organismo: son capaces de dividirse y renovarse a sí mismas durante largos periodos de tiempo, son indiferenciadas y pueden originar tipos celulares especializados.

Distintos tipos de células madre.



3

LAS CÉLULAS MADRE EMBRIONARIAS

Las células madre embrionarias humanas se obtienen a partir de la masa celular interna de embriones de 4-5 días obtenidos mediante fecundación *in vitro* en tratamientos de infertilidad, donados para su uso en investigación, previo consentimiento informado de las parejas donantes.

Una vez aisladas, las células de la masa celular interna son cultivadas en el laboratorio sobre una capa de células de la piel embrionaria de ratón, que es imprescindible para que las futuras

Obtención y cultivo de las células madre embrionarias.



células madre sigan dividiéndose y permanezcan indiferenciadas. Desafortunadamente, existe la posibilidad de que puedan transmitir virus o sustancias nocivas, por lo que se están buscando alternativas a su uso.

En estas condiciones, las células pueden dividirse durante varios años, de manera que las 30 células originales se pueden transformar en millones de células madre embrionarias. Si estas células siguen siendo indiferenciadas, pluripotentes y no presentan anomalías cromosómicas, son consideradas como líneas celulares embrionarias humanas, que pueden mantenerse indefinidamente a bajas temperaturas. Cuando sea necesario su uso, las células se descongelan y se ponen en cultivo, estando de nuevo disponibles para llevar a cabo la experimentación correspondiente.

4

CÉLULAS GERMINALES EMBRIONARIAS

Todas las técnicas descritas son por el momento altamente experimentales, y aunque ya han permitido generar tipos celulares específicos no explican cómo se produce la diferenciación dirigida. Para que esta metodología sea eficaz, es necesario conocer bien las distintas vías de diferenciación, los factores implicados en las mismas, así como el momento en los que actúa cada uno de ellos. Las respuestas a todas las preguntas planteadas permitirán controlar la

DIFERENCIACIÓN DIRIGIDA DE LAS CÉLULAS MADRE EMBRIONARIAS

Una de las metas principales de la investigación con células madre embrionarias es controlar y dirigir su diferenciación en tipos celulares, para lo cual es absolutamente necesario conocer las señales externas e internas que controlan dicha diferenciación. Las señales internas son generadas bajo el control de los genes de la propia célula, mientras que las señales externas incluyen sustancias secretadas por otras células, el contacto físico con las células vecinas y ciertas moléculas del microambiente.

El proceso de identificación de estas señales externas está aún en una fase muy temprana de la investigación, si bien algunas de ellas comienzan a desentrañarse. En general, las aproximaciones más comunes al estudio de la diferenciación dirigida son:

- Insertar genes específicos en las células, que las dirigirían hacia una vía de diferenciación determinada. Esta metodología sería muy precisa, pero requiere identificar los genes que deben ser activados en cada fase particular de la diferenciación, qué gen debe ser insertado, así como su sitio de inserción específico y el momento exacto en que debe ser activado.
- Modificar las condiciones de cultivo, en un intento de imitar las señales externas. Para ello se puede :
 - Alterar la superficie de cultivo. Por ejemplo, la eliminación de la capa alimenticia, provoca el agrupamiento de las células y su interacción, formando los denominados cuerpos embrionarios, una mezcla impredecible de tipos celulares parcialmente diferenciados. No obstante, aunque este sistema sirve para confirmar la pluripotencia de las células, no es un método eficiente para producir cultivos de tipos celulares específicos.
 - Actualmente, la investigación está dirigida a cambiar la composición química del medio de cultivo mediante la eliminación o adición de factores específicos. Este procedimiento ya se está aplicando, lo que ha permitido la obtención de células con las características estructurales, funcionales y genéticas de células musculares cardíacas diferenciadas con actividad contráctil, así como células sanguíneas, células productoras de insulina del páncreas y células nerviosas.

diferenciación en el laboratorio de las células madre embrionarias y, por tanto, obtener células y tejidos que podrían ser usados con fines terapéuticos.

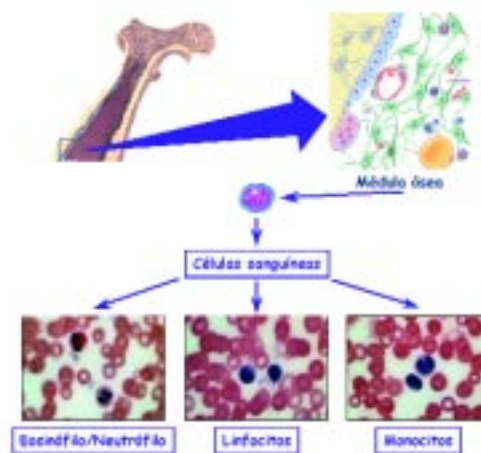
Este segundo tipo de células madre, las denominadas células germinales embrionarias, fueron aisladas, en el mismo año que las células madre embrionarias, del tejido gonadal de fetos humanos de 5-9 semanas procedentes de abortos voluntarios. Estas células comparten con las células madre embrionarias muchas de sus características; sin embargo, su capacidad de proliferación en cultivo es mucho menor y no generan teratomas cuando se inyectan en ratones inmunodeficientes.

5

CÉLULAS MADRE DE ADULTO

Simultáneamente al descubrimiento de las células madre pluripotentes de embriones y fetos, se reavivó el interés por el estudio de las células madre de adulto. Estas son células indiferenciadas, no especializadas, que se encuentran entre las células diferenciadas de un tejido u órgano, y cuya principal misión en un organismo vivo es mantener y reparar el tejido en el que se hallan.

Diferenciación de las células madre hematopoyéticas (adaptada de Stem cells: Scientific Progress and Future Research Directions, National Institute of Health).



El estudio de las células madre de adulto comenzó en los años 60 con el descubrimiento de las células madre hematopoyéticas, localizadas en la médula ósea y la sangre periférica, que son las que originan todos los tipos de células sanguíneas e inmunes. Desde su descubrimiento, han sido ampliamente estudiadas y aplicadas terapéuticamente en el tratamiento de diversas enfermedades, como la leucemia, y para recuperar el sistema sanguíneo e inmune tras tratamiento con quimioterapia. No obstante, la capacidad limitada de las células madre hematopoyéticas de dividirse en gran número y de permanecer indiferenciadas en cultivo es el principal obstáculo para su uso en trabajos de investigación, trasplantes, etc.

Además de las células madre hematopoyéticas, se han identificado células madre de adulto en muchos otros tejidos y órganos,

LA PLASTICIDAD DE LAS CÉLULAS MADRE ADULTO

A pesar de que las células madre [CM] de adulto son multipotentes, aún no se ha aislado ninguna población de ellas que sea capaz de originar todos los tipos celulares del cuerpo. Sin embargo, sí se ha observado que algunas células madre de adulto poseen la capacidad de diferenciarse en varios tipos celulares especializados, que corresponden a tejidos diferentes a aquellos en los que residen normalmente, una propiedad que se conoce como plasticidad o transdiferenciación.

El estudio de esta propiedad es tremendamente complejo, ya que requiere el marcaje de las células para identificarlas y seguir las hasta su nuevo destino; una vez allí, es preciso demostrar que han adoptado las características morfológicas y moleculares específicas de las células diferenciadas del tejido que se supone han regenerado. Finalmente, y más importante, es necesario probar que las células pueden integrarse en su nuevo medio ambiente tisular, sobrevivir en el tejido y funcionar como las propias células maduras del mismo.

La mayoría de los estudios realizados sobre la plasticidad de las células madre adultas, utilizan células derivadas de la médula ósea o del cerebro. En el caso de las células madre hematopoyéticas, procedentes bien de sangre bien de médula ósea, se ha visto que éstas se pueden diferenciar en células nerviosas, células hepáticas y células musculares, tanto esqueléticas como cardíacas. También, se han conseguido células de grasa, hueso y cartílago a partir de las células madre del estroma de la médula ósea.

Por su parte, las células madre nerviosas se pueden diferenciar en células sanguíneas y células musculares esqueléticas y las células madre hepáticas en células pancreáticas productoras de insulina.

En definitiva, todos estos estudios sobre plasticidad indican que las poblaciones de CM en los mamíferos adultos no son entidades fijas e inmutables, sino que tras la exposición a un nuevo medio ambiente, pueden ser capaces de poblar otros tejidos y posiblemente diferenciarse en otros tipos celulares. No obstante, aunque este fenómeno de plasticidad ha incrementado considerablemente las perspectivas de obtener terapias celulares a medio y largo plazo sin los problemas éticos asociados al uso de embriones, no se conocen los mecanismos, claramente complejos, que regulan el fenómeno de la plasticidad. Por ello, buena parte de la investigación actual en este ámbito está dirigida a identificar y controlar dichos mecanismos, que permitirán que una célula madre de un tejido sano pueda ser inducida a repoblar y reparar un tejido dañado, igual o distinto de aquel del que se han obtenido las células madre de adulto.

entre los que se incluyen la córnea y retina, músculo esquelético, piel, revestimiento del tracto gastrointestinal, hígado, páncreas e incluso el cerebro. Concretamente, aunque hasta hace poco se creía que el tejido nervioso tenía muy poca capacidad de regeneración y, consecuentemente, que no disponía de células indiferenciadas capaces de generar los distintos tipos de células nerviosas, ya se han identificado varias poblaciones de células madre de adulto. No obstante, dichas células no presentan una localización única y accesible.

Autorrenovación y multipotencia

Una célula madre de adulto debe ser capaz de auto-renovarse durante toda la vida del organismo. No obstante, esta cualidad es muy difícil de comprobar *in vivo*, en un organismo tan complejo como un ser humano, donde es casi imposible diseñar un experimento que permita identificar a una posible célula madre de adulto y seguirla durante toda la vida del individuo para ver si lo es. Por otra parte, una sola célula madre debe de ser capaz de generar una línea, un clon de células genéticamente idénticas, que originaría todos los tipos celulares diferenciados propios del tejido en el que residen. En este sentido, para que se pueda considerar como tal, una célula madre de adulto ha de ser también multipotente, es decir, ser capaz de originar tipos celulares totalmente diferenciados que estén totalmente integrados en el tejido y que sean capaces de realizar funciones especializadas propias del tejido en el que residen.

Plasticidad de las células madre hematopoyéticas (adaptada de Stem cells: Scientific Progress and Future Research Directions, National Institute of Health).



Para comprobar estas propiedades, en la práctica, los investigadores tienden a probar bien que una célula madre origina un clon de células en cultivo, o bien que una población purificada de candidatas a células madre puede repoblar un tejido tras su trasplante a un animal. Esto último se ha conseguido recientemente marcando células madre hematopoyéticas de ratón con un retrovirus identificador único y se ha observado que sus descendientes, también marcados, pueden repoblar tejidos y órganos como cerebro, corazón e hígado de un animal vivo.

Dificultades

Las células madre de adulto presentan otra serie de propiedades que, en cierta medida, dificultan su estudio y aplicación. Así, por ejemplo, al contrario que las CME que presentan un origen claramente definido, no se conoce el origen exacto de las CMA en los tejidos adultos. Se piensa que residen en un área específica del tejido, donde permanecen en estado de reposo durante muchos años hasta que son activadas por una enfermedad o daño del tejido.

Otro problema adicional que presentan es que, al contrario

de lo que ocurre en el organismo vivo, las células madre de adulto no proliferan en cultivo, sino que se diferencian, lo que supone un factor limitante para su uso en estrategias de reemplazamiento celular, pues no se consigue un número suficiente de células disponibles para ser trasplantadas. Es más, las células madre de adulto son muy escasas y, por ello, constituyen un porcentaje muy bajo de la población en la que se encuentran, lo cual aumenta las dificultades para identificarlas, aislarlas y purificarlas. Por ejemplo, en la médula ósea, sólo una de cada 15.000 células es una CM hematopoyética y esta proporción es aún más baja en la sangre periférica o en la del cordón umbilical.



APLICACIONES TERAPEÚTICAS: UN AMPLIO ABANICO DE POSIBILIDADES

En resumen y teniendo en cuenta las características propias de cada tipo celular mencionado, con sus correspondientes ventajas e inconvenientes, se pueden plantear varios usos potenciales de cada una de ellas tanto para la investigación básica como clínica.

En cuanto a la investigación básica, el estudio de las células madre embrionarias humanas puede proporcionarnos información crucial para comprender los complejos procesos que tienen lugar durante el desarrollo humano. En este sentido, los primeros objetivos serán conocer los mecanismos que mantienen a una célula indiferenciada y proliferante y aquellos que la transforman en una célula diferenciada que deja de dividirse. Recordemos que muchas malformaciones congénitas y enfermedades tan importantes y graves como el cáncer se originan por anomalías en la división y la diferenciación celular. Por ello, un conocimiento más profundo y detallado de los genes y moléculas que controlan estos procesos nos permitiría conocer como se producen y, consecuentemente, idear nuevas terapias para prevenirlos. Sin embargo, aparte de las consideraciones éticas oportunas, hay que señalar que existen obstáculos adicionales a este posible uso, como es el limitado conocimiento que se tiene de las señales y los genes que controlan la división celular y la diferenciación de las células madre.

Otro ejemplo de los posibles usos de estos tipos de células es la exploración de los efectos de las anomalías cromosómicas en el desarrollo temprano, lo que incluiría la capacidad para controlar el desarrollo de los tumores infantiles tempranos, muchos de los cuales tienen origen embrionario.

Las células madre pluripotenciales humanas podrían ser usadas también para el ensayo de nuevos medicamentos. Normalmente, antes de probarlos en voluntarios humanos, los fármacos potenciales se someten a una gran cantidad de ensayos pre-



clínicos, entre los que se incluyen su estudio en modelos animales, lo que constituye hoy día el pilar de la investigación farmacéutica. Sin embargo, estos estudios, aparte de provocar sufrimiento animal, no siempre pueden predecir los efectos que un candidato a un medicamento pueda tener sobre las células humanas, lo que, por el contrario, podría analizarse en cultivos de este tipo de células.

Además, cuando se consiga controlar la diferenciación de las células pluripotentes, se podría obtener un amplio rango de tipos celulares diferente en los que estudiar los efectos del medicamento, generándose de esta manera modelos más completos y seguros, así como más baratos. Por ejemplo, se podrían obtener células hepáticas en las que se evaluaría su capacidad para detoxificar el medicamento en estudio, lo que supondría un claro avance en la prevención de posibles reacciones adversas en los pacientes tratados con dicho medicamento.

Las células madre humanas podrían asimismo ser empleadas para descubrir y estudiar posibles toxinas, pues estas, a menudo, tienen efectos diferentes según las distintas especies animales, lo que hace crítico disponer del propio modelo que sirva como test.



REGENERACIÓN DE TEJIDOS

Además de los procesos citados, el aislamiento de las células madre humanas nos ofrece la posibilidad de una considerable colección de nuevas terapias biológicas que se espera que sean efectivas en el tratamiento de un amplio rango de enfermedades. Sin lugar a dudas, la aplicación potencial de las células madre humanas que ha creado mayores expectativas es su utilización en la reparación o regeneración de tejidos u órganos enfermos o dañados. De hecho, aunque los avances tecnológicos nos han permitido ya dominar la respuesta inmune, de manera que los órganos de una persona pueden reemplazar los órganos y tejidos enfermos de otra persona, es evidente que actualmente no se dispone de tratamientos efectivos para muchas enfermedades que acortan la vida y el objetivo es encontrar un modo de reemplazar lo que los procesos naturales han deteriorado o eliminado. Además, a pesar de los avances cien-

tíficos en materia de trasplantes, hay una disminución de donaciones que hace poco probable que la creciente demanda de órganos pueda ser totalmente satisfecha con las estrategias de donación de órganos.

Las células madre ofrecen la posibilidad de una fuente renovable de células para enfermedades cuyo origen fisiológico ya se ha definido y que resultan devastadoras en nuestra sociedad, incluyendo Parkinson, Alzheimer, diabetes, enfermedades cardíacas, lesiones de médula espinal, artritis reumatoide, fallo hepático, etc., mediante la producción de células sanas en el laboratorio y su trasplante posterior a pacientes con enfermedades crónicas.

Por otra parte, hay investigaciones, algunas en curso, sobre la regeneración del tejido cardíaco humano por las células madre. Así, científicos de la Universidad de Dusseldorf han conseguido regenerar en parte, lesiones cardíacas en individuos que habían sido inyectados con células madre de médula ósea. Experimentos similares se están llevando a cabo en la Clínica Universitaria de Navarra y en el Hospital Clínico Universitario de Valladolid, donde el pasado mes de septiembre, un paciente de 66 años recibió células de su propia médula ósea, aunque habrá que esperar varios meses hasta saber si la regeneración tiene lugar.

La técnica consiste en la inyección de las células madre de la médula ósea en un corazón infartado, donde pueden generar células cardíacas y repoblar con éxito el tejido del corazón, que recupera parte de su función, produciéndose por tanto una regeneración del músculo dañado.

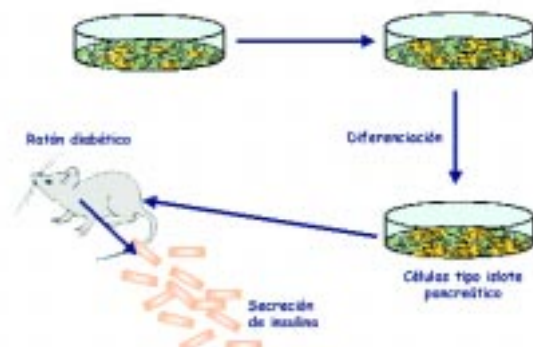


Procedimiento para la regeneración del músculo cardíaco (adaptada de Stem cells: Scientific Progress and Future Research Directions, National Institute of Health).

Asimismo, se han obtenido células productoras de insulina a partir de células madre embrionarias de ratón que son capaces de regenerar el tejido dañado en ratones diabéticos, consiguiéndose su total recuperación al cabo de un año.

De igual manera, el trasplante de células madre nerviosas fetales a ratones con lesiones traumáticas de médula espinal se diferenciaron a neuronas que incrementaron la capacidad motora de los animales. También se han utilizado células madre embrionarias para restaurar las funciones cerebrales en ratones con Parkinson.

Terapia celular para el tratamiento de la diabetes.



GRANDES DIFICULTADES

Sin embargo, para cumplir la promesa de nuevas terapias reparadoras, los científicos deben ser capaces de manipular de manera fácil y reproducible las células madre para que estas posean las características necesarias de manera que su diferenciación, trasplante e integración sean exitosos. Existen, además, una serie de fases críticas de los procedimientos de trasplante que deben ser controladas de forma precisa antes de aplicar clínicamente tales tratamientos, de manera que las células madre a utilizar deben cumplir de manera fehaciente las siguientes características:

- Proliferar ampliamente y generar cantidades suficientes de tejido
- Diferenciarse en el/los tipo(s) celulares deseados
- Sobrevivir en el receptor tras el trasplante
- Integrarse en el tejido circundante
- Funcionar apropiadamente durante toda la vida del receptor
- No producir ningún tipo de daño al receptor en ningún momento

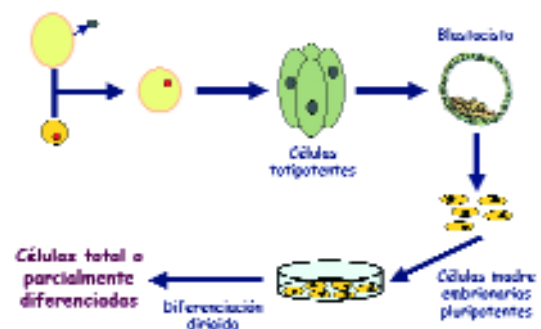
Rechazo inmunológico

Además de todas estas consideraciones, hay que tener en cuenta que las células derivadas de las células madre pueden producir el rechazo inmune por parte del receptor. Como para cualquier tipo de trasplante convencional, este rechazo inmunológico podría ser evitado si las células que se van a trasplantar expresan los mismos antígenos de histocompatibilidad MHC del receptor del trasplante,

es decir, si se consigue que el organismo aceptador los reconozca como propios, algo que sería factible introduciendo los marcadores necesarios por ingeniería genética en las células madre, o bien generando CME genéticamente iguales a la persona que recibe el trasplante mediante clonación terapéutica.

Esto último consiste en aislar el núcleo de una de las células somáticas del paciente que se quiere trasplantar, por ejemplo, de la epidermis, e inyectarlo en un óvulo al que previamente se le ha quitado su núcleo. El óvulo, así fecundado, sería cultivado *in vitro* hasta el estadio de blastocisto, de cuya masa celular interna se obtendrían CME que serían dirigidas a diferenciarse en el tipo celular deseado. El resultado final del proceso originaría células derivadas de las CME diferenciadas o parcialmente diferenciadas que presentan un perfil inmunológico exacto al de la persona que donó el núcleo de la célula somática y que es también el receptor del trasplante, evitando con ello, obviamente, la posibilidad de rechazo. Se

Clonación terapéutica o transferencia nuclear de células somáticas



trataría, por tanto, de una terapia laboriosa pero realmente personalizada.

Algunos científicos han propuesto la creación de bancos de células madre obtenidas por clonación terapéutica a partir de núcleos de las células madre de la sangre del cordón umbilical. Así, mediante este sistema, al nacimiento de cada individuo se obtendrían cultivos de células madre que se conservarían en previsión de su posible uso posterior para autotrasplantes del donante.

LAS CUESTIONES PENDIENTES SOBRE CÉLULAS MADRE

Como podemos deducir de lo anteriormente expuesto, quedan muchas cuestiones tanto sobre la biología de las células madre como su aplicación clínica que necesitan ser contestadas.

Entre las cuestiones básicas nos podríamos plantear

- ¿Hay una célula madre universal? Es decir, ¿existirá un tipo de célula madre que pueda generar las células de cualquier órgano o tejido?
- ¿Qué controles intrínsecos dirigen a las células madre a lo largo de una vía de diferenciación particular y no de otra?
- ¿Cómo influye en ellos el microambiente donde residen normalmente las células madre?
- ¿Permitirá el conocimiento de los mecanismos reguladores de la diferenciación de las células embrionarias conseguir que las células madre de adulto hagan lo mismo?
- ¿Cuántas clases de células madre de adulto existen y en qué tejidos se encuentran? ¿Por qué permanecen en un estado indiferenciado cuando todas las células que las rodean se han diferenciado?

En cuanto a las cuestiones prácticas, tanto investigadores como pacientes se preguntan:

- ¿Cuánto tiempo pasará antes de que se desarrollen terapias efectivas para enfermedades como la de Parkinson o la diabetes con o sin CM pluripotenciales humanas?
- ¿Podrán desarrollarse todas las nuevas aproximaciones terapéuticas utilizando sólo CMA?
- ¿Cuántos tipos distintos de CM se necesitarán para generar el mejor tratamiento en el menor tiempo posible?

9

MANIPULACIÓN GENÉTICA

Existen enfermedades producidas por defectos genéticos para las que no sería suficiente con el autotrasplante, ya que las células madre generadas podrían presentar también los genes defectuosos. Para solventar este problema, las células madre podrían ser manipuladas genéticamente para añadir o reemplazar el gen responsable de la enfermedad, proceso que se conoce como terapia génica sustitutiva. Mediante ingeniería genética también se podrían introducir en una línea de CM, genes que dirijan la diferenciación hacia un tipo celular específico o que expresen una proteína deseada.

Por último, y una vez que se hayan controlado de manera precisa y reproducible todas las etapas del trasplante, y que se haya adquirido un conocimiento amplio de la biología básica de las células madre, de las señales y factores implicados en el desarrollo y diferenciación del embrión humano y de la plasticidad, será absolutamente necesario comprobar la seguridad de las células que van a ser trasplantadas. En este sentido, la comprobación de la seguridad de las células madre requiere la ejecución de una estrategia global, en la que cada paso en el proceso de desarrollo de las mismas, debe ser cuidadosamente examinado. En este proceso se debe incluir la obtención, expansión, manipulación y caracterización de las líneas de CM, así como establecer la eficacia preclínica y llevar a cabo los ensayos de toxicidad correspondientes en modelos animales apropiados. Así mismo, se debe realizar una selección cuidadosa de los donantes, no importa si el origen de las células madre es embrionario, fetal o de adulto. De esta manera evitaríamos, por ejemplo, la transmisión de enfermedades infecciosas o la introducción de mutaciones lesivas al receptor.

10

MÁS ALLÁ DE LA CIENCIA: EL TEMA ÉTICO

Predecir las aplicaciones futuras de las células madre es imposible, particularmente si tenemos en cuenta el estadio inicial en el que se encuentra el estudio de la biología de las mismas. Hasta la fecha, es imposible predecir que célula madre - si la derivada del embrión, del feto o del adulto- o que método de manipulación de las mismas, cubrirá mejor las necesidades de la investigación básica y de las aplicaciones clínicas.

Las respuestas a todas estas preguntas subyacen claramente en la realización de más investigación, pues sin un conocimiento científico previo nunca será posible una aplicación clínica. Sin embargo, la realización de la misma se encuentra obstaculizada por los problemas éticos, religiosos y políticos que genera la utilización de embriones humanos.

Sin embargo, en ninguno de estos terrenos hay una única postura. Así, por ejemplo, mientras la religión judaica no considera al embrión como ser humano hasta los 40 días de gestación, la religión católica lo hace desde el momento de la fecundación.

La Junta de Andalucía ha tomado la iniciativa en este tema haciendo una interpretación amplia de la Ley actual para permitir el uso en investigación, de los embriones con más de 5 años. Se aplicará la recomendación hecha al Gobierno Central por la Comisión Nacional de Reproducción Asistida (26 de noviembre de 2001) de autorizar la investigación con los embriones sobrantes de más de cinco años.

El Ministerio de Sanidad después de decir en un principio que no permitiría este tipo de estudios, parece dispuesto ahora a

LA SITUACIÓN POR PAÍSES

En EE.UU se puede trabajar con fondos públicos con las 60 líneas de células madre establecidas hasta el 2001, pero no se pueden obtener más líneas. Por el contrario y gracias al concepto de libertad de empresa tan extendido en ese país, no hay problema con la investigación financiada con fondos privados. Aunque existen variaciones entre estados, por ejemplo California va a permitir la investigación con células madre embrionarias, mientras que otros estados no.

Pero curiosamente, tanto en EE.UU como en otros países, no hay grandes problemas para poder trabajar con las líneas que se generen e importen de otros países.

En Europa, son el Reino Unido y Suecia los países pioneros donde está legalizada la investigación con células madre.

En España existen cerca de 40.000 embriones "sobrantes" de los programas de Reproducción Asistida, la mayoría con más de 5 años, periodo máximo legal para su implantación. La legislación actual no permite ni usarlos ni destruirlos.

permitir su realización en embriones sobrantes inviábiles, para lo cual ha encargado a dicha Comisión un estudio detallado que permita establecer los criterios que aseguren dicha inviabilidad.

Las células embrionarias: un material necesario

En definitiva lo que está claro en toda esta controversia es que son necesarias más investigaciones para aclarar los distintos aspectos y cuestiones que hemos señalado a lo largo de este texto. Dichas investigaciones permitirán aclarar las potencialidades terapéuticas de las células madre permitiendo el desarrollo pleno de las corres-

pondientes aplicaciones clínicas. Para ello es necesaria la utilización de blastocistos humanos puesto que la utilización de células madre de adultos, no parece una vía suficientemente prometedora tanto para desarrollar el conocimiento necesario, como para su aplicación terapéutica. Sería necesario por tanto, que al margen de creencias religiosas plenamente respetables, se eliminen las barreras que impiden una investigación libre pero debidamente controlada sobre uno de los descubrimientos más importantes de la moderna biología. Sin más investigación habremos cerrado otra puerta y ocurrirá como en tantas otras ocasiones: "QUE INVENTEN ELLOS".

11 LA POSICIÓN DE LOS CIENTÍFICOS: DOS ENFOQUES

IGNACIO NÚÑEZ DE CASTRO es Catedrático de Biología Molecular y Bioquímica de la Universidad de Málaga.

Que las células madre o células troncales son un don de la Naturaleza dotadas de una potencialidad terapéutica nadie lo puede negar. La investigación y el uso de células troncales adultas no plantean mayor dificultad. El problema ético se presenta en la investigación y uso de las células troncales embrionarias, pues para obtener las mismas se ha de partir de la masa celular interna del blastocisto con la consiguiente destrucción del embrión.

El principio kantiano de la Ética nos dice: "obra siempre de tal manera que toda persona sea para ti un fin y no un medio". Si el embrión es un fin en sí mismo, nunca podrá ser tomado como un medio, aunque sea con un fin tan noble, como es la investigación y la posible curación de enfermedades. El debate, en mi opinión, debe centrarse en definir cuál será el estatuto biológico, ontológico, jurídico y ético del embrión. En el cigoto se encuentra ya el genoma completo, es decir, todo el programa del individuo adulto y la capacidad de desarrollo del mismo, si se dan las condiciones adecuadas. El desarrollo ontogenético de un ser vivo desde el cigoto al adulto es fundamentalmente un proceso. Las características de todo proceso son: la unidad, la totalidad funcional y la continuidad, aunque puedan aparecer propiedades emergentes. El estatuto biológico del embrión nos habla de un proceso sin solución de continuidad desde el momento de la fecundación.

Parece, pues, una postura razonable y, para mí, la más respetuosa con la vida aquella que afirma que el embrión humano, cualquiera que sea la fase de su desarrollo, debe gozar de toda dignidad y debe ser tratado como persona humana, es decir: ser considerado siempre como fin, no como medio. Afortunadamente, en el problema de las células troncales hay una gran alternativa que no plantea ningún tipo de reservas éticas, ya que para su obtención no se interrumpe ningún proceso ontogenético.

JOSÉ BECERRA RATIA es Catedrático de Biología Celular de la Universidad de Málaga y director del Laboratorio Andaluz de Biología

Las células madre son una realidad científica, sea cual sea su origen, que los científicos vamos a aprovechar para obtener una enorme información sobre múltiples aspectos básicos que tiene planteados la Biología, y que además tendrán aplicación a medio o largo plazo en la mejora de enfermedades que hasta ahora no han tenido una terapia resolutive. Los resultados que se tienen actualmente con uno u otro tipo de células madre, no son más que una mínima parte de los que vamos a tener dentro de cinco años.

Necesariamente tenemos que investigar en los dos frentes (células madre embrionarias y de adulto) para llegar a conclusiones que nos permitan, objetivamente, desechar, en su caso, unas en favor de otras. Se dice que, incluso admitiendo la investigación con células madre embrionarias, por qué no se intenta progresar más en modelos animales antes de saltar al humano. La respuesta a esta pregunta está en la existencia de los embriones humanos congelados no utilizables para el fin que se crearon, la fecundación asistida, y la certeza de que la investigación con las células embrionarias permitirá producir resultados directamente aplicables a la terapia de enfermedades concretas.

Ante este panorama, yo siempre defiendiendo que no conviene mezclar debates. Antes que nada debemos ponernos de acuerdo sobre qué hacer con los embriones congelados. Es muy importante comprender y respetar a ciertos grupos de personas que se oponen al uso de embriones para fines investigativos, pero la sociedad debe seguir proporcionándose normas que permitan la investigación y la convivencia, con la información técnica adecuada. El comité asesor que nombró el Gobierno Central para estudiar este asunto ya se ha pronunciado muy mayoritariamente en favor del uso de esos embriones para investigación.

Los Estados llegarán a legislar las condiciones de la clonación con fines terapéuticos, si bien debe saberse que todavía no existe la tecnología suficientemente desarrollada para conseguir embriones humanos con cierta fiabilidad, que lleguen al estado de blastocisto, pero sin duda se conseguirá en plazo breve. A la vez que todo esto se va desarrollando, debe legislarse con toda energía y sin ambigüedades la prohibición expresa de la clonación con fines reproductivos.



Ignacio Núñez de Castro



José Becerra Ratia

12

García Ruiz JP, Delgado Baeza E.

Células pluripotentes, su plasticidad y potencial terapéutico. Boletín SEBBM 2002, 134:13-14..

Torres, M.

Células madre embrionarias: biología y aplicaciones terapéuticas posibles. Boletín 2002;282:134:B-11.

Egozque J, Casado M.

Células troncales embrionarias: entre la ciencia, la ética y el derecho. Boletín SEBBM 2002, 134:15-17.

Berná G, León-Quinto T, Enseñat-Waser R, Montanya E, Martín F, Soria B.

Stem cells and diabetes Biomed Pharmacother 2001;55:206-212.

Clarke DL, Johansson CB, Wilbertz J, Veress B, Nilsson E, Karlstrom H, Lendahl U, Frisen J.

Generalized potential of adult neural stem cells Science 2000; 288: 1660-1663.

Dinsmore J, Ratliff J, Jacoby D, Wunderlich M, Lindberg C.

Embryonic stem cells as a model for studying regulation of cellular differentiation Theriogenology 1998;49:145-151.

Efrat S.

Cell replacement therapy for type 1 diabetes Trends Mol Med 2002, 8:334-339.

Kuehnle I, Goodell MA.

The therapeutic potential of stem cells from adults BMJ 2002;325:372-376.

Lagasse E, Shizuru JA, Uchida N, Tsukamoto A, Weissman IL.

Toward regenerative medicine Immunity 2001; 14: 425-436.

Lopez-Lozano JJ, Mata M, Bravo G.

Neural transplants in Parkinson disease: clinical results of 10 years of experience Group of Neural Transplants of the CPH. Rev Neurol 2000; 30: 1077-1083.

Lovell-Badge R.

The future for stem cell research Nature 2001, 414:88-91.

McDonald JW, Becker D, Sadowsky CL, Jane JA Sr, Conturo TE, Schultz LM.

Late recovery following spinal cord injury. Case report and review of the literature J Neurosurg. 2002, 97:252-65.

National Institutes of Health.

Stem Cells: Scientific Progress and Future Research Directions

<http://www.nih.gov/news/stemcell/scireport.htm>. (2001)

National Institutes of Health.

Stem Cells: A Primer <http://www.nih.gov/news/stemcell/primer.htm> (2002)

Odorico JS, Kaufman DS, Thomson JA.

Multilineage differentiation from human embryonic stem cell lines Stem Cells 2001; 19: 193-204.

Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Jakoniuk I, Anderson SM, Li B, Pickel J, McKay R, Nadal-Ginard B, Bodine DM, Leri A, Anversa P.

Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium Nature 2001; 410: 701-705.

Reubinoff BE, Pera MF, Fong CY, Trounson A, Bongso A.

Embryonic stem cell lines from human blastocysts: somatic differentiation in vitro Nat Biotechnol 2000;18:399-404.

DÓNDE COMPRAR LÍNEAS DE CÉLULAS MADRE

<http://www.escellinternational.com/>

ES Cell International Pte Ltd comercializa 6 líneas celulares y tiene la propiedad intelectual de los resultados de las investigaciones en medicina regenerativa llevadas a cabo por cuatro centros de investigación:

Monash Institute of Reproduction and Development
(Australia)

The National University of Singapore (Singapur)

Hadassah Medical Organisation (Israel)

Hubrecht Laboratory (Holanda)

<http://www.warf.ws/index.jsp>

(Wisconsin Alumni Research Foundation), una de sus ramas (empresas) es la WiCell Research Institute, Inc. (<http://www.wicell.org/>) que comercializa las líneas de células madre desarrolladas por Thomson.

Datos del Grupo de Investigación de Endocrinología Celular y Molecular

Campus Universitario de Rabanales de la UCO.

Edificio Severo Ochoa. Planta 3ª. 14071-CÓRDOBA.

Correo electrónico: bc1ganas@uco.es

PÁGINAS WEB DE INTERÉS

<http://www.news.wisc.edu/packages/stemcells/>

(Página de la Universidad de Wisconsin-Madison)

<http://www.nih.gov/news/stemcell/index.htm>

(Instituto Nacional de la Salud, EE UU)

<http://doh.gov.uk/cegc/>

(Departamento de Salud, Reino Unido)

<http://www.stemcellresearchnews.com/>

Renueva continuamente la información sobre células madre.



PROGRAMA DE DIVULGACIÓN CIENTÍFICA
Parque de las Ciencias, Avda. del Mediterráneo s/n 18006 Granad
E-mail: info@andaluciainvestiga.com