



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

TRABAJO FIN DE GRADO
**Aplicaciones farmacológicas de las células
madre**

Autora: Sara Bayat García

D.N.I.: 47217289 – Z

Tutora: Rafaela Raposo González

Convocatoria: Junio 2015

Índice

1. Introducción.....	3
2. Objetivos.....	5
3. Material y métodos.....	6
4. Aplicaciones de las células madre.....	6
o Regeneración del tejido cardiaco dañado	6
o Terapia celular en la <i>diabetes mellitus</i>	9
o Tratamiento de enfermedades neurodegenerativas.....	13
o Otras aplicaciones de las células madre mesenquimales.....	15
5. Discusión.....	17
6. Conclusiones.....	19
7. Bibliografía.....	19

Resumen

En la actualidad tanto las células madre como sus nuevas aplicaciones es algo que está continuamente en las noticias. Cada vez son más los campos en los que se están aplicando, ya que sus propiedades nos permiten regenerar células o tejidos.

Las células madre están consideradas como la materia prima de nuestro organismo, a partir de la cual surgen las diferentes células, tejidos y órganos. El poder manipular estas células, extraerlas, o simplemente conservarlas, nos abre un gran espectro de posibilidades como puede ser el reconstituir el sistema inmunitario a través de trasplante de médula en pacientes oncológicos, hacer un trasplante de piel autólogo en caso de quemados, regenerar tejido infartado o, incluso, poder llegar a constituir la cura para enfermedades crónicas como son la diabetes o la artritis.

En este trabajo de revisión bibliográfica, apenas se dan unas pequeñas pinceladas a todo el abanico de aplicaciones que actualmente se les atribuye a las células madre. Ya sean células adultas o multipotentes, células embrionarias o pluripotentes, células pluripotenciales inducidas o células mesenquimales, todas ellas constituyen un tratamiento que podría desbancar a muchos de los tratamientos farmacológicos actualmente existentes.

1. Introducción

Es evidente que se ha abierto un nuevo y esperanzador campo para la Medicina Regenerativa con la utilización de células madre, incrementándose en gran medida las expectativas de curación para una amplia gama de patologías.

En los últimos años han adquirido una gran importancia debido a la potencialidad y plasticidad que las caracteriza. Sin embargo, debemos ser cautos y saber hasta dónde podemos llegar con estos tratamientos celulares, ya que pueden generar debates éticos y morales en cuanto a la creación y destrucción de células.

Basándonos en la definición de célula madre *-aquella con el potencial de dar lugar a todos los linajes celulares que constituyen un organismo, órgano o tejido-* podemos entender que constituyen una opción muy significativa en la terapia celular regenerativa. En estas terapias, a partir de células adultas obtenemos células indiferenciadas en un proceso denominado reprogramación celular, mediante el cual las células pluripotentes obtenidas se modifican a través del uso de factores de transcripción (c – Myc, Sox2, Klf4, Oct4) para obtener cualquier línea celular.

Para poder llegar a comprender el por qué las células madre pueden ser aplicadas en campos tan diferentes como las enfermedades neurodegenerativas o en el sistema cardiovascular, a continuación se presenta una breve explicación sobre el origen de estas células y los diferentes tipos que existen.

Células madre

Cuando hablamos de células madre, debemos tener en cuenta siempre dos términos muy importantes: **autorreplicación** y **diferenciación**. Así, entendemos por célula madre *todas aquellas células indiferenciadas con capacidad de proliferación y que a su vez, pueden diferenciarse en una gran cantidad de células diferentes.*

Las células madre se caracterizan por poseer marcadores de superficie como CD34+, CD38+ o LIN -, entre otros, hecho que las diferencia de otras células, existiendo diferentes tipos de células madre que se comentan a continuación.

Las **células madre embrionarias** se obtienen a partir de la masa interna de estados embrionarios tempranos como el blastocisto (5 a 7 días) o las gónadas (embrión 6 a 8

semanas). Se caracterizan por poder proliferar o autorenovarse indefinidamente en cultivo y por ser pluripotentes, es decir, son capaces de diferenciarse en todos los tipos de células especializadas del cuerpo.

Sin embargo, su uso terapéutico se ve limitado por el alto riesgo de formación de teratomas. Para evitar esto, antes debería inducirse su diferenciación a células precursoras y seleccionarlas para eliminar cualquier célula madre que pudiera permanecer en el cultivo. A su vez, también presentan limitaciones de tipo ético, ya que para su obtención se debe destruir un embrión.

Las *células madre adultas* están presentes en numerosos tejidos y órganos del cuerpo humano, como son el cerebro, la córnea, la retina, el tejido adiposo, la piel o la musculatura esquelética, siendo las únicas con aplicación terapéutica las presentes en *sangre, médula ósea y cordón umbilical*. El trasplante de cualquiera de los tres últimos se denomina **trasplante de progenitores hematopoyéticos**. A diferencia de las anteriores, tienen una capacidad limitada de proliferación y únicamente son capaces de generar los tipos celulares propios de su tejido de procedencia, lo que hace difícil la generación de grandes cantidades de células.

Las *células madre pluripotentes inducidas* son células maduras del organismo manipuladas para que pierdan la identidad y regresen a un estado similar al embrionario, sin necesidad de recurrir a óvulos o embriones. Esto eliminaría el dilema ético en cuanto a la utilización de células madre embrionarias. Con este tipo de células podríamos, por ejemplo, partir de una célula de piel o músculo y mediante expresión genética, transformarla en una célula madre, a través del proceso de **reprogramación celular**, ya mencionado anteriormente.

Las *células mesenquimales* se pueden aislar de médula ósea, tejido adiposo, cordón umbilical y placenta. Están presentes en el microambiente hematopoyético del estroma en un porcentaje de alrededor del 0,001 y 0,01%. Su efecto terapéutico deriva de la producción paracrina de CSF y de la inmunosupresión que producen.

Según los criterios establecidos por la Sociedad Internacional de Terapia Celular, presenta una gran capacidad de adherencia a superficies, así como de expansión y diferenciación in vitro, con los estímulos apropiados, hacia osteoblastos, condrocitos y adipocitos. Hasta la actualidad se han encontrado CMM en médula ósea así como en gran

cantidad de tejidos y órganos conectivos como tejido adiposo, pulpa dental, placenta, cordón umbilical, fluido amniótico, sangre, membrana sinovial o tejidos fetales.

Su alto índice de proliferación y la ausencia de problemas éticos y morales justifican que hoy en día este tipo de células sea una de las opciones más importantes en terapia celular, así como una nueva técnica de administración de fármacos. Las propiedades inmunomoduladoras de las CMM hacen que se pueda considerar emplearlas en trasplantes, tratamiento de enfermedades autoinmunes inmunitarias y modulación de respuestas inflamatorias.

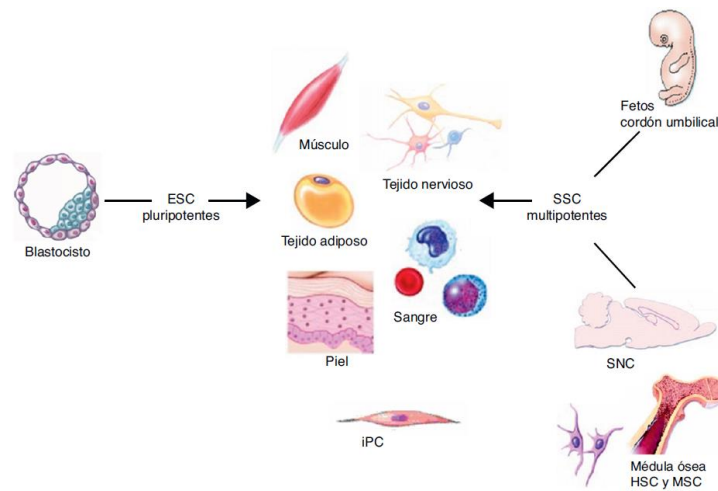


Figura 1. Células madre y sus fuentes de obtención. ESC: embryonic stem cells (CM embrionarias); HSC: hematopoietic stem cells (CM hematopoyéticas); iPC: induced pluripotent cells (iPs); MSC: mesenchymal stem cells (CM mesenquimales); SSC: somatic stem cells (células madre somáticas).

2. Objetivos

El principal objetivo que se plantea en este trabajo es hacer una descripción y resumen del conocimiento de las células madre y sus tipos, así como sus principales aplicaciones en la actualidad.

Las aplicaciones comentadas en este trabajo son un pequeño ejemplo, aunque muy significativo, de las muchas que actualmente se les está atribuyendo, por esto que se han seleccionado solo las más representativas. Dada la importancia que están cobrando las células madre mesenquimales, este trabajo se centra un poco más en las numerosas y novedosas aplicaciones de estas como son el tratamiento de la *diabetes mellitus*, *isquemia cardiaca* o *enfermedades neurodegenerativas*.

3. Material y métodos

Para realizar este trabajo de revisión bibliográfica se han consultado artículos de investigación clínica de publicación reciente, con el fin de obtener información lo más actual posible, así como diversos libros que tratan la temática de la terapia celular. La lista completa de las fuentes consultadas se cita en el apartado de bibliografía.

4. Resultados: *aplicaciones de las células madre*

Hoy por hoy, la terapia celular está en auge, encontrándole cada día aplicaciones muy diferentes. Debemos tratar estos avances con cautela y no considerarlos como una cura definitiva, ya que muchos de ellos pueden llegar a ser impracticables o económicamente no sostenibles. A continuación se exponen diferentes aplicaciones de las células madre adultas, pluripotenciales así como de las células madre mesenquimales, las cuales constituyen uno de los últimos avances en cuanto a terapia celular.

4.1. Regeneración del tejido cardiaco dañado [1] [2] [3] [4] [5] [6] [7] [8]

Según la OMS, las enfermedades cardiovasculares (ECV) son la principal causa de muerte en todo el mundo, calculándose que en 2008 murieron por esta causa cerca de 17,3 millones de personas, es decir, casi el 30% de todas las muertes registradas en el mundo.

Es preciso buscar diversos tipos de tratamiento, como los *farmacológicos* (antihipertensivos y estatinas) y *quirúrgicos* (implantación de válvulas protésicas o marcapasos) que ayudan a prevenir la progresión y revertir las consecuencias de un infarto o de la insuficiencia cardiaca. Ahora mismo, el único tratamiento totalmente eficaz sería el *trasplante cardiaco*, el cual plantea más problemas debido a las altas probabilidades de rechazo y la escasez de donantes.

Esto hace que se busquen nuevas alternativas para la regeneración cardiaca tras un infarto a través de la implantación de poblaciones celulares que se diferenciarán a cardiomiocitos, vasos sanguíneos y tejido conectivo, sobre todo desde que se conoce que el tejido cardiaco es capaz de regenerar el tejido dañado. A pesar de este avance, debemos

considerar que los cardiomiocitos son células difíciles de reemplazar y de regeneración lenta, pero constituye un punto de partida importante para la biomedicina cardiovascular.

En una **isquemia cardiaca** se produce una pérdida de cardiomiocitos debido a una intensa necrosis celular, lo que lleva a una pérdida de funcionalidad del miocardio y del ventrículo izquierdo. Hace algunos años se pensaba que el corazón era un órgano posmitótico, es decir, no creaba nuevas células una vez diferenciado. Sin embargo, varios estudios coinciden en afirmar que el parénquima funcional de la gran mayoría de tejidos sufre un proceso de autorenovación, es decir, las células que mueren son reemplazadas por otras.

Estos hallazgos hacen que se plantee la terapia celular como posible tratamiento tras un infarto de miocardio o regeneración del tejido en insuficiencia cardiaca. Las células madre embrionarias fueron descartadas por la alta capacidad de formación de teratomas, inmunorechazos y problemas éticos y legales. Así como las células madre adultas, presentaban limitaciones tanto en la multiplicación celular como en su capacidad de diferenciación.

De los tipos de células que se podrían emplear en la regeneración de cardiomiocitos se muestran en la Tabla 1.

	Tipo de células	Procedencia	Mecanismo de acción
Células no residentes de tejido cardiaco	Células madre hematopoyéticas	Médula ósea	Diferenciación a cardiomiocitos
	Células madre endoteliales	Médula ósea	Contribuye a revascularización
	Células madre mesenquimales	Médula ósea Tejido adiposo	Diferenciación a cardiomiocitos
	Células pluripotenciales inducidas	Células somáticas de fibroblastos	Transformación a células madre pluripotentes
	Mioblastos esqueléticos	Médula ósea	Similitud estructural con cardiomiocitos
Células residentes de tejido cardiaco	Células progenitoras vasculares	Corazón	Formación de vasos coronarios Diferenciación a células endoteliales y músculo liso
	Células progenitoras de miocitos	Corazón	Diferenciación a cardiomiocitos
	Células progenitoras cardiacas	Corazón	Diferenciación a cardiomiocitos

La regeneración en un tejido infartado se lleva a cabo a través de un proceso denominado *homing*, el cual se encuentra dirigido por moléculas de atracción y migración a tejidos isquémicos. Estas moléculas serían: el factor derivado del estroma (SDF – 1), el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) o el factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), entre otras tantas moléculas de quimioatracción y adhesión.

Las **células no residentes del tejido cardiaco** son un grupo de células con capacidad o bien regenerativa o bien de favorecer la regeneración del tejido. Dentro de este grupo nos encontramos con los siguientes tipos celulares:

- ✚ Células madre hematopoyéticas, células a partir de las cuales se originan los componentes de la sangre, siendo las primeras en las que se encontró capacidad de diferenciación a cardiomiocitos.
- ✚ Células progenitoras endoteliales, las cuales aumentan considerablemente en sangre tras un infarto, lo que explica que pudieran estar implicadas en el proceso de la revascularización.
- ✚ Células madre mesenquimales, se diferencian a cardiomiocitos y actualmente constituyen una de las principales opciones en terapia celular por su capacidad inmunomoduladora.
- ✚ Células madre pluripotenciales, son células somáticas procedentes de fibroblastos que se manipulan por ingeniería genética. Se diferencian hasta cardiomiocitos.
- ✚ Mioblastos esqueléticos, regeneran el tejido cardiaco por similitud estructural con los cardiomiocitos.

Diversos estudios han demostrado la existencia de **células madre residentes en el tejido cardiaco**, las cuales podrían participar en el proceso de regeneración celular en el tejido dañado o necrotizado. Podemos diferenciar las células progenitoras vasculares, las cuales se encargarían de la formación de los vasos coronarios, y las células progenitoras de miocitos, que se diferenciarían a cardiomiocitos. Las células progenitoras cardiacas se caracterizan porque cuando se expresan con cardiomiocitos son capaces de generar potenciales de acción y restablecer la conducción del miocardio.

Estas células progenitoras presentes en el corazón son capaces de migrar dentro del propio corazón hasta llegar al tejido afectado, donde generarían tejido endotelial, células del músculo liso y reorganizar los vasos coronarios.

4.2. Terapia celular en la diabetes mellitus [9] [10] [11] [12] [13]

La *diabetes mellitus* o *diabetes insulino dependiente* es una enfermedad crónica caracterizada por un déficit o atrofia de las células β de los islotes de Langerhans, lo que lleva a una alteración en la homeostasis de la glucosa, con sus correspondientes complicaciones. Las células β son las encargadas de sintetizar la insulina, hormona que controla los niveles de glucosa en sangre. En pacientes con *diabetes mellitus tipo I*, estas células van a ser las primeras en desaparecer, mientras que en pacientes con *diabetes mellitus tipo II*, las células β producen insulina que no va a poder actuar al haber desarrollado el organismo resistencia frente a ella.

La terapia celular en la *diabetes mellitus* parte del alotrasplante de islotes pancreáticos de cadáveres, lo que nos permite obtener un control de la glucemia y tener que evitar recurrir a la administración de insulina, así como el desarrollo de las pertinentes complicaciones.

Hasta ahora, alternativas como trasplante total de páncreas, implante de islotes de Langerhans o la fabricación de un páncreas artificial no han sido exitosas y se consideran tratamientos de última línea debido a su alto coste, los escasos donantes de páncreas y la necesidad de un mantener un tratamiento inmunosupresor de por vida.

4.2.1. Células secretoras de insulina procedentes de células madre

Las trabas a las principales curas para la DMI comentadas anteriormente, ha hecho que aumente el interés por la terapia celular como tratamiento regenerador.

Las células productoras de insulina obtenidas a partir de células madre adultas y embrionarias no alcanzan la complejidad y eficiencia de las células β normales, lo que indica que sería necesario un paso más en la diferenciación de estas células. En el proceso de obtención *in vitro* sería necesario la utilización de genes que dirigieran la expresión y aparición de tipos celulares más diferenciados y de estructuras más complejas, factores de crecimiento y técnicas de cultivo que mejoraran el crecimiento de algunos progenitores.

- **Células productoras de insulina procedentes de células madre embrionarias (CME).**

Las CME pueden ser inducidas para diferenciarse en diversas líneas celulares a través de varios tipos de protocolos. Las células β se desarrollan a partir del endodermo primigenio del intestino superior, por lo que un grupo de señales intra y extracelulares crea las pautas definitivas de desarrollo y obtenemos el endodermo pancreático definitivo.

Sin embargo, como en la mayoría de aplicaciones comentadas, el uso de células madre embrionarias está volviéndose polémico y éticamente incorrecto, ya que para obtener dichas células tenemos que generar embriones con este único fin. Aparte de esta controversia y a pesar del alto potencial para diferenciarse en células productoras de insulina, también presentan un alto potencial para originar teratomas cuando son trasplantadas.

- **Células madre adultas hematopoyéticas en el tratamiento de la *diabetes mellitus I*.**

Como ya se ha comentado, las estrategias para curar la diabetes se han orientado a frenar la destrucción por autoinmunidad de las células β o bien conseguir restaurar la masa celular perdida.

En la *diabetes mellitus* tipo 1 se han llevado a cabo ensayos clínicos con el fin de frenar la actividad autoinmunitaria mediante el uso de fármacos inmunomoduladores como la ciclosporina, corticoides o azatioprina, pero el tratamiento con insulina seguía siendo necesario en la mayoría de los pacientes.

El trasplante autólogo de células madre hematopoyéticas se ha usado ampliamente en enfermedades autoinmunes como el lupus o la esclerosis, lo que hace que también se pueda pensar en aplicarlo en la diabetes. El objetivo sería generar una nueva población de linfocitos tolerantes, después de haber eliminado los autorreactivos. Tras quedar en un segundo plano el trasplante de islotes pancreáticos, está cobrando más fuerza la generación de células β a partir de células madre embrionarias o adultas, entre las que nos encontramos a las células madre hematopoyéticas.

Dos estudios realizados en base a esta teoría han mostrado resultados positivos acerca del trasplante autólogo de células. En el primero de ellos, el protocolo de

tratamiento era el mismo empleado para otras enfermedades autoinmunes. Primero se estimularía la formación y migración de las células madre a sangre periférica mediante la administración rhCSFG(Neupogen®), factor estimulante de granulocitos, ya que estos van a romper las uniones de las células madre presentes en el endotelio, promoviendo su salida a la corriente sanguínea. Una vez extraídas se conservan por criopreservación hasta que vuelvan a ser reinfundidas al paciente.

Tras un seguimiento de 18 meses, 13 pacientes no requirieron tratamiento con insulina y mostraron unos valores de HbA_{1C} inferiores al 7%. Sin embargo, los pacientes desarrollaron las complicaciones típicas derivadas del tratamiento inmunosupresor: neumonía, hipotiroidismo e insuficiencia renal.

En el segundo estudio, se realizó un trasplante autólogo de células madre de la médula ósea a 12 pacientes pero no se les aplicó un tratamiento inmunosupresor. Las células madre extraídas de la cresta iliaca se inyectaron directamente a la circulación pancreática. Tras 6 meses, 4 pacientes no precisaron insulina y 5 redujeron la dosis casi al 50%, no describiéndose efectos adversos.

La principal teoría que se barajaba es que las células implantadas se diferencian a células productoras de insulina mejorando la función de las células β y disminuyendo la necesidad de insulina. No obstante, estudios posteriores no han podido asegurar totalmente que las células madre hematopoyéticas se transformen en células productoras de insulina, siendo diferente la actuación de las mismas en páncreas lesionados y no lesionados.

- **Células madre mesenquimales en la regeneración del tejido pancreático.**

Una de las alternativas en la regeneración del tejido pancreático es la utilización de células madre mesenquimales, ya que en estudios recientes se ha visto que la implantación de éstas reduce los niveles de glucosa a través de efectos paracrinos en lugar de a través de la diferenciación directa en células productoras de insulina, además de tener efectos inmunomoduladores.

Las células madre mesenquimales obtenidas de médula ósea están siendo estudiadas actualmente por su capacidad inmunomoduladora y regenerativa. Hasta la fecha, se han usado para mejorar el injerto de islotes pancreáticos mediante la supresión

del daño inflamatorio y el rechazo inmune. Además, proporcionan un microambiente adecuado para su crecimiento mediante la secreción de factores paracrinos.

La combinación de los efectos inmunomodulador (o inmunosupresor) junto con la regeneración de tejidos le confiere una potente significancia clínica, lo que justifica que actualmente constituya una terapia prometedora para la DMI (figura 2).

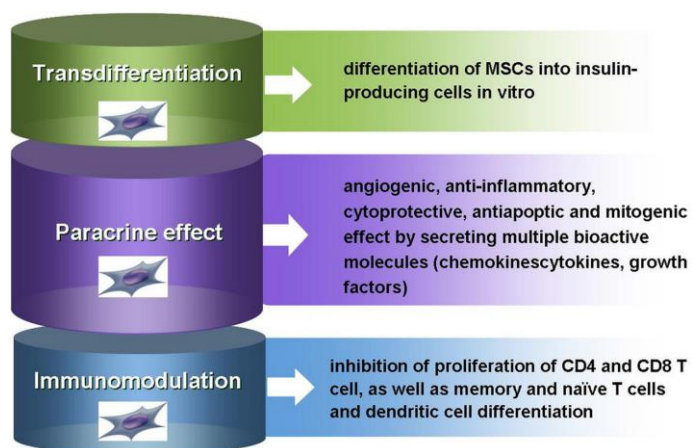


Figura 2. Propiedades de las CMM en el tratamiento de la DMI

Por otro lado, ensayos clínicos en desarrollo evalúan la eficacia de las células madre mesenquimales como injerto para mejorar la supervivencia de los islotes trasplantados como una posible prevención de las complicaciones tanto de la *diabetes mellitus* tipo 1 y la tipo 2, lo que sería posible gracias a su efecto inmunomodulador y su capacidad de generar células productoras de insulina.

Una de las posibles estrategias para tratar la DMI sería mediante la inducción de la diferenciación de las células madre mesenquimales a células productoras de insulina in vitro, a través del uso de factores de crecimiento y un microambiente favorable para la diferenciación. Los científicos están trabajando en este campo con el fin de conocer el mecanismo mediante el cual las células madre mesenquimales pueden diferenciarse a células productoras de insulina. La administración sistémica de estas células a modelos animales ha demostrado un incremento de la masa de células β así como una reversión de la hiperglucemia.

El primer ensayo clínico con células madre mesenquimales se realizó en 1995. En el presente hay en marcha 352 ensayos clínicos, entre ellos para el infarto agudo de miocardio, esclerosis lateral amiotrófica o para enfermedades autoinmunes. En un estudio en marcha en fase II, se les administró a los pacientes células madre mesenquimales del cordón umbilical (localizadas en la gelatina de Wharton), a través de la arteria

pancreática. Esta administración restauró la función de los islotes con un mecanismo del que, hoy por hoy, se desconoce su funcionamiento.

Son muchas las formas de administración y variaciones en la terapia celular con células madre mesenquimales, pero con unos mecanismos de acción y regeneración tisular desconocidos que aún deben ser investigados en profundidad.

4.3. Tratamiento de enfermedades neurodegenerativas [14] [15] [16]

En un principio se planteó la terapia celular como una terapia regenerativa con el fin de que sustituyeran a las células perdidas. Ahora mismo su uso se enfoca gracias a su capacidad inmunomoduladora y acción paracrina sobre el tejido afectado.

En varios modelos animales con enfermedades neurodegenerativas y lesión medular se demostró que tienen la capacidad de integrarse en el tejido del huésped, diferenciarse y reemplazar parcialmente el tejido dañado, mejorando los defectos funcionales. Estos efectos positivos no serían posibles sin el efecto paracrino, que hace que se secreten factores de crecimiento/antiapoptóticos que inducen la regeneración del tejido con sus propias células.

Además ejercen un efecto inmunosupresor sobre la inmunidad innata lo que disminuye la actividad de los macrófagos y la actividad de las interleucinas a través de antagonistas, lo que bloquea la señal inflamatoria.

Aunque dichas estrategias de terapia celular se diseñaron inicialmente con la finalidad de reemplazar las células muertas en el tejido lesionado, el potencial de las células madre para migrar, secretar factores tróficos e inmunomodular permite en la actualidad su uso terapéutico como vehículo para la terapia génica, como en el caso de la enfermedad de Parkinson, o como inmunomoduladores y neuroprotectores, como es el caso de la esclerosis múltiple.

4.3.1. Neurogénesis del cerebro adulto

La neurogénesis es un proceso complejo que se lleva en un gran número de etapas, como son la proliferación de células madre y su descendencia, la migración, la diferenciación, la supervivencia de las nuevas neuronas producidas, así como la integración de éstas en los circuitos neuronales existentes.

La creencia de que el cerebro era incapaz de regenerar nuevas neuronas fue dejándose de lado desde que en un estudio realizado por Joseph Altman, demostró la existencia de células en división en algunas áreas del cerebro postnatal y adulto de rata. Posteriormente, en los años noventa, la zona subventricular (ZSV) de ratón se identificó como una región del cerebro con gran cantidad de células madre y precursores neuronales. Las células allí producidas llegaban hasta el bulbo olfatorio, donde daban lugar a las nuevas neuronas.

Esta neurogénesis demostrada en mamíferos inferiores como los roedores, también se ha podido confirmar en primates e incluso en humanos (hipocampo y ZSV). Este nuevo descubrimiento supuso un posible tratamiento esperanzador para las enfermedades neurodegenerativas. La formación de nuevas neuronas es un proceso que se puede tomar como un tratamiento de reemplazo neuronal en las enfermedades neurodegenerativas y para aquellas asociadas a una pérdida neuronal selectiva, diversos trastornos neurológicos y psiquiátricos.

4.3.2. Esclerosis múltiple

La esclerosis múltiple es una enfermedad neurodegenerativa en la que la mielina del sistema nervioso central se destruye por acción del sistema inmunitario. En diversos estudios se ha planteado el trasplante de distintos tipos celulares como terapia regenerativa y con el fin de inducir la remielinización.

La implantación de células precursoras de oligodendrocitos demostró una eficacia limitada ya que, a pesar de regenerar la mielina, en zonas lejanas al trasplante no se observó apenas acción. Por otro lado, la inoculación de células hematopoyéticas, neurales o mesenquimales supuso un avance clínico importante.

Estas células localizaban los focos de inflamación y mientras que una porción de las células se diferenciaban e integraban en el tejido afectado, otras permanecían indiferenciadas contribuyendo a la regeneración mediante la liberación de factores tróficos, citoprotectores e inmunomoduladores.

El trasplante autólogo de células madre hematopoyéticas se ha empleado en diversos estudios. En un estudio con pacientes con esclerosis múltiple secundariamente progresiva, una vez se eliminaban las células responsables de la reacción autoinmune, se trasplantaban las células hematopoyéticas con el fin de restablecer el sistema inmunitario.

En el 75% de los pacientes se observó una mejoría de la enfermedad y una reducción de los brotes clínicos.

En la actualidad se están realizando ensayos clínicos en fase I y II con células madre mesenquimales alogénicas, con la obtención de datos de seguridad y eficacia bastante satisfactorios. Esto puede ser debido al mecanismo inmunomodulador de las células mesenquimales a nivel periférico y a su capacidad de neuroprotección y regeneración del tejido por la liberación de factores tróficos.

Sin embargo, el poder considerar el tratamiento de la esclerosis múltiple con células madre como satisfactorio depende en gran medida de la fase de la enfermedad en la que se encuentren. En fases iniciales, donde hay un alto grado inflamatorio se relaciona con una remisión de la enfermedad, mientras que tratando a los pacientes en fases más progresivas no logramos detener el avance de la enfermedad por completo debido a la presencia del componente neurodegenerativo.

La falta de protocolos estandarizados en los ensayos clínicos y los cortos periodos de seguimiento, así como el número reducido de pacientes, unido a lo anterior, hace que los datos que se tienen hasta ahora sean apenas concluyentes.

4.4. Otras aplicaciones de las células madre mesenquimales [17] [18]

[19] [20]

En los últimos años el estudio de las células madre mesenquimales ha cobrado fuerza frente a las embrionarias y las adultas. El interés por las células madre mesenquimales surgió en los años 70 con el fin de conocer su papel en la formación del estroma hematopoyético. Actualmente, se ha demostrado el amplio potencial de diferenciación de estas células hacia tejidos neuronales y musculares.

Se localizan principalmente en la médula ósea y se caracterizan por ser capaces de dar lugar a fibroblastos medulares, adipocitos, condrocitos y osteoblastos. Son multipotentes y con gran capacidad de autorenovación, teniendo aparte otras ubicaciones como son el tejido adiposo, el musculo esquelético, el líquido amniótico y la sangre del cordón umbilical. Las células madre mesenquimales presentan en su superficie marcadores característicos como CD105, CD73 y CD90.

4.4.1. Aplicación de las células madre mesenquimales en enfermedades autoinmunes

Las enfermedades autoinmunitarias son un grupo de trastornos inmunes en los cuales existe un fallo en la tolerancia del sistema defensivo del organismo frente a los antígenos propios sin una causa evidente. Como consecuencia, presenta una hiperactivación de la respuesta inmunitaria, derivándose en un estado de inflamación crónica y un importante daño multiorgánico. Esta situación puede ser debida a una predisposición genética sobre la que actúan factores hormonales y ambientales, produciendo el consecuente fallo en alguno de los mecanismos de tolerancia inmunitaria, reaccionando frente a células y tejidos propios.

La tolerancia inmunológica es el reconocimiento por parte del sistema inmunitario de los antígenos propios, lo que hace que se pueda destruir los elementos extraños. Las células B y T se someten a este reconocimiento específico, primero en médula ósea y timo, respectivamente, durante la gestación y en la periferia durante la vida postnatal, eliminándose a ambos niveles las células autorreactivas mediante apoptosis o inducción de anergia.

El mantenimiento de la tolerancia inmunitaria se consigue gracias a que cada mecanismo filtra los errores producidos en las etapas anteriores, por lo que un fallo en estos mecanismos justifica la aparición de enfermedades autoinmunitarias.

La mayoría de los tratamientos actuales ejercen una acción inmunodepresora, bien actuando específicamente sobre un único factor, como el TNF, o bien de forma inespecífica, como los glucocorticoides. Estos tratamientos no distinguen entre respuesta inmunitaria fisiológica/protectora o patológica, aumentando el riesgo de infecciones oportunistas. La terapia celular, gracias a las propiedades inmunomoduladoras de las células madre mesenquimales, constituye una alternativa para el tratamiento de este grupo de enfermedades.

4.4.2. Función inmunomoduladora

Las CMM expresan en su superficie moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad clase I, pero no de clase II ni moléculas de coestimulación (CD40, CD40-ligando, CD80, CD86) características que se conservan cuando se completa su maduración. El fenotipo descrito hace que pasen desapercibidas para el sistema inmunitario y, en caso de ser reconocidas, las capacita para inducir anergia celular ante la

ausencia de moléculas coestimuladoras en su superficie; esto justifica el bajo riesgo de rechazo relacionado con su empleo, independientemente del origen.

Son capaces de regular la acción de la mayoría de las células implicadas en el sistema inmunitario, generalmente inhibiendo su proliferación y la producción de citoquinas proinflamatorias, anticuerpos y mediadores citotóxicos, así como estimulando una respuesta antiinflamatoria y tolerancia inmunológica.

Muy recientemente estas CMM se están utilizando como fábrica de fármacos con los que combatir los procesos inflamatorios. Estas células pueden modificarse para que incorporen unas instrucciones genéticas en su interior (una secuencia específica de ARNm) que, una vez en el interior de las células madre favorece la producción y liberación de IL – 10, citoquina que previene la inflamación.

También están siendo ensayadas, mediante la tecnología Nur – Own™, en trasplante autólogo de pacientes con esclerosis lateral amiotrófica (ELA) tras su diferenciación a células secretoras de factores neurotróficos y su posterior trasplante en o cerca del lugar donde existe daño.

Así mismo, se han utilizado como alternativa a la terapia celular, tras su obtención de tejido adiposo en la producción de órganos artificiales en el laboratorio tras la descellularización y resiembra con condrocitos procedentes de células mesenquimales adiposas propias, creando así una tráquea artificial para trasplantar a un paciente con insuficiencia respiratoria con daños en su tráquea.

5. Discusión

La terapia celular constituye actualmente una solución novedosa, eficaz y sin apenas reacciones adversas para un gran grupo de enfermedades. Pero para poder conocer todos los aspectos tanto positivos como negativos, de esta terapia es necesario el desarrollo de ensayos clínicos, que al menos pudiera llegar a las fases más avanzadas. Hasta el 2011 había 3400 ensayos clínicos en desarrollo, siendo la gran mayoría con células madre hematopoyéticas y más de 140 con células madre mesenquimales. Es un dato importante, ya que en el año 2000 únicamente existía un ensayo con células mesenquimales.

Junto con el cardiovascular, el campo que más beneficio ha obtenido es el de la medicina reconstructiva y traumatología, como es el caso de la osteoartritis. A todo esto debemos sumarle el importante papel que está suponiendo, tanto el uso de células madre mesenquimales como células madre adultas, en el tratamiento de enfermedades autoinmunes, enfermedades neurológicas o la diabetes.

En 2014, Chung et al obtuvieron células madre embrionarias via transferencia nuclear de células somáticas (NT – ESCs) a partir de fibroblastos de la piel de dos varones adultos. Ese mismo año, Egli et al consiguieron obtener células madre embrionarias (CME) a partir de células somáticas de una mujer de 32 años con diabetes tipo 1. Las células se diferenciaron, además de neuronas y células duodenales, a células pancreáticas productoras de insulina.

Con el avance de los conocimientos de Terapia Celular surge la “**Reprogramación directa**”, que permite obtener un tipo de células diferenciadas directamente a partir de otro tipo de células diferenciadas sin pasar por la fase embrionaria ni tan siquiera por la fase de iPS. En 2008 se reprogramó in vivo células adultas de ratón (células exocrinas de páncreas) transformándolas directamente en células beta pancreáticas capaces de producir insulina mejorando la condición de hiperglucemia de los ratones diabéticos.

En 2010 se convirtieron directamente fibroblastos en neuronas inducidas (iN). Éstas expresan múltiples proteínas específicas de neurona, generan potenciales de acción y forman sinapsis funcionales. La generación de estas células in podría tener importantes implicaciones tanto en el desarrollo neural como en el diseño de modelos de enfermedades neurológicas y de la Medicina Regenerativa.

En noviembre del 2010 se logró la conversión directa de fibroblastos humanos en células progenitoras hematopoyéticas abriendo una puerta a una futura aplicación clínica en la terapia celular autóloga sin pasar por la fase pluripotente de iPS.

Estos datos hacen que las células madre se estén convirtiendo en potenciales tratamientos no solo para enfermedades regenerativas, sino para cualquier tipo de enfermedad o patología. Solo queda ver si los resultados se corresponden con las teorías esperanzadoras.

6. Conclusiones

1. En el presente trabajo de fin de grado se ha recopilado el estado actual de las investigaciones y aplicaciones farmacológicas más estudiadas de las Células Madre y su posible utilización con fines terapéuticos.
2. El avance y desarrollo de la terapia génica y la medicina regenerativa ha hecho que en estas últimas décadas la terapia celular se convierta en un referente y en una opción terapéutica a considerar.
3. Actualmente el trasplante autólogo o heterólogo de médula ósea y los implantes de piel autóloga son uno de los ejemplos en los que las células madre han demostrado una gran eficacia, realizándose de manera habitual en la práctica clínica.
4. Aun debemos esperar, sin embargo, a los resultados de los ensayos clínicos que se encuentran en curso, para poder conocer el alcance real de los efectos beneficiosos de las células madre.
5. Como conclusión final, hay que tener en cuenta la “Reprogramación directa” como nuevo y esperanzador campo para la Medicina Regenerativa.

7. Bibliografía

- [1]. Izarra A, Diez – Juan A, Bernad A. Células madre y corazón. En: Medicina regenerativa y células madre. 1ª Ed. Madrid: Catarata; 2010. p. 121-144.
- [2]. Loubinoux I, Demain B, Davoust C, Plas B, Vaysse L. Stem cells and motor recovery after stroke. *Annals of Physical and Rehabilitation Medicine*. 2014; 57: 499–508.
- [3]. Fernández Avilés F, de la Fuente Galán L. Capacidad regenerativa de las células de la médula ósea autólogas después de un infarto agudo de miocardio. *Rev Esp Cardiol*. 2005; 58(Supl 2): 27-31.
- [4]. Aplicaciones de la terapia reparativa en las enfermedades cardiovasculares. *Cardiocre*. 2011; 46(1): e13-e16.
- [5]. Sánchez García A, García Sancho J. Reparación cardíaca con células madre. En: Células madre y terapia regenerativa. 1ª Ed. Madrid: 2009. p. 259-276.
- [6]. Estadísticas sobre enfermedades cardiovasculares de la OMS <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/es/>
- [7]. Prosper Cardoso F, Herreros Gonzalez J, Alegria Ezquerro E. Utilización de células madre para la regeneración miocárdica en la insuficiencia cardíaca. *Rev Esp Cardiol*. 2003; 56 (10): 935 - 939.
- [8]. Avilés F, San Román J, et al. Regeneración miocárdica mediante la implantación intracoronaria de células madre en el infarto agudo de miocardio. *Rev Esp Cardiol*. 2004; 57(3): 201 – 208.
- [9]. Soria Escoms B. Terapia celular en la diabetes mellitus. En: Células madre y terapia regenerativa. 1ª Ed. Madrid: 2009. p. 277-297.
- [10]. Montanya E. Trasplante de células madre hematopoyéticas en la diabetes tipo 1. *Endocrinol Nutr*. 2007; 54(10): 509-511.
- [11]. Mesples AD, Pretiñe B, Bellomo R. Tratamiento de la diabetes mellitus tipo 1 con

implante pancreático de células madre autólogas. *Endocrinol Nutr.* 2007; 54(10): 512-518.

[12]. Katuchova J, Harvanova D et al. Mesenchymal Stem Cells in the Treatment of Type 1 Diabetes Mellitus. *Endocr Pathol.* 2015; 26(2): 95-103.

[13]. Aali E, Mirzamohammadi S, Ghaznavi H et al. A comparative study of mesenchymal stem cell transplantation with its paracrine effect on control of hyperglycemia in type 1 diabetic rats. *Journal of diabetes & metabolic disorders.* 2014; 13:76.

[14]. De Pablo Dávila F. Células madre neurales, neurogénesis y neuroprotección. En: *Células madre y terapia regenerativa.* 1ª Ed. Madrid: 2009. p. 101-130.

[15]. Costa C, Comabella M, Montalbán X. Tratamiento de enfermedades neurológicas basado en células madre. *Med Clin (Barc).* 2012; 139(5): 208-214.

[16]. Sirelol – Piquer MS, García Verdugo JN. Células madre y neurogénesis en el cerebro adulto. *Medicina regenerativa y células madre.* 1ª Ed. Madrid: Catarata; 2010. p. 79 – 104.

[17]. Glenn JD, Whartenby KA. Mesenchymal stem cells: Emerging mechanisms of immunomodulation and therapy. *World J Stem Cells.* 2014, November 26; 6(5): 526-539.

[18]. Sánchez Berná I, Santiago Díaz C, Jiménez Alonso J. Acción inmunomoduladora de las células madre mesenquimales en las enfermedades autoinmunitarias. *Med Clin (Barc).* 2015; 144(2): 88-91.

[19]. Arevalo Romero J, Paez Guerrero D, Rodríguez Pardo V. Células madre mesenquimales: características biológicas y aplicaciones clínicas. *Nova.* 2007; 5: 177 – 185.

[20]. Flores – Figueroa E, Montesinos J.J, Mayani H. Células troncales mesenquimales: historia, biología y aplicación clínica. *Revista de investigación clínica.* 2006; 58: 498 – 511.

Otras fuentes bibliográficas que han servido para redactar el trabajo y recopilar información:

- Barquinero J, Pellicer M, Pétriz J. Aplicaciones terapéuticas de las células madre. *Med Clin (Barc).* 2005; 124: 504 – 511.

- García Olmo D, García Arranz M. Células para curar. *Del corazón al todo.* *An Pediatr (Barc).* 2011; 74(4): 215-217.

- Chung, Y.G. et al. Human somatic cell nuclear transfer using adult cells. *Cell Stem Cell* 14, 1 – 4 (2014).

- Soriano Felipe X, Guerrero Espejo A, Bonanad Boix S. Clonacin y células madre. *Med Clin (Barc.)* 2004; 122: 150 – 154.

- Yamada M, Egli D et al. Human oocytes reprogramm adult somatic nuclei of a type 1 diabetic to diploid pluripotent stem cells. *Nature.* 2014. doi: 10.1038/nature13287.

- Ma H, Morey R et al. Abnormalities in human pluripotent cells due to reprogramming mechanisms. *Nature.* 2014; 511: 177-183.

- Zhou Q, Brown J, Kanarek A, Rajagopal J, Melton D.A. In vivo reprogramming of adult pancreatic exocrine cells to β – cells. *Nature.* 2008; 455: 627 – 632.

- Vierbuchen T, Ostermeier A, Pang Z.P., Kokubu Y, Sudohf T.C, Wernig M. Direct conversion of fibroblasts to functional neurons by defined factors. *Nature online.* 2010. doi: 10.1038/nature08797.

- Szabo E, Rampalli S et al. Direct conversion of human fibroblasts to multilineage blood progenitors. *Nature online.* 2010. doi: 10.1038/nature09591.

- Victor M.B, Yoo A.S et al. Generation of human striatal neurons by microARN dependent direct conversion of fibroblasts. *Neuron.* 2014; 84: 311 – 323.

- Tachibana M, Woll D et al. Human embryonic stem cells derived by somatic cell nuclear transfer. *Cell.* 2013; 153: 1 – 11.

- Barrero M.J, Izpisúa Belmonte J.C. Retos de la medicina regenerativa. *Investigación y ciencia.* Nov 2012; 434: 56 – 63.

- Lopez Barneo J. Aplicaciones terapéuticas de las células madre, ¿mito o realidad?. *Transatlántica de educación.* Dic 2007; 3: 75 – 81.

- Arranz L, Sanchez Aguilera A, Martin Perez D et al. Neuropathy of haematopoietic stem cell niche is essential for myeloproliferative neoplasms. *Nature.* 2014. doi: 10.1038/nature13383

- Ruggieri M, Riboldi G et al. Induced neural stem cells: Methods of reprogramming and potencial therapeutic applications. *Progress in neurology.* 2014; 114: 15 – 24.