

## ACTUALIZACION

### Stem Cells: Proyecciones en Ingeniería en Tejido

Victoria Lechner<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Universidad San Sebastián, Facultad Medicina, Puerto Montt, Chile.

<sup>2</sup>Departamento de Cirugía Pediátrica y Cirugía Experimental de la Clínica Quirúrgica I, ZOM, Facultad de Medicina, Bayerische Julius-Maximilians-Universität Würzburg, Alemania.

#### Resumen

Células Madre o Stem Cells se definen como células con capacidad de clonación y auto renovación que se diferencian hacia múltiples linajes celulares. El término de *totipotencialidad* está reservado para aquellas Células Madre con capacidad ilimitada, que pueden dar origen a todos los tejidos diferenciados del cuerpo humano, junto a la placenta y membranas ovulares. Los términos *multipotente* y *pluripotente* son esencialmente sinónimos refiriéndose a la habilidad de diferenciarse hacia múltiples linajes celulares del organismo.

Este proceso ha abierto una nueva alternativa terapéutica que se conoce como Ingeniería en Tejido la cual abre paso a la investigación, posibles vías terapéuticas de estudio, tales como la terapia celular, utilización de las células madre en la regeneración de tejido, aprovechando el proceso natural de renovación celular para reparar tejidos dañados o suplir algunos tejidos ausentes.

**Palabras clave:** Células Madre, Ingeniería en Tejido, Renovación Celular.

#### Introducción

Hasta hace unos años, el concepto de "*Stem Cells*" era desconocido. Actualmente se presume que en USA más de 128 millones de personas podrán ser beneficiadas con este nuevo concepto en biomedicina (1).

A lo largo de la vida de un organismo, las células que forman los tejidos, ya sea de manera natural o por una enfermedad aguda o crónica, sufren desgaste y se degeneran. La demanda de estrategias terapéuticas en la regeneración de

tejidos ha ido en los últimos años en constante ascenso, considerando especialmente un aumento significativo en el número de adultos mayores a los cuales se suman enfermedades músculo y neurodegenerativas, junto con la limitación en el número de donación de órganos y complicaciones inmunológicas. Específicamente en el ámbito de la Pediatría, los niños que nacen con malformaciones de la pared abdominal – Onfalocela y Gastrosquisis- podrían verse beneficiados con los trasplantes autólogos de células madre mesenquimáticas, como restitución del tejido ausente abriendo un nuevo horizonte en la investigación científica.

Un nuevo campo científico se forma dentro de la biomedicina. Biólogos, bioquímicos, ingenieros y médicos cirujanos trabajan en conjunto en la generación de nuevos tejidos y órganos. Esta nueva disciplina se denomina "Ingeniería en Tejido". Esta bioingeniería tiene además por objetivo el cultivo de tejidos humanos para sustituir un tejido dañado o perdido, basándose en la capacidad de autoregeneración celular, combinando el uso de factores de crecimiento específico para cada linaje celular (2). Para esto pueden usarse tejidos autólogos –derivados del mismo paciente– o alogénico –misma variedad celular, distinto paciente–.

#### Definición y tipo de stem cells:

Células Madre o *Stem Cells* son el origen de la vida. Se definen como células con capacidad de clonación y auto renovación que se diferencian hacia múltiples linajes celulares (3).

Desde el momento de la fecundación una única célula tiene la capacidad de diferenciarse y especializarse hasta formar un tejido embrionario o adulto (4). Cuando el cigoto ha llegado al periodo

bicelular experimenta una serie de divisiones mitóticas que producen un incremento en el número celular. Estas células que se tornan cada vez más pequeñas en cada división segmentaria se denominan blastómeras, las cuales se compactan. Tres días después de la fecundación, aproximadamente, las células del embrión compactado vuelven a dividirse para formar una mórula, en la cual sus células centrales constituyen la masa celular interna (5). Bajo óptimas condiciones, células de la masa celular interna del blastocito preimplantado son capaces de proliferar indefinidamente (6), mientras que el proceso natural es la pérdida de potencial y la especialización de funciones lo cual se conoce con el nombre de *determinación*, considerándose un proceso unidireccional en la embriología.

El término de *totipotencialidad* está reservado para aquellas Células Madre con capacidad ilimitada, que pueden dar origen a todos los tejidos diferenciados del cuerpo humano, junto a la placenta y membranas ovulares. Los términos *multipotente* y *pluripotente* son esencialmente sinónimos refiriéndose a la habilidad de diferenciarse hacia múltiples linajes celulares del organismo.

Las células especializadas del adulto que pueden dar origen a ovario y espermatozoide se conocen como células germinales, las cuales mantienen su totipotencialidad (3).

Las Células Madre de mamíferos se clasifican de la siguiente manera:

Células Madre Embrionarias  
Células Madre Germinales  
Células Progenitoras Somáticas y de Renovación Celular Normal  
Células Madre Hematopoyéticas

### **Células Madre Embrionarias:**

Derivadas de la masa celular interna del blastocito preimplantado con totipotencialidad. En la vida intrauterina su división y diferenciación conlleva a formar tejidos del embrión y posteriormente tejidos especializados. *In vitro*, bajo condiciones óptimas es posible el cultivo celular hacia diferentes tipos celulares.

El término Células Madre Mesenquimales (MSC) se refiere a células progenitoras multipotentes con el potencial de diferenciarse hacia progenie celular mesenquimal: fibroblastos, músculo, hueso, tendón, ligamentos y tejido adiposo. Las MSC adultas se pueden aislar de tejido muscular, piel, tejido adiposo y médula ósea, por lo que su clasificación entre células madre embrionarias o hematopoyéticas queda sujeto a discusión (3). Cabe destacar que no expresan marcadores típicos de linajes celulares hematopoyéticos (CD14, CD34 y CD45) según su análisis inmunofenotípico (7).

### **Células Madre Germinales:**

Tempranamente en la embriogénesis, las células germinales se localizan en las crestas germinales las cuales migran hacia las gónadas primitivas, diferenciándose en células germinales masculinas o femeninas.

Estudios iniciados en 1970 con trasplante de células germinales demostró su pluripotencia y tumorigenicidad. Stevens (1970) transplantó células de las crestas germinales de ratones con 21 días de vida fetal hacia testículos de ratón singénico adulto, produciendo teratocarcinomas. Teratocarcinomas son cánceres con múltiples linajes celulares, pudiendo contener todos los elementos celulares de un tejido adulto como placenta y saco vitelino.

Durante un desarrollo normal, el blastocisto es capaz mediante mensajeros intra y extracelulares controlar completamente la diferenciación de estas células (8).

### **Células Progenitoras Somáticas y de Renovación Celular Normal:**

Las células de un adulto normal son continuamente reemplazadas. Esta sustitución es mediada por proliferación de células progenitoras o *transit-amplifying cells*. Éstas tienen por función estimular los componentes y el proceso mitóticos de las células somáticas, ya diferenciadas mediante señales internas y externas que regulan el inicio de la diferenciación celular (9). Ejemplo de ellas encontramos en múltiples órganos y tejidos como son hueso, médula ósea, cerebro, epidermis,

sangre, hígado, ojos, intestino, páncreas, y sistema músculo-esquelético (10).

### Células Madre Hematopoyéticas:

La sangre es uno de los tejidos con mayor rapidez en el recambio celular (11). Las células madre hematopoyéticas (HSC) están localizadas en la médula ósea (MO). En condiciones fisiológicas ésta produce aproximadamente 3.0 billones de eritrocitos y plaquetas y 1 billón de granulocitos x kg peso/día en el adulto sano.

En la MO el compartimiento de células más primitivo e inmaduro está compuesto por células troncales pluripotenciales con capacidad continua de autorreplicación y diferenciación hacia distintos linajes celulares, con función de reserva funcional (12). El número de células progenitoras hematopoyéticas en proceso de proliferación se estima 0,05% del total celular de MO (13). Un segundo compartimiento menos primitivo, más maduro esta conformado por progenitores uni o bipotenciales con capacidad de diferenciación restringida a líneas celulares individuales y bien definidas y con limitada capacidad de autorenovación. Finalmente existe un compartimiento, cuantitativamente predominante, constituido por células precursoras ya diferenciadas, sin capacidad de autorenovación, y por su progenie en proceso de maduración final o de almacenamiento en la MO, antes de salir a la circulación (12).

El descubrimiento de las HSC en el año 1963 en la MO de ratón abre camino para las actuales investigaciones científicas (14). Investigaciones recientes confirman que la MO no solo contiene HSC pluri/multipotentes, además posee células con capacidad de circular hacia otros órganos y regenerar tejidos no hematopoyéticos (15). Secundario a un transplante de MO, las células de la MO donante contienen stem cells primitivas toti/multipotentes, que pueden dar origen a células circulantes que tienen potencial de diferenciación hacia endotelio (16, 17, 18), músculo (19), hígado (20, 21), células  $\beta$  islotes pancreáticos (22, 23), músculo cardíaco (24, 25), cerebro (26, 27), neumocitos tipo I y II (28), riñón (29), retina (28), células del mesangio glomerular (30) entre otros (28). Cabe destacar que la capacidad de la MO de diferenciación depende de variables como la

edad del donante y el método de purificación para las células madre.

### Proyecciones en ingeniería en tejido

Uno de los mayores problemas que plantean las terapias de transplante son los inmunológicos, que acaban con el rechazo del injerto. Está demostrado que un injerto es rechazado porque existe reconocimiento de los linfocitos T citotóxicos a moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de clases I y II, expresadas en la superficie celular. Recientemente se han encontrado niveles bajos de expresión de estas moléculas en células madre embrionarias humanas, y aunque aumentan al diferenciarlas *in vitro*, no alcanzan los niveles observados en el transplante de órganos enteros (31).

Para los trasplantes autólogos en ingeniería en tejido, deben existir dos componentes: células diferenciadas y matriz biocompatible. Como requisitos necesarios se encuentran el aislamiento y selección de células órgano-específicas a las cuales se les administran factores de crecimiento celular y condiciones físicas óptimas para su cultivo como son temperatura, presión parcial de oxígeno y dióxido de carbono, pH, recambio del medio de cultivo y eliminación de metabolitos. La matriz biocompatible es la responsable de la estabilidad y el crecimiento espacial del tejido, teniendo fundamental importancia la interacción entre ambos, la capacidad de maduración y proliferación celular, y producción de matriz extracelular (32).

Dentro de los estudios que se abren actualmente camino en la Cirugía Pediátrica y Cirugía Fetal se encuentra la utilización de este material biocompatible y sus células diferenciadas como alternativa de implantación para suplir los defectos anatómicos del cierre de la pared abdominal en recién nacidos, espina bífida, hernia diafragmática congénita, entre otros como una forma de mejorar la sobrevivencia y calidad de vida futura de nuestros recién nacidos.

### Referencias

1. Kirschstein R, Skirboll LR, Stem Cells: scientific progress and future directions. National Institute of Health. 2001, NIH, Bethesda.

2. Köbbling M, Estrov Z, Adult Stem Cells of Tissue Repair – A new Therapeutic Concept? *N. Engl J. Med.* 2003; 349:570-83.
3. Stewart Sell, Stem Cells, Stem Cells: What are They? Where do they come from? Why there here? When do they go wrong? Where are they going? Ed. Humana Press Inc., Totowa, New Yersey 07512, 2004; 1-19.
4. Langman, Embriología Médica. Formación del blastocisto. Editorial Médica Panamericana. 2001; 41.
5. Evans M, Kaufman M, Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature*1981;292:154-156.
6. Ringer J, Kaps C, Stem Cells for regenerative medicine: advances in the engineering of tissue and organs. *Neurowissenschaften* 2002;89:338-351.
7. Bianco P., Riminucci M., Gronthos S., Robey PG, Bone marrow stromal stem cells: nature, biology, and potential application. *Stem Cells* 2001;19:180-192.
8. Mintz, B., Illmensee, K., Normal genetically mosaic mice produced from malignant teratocarcinomas cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1975;72:3583-3589.
9. Sell, S., Pierce, G.B., Maturation arrest of stem cell differentiation is a common pathway for the cellular origin of teratocarcinomas and epithelial cancers. *Lab. Invest.* 1994;70:6-22.
10. Aboody KS et al., Neural stem cells display extensive tropism for pathology in adult brain: evidence from intracranial gliomas. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2000;97:12846-12851.
11. Reya, T., Morrison, S.J., Clarke, M.F., Weissman, I.L., Stem Cells, cancer and cancer Stem Cells. *Nature* 2001;414:105-111.
12. Mezzano, D., Fisiología de la sangre. en Mezzano D., Hematopoyesis. Ediciones Universidad Católica, 1993;11-35.
13. Goodell, M.A., Brose, K., Paradis, G., Conner, A.S., Mulligan, R.C., Isolation and function properties of murine hematopoietic stem cells that are replicating in vitro. *J. Exp. Med.* 1996;183:1797-1806.
14. Siminovitch L., McCulloch E.A., Till J.E., The distribution of colony-forming cells among spleen colonies. *J. Cell Comp Physiol.* 1963; 62:327-32.
15. Wuff, G.G., Jackson, K.A., and Goodell, M.A., Somatic stem cell plasticity: current evidence and emerging concepts. *Exp. Hematol.* 2001;29:1361-1370.
16. Choi, K., Hemangioblast development and regulation. *Biochem. Cell Biol.* 1998;76:947-956.
17. Lin, Y., Weisdorf, D.J., Solovey, A., Heibel, R.P., Origins of circulation endothelial cells and endothelial outgrowth from blood. *J. Clin. Invest.* 2000;105:71-77.
18. Rifai, S., Circulating endothelial precursors: mystery, reality and promise. *JCI* 2000;105:17-19.
19. Ferrari, G., Cusella-DeAngelis, G., Coletta, M., et al., Muscle regeneration by bone marrow-derived myogenic progenitors. *Science.* 1998;279:1528-1530.
20. Petersen, B.E., Bowen, W.C., Patrene, K.D., et al., Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science.* 1999;284:1168-1170.
21. Theise, N.D., Badve, S., Saxena, R., et al., Derivation of hepatocytes from bone marrow cells in mice after radiation-induced myeloablation. *Hepatology.* 2000;31:235-240.
22. Janus, A., Holz, G.G., Theise, N.D., and Hussain, M.A., In vivo derivation of glucose-competent pancreatic endocrine cells from bone marrow without evidence of cell fusion. *J. Clin. Invest.* 2003;111:843-850.
23. Lee, V., and Stoffel, M., Bone marrow: an extra-pancreatic hideout for the elusive pancreatic stem cells? *J. Clin. Invest.* 2003;111:799-801.
24. Jackson, K.A., Majka, S.M., Wang, H., et al., Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells. *J. Clin. Invest.* 2001;107:1395-1402.
25. Quaini, F., Urbanek, K., Beltrami, A.P. et al., Chimerisms of the transplanted heart. *N. Engl. J. Med.* 2002;346:5-15.
26. Eglitis, M.A., and Mezey, E., Hematopoietic cells differentiate into both microglia and macroglia in the brain adult mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1999;94:4080-4085.
27. Priller, J., Persons, D.A., Klett, F.F., Kempermann, G., Kreutzber, G. W., and

28. Dirnagl, U., Neogenesis of cerebellar Purkinje neurons from gene-marked bone marrow cells in vivo. *J. Cell. Biol.* 2001;155:733-738.
29. Krause, D.S., Theise, N.D., Collector, M.I., et al., Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. *Cell* 2001;105:369-377.
30. Poulosom, R., Forbes, S.J., Hodivala-Dilke, K., et al., Bone marrow contributes to renal parenchymal turnover and regeneration. *J. Pathol.* 2001;195:229-235.
31. Masuya, M., Drake, C.J., Fleming, P.A., et al., Hematopoietic origin of glomerular mesangial cells. *Blood* 2003;101:2215-2218.
32. Liechty KW, MacKenzie TC, Shaaban AF, Radu A, Moseley AM, Deans R et al. Human mesenchymal stem cells engraft and demonstrate site-specific differentiation after in utero transplantation in sheep. *Nat. Med.* 2000;6(11): 1282-6.
33. Bonassar LJ, Vacanti CA., Tissue engineering: the first decade and beyond. *J. Cell Biochem (Suppl)* 1998;30-31:297-303.