

LA APLICACIÓN CLÍNICA DE LAS CÉLULAS TRONCALES (TRASPLANTE NUCLEAR)

Fabio SALAMANCA GÓMEZ

La investigación de los últimos años ha permitido vislumbrar un impresionante potencial terapéutico mediante la manipulación de las células troncales embrionarias. Estas células pueden obtenerse de sangre del cordón umbilical o de embriones logrados mediante técnicas de fertilización *in vitro* o por procedimientos de clonación.

Estos desarrollos, por supuesto, tienen notables implicaciones éticas, pero recientemente el campo tomó un impulso inesperado al demostrarse que células adultas troncales pueden diferenciarse en tipos celulares no relacionados, o que tales células pueden obtenerse mediante procedimientos de partenogénesis.

Así, por ejemplo, las células troncales neuronales pueden dar origen a células hematopoyéticas, o las células mesenquimales troncales pueden dar lugar a células cartilaginosas, células de la médula, células grasas, células musculares, células hematopoyéticas, astrocitos y, aún más desconcertante, las células troncales de médula ósea son tan versátiles que pueden originar células musculares del corazón, del músculo estriado y del músculo liso, o células hepáticas y células cerebrales.¹

¹ Watt, F. M. y Hegan, B. L. M., "Out of Eden: Stem Cells and their Niches", *Science*, 287, 2000, pp. 1427-1430.

Un gran avance se obtuvo este mismo año, con el hallazgo de Roy y colaboradores,² quienes aislaron células troncales neuronales, activas mitóticamente, del hipocampo de sujetos humanos adultos. Las células fueron adecuadamente identificadas mediante un gen reportero unido a elementos regulatorios de genes expresados muy temprano en el desarrollo neuronal, tales como los que codifican para la nestina y la alfa-1 tubulina.

Si bien células precursoras habían sido encontradas en el cerebro de animales adultos de distintas especies, tales como ratas,³ ratones,⁴ monos⁵ e incluso en humanos,⁶ éste ha sido el primer informe de extracción selectiva de células troncales neuronales del hipocampo de sujetos humanos adultos.

Como las células troncales pueden ser obtenidas mediante clonación, existe, sin embargo, notable confusión entre este procedimiento y la aplicación terapéutica de las células troncales, que, en rigor, debiera denominarse trasplante nuclear.

Recientemente, Vogelstein y colaboradores⁷ han resumido las diferencias fundamentales entre estos dos procedimientos. Estas diferencias se incluyen en el Cuadro 1.

² Roy, N. S. et al., "In Vitro Neurogenesis by Progenitor Cells Isolated from the Adult Human Hippocampus", *Nature Med*, 6, 2000, pp. 271-277.

³ Gould, E. et al., "Adrenal Hormones Suppress Cell Division in the Adult Rat Dentate Gyrus", *J Neurosci*, 12, 1992, pp. 3642-3650.

⁴ Van Praag, H. et al., "Running Increases Cell Proliferation and Neurogenesis in the Adult Mouse Dentate Gyrus", *Nature Neurosci*, 2, 1999, pp. 266-270.

⁵ Kornack, D. y Rakic, P., "Continuation of Neurogenesis in the Hippocampus of the Adult Macaque Monkey", *Proc Natl Acad Sci*, Estados Unidos, 96, 1999, pp. 5768-5773.

⁶ Kukelov, V. et al., "Multipotent Stem/Progenitor Cells with Similar Properties Arise from two Neurogenic Regions of Adult Human Brain", *Exp Neurol*, 156, 1999, pp. 333 y 334.

⁷ Vogelstein, B. et al., "Please Don't Call it Cloning!", *Science*, 295, 2002, p. 1237.

No sólo resaltan las diferencias básicas en cuanto al propósito y a los requerimientos de los dos procedimientos, sino, y esto es fundamental, en cuanto a sus implicaciones éticas y médicas, ya que el trasplante nuclear concierne al tratamiento de enfermedades específicas, mientras que la clonación duplica seres humanos, lo que tiene notables implicaciones éticas, legales y sociales, y muchas reservas con relación a la seguridad y eficiencia del procedimiento.

Las aplicaciones terapéuticas del trasplante nuclear, o sea del empleo de las células troncales, cubren un amplio espectro que va desde enfermedades genéticamente determinadas hasta lesiones secundarias o traumatismos. Algunas de estas entidades son devastadoras por sus graves manifestaciones clínicas y muchas son, infortunadamente, muy frecuentes en la población general. Las más importantes aplicaciones clínicas se incluyen en el Cuadro 2, donde se refieren los distintos tipos de células utilizadas y la patología para la cual se aplican.

La enfermedad de Parkinson se caracteriza por temblor, rigidez, pérdida de expresividad facial y finalmente puede presentarse demencia. Se debe a la destrucción de las neuronas de la sustancia *nigra* que producen dopamina.

El tratamiento consiste en administrar levodopa, pero el efecto de esta sustancia disminuye después de tres a cinco años de tratamiento. Se ha intentado también el trasplante autólogo de células de la médula suprarrenal o el trasplante de células de esta glándula obtenidas en etapas fetales, pero las respuestas exitosas han sido muy limitadas.

Mediante la utilización de células troncales embrionarias o adultas se ha demostrado la producción de dopamina *in vitro* e *in vivo*.⁸

8 Lee, S. H. et al., "Efficient Generation of Midbrain and Hindbrain

La enfermedad de Alzheimer tiene devastadoras manifestaciones clínicas, ya que se caracteriza por una pérdida irreversible de la memoria, demencia y depósito de la proteína beta amiloide en las células neuronales.

La mayoría de los casos son esporádicos, es decir, un solo miembro está afectado en la familia, pero cuando hay componente genético la enfermedad aparece a edades más tempranas y se transmite con un patrón de herencia autosómico dominante, lo que implica que un afectado tiene un riesgo del 50% de transmitir el gen anormal a cada uno de sus descendientes.

El padecimiento muestra notable heterogeneidad genética, ya que hay genes relacionados con la enfermedad localizados en el cromosoma 21, el que codifica para la proteína beta amiloide; en el cromosoma 19, los relacionados con las apolipoproteínas; en el cromosoma 14, la presenilina 1, y en el cromosoma 1, la presenilina 2.

No existe actualmente tratamiento para esta enfermedad. Sin embargo, la utilización de las células troncales permite avisar el reemplazo de las neuronas dañadas.⁹

La esclerosis múltiple es una enfermedad desmielinizante, con un cuadro clínico polimorfo, con periodos de exacerbaciones y remisiones que presenta déficit motor en una o varias extremidades, parestesias o disestesias, ataxia, temblor, compromiso de la agudeza visual, alteración de los esfínteres, convulsiones y alteraciones psiquiátricas.

En la actualidad no existe un tratamiento curativo para esta enfermedad, aunque el interferón beta parece mo-

Neurons from Mouse Embryonic Stem Cells", *Nat Biotechnol*, 18, 2000, pp. 675-679.

⁹ Shambrott, M. J. et al., "Derivation of Pluripotent Stem Cells from Cultured Human Primordial Germ Cells", *Proc Natl Acad Sci*, Estados Unidos, 95, 1998, pp. 13726-13731.

dificar el curso del padecimiento. El empleo de las células troncales abre la posibilidad de reemplazar las placas perivasculares de desmielinización.¹⁰

Los otros campos en los cuales tiene aplicación terapéutica el empleo de células troncales son los de la enfermedad vascular cerebral y las lesiones medulares.

La enfermedad vascular cerebral puede ser de tipo isquémico o por hemorragia intracerebral. En la isquemia cerebral puede haber hemiparesias o hemiplejías contralaterales, parestesias, disartría, afasia, hemianopsias, según el territorio vascular afectado.

En la hemorragia cerebral se presenta un cuadro clínico de hipertensión endocraneal súbita con cefalea intensa, de inicio brusco, acompañada frecuentemente de náusea y vómito, alteración del estado de conciencia y, según la localización de las lesiones, hemiparesias o hemiplejías contralaterales, cuadriparesias o cuadriplejías, afasia, disartría o hemianopsias.

El tratamiento, hasta ahora, de estos accidentes consiste en utilizar antagonistas del calcio para reducir la formación de radicales libres y prevenir así la muerte neuronal, lograr la rehabilitación en las funciones motoras, en el lenguaje y en las graves secuelas cognoscitivas y conductuales que afectan a estos pacientes.

Igualmente, la terapia de células troncales tiene aplicación en las lesiones de la médula espinal. Estas lesiones son consecuencia de accidentes de tránsito, que se presentan con mayor frecuencia en varones jóvenes, y en una elevada proporción de los casos queda como secuela la cuadriplejía o paraplejía.

Los mecanismos de lesión son diferentes según los niveles de la médula afectados: en la médula cervical el

¹⁰ Zhang, S. C. et al., "In Vitro Differentiation of Transplantable Neural Precursors from Human Embryonic Stem Cells", *Nat Biotechnol*, 19, 2001, pp. 1129-1133.

mecanismo más frecuente es la hiperextensión por traumatismo en la región anterior del cráneo o por el efecto de "latigazo" por un golpe en la parte posterior del vehículo; en la médula toraco-lumbar los mecanismos pueden ser de flexión-comprensión, de comprensión arterial o de rotación lateral.

La consecuencia más grave del traumatismo espinal es la sección transversal completa de la médula espinal, que presenta pérdida de actividad funcional distalmente a la lesión con ausencia de la sensibilidad, pérdida de la actividad motora, ausencia de reflejos, retención vesical y trastornos vegetativos.

La lesión incompleta más frecuente es la hemisección medular, en la cual se presenta parálisis fláccida, arreflexia y signo de Babinsky en el lado de la hemisección y en el lado opuesto, pérdida de sensibilidad al dolor y a la temperatura por la lesión del haz espinotalámico lateral.

Hasta no hace mucho tiempo se supuso que las lesiones medulares eran incurables. Ahora, la terapia génica y el empleo de las células troncales abren nuevas esperanzas en este campo.¹¹

El empleo de las células totipotenciales precursoras del músculo cardíaco permite aplicaciones terapéuticas en la cardiopatía isquémica y en la insuficiencia cardíaca.

La causa más frecuente de isquemia del miocardio es la enfermedad coronaria obstructiva de origen aterosclerótico. Es más frecuente en el sexo masculino que en el femenino, y la prevalencia en varones, entre los 40 y los 60 años de edad, es cercana al 5%.

El pronóstico se agrava por la presencia de hipertensión arterial y de insuficiencia cardíaca. Esta última se

¹¹ Murray, M. y Fisher, I., "Transplantation and Gene Therapy: Combined Approaches for Repair of Spinal Cord Injury", *Neuroscientist*, 7, 2001, pp. 28-41.

presenta cuando el corazón es incapaz de aportar el gasto cardiaco que se requiere para la actividad metabólica de todos los tejidos del organismo.

Como la isquemia implica la necrosis del músculo cardiaco, en esta condición la utilización de las células troncales resulta muy promisoria.¹²

La diabetes tipo 2, o diabetes no insulino dependiente, es un padecimiento poligénico que se presenta con una frecuencia cercana al 5% en la población adulta. Es más común en algunas poblaciones, como las de Micronesia o la de los grupos Pima de Arizona, donde su frecuencia es mayor al 30%.

Las drogas existentes, las dietas rigurosas y el ejercicio no siempre son exitosos para prevenir las graves complicaciones, especialmente oculares, renales y cardiovasculares, por lo que en esta entidad resulta de gran importancia el poder desarrollar nuevos procedimientos terapéuticos.

En este sentido resulta alentador el reciente trabajo de Assady y colaboradores,¹³ quienes demostraron la producción de insulina por células troncales embrionarias humanas.

Los autores emplearon estas células troncales humanas en condiciones de cultivo tanto en capa adherente como en suspensión. En ambas condiciones observaron diferenciación espontánea que generó células beta productoras de insulina.

La presencia de la insulina fue demostrada por técnicas de inmunohistoquímica y mediante metodologías de genética molecular (RT-PCR), que evidenció la presencia de

¹² Kehat, I. et al., "Human Embryonic Stem Cells Can Differentiate into Myocytes with Structural and Functional Properties of Cardiomyocytes", *J Clin Invest*, 108, 2001, pp. 407-414.

¹³ Assady, S. et al., "Insulin Production by Human Embryonic Stem Cells", *Diabetes*, 50, 2001, pp. 1691-1697.

mRNA correspondiente a insulina en las células troncales después de 20 días de iniciada la diferenciación.

De igual manera, se comprobó la presencia de otros dos marcadores específicos de las células beta de los islotes de Langherans: una glucoquinasa específica y el marcador GLUT2, lo que confirma plenamente la diferenciación de células beta.

Estos avances constituyen un paso sustantivo en el empleo de las células troncales como terapia de reemplazo en la diabetes.

Con relación a las células precursoras hematopoyéticas,¹⁴ los principales usos terapéuticos se tienen en aquellos casos en los cuales hay invasión a la médula ósea, como ocurre en las neoplasias, principalmente en las leucemias.

Las leucemias pueden ser agudas o crónicas. Las primeras son una causa importante de muerte por cáncer en todas las edades y constituyen la enfermedad maligna más común en los niños.

Entre las leucemias crónicas la más frecuente es la mielocítica crónica, que representa cerca del 15% de todas las leucemias, y se caracteriza por la presencia de un cromosoma marcador denominado cromosoma Philadelphia o Ph1, el cual corresponde a una translocación recíproca entre los cromosomas 9 y 22 ($t[9;22] [q34;q11]$), que permite la fusión del oncogen de la leucemia murina de Abelson (c-abl) con la región de rompimiento bcr del cromosoma 22.

Las inmunodeficiencias pueden ser primarias o pueden ser adquiridas. Estas últimas se presentan como consecuencia del empleo de inmunosupresores, como en el caso de los trasplantes; del uso de agentes quimiotera-

¹⁴ Kaufman, D. S. et al., "Hematopoietic Colony-Forming Cells Derived from Human Embryonic Stem Cells", *Proc Natl Acad Sci*, Estados Unidos, 98, 2001, pp. 10716-10721.

péuticos, como en el cáncer; o secundarias a enfermedades virales, como en el Síndrome de Inmuno Deficiencia Adquirida (SIDA).

Las inmunodeficiencias primarias pueden corresponder a alteraciones en la formación de anticuerpos, tales como las agamaglobulinencias, ligadas al cromosoma X o autosómicas recesivas; a defectos en la inmunidad celular, como en la inmunodeficiencia combinada grave o en la deficiencia de adenosina deaminasa; o acompañar a algunos síndromes clínicos, como el síndrome de Wiskott-Aldrich, el síndrome de DiGeorge o la Ataxia Telangiectásica.

La hepatitis crónica puede ser ocasionada por muy diferentes factores etiológicos. Puede ser secundaria a hepatitis viral (virus B, C o D); puede producirse por factores autoinmunes, deberse a agentes tóxicos (alcohol, metildopa), como manifestación de la enfermedad de Wilson, o secundaria a la deficiencia de alfa-1-antitripsina.

La manifestación más grave de estas patologías es la cirrosis hepática, que es la enfermedad crónica del hígado caracterizada por la presencia de necrosis celular, fibrosis y formación de nódulos de regeneración.

La cirrosis hepática es una causa importante de mortalidad entre los 25 y los 40 años, por lo que su repercusión socioeconómica es notable, al afectar a los individuos en su etapa más productiva. La mayor parte de los afectados son de sexo masculino y sus causas más frecuentes son el alcoholismo y las hepatitis virales.

Por su frecuencia y por su gravedad la cirrosis hepática constituye una patología en la que la terapia de células troncales tiene una de sus aplicaciones más promisorias.¹⁵

15 Shambrott, M. J. et al., "Human Embryonic Germ Cells Derivatives Express a Broad Range of Developmentally Distinct Markers and Proliferate Extensively *in Vitro*", *Proc Natl Acad Sci*, Estados Unidos, 98, 2001, pp. 113-118.

Las distrofias musculares constituyen un grupo heterogéneo de miopatías hereditarias muy limitantes que se caracterizan por debilidad y atrofia muscular. Pueden transmitirse con un patrón de herencia recesiva ligada al cromosoma X, como la distrofia muscular de Duchenne/Becker; autosómica recesiva, como las distrofias de cintura y la escáculooperoneal; autosómica dominante, como la facioescáculohumeral, la miotónica y la oculofaríngea.

Desde el punto de vista molecular puede haber alteraciones en la distrofina o en los distintos complejos sarcoglicanos.

Actualmente no hay un tratamiento curativo para estos padecimientos, por lo que resulta de gran importancia la terapia de células troncales.¹⁶

La osteoporosis representa un grave problema de salud pública, ya que cerca del 30% de las mujeres y el 18% de los varones de más de 45 años padece osteoporosis. Una grave consecuencia de la osteoporosis es que predispone a las fracturas óseas. Al aumentar el promedio de edad de la población, como ocurre en forma acentuada en nuestro medio, el problema de la osteoporosis va cobrando mayor relevancia.

Debe señalarse también que la terapia de reemplazo con células troncales tiene aplicaciones potenciales muy importantes en aquellos pacientes que sufren traumatismos o quemaduras.

Un reciente avance que abre espectaculares perspectivas es el de Cibelli y colaboradores,¹⁷ quienes obtuvieron células troncales por partenogénesis. La partenogé-

¹⁶ Amit, M. et al., "Clonally Derived Human Embryonic Stem Cells Lines Maintain Pluripotency and Proliferative Potential for Prolonged Periods of Culture", *Dev Biol*, 227, 2000, pp. 271-278.

¹⁷ Cibelli, J. B. et al., "Parthenogenetic Stem Cells in Nonhuman Primates", *Science*, 295, 2002, p. 819.

nesis es un proceso por el cual un huevo, sin ser fecundado por un esperma, puede dar lugar a un embrión.

Los autores obtuvieron células troncales por partenogénesis en los primates no humanos, y claramente demostraron en las neuronas producción de dopamina y de serotonina, y obtuvieron diferenciación de intestino, hueso, folículos pilosos y glándulas sebáceas.

Este grupo de investigadores¹⁸ ha pretendido la obtención del primer embrión humano clonado, aunque el trabajo no parece muy convincente y ha despertado una gran polémica.

Finalmente, no es posible dejar de mencionar un nuevo y promisorio horizonte en el empleo de la células troncales: combinar estos procedimientos con la terapia génica.

Rideout y colaboradores¹⁹ informan recientemente de la corrección de la inmunodeficiencia grave combinada, un defecto genético en ratones mutantes, mediante una estrategia que conjuga el trasplante nuclear con la terapia génica.

El procedimiento incluye los siguientes pasos:

- a) Transferencia de núcleos de células somáticas a oocitos enucleados.
- b) Activación y cultivo de los embriones así obtenidos hasta el estado de blastocisto.
- c) Aislamiento y cultivo de células troncales de estos blastocistos.
- d) Reparación del defecto genético mediante recombinación homóloga.

¹⁸ Cibelli, J. B. et al., "The First Human Cloned Embryo", *Sci Amer*, 286, 2002, pp. 42-49.

¹⁹ Rideout, W. M. et al., "Correction of a Genetic Defect by Nuclear Transplantation and Combined Cell and Gene Therapy", *Cell*, 108, 2002, pp. 645-656.

- e) Diferenciación de las células troncales reparadas *in vivo*, por complementación de embriones tetraploidos o por diferenciación *in vitro* en células troncales hematopoyéticas.
- f) Trasplante de las células troncales hematopoyéticas en los ratones donadores afectados.

Éste es un logro revolucionario que debe alentar el campo de la investigación en las células troncales y su proyección en la clínica, al ofrecer una herramienta terapéutica para devastadoras enfermedades en el humano que actualmente no tienen tratamiento.

CUADRO 1. DIFERENCIAS FUNDAMENTALES

	Trasplante nuclear	Clonación reproductiva
Producto final	Células que crecen en medio de cultivo	Un ser humano
Propósito	Tratar enfermedades específicas	Duplicar seres humanos
Tiempo	Pocas semanas	Nueve meses
Madre subrogada	No	Sí
Creación de un ser humano consciente	No	Sí
Implicaciones éticas	Similares a investigación con células embrionarias	Temas muy complejos
Implicaciones médicas	Similares a terapias celulares	Reservas de seguridad y eficacia

CUADRO 2. APLICACIONES TERAPÉUTICAS DE LAS CÉLULAS TRONCALES

<i>Tipo de célula</i>	<i>Patología</i>
<i>Nerviosa</i>	Parkinson Alzheimer Enfermedad cerebral vascular Lesiones medulares Esclerosis múltiple
<i>Músculo cardiaco</i>	Cardiopatía isquémica Insuficiencia cardiaca
<i>Células beta</i>	Diabetes mellitus
<i>Sanguíneas</i>	Leucemias Inmunodeficiencias
<i>Hepáticas</i>	Hepatitis Cirrosis
<i>Músculo esquelético</i>	Distrofias musculares
<i>Óseas</i>	Osteoporosis
<i>Diversos</i>	Neoplasias Quemaduras Traumatismos