

Tratamiento con células madre

SILVIA SÁNCHEZ-LUENGO Y CARLOS SIMÓN

Unidad mixta UVEG/Centro de Investigación Príncipe Felipe (CIPF). Banco Nacional de Líneas Celulares. Nodo de la Comunidad Valenciana. Valencia. España. ssanchez@ochoa.fib.es; csimon@ochoa.fib.es



Roger Bailebreca

Puntos clave

- La medicina regenerativa es un campo emergente en las aplicaciones clínicas de la pediatria moderna.
- La célula madre posee capacidad de autorrenovación y pluripotencia, es decir, de conservarse permanentemente en un estadio de indiferenciación y de producir células hijas maduras.
- Algunas enfermedades tratables con células madre adultas son leucemias, anemias, cáncer en la médula ósea, enfermedades del sistema nervioso central (como la enfermedad de Huntington) y algunas enfermedades monogénicas (como el síndrome de Hurler).
- Los tratamientos con células madre adultas más contrastados en pediatria son los que incluyen trasplante de médula ósea o de células del cordón umbilical.
- Los tratamientos con células madre embrionarias, que todavía están en etapa de experimentación, se centran en la diferenciación celular a tejidos dañados (diabetes mellitus, enfermedades cardíacas, etc.), para su posterior trasplante.



Figura 1. Ejemplo de la derivación de una línea celular embrionaria (VAL-3 con permiso de Valbuena et al⁴). A. Embrión en fase de blastocisto, el cual se pone sobre un substrato celular para su crecimiento. B. Primer corte realizado en una colonia obtenida a partir del blastocisto anterior. C. Colonia resultante de los cortes realizados en la primera colonia.

El significado de la investigación con células madre ha sido, desde la primera derivación en la década de los años ochenta del siglo pasado, un concepto de gran interés científico y clínico. La perspectiva de posibles tratamientos nuevos se basa en el uso de estas células en enfermedades degenerativas o congénitas, creando un concepto llamado a revolucionar la sanidad del siglo XXI: la medicina regenerativa. Puesto que el pediatra es el profesional médico que se enfrenta en primer lugar a este tipo de enfermedades, la medicina regenerativa tiene interés como campo emergente en las aplicaciones clínicas de la pediatría moderna^{1,2}.

La célula madre o troncal (denominada *stem cell*) es la que tiene capacidad de autorrenovación y pluripotencialidad, es decir, de conservarse permanentemente en un estado de indiferenciación y de producir células hijas maduras. La diferenciación de la célula madre a cualquiera de los tipos celulares las capas germinales, en condiciones especiales o debido a señales específicas, induce una pérdida de la pluripotencialidad.

Ya que esta revisión se centra en el tratamiento pediátrico con células madre, se hará mención principalmente a las células madre adultas y se esbozará las expectativas creadas con las embrionarias. La célula madre adulta se encuentra en tejidos concretos y suele diferenciarse a un tipo celular concreto, mientras que la célula madre embrionaria se deriva a partir de embriones en estadio de blastocisto^{3,4} (fig. 1).

Tratamiento con células madre

Hasta el momento, se han documentado más de 5.000 trasplantes de células madre adultas. Algunas enfermedades tratables con células madre son leucemias, anomalías congénitas de los glóbulos rojos, anemias, cáncer en la médula ósea, enfermedades del sistema nervioso central (como la enfermedad de Huntington), enfermedades monogénicas (como el síndrome de Hurler), etc.⁵ (tabla 1).

Tratamiento con células madre adultas en pediatría

Se sabe que la sangre obtenida del cordón umbilical tras el parto contiene células con capacidad para regenerar

células sanguíneas. La sangre puede recogerse y almacenarse con facilidad para su posterior tratamiento y trasplante. La primera aplicación de células madre de cordón umbilical tuvo lugar en París, en el año 1988, para el tratamiento en un paciente de 8 años. Este paciente presentaba anemia de Fanconi y se le trasplantaron células del cordón umbilical de su hermana recién nacida. La donante poseía un antígeno de histocompatibilidad idéntico al de su hermano, pero no tenía la enfermedad. El paciente continúa actualmente vivo y libre de la enfermedad después de más de 15 años de su trasplante⁶.

Las *stem cells* procedentes del cordón umbilical son una fuente de células madre hematopoyéticas y las células resultantes de un trasplante pueden reconstituir el sistema hematopoyético en pacientes con enfermedades tanto malignas como no malignas. Estas células tienen unas propiedades exclusivas, como son una capacidad de replicación mayor, más concentración que en la médula ósea y menor capacidad antigénica⁷. Sin embargo, en algunos casos se ha exagerado su potencial con respecto a su capacidad de transdiferenciación a otros tipos celulares y el tratamiento de enfermedades degenerativas en otros órganos. Estos datos no están todavía científicamente comprobados.

Se ha descrito ampliamente que la médula ósea es también una fuente primordial de células madre adultas que, posteriormente, se diferencian a células sanguíneas. La médula ósea tiene capacidad para desarrollar todas las células sanguíneas mediante un proceso de diferenciación de sus células madre adultas. Cuando las células están completamente desarrolladas y funcionales, salen de la médula ósea y pasan al torrente circulatorio. En los niños sanos, hay suficientes células madre para seguir produciendo nuevas células sanguíneas continuamente; sin embargo, en aquellos sometidos a altas dosis de radiación o quimioterapia, estos mecanismos se encuentran gravemente dañados e incluso destruidos. Las células madre, administradas a partir de un donante o del propio paciente, pueden contribuir a mejorar el sistema inmunológico y la producción de glóbulos sanguíneos en estos casos^{8,9}. Un procedimiento ya descrito combina un trasplante de células madre del propio paciente en altas concentraciones, seguido por un minitrasplante, en el que se utilizan células madre de un hermano donante.

Tabla 1. Enfermedades susceptibles de tratamiento con células madre

Enfermedad	Tipo de tratamiento	Referencias
Leucemia	Trasplante de células madre de médula ósea	Gassas et al ²⁶ , 2006 Ford et al ²⁷ , 2006
Linfoma no hodgkiniano	Trasplante de células madre de médula ósea	Won et al ²⁸ , 2006
Enfermedades metabólicas (síndrome de Hurler, etc.)	Trasplante de células madre de médula ósea	Krivit et al ¹³ , 2002 Bjoraker et al ¹⁴ , 2006
Anemia de Fanconi	Trasplante de células madre de médula ósea	Medeiros et al ²⁹ , 2006
Cardiopatías	Trasplante de células madre de médula ósea Menasche et al ³¹ , 2005	Steele et al ³⁰ , 2006
Enfermedades neuronales (síndrome de Huntington, etc.)	Ensayos en mamíferos inferiores	Batista et al ³² , 2006 Conti et al ³³ , 2006
Síndrome de Wiskott-Aldrich	Trasplante de células madre de médula ósea	Pai et al ³⁴ , 2006
Síndrome de Wolman	Trasplante de células madre de cordón umbilical	Stein et al ³⁵ , 2006

Este nuevo tratamiento utiliza una dosis reducida de medicamentos anticancerosos y de radiación, de modo que los pacientes experimentan una toxicidad mínima. Este método, comparado con los trasplantes convencionales, tiene la ventaja de reducir la toxicidad y, además, parece que aumenta la supervivencia¹⁰.

La investigación en células madre se ha centrado también en las enfermedades de tipo genético en las que está afectado un solo gen, denominadas monogénicas. Su estudio comenzó en la década de los años ochenta, cuando se afirmó que el trasplante de médula ósea podría dar tratamiento, e incluso curar, enfermedades metabólicas, como el síndrome de Hurler o el síndrome de Hunter¹¹. Los intentos clínicos comienzan cuando se describe el primer tratamiento a un niño con síndrome de Hurler mediante un trasplante de médula ósea. Se documentó la resolución de la hepatomegalia y de los problemas de visión, aunque no se describió la mejoría de los problemas neurológicos¹². Posteriormente, se describió el papel y la conveniencia de los trasplantes de médula ósea en los diferentes problemas metabólicos conocidos hasta el momento (síndrome de Hurler, síndrome de Hunter, síndrome de Sanfilipo o síndrome de Morquio); sin embargo, esto es sólo aconsejable cuando se realiza en la vida temprana del individuo, de manera que el reemplazamiento enzimático ocurra antes de que el daño en el sistema nervioso sea evidente. Para ello, se examinó a un grupo de 41 niños con desórdenes adaptativos debidos a problemas metabólicos, que se sometieron a trasplantes de médula ósea. Se confirmaron mejorías adaptativas durante su crecimiento^{13,14}.

Estudios recientes pretenden retomar el tratamiento con células madre hacia el tratamiento genético. Estas investigaciones consisten en extraer células sanas del paciente, cultivarlas, e introducirles un transgén mediante vectores. Tras comprobar que las células mantienen el gen, éstas se inyectan en el paciente. De forma experimental, se están realizando ensayos en ratones, en enfermedades genéticas como la fibrosis quística o la anemia de Fanconi¹⁵.

Tratamiento con células madre embrionarias en pediatría

Uno de los usos potenciales de las células madre embrionarias como recurso terapéutico en pediatría es la búsqueda de alternativas para enfermedades como la diabetes mellitus. Está documentado que, si se siguen ciertas características de cultivo in vitro, las células madre embrionarias se pueden diferenciar a células características del mesodermo, como cardiomiocitos¹⁶, o del ectodermo, como precursores neurales¹⁷. Sin embargo, la diferenciación a líneas derivadas del endodermo, como células β , no es tan fácil y hace falta una diferenciación dirigida. Los estudios realizados en células madre embrionarias humanas a este respecto están en sus comienzos, aunque los resultados en mamíferos son bastante alentadores^{18,19}.

Por otra parte, las células madre embrionarias humanas permiten generar modelos de enfermedades humanas, así como tratar de revertir ciertos defectos monogénicos, tanto para el estudio de enfermedades como para un tratamiento potencial basado en células madre. El diagnóstico genético preimplantatorio de los programas de fertilización in vitro es una fuente incalculable de embriones sobrantes con alteraciones genéticas específicas asociadas a enfermedades humanas degenerativas raras. Muchos de estos embriones son de alta calidad, pero nunca van a transferirse a la madre, por ser portadores o afectados de alteraciones genéticas específicas que los progenitores tratan de evitar en su descendencia. Los embriones de pacientes con enfermedades monogénicas debidas a mutaciones en un gen conocido, como es el caso de la enfermedad de Huntington, son candidatos para la derivación de líneas de células madre embrionarias de extraordinario valor para investigar las alteraciones celulares que induce la mutación genética que provoca esta enfermedad. Una posibilidad que se considera en la actualidad es derivar líneas de células madre embrionarias con estas alteraciones genéticas, como ya se ha realizado en otros países^{20,21}. Este proyecto, fundamental en este

campo de la medicina reproductiva, recientemente se ha aceptado para que nuestro grupo lo lleve a cabo.

Medicina reproductiva y su aplicación en la pediatría

En este momento, la fertilidad es un tema delicado, debido a las condiciones generales de la sociedad actual. El retraso de la maternidad y los factores ambientales, entre otras variables, contribuyen a que la esterilidad aumente continuamente. Además, tratamientos radicales, como la quimioterapia, a los que determinados pacientes son sometidos en su infancia, pueden dar lugar a la desaparición total o parcial de la capacidad reproductiva en el período adulto. Estudios realizados en mamíferos inferiores han demostrado que las células madre pueden diferenciarse también en células germinales y los gametos correspondientes.

Factores expresados por el conjunto de células diferenciadas procedentes de las células madre (llamados comúnmente cuerpos embrioides o EB, del inglés *embryoid bodies*) son marcadores específicos de células germinales.

Se ha demostrado que estos cuerpos embrioides pueden conducirse a la diferenciación espermática²². Igualmente, el grupo de Toyooka²³ aisló células que expresaban *Mvh*, factor implicado en la diferenciación a células germinales. Estas células se aislaron y transplantaron a túbulos testiculares y fueron capaces de dar lugar a formas precursoras de espermatozoides. Se ha descrito incluso que si estas células se microinyectan en ovocitos de ratón, dan lugar a blastocistos tempranos^{24,25}.

El grupo de Hubner²⁵ ha tenido éxito en la diferenciación a células precursoras de ovocitos a partir de células madre de ratón. Estos ovocitos pueden entrar en meiosis, agregarse a células cercanas para formar estructuras semejantes al folículo ovárico, para desarrollar así blastocistos tempranos.

Sin embargo, todos los gametos, tanto espermatozoides como ovocitos, deben llevar una carga cromosómica determinada, al igual que un sellado genómico, que será crucial durante el desarrollo del embrión. Esta información es de suma importancia y, aunque se han llegado a obtener blastocistos tempranos, no se puede hacer todavía predicciones del desarrollo a largo plazo de estos embriones.

Bibliografía



● Importante ●● Muy importante

- Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*. 1998;282:1145-7.
- Reubinoff BE, Pera MF, Fong CY, et al. Embryonic stem cell lines from human blastocysts: somatic differentiation in vitro. *Nat Biotechnol*. 2000;18:399-404.
- Simón C, Escobedo C, Valbuena D, Genbacev O, Galán A, Krtolica A, et al. First derivation in Spain of human embryonic stem cell lines: Use of long-term cryopreserved embryos and animal-free conditions. *Fertil Steril*. 2005;83:246-9.
- Valbuena D, Galán A, Sánchez E, Poo ME, Gómez E, Sánchez-Luengo S, et al. Derivation and characterization of three new Spanish human embryonic stem cell lines (VAL-3-4-5) on human feeder and in serum-free conditions. *Reprod Biomed Online*. 2006;13:875-86.
- Steinbrook R. The cord-blood-bank controversies. *N Engl J Med*. 2004;351:2255-7.
- Fagundo J, Dorticos JC, Pavón E. Trasplante de células progenitoras hematopoyéticas: tipos, fuentes e indicaciones. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter*. 2004;20(2).
- Kern S, Eichler H, Stoeve J, Kluter H, et al. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose tissue. *Stem Cells*. 2006;24:1294-301.
- Marks DI, Khattry N, Cummins M, Goulden N, Green A, Harvey J, et al. Haploidentical stem cell transplantation for children with acute leukemia. *Br J Haematol*. 2006;134:196-201.
- Veys P, Amrolia P, Rao K. The role of haploidentical stem cell transplantation in the management of children with haematological disorders. *Br J Haematol*. 2003;123:193-206.
- Del Giudice I, Foa R. New therapies in onco-hematology and new infectious risk factors. *Rev Clin Exp Hematol*. 2005;9:E1.
- Neufeld EF. Replacement of genotype-specific proteins in mucopolysaccharidoses. *Birth Defects Orig Artic Ser*. 1973;9:27-30.
- Hobbs JR, Hugh-Jones K, Barrett AJ, Byrom N, Chambers D, Henry K, et al. Reversal of clinical features of Hurler's disease and biochemical improvement after treatment by bone-marrow transplantation. *Lancet*. 1982;2:709-12.
- Krivit W. Stem cell bone marrow transplantation in patients with metabolic storage diseases. *Adv Pediatr*. 2002;49:359-78.
- Bjoraker KJ, Delaney K, Peters C, et al. Long-term outcomes of adaptive functions for children with mucopolysaccharidosis I (Hurler syndrome) treated with hematopoietic stem cell transplantation. *J Dev Behav Pediatr*. 2006;27:290-6.
- Cohen-Haguenaer O, Peault B, Bauche C, Daniel MT, Casal I, Levy V, et al. In vivo repopulation ability of genetically corrected bone marrow

cells from Fanconi anemia patients. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006;103:2340-5.

- Capi O, Gepstein L. Myocardial regeneration strategies using human embryonic stem cell-derived cardiomyocytes. *J Control Release*. 2006;116:211-8.
- Kang SM, Cho MS, Seo H, Yoon CJ, Oh SK, Choi YM, et al. Efficient induction of oligodendrocytes from human embryonic stem cells. *Stem Cells*. 2007;25:419-24.
- Noguchi H. Stem cells for the treatment of diabetes. *Endocr J*. 2007;54:7-16.
- Garrida C. Estado actual de la investigación con células madre. *An Pediatr*. 2003;59:552-8.
- Pickering SJ, Braude PR, Patel M, Burns CJ, Trussler J, Bolton V, et al. Preimplantation genetic diagnosis as a novel source of embryos for stem cell research. *Reprod Biomed Online*. 2003;7:353-64.
- Verlinsky Y, Strelchenko N, Kukhareno V, Rechitsky S, Verlinsky O, Galat V, et al. Human embryonic stem cell lines with genetic disorders. *Reprod Biomed Online*. 2005;10:105-10.
- Lacham-Kaplan O. In vivo and in vitro differentiation of male germ cells in the mouse. *Reproduction*. 2004;128:147-52.
- Toyooka Y, Tsunekawa N, Akasu R, et al. Embryonic stem cells can form germ cells in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003;100:11457-62.
- Kehler J, Hubner K, Garrett S, et al. Generating oocytes and sperm from embryonic stem cells. *Semin Reprod Med*. 2005;23:222-33.
- Hubner K, Fuhrmann G, Christenson LK, Kehler J, Reinbold R, De La Fuente R, et al. Derivation of oocytes from mouse embryonic stem cells. *Science*. 2003;300:1251-6.
- Gassas A, Sung L, Saunders EF, Doyle JJ. Comparative outcome of hematopoietic stem cell transplantation for pediatric acute lymphoblastic leukemia following cyclophosphamide and total body irradiation or VP16 and total body irradiation conditioning regimens. *Bone Marrow Transplant*. 2006;38:739-43.
- Ford AM, Martinez-Ramirez A. Therapeutic opportunities and targets in childhood leukemia. *Clin Transl Oncol*. 2006;8:560-5.
- Won SC, Han JW, Kwon SY, Shin HY, Ahn HS, Hwang TJ, et al. Autologous peripheral blood stem cell transplantation in children with non-Hodgkin's lymphoma: A report from the Korean society of pediatric hematology-oncology. *Ann Hematol*. 2006;85:787-94.
- De Medeiros CR, Bitencourt MA, Zanis-Neto J, Maluf EC, Carvalho DS, Bonfim CS et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation from an alternative stem cell source in Fanconi anemia patients: analysis of 47 patients from a single institution. *Braz J Med Biol Res*. 2006;39:1297-304.
- Steele A, Steele P. Stem cells for repair of the heart. *Curr Opin Pediatr*. 2006;18:518-23.
- Menasche P. Stem cells for clinical use in cardiovascular medicine: current limitations and future perspectives. *Thromb Haemost*. 2005;94:697-701.
- Batista CM, Kippin TE, Willaime-Morawek S, Shimabukuro MK, Akamatsu W, van der Kooy D. A progressive and cell non-autonomous increase in striatal neural stem cells in the Huntington's disease R6/2 mouse. *J Neurosci*. 2006;26:10452-60.
- Conti L, Reitano E, Cattaneo E. Neural stem cell systems: diversities and properties after transplantation in animal models of diseases. *Brain Pathol*. 2006;16:143-54.
- Pai SY, DeMartini D, Forino C, Cavagnini S, Lanfranchi A, Giliani S, et al. Stem cell transplantation for the Wiskott-Aldrich syndrome: a single-center experience confirms efficacy of matched unrelated donor transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2006;38:671-9.
- Stein J, Zion Garty B, Dror Y, Fenig E, Zeigler M, Yaniv I. Successful treatment of Wolman disease by unrelated umbilical cord blood transplantation. *Eur J Pediatr*. 2006 (En prensa).