

## Prólogo

MARÍA CASCALES ANGOSTO Y FLORA DE PABLO DÁVILA

Entre las actividades más destacadas y reconocidas de la Real Academia Nacional de Farmacia del Instituto de España, figura la realización de Monografías de temas de actualidad, que se incluyen en el campo de las Ciencias Farmacéuticas. La publicación de estas Monografías se inició en el año 1994, y en los quince años transcurridos se han publicado 26, siendo la presente la número 27. Todas ellas han sido muy bien recibidas, tanto entre los Académicos de las Reales Academias de Medicina y Ciencias, como entre profesores de Universidad, profesionales farmacéuticos y alumnos, y también entre las comunidades científicas de América. La difusión dentro y fuera de nuestras fronteras, desde la página Web de la Academia ([www.ranf.com](http://www.ranf.com)), recibe un número de visitantes en continuo crecimiento, que ha alcanzado ya la cifra de más de un millón/mes.

La presente Monografía sobre CÉLULAS MADRE Y TERAPIA REGENERATIVA, será de utilidad ya que trata de un tema de indiscutible actualidad. No hay semana que no se publique en la prensa algún nuevo avance sobre estas células y su relación con la Medicina Regenerativa. Los científicos y los clínicos de hoy en día esperan hacer realidad el concepto legendario de la regeneración de Prometeo, mediante el desarrollo de terapias dirigidas al mantenimiento y restauración de células y tejidos deteriorados en casos de enfermedad, pérdida, lesión o envejecimiento celular.

Las células madre adultas o somáticas son células capaces de autorrenovarse y diferenciarse en células de los órganos o tejidos donde residen (médula ósea, intestino, cerebro, músculo, hígado etc.). Esta capacidad de diferenciarse es lo que les permite la renovación y el

reemplazo de las células dañadas de los diferentes órganos y tejidos del organismo. El potencial regenerativo de estas células es la base de su aplicación en la corrección de errores (defectos de nacimiento), o como fuente renovable de células de reemplazo en enfermedades, muchas de ellas las asociadas con el envejecimiento, tales como las enfermedades de Parkinson y Alzheimer, osteoartritis, diabetes, cáncer, ictus, quemaduras, etc.

En la actualidad, es necesario profundizar en los mecanismos moleculares que conducen a la especialización celular *in vivo* de las células madre residentes en los tejidos, y en la naturaleza y regulación de las interacciones que puedan existir entre las células trasplantadas y el paciente receptor. Una preocupación fundamental, de cara a su uso terapéutico, es conocer bien la regulación de la división celular (en ciertos tejidos es una ventaja si han salido de ciclo) y la estabilidad a largo plazo de las propias células trasplantadas.

En el último año se ha dado un giro importante en la investigación con las células madre, sus aplicaciones y la obtención de productos, especialmente líneas celulares, por parte de empresas biotecnológicas. De hecho, ha sido un año de avance espectacular en la biología de las células madre pluripotenciales y en el conocimiento de su maduración natural en el organismo durante el desarrollo (cómo se mantienen estas células con capacidad regeneradora en los nichos específicos de cada órgano y tejido). A su vez, la reprogramación inducida hacia estas células a partir de células somáticas, abre perspectivas importantes tanto a la investigación básica como a la clínica.

Hoy se pueden manipular células humanas de adulto y generar células con pluripotencialidad inducida (iPS), que posiblemente poseen el mismo potencial de crecimiento y diferenciación de las células madre embrionarias, y sustituirán o ampliarán con creces las posibilidades biotecnológicas soñadas para las embrionarias. El compromiso de Shinya Yamanaka, diseñador de esta tecnología, en relación con su uso hacia otros fines, es un ejemplo de la ética y la responsabilidad del investigador y supone asumir que la ciencia triunfa al servicio del hombre.

Un nuevo abordaje conecta las células madre con la terapia génica selectiva, para intensificar las opciones de regeneración o reemplazo de células que se han destruido o están lesionadas, como también para la

destrucción tumoral. El mínimo requerido para el éxito de la terapia génica es conseguir el producto genético terapéutico, en el correcto contexto biológico con mínimos efectos colaterales perjudiciales. Para conseguir este fin se requieren nuevas estrategias para modular la expresión génica terapéutica, y métodos eficientes para el envío de genes a las células madre. Queda aún mucho por hacer, pero la ingeniería genética aplicada a las células madre, unido a un mayor conocimiento de la biología de estas células, ha de llevarnos a obtener su aplicación terapéutica que, en último lugar, tendrá que aprobarse por sus resultados en el propio paciente.

El presente volumen consta de diez capítulos, realizado cada uno por expertos y expertas en el tema que desarrollan. Los temas elegidos, aún no cubriendo todos los sistemas posibles, creemos que abordan los esenciales, es decir, aquellos en los que hay significativos avances recientes. Cada capítulo incluye desde datos obtenidos en investigación básica a aquellos de potencial, o ya real, aplicación en clínica.

Las editoras estamos profundamente agradecidas a las personas que han colaborado en la realización de esta Monografía de la Real Academia Nacional de Farmacia, a quienes citamos a continuación por orden de aparición en el volumen: José Antonio López Guerrero (CSIC-UAM); Jordi Barquinero Mañez (IR-HU Vall d'Hebron); Lluís Montoliú (CSIC-CNB); Flora de Pablo Dávila (CSIC y RANF), María Cascales Angosto (CSIC y RANF), Augusto Silva Muñoz, (MSPS y CSIC); Damián García Olmo (Hospital La Paz y UAM); José Luis Jorcano Noval (CIE-MAT); Ana Sánchez García (IGBM) y Bernat Soria Escoms (CABIMER). Todos ellos/as han hecho el esfuerzo de proporcionarnos una visión no solo experta, sino muy actualizada, de este campo tan extraordinariamente dinámico.

También deseamos mostrar nuestro agradecimiento a la Presidenta de la Academia, que tan amablemente ha realizado la Introducción a la obra, al Secretario General que nos ha proporcionado toda suerte de facilidades, a la Junta de Gobierno y a todos los Académicos que nos han apoyado y han puesto su confianza en nosotras. Un agradecimiento muy especial tenemos que dedicar a todo el personal de la Academia que ha contribuido de manera muy eficaz en la elaboración de esta publicación y de su difusión *on line*. Sin ellos este volumen no sería hoy una realidad.

## PRÓLOGO

Y para terminar este capítulo de agradecimientos, queremos dar las gracias a nuestro querido amigo Pedro García Barreno por su generosa e incondicional ayuda, a la Fundación Vodafone por financiar la edición de esta Monografía, y al Instituto de España por haber aceptado programar para el próximo mes de Octubre una serie de conferencias que darán la posibilidad del contacto directo con los autores.

Si con esta obra conseguimos difundir los avances en el conocimiento actual de las células madre, haciendo llegar a las comunidades de farmacéuticos, médicos, veterinarios y biólogos, que un amplio espectro de nuestras propias células humanas va a poder ser utilizado, en el futuro no lejano, en nuevas terapias para el tratamiento de enfermedades y lesiones hoy en día incurables, habremos logrado el fin que nos proponíamos. No obstante, a pesar de nuestro entusiasmo no debemos crear expectativas irreales. Es imposible predecir cuan largo será el camino por recorrer hasta que la aplicación clínica de estos logros llegue a ser una amplia realidad.

## Introducción

MARÍA TERESA MIRAS PORTUGAL

Presidenta de la Real Academia Nacional de Farmacia

De manera natural, los tejidos del organismo sufren a lo largo de la vida un desgaste del que se defienden desarrollando su propia capacidad intrínseca de regeneración y reparación. De no existir esta renovación, se reduciría considerablemente la esperanza de vida de los seres vivos. Por otro lado, gran parte de la amplia variedad de enfermedades que afectan al ser humano, tienen su origen en la degeneración y muerte, de manera aguda o crónica, de células de los distintos tejidos que conforman el organismo. Hasta la fecha, las técnicas utilizadas para reparar y regenerar los tejidos son los trasplantes, cuya introducción en la medicina moderna supuso, en su momento, una revolución que algunos han comparado al descubrimiento de la penicilina. Sin embargo, los trasplantes no están exentos de complicaciones y de limitaciones importantes, tales como la escasez de donantes y la posibilidad real de rechazo del órgano trasplantado.

En la actualidad con la *Terapia regenerativa* se abren nuevas esperanzas de reparar tejidos dañados, mediante la utilización de mecanismos similares a los que, de forma natural, usa el organismo para el mantenimiento y renovación de las poblaciones celulares dañadas o envejecidas. Los mecanismos de regeneración, reparación y renovación celular, que posee el organismo, son limitados y dependen en gran parte del grado e intensidad de la instauración del daño o degeneración. De esta manera, la destrucción aguda de grandes cantidades de tejido (infarto) no es susceptible de ser reparada por los medios naturales. Entran entonces en escena las nuevas terapias de cultivo y trasplante de células

madre, que sirviéndose de su capacidad de regeneración, y las innovaciones tecnológicas para su administración, van a proporcionar una terapia eficaz y prometedora para el tratamiento de este tipo de enfermedades. La *terapia regenerativa o reparadora*, basada en el uso terapéutico de las células madre, sale al paso del gran aumento en la incidencia de enfermedades de tipo degenerativo que se asocian al irremisible incremento del envejecimiento de la población.

Las células madre se clasifican en dos grupos principales: las embrionarias que derivan de la masa celular interna del blastocisto y las adultas o somáticas específicas de órgano. El ejemplo más claro y más estudiado de células madre específicas de órgano es el de las células madre de la médula ósea, que son capaces de generar todos los tipos celulares de la sangre y del sistema inmune. Las células madre adultas existen en todos los tejidos del cuerpo humano, piel, grasa subcutánea, músculo cardíaco y esquelético, hígado, cerebro, etc. Actualmente se ha conseguido identificar y aislar muchas de ellas, e incluso diferenciarlas o desdiferenciarlas *in vitro*, con el objeto de utilizarlas en la reparación de tejidos dañados. A pesar de todo, la aplicación de estas técnicas de transferencia de células madre de adulto para el recambio y reparación de tejidos enfermos, se encuentra todavía en sus comienzos.

Los experimentos iniciales en humanos de Edward Donnall Thomas en 1959 demostrando que un organismo irradiado podía beneficiarse de un trasplante de medula ósea, en el tratamiento de la leucemia, mereció junto con Joseph Murray la concesión del premio Nobel en Medicina en el año 1990. Este fue el primer paso, pero la posibilidad de que células de otros tejidos pudieran igualmente ocupar y regenerar el sistema hematopoyético se debe a trabajos de otros pioneros, sobre todo a Siminovitch, Till y McCulloch. Estos autores, en 1964, demuestran que células procedentes de bazo ó de hígado embrionario ó fetal, podían ser utilizadas para recuperar la médula de ratones irradiados en los cuales se habían destruido las células hematopoyéticas de la médula ósea. Estos resultados proporcionaron una visión más amplia, pues era necesario suponer la existencia de células precursoras y, además, la necesaria plasticidad y adaptación de estas células a su nuevo entorno tisular.

Un avance científico importante se producía en 1981, cuando Evans y Kaufman anunciaron el cultivo de células madre embrionarias de ratón. Posteriormente Thompson *et al.*, en 1998, lograban el cultivo en

laboratorio de células madre embrionarias de origen humano. La importancia de estos hallazgos fue enorme, pues demostró que estas células eran capaces de dividirse de manera ilimitada, dando lugar a una progenie que podía dar origen a los distintos tipos de células presentes en el organismo. Estas células madre embrionarias, merced a su capacidad de diferenciarse en cualquier tipo de célula, podían ser utilizadas para regenerar tejidos lesionados por diversos tipos de enfermedades o traumatismos o por el envejecimiento. Los trabajos con células madre embrionarias de ratón y sus posibilidades para restaurar funciones o reparar malformaciones y enfermedades genéticas, fueron reconocidos con el premio Nobel de 2007 en Medicina, conjuntamente a los investigadores Mario Capecchi, Martin Evans y Oliver Smithies.

La ingente cantidad de trabajo desarrollado desde entonces permite afirmar que el organismo adulto contiene reservorios de células madre residuales, que se parecen a las células primitivas del embrión y que tienen la capacidad de ser instruidas para producir una panoplia de tipos celulares que puedan ser utilizados para beneficio terapéutico. Actualmente se están introduciendo con gran rapidez nuevas tecnologías que permitirán que las células maduras diferenciadas retornen al acceso completo al genoma; reactivando factores, en el futuro cercano, en que casi cualquier célula podrá reprogramarse para producir células con propiedades de células madre similares a las embrionarias.

El haber encontrado este manantial de células madre adultas en el organismo postnatal es un gran paso, pero requiere el avance del conocimiento de su diferenciación en otros linajes celulares, y de su potencialidad terapéutica, puesto que con el uso de estas células madre se habrán paliado gran parte de los problemas éticos derivados del uso de las células madre embrionarias.

Hoy las células madre adultas se obtienen de la médula ósea, de la sangre periférica, de sangre del cordón umbilical, del tejido adiposo, etc., y para ello se utilizan técnicas específicas para cada caso. Como la obtención de células madre embrionarias, no solo presentan muchas controversias bioéticas, sino que requiere de técnicas más complejas, como la clonación y el cultivo celular, una gran parte de investigadores se dedican en la actualidad al estudio de las células madre adultas, por presentar mayor facilidad de obtención y procesamiento y porque todas ellas poseen cierta capacidad de diferenciación.

Hasta hace poco tiempo ha existido la creencia generalizada de que las células madre específicas del órgano, estaban limitadas a generar sólo células especializadas y diferenciadas del tejido donde residían, es decir, habían perdido la capacidad de dar lugar a otras estirpes celulares del organismo, por lo que se las consideraba con menor grado de potencialidad. Sin embargo, recientes descubrimientos han hecho cambiar esta visión, al hacerse evidente que las células madre adultas procedentes de cualquier tejido, pueden diferenciarse en células de al menos algunos tipos de otros tejidos. El descubrimiento del proceso de *transdiferenciación*, mediante el cual una célula madre adulta puede dar lugar a otros tipos celulares, hace que la potencialidad de estas células pueda ser considerada similar a la de las células embrionarias. Además se ha evidenciado que podían diferenciarse en tejidos derivados de cualquiera de las capas embrionarias, señalándose como el caso más típico el de las células madre hematopoyéticas. Este fenómeno de transdiferenciación ha sido calificado como versatilidad de las células madre adultas, tomando en cuenta la flexibilidad que tienen algunas de ellas para formar otros linajes celulares. De esta manera, se cuestiona el paradigma tradicional de la biología del desarrollo, de la capacidad limitada de diferenciación de estas células, sugiriéndose que poseen una enorme *plasticidad*. Ante la evidencia de que las células madre adultas tienen la capacidad de transdiferenciarse, se han postulado incluso mecanismos alternativos como la fusión celular, pero está demostrado que la transdiferenciación puede ocurrir a través de un proceso de desdiferenciación y rediferenciación. Es de esperar que en el futuro próximo se profundice en el estudio del fenómeno de la versatilidad de las células madre adultas y de los mecanismos moleculares y factores que la regulan, lo cual ha de redundar en nuevos conocimientos para el diseño de nuevas estrategias aplicadas a la terapia de regeneración y renovación tisular y celular.

Todas las células del organismo poseen un repertorio de unos 20.000-25.000 genes de los cuales, en cualquier momento, solo una cuarta parte se expresa. Las bases fundamentales de las diferencias en los diferentes tipos de células (corazón, cerebro, hígado, piel, etc), que comprende el organismo, se encuentran en la decisión celular de qué genes expresa o reprime. Durante el desarrollo fetal, las células madre embrionarias con completo acceso al genoma van a dar lugar a la mul-

titud de tipos celulares requeridos para un completo individuo, generando progenies con acceso al genoma cada vez más restringido, lo que las compromete a ciertos destinos celulares.

Con la perspectiva actual se espera que, en los próximos años, estos avances podrán ser empleados para el tratamiento de afecciones del miocardio, circulatorias, diabetes, Parkinson, otras enfermedades degenerativas del tejido nervioso y, en general, de todo órgano con problemas funcionales.

Los costes de esta nueva terapia dependerán de los métodos de obtención de esas células. En principio no son muy costosos, pero si muy laboriosos y requieren personal muy cualificado con gran experiencia. Las células madre obtenidas se inyectan directamente en el órgano dañado o a través de los vasos que lo irrigan.

Si la esperanza de vida se alarga, se produce el consecuente envejecimiento de la población, como binomio inseparable. Las terapias para mantener en el mejor estado de salud a la población envejecida recibirán una demanda proporcional y los estamentos sanitarios tendrán que adaptarse a lo que será esa demanda en el futuro. ¿Cuales van a ser esas terapias, como hacerlas accesibles, como administrarlas de modo rutinario, como conseguir que su coste no sea un impedimento para su uso generalizado?, estas son algunas de las preguntas a las que tienen que responder las terapias de curación/repación/renovación de órganos y tejidos mediante células madre.

Es un hecho indiscutible que uno de los campos de la Ciencias de la Salud que más expectativas ha despertado en los últimos años es la terapia con células madre. El aislamiento de células embrionarias humanas, la inesperada pluripotencialidad de las células madre adultas inducidas y el desarrollo de la terapia génica, nos llevan a creer en la realidad del campo emergente de la terapia regenerativa, y a vislumbrar nuevas terapias en un futuro esperanzador para un importante número de enfermedades actualmente incurables. No hay duda de las grandes posibilidades que se ofrecen, pero es muy importante reconocer que se está todavía muy lejos de alcanzar el objetivo de utilizar esta nueva herramienta. Es imprescindible eludir el optimismo exagerado y continuar desarrollando una investigación científica de calidad que permita alcanzar importantes logros de aplicación clínica en un futuro no lejano.

A lo largo de las siguientes páginas diversos autores, expertos en la materia, van a tratar de exponer el panorama actual de la investigación con células madre, describiendo los principales logros en este campo, así como algunas de las preguntas pendientes de responder. A pesar de las grandes expectativas, es fundamental que mantengamos un espíritu crítico y realista en cuanto a la aplicabilidad clínica.

Para finalizar, decir que este libro ha sido realizado gracias al empeño y desvelos de sus dos coordinadoras, Doctoras María Cascales Angosto y Flora de Pablo Dávila. Dejar constancia del agradecimiento a la ayuda de la fundación Vodafone y el apoyo del Doctor Pedro García Barreno para la realización material de la edición. Agradecer igualmente a los autores que han contribuido en cada uno de los capítulos, pues nos han permitido acceder, mediante una puesta al día rigurosa, a las fronteras en el conocimiento de las células empleadas en terapia regenerativa de los diferentes tejidos y órganos.

Como los libros no tienen sentido si no tienen destino, agradecer a los lectores el tiempo que dediquen a leerlo, ya que este libro que merece ser leído con atención, permitirá poder saciar las ansias de conocimiento y tiene la ventaja, para muchos, de acceder a él en la propia lengua materna.

Con la típica deformación que todo docente arrastra, y yo lo soy, quiero pensar que esta monografía va a ilusionar con su lectura a los que trabajamos en ciencias de la vida y la salud, pero desearía que despertara vocaciones entre los jóvenes titulados de nuestras Universidades que fueran capaces de ver lo que ya está, pero mucho más de imaginar lo que está por venir, y que piensen que ellos son los que tienen que hacer realidad el futuro de la terapia regenerativa celular.

Evans MJ y Kaufman MH (1981) Establishment in culture of pluripotent cells from Mouse embryos. *Nature* **292**, 145-156.

Capecchi M (2008) The first transgenic mice: an interview with Mario Capecchi. *Dis Model Mech* **1**, 197-201.

Gurtner GC, Callaghan MJ y Longaker MT (2007) Progress and potential for regenerative medicine. *Annu Rev Med* **58**, 299-312.

Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M *et al.* (2000) Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo. *Nat Med* **6**, 1229-1234.

## INTRODUCCIÓN

- Siminovitch L, Till JE y McCulloch EA (1964) Decline in colony forming ability of marrow cells subjected to serial transplantation into irradiated mice. *J Cell Physiol* **64**, 23-31.
- Thomas ED, Lochthe HL Jr, Cannon JH, *et al.* (1959) Supralethal whole body irradiation and isologous marrow transplantation in man. *J Clin Invest* **38**, 1709-16.
- Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, *et al.* (1998) Embryonic stem cells lines derived from human blastocysts. *Science* **282**, 1145- 1147.
- Wagers AJ y Weissman IL. (2004) Plasticity of adult stem cells. *Cell*. **116**, 639-48.