

# e-boletín SENC

revista electrónica de la Sociedad Española de Neurociencia  
número 1, septiembre de 2007

debate  
células madre

crónica  
representación del esquema corporal



Sociedad Española de Neurociencia

## Células madre

Debate coordinado y elaborado por **Carlos Vicario-Abejón**.  
Instituto Cajal, CSIC, Madrid.

En este artículo se recogen las opiniones de los investigadores que se nombran a continuación, acerca de diversos aspectos de la biología de las células madre (o troncales) así como de la investigación y empleo de estas células y de células derivadas de las mismas, en terapia celular y regenerativa. Dichas opiniones no se han transcrito literalmente sino que han sido integradas en un texto conjunto.

Investigadores participantes (por orden alfabético):

**Jordi Alberch**. Facultad de Medicina, Universidad de Barcelona.

**Josep Maria Canals**. Facultad de Medicina, Universidad de Barcelona.

**José Manuel García-Verdugo**. Instituto Cavanilles/Universidad de Valencia.

**José López-Barneo**. Hospital Universitario Virgen del Rocío/Universidad de Sevilla.

**Salvador Martínez**. Instituto de Neurociencias, Universidad Miguel Hernández-CSIC, Alicante.

**Alberto Martínez-Serrano**. Centro de Biología Molecular, Universidad Autónoma de Madrid.

### **1. Me gustaría, en primer lugar, dedicar unos minutos a la terminología que utilizamos en este campo. ¿Hablamos de células madre, de células troncales o empleamos ambos términos indistintamente?**

La mayoría de los científicos participantes utilizan más a menudo el término "célula madre" que el de "célula troncal", otros lo emplean indistintamente. El mayor uso del término "célula madre" se debe, principalmente, a razones históricas ya que dentro de la literatura científica en castellano (por ejemplo, en libros de texto) es más común este término, o a razones puramente fonéticas pues, para algunos, el término "célula tronco" o "troncal" (traducción literal del término inglés "stem cell") no suena bien en castellano. Sin embargo, se reconoce que, estrictamente hablando, los términos célula troncal o célula tronco pueden ser más correctos que el de célula madre, particularmente para referirnos a las células ES ("embryonic stem cells"), ya que a partir de ellas se generan todas las células y tejidos del organismo mamífero (excepto la placenta).

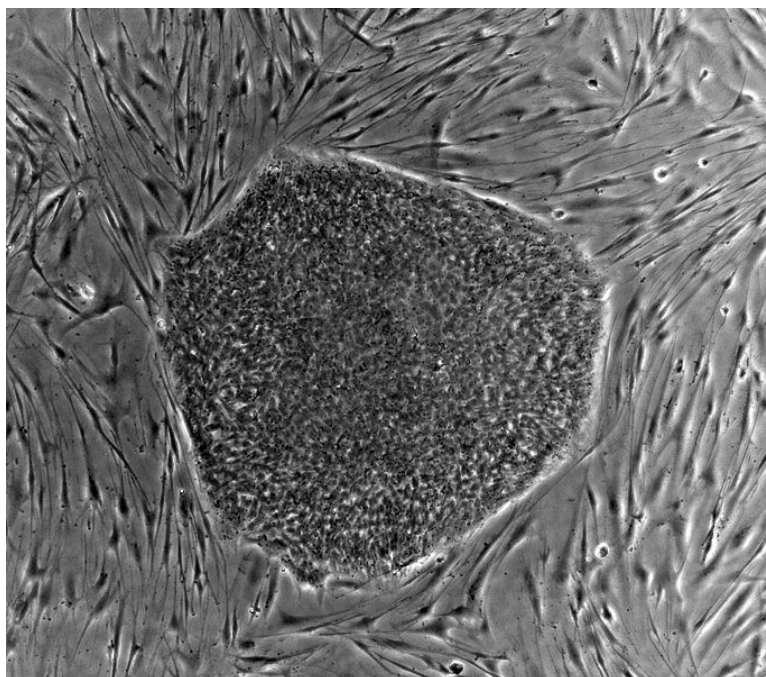
Alberto reconoce también que ambos términos (madre y troncal) se emplean indistintamente en el ámbito hispano-hablante pero aboga claramente por el empleo de célula troncal y la eliminación del término célula madre. Opina Alberto que el decir célula madre genera discusión y confusión sin fundamento, cuando las opiniones de los científicos se difunden a la sociedad "porque las células troncales no pueden ser madre de nadie". Pero la sociedad adopta/usa el término "madre", favoreciéndose que grupos de presión lo utilicen para intentar convencer a la sociedad que usar células troncales para investigación es poco más o menos como matar la descendencia de "madres". Opina, también, que la eliminación del término "célula madre" favorecería que empezásemos a hablar de cuestiones relevantes, como puede ser el origen de las células troncales y el potencial que distintas fuentes de estas células tienen para la generación de diversos tipos celulares. No obstante, conviene recordar que también en los países anglosajones (Estados Unidos es un claro ejemplo) y en otros países (como Alemania), algunos grupos critican la investigación en el campo de las células madre/troncales embrionarias a pesar de que en esos países se utilizan los términos "embryonic stem cell" (inglés) o "stammzelle" (en alemán).

### **¿Qué entendemos por una célula madre?**

Fundamentalmente una célula con capacidad de autorrenovación o autorregeneración y de diferenciación a muchos tipos celulares. Hablaríamos de células multipotentes si generan sólo células diferenciadas de una hoja blastomérica y pluripotentes si son capaces de diferenciarse en células de las tres hojas. En principio, sólo el cigoto (que no es una célula madre) posee totipotencialidad, es decir, capacidad para generar un organismo completo. Se destaca que la célula madre debe de tener la capacidad de dividirse no sólo de un modo simétrico (multiplicando su población), sino también, de un modo asimétrico, es decir, generando una célula hija idéntica (o prácticamente idéntica) a la primera y una célula que se diferenciará dentro de un linaje celular determinado. Así, gracias a este tipo de división se mantiene la población de células madre y se origina progenie diferenciada. Aunque clásicamente se proponía que la célula hija debía de ser idéntica a la célula madre, diversos experimentos muestran que la célula hija puede

mantener características de célula madre pero no ser idéntica en su potencial de diferenciación en términos cuantitativos. Por ejemplo, en una región concreta del sistema nervioso como el bulbo olfatorio (BO), las células madre neurales (CMN) presentes en dicha región en distintas edades del desarrollo podrían no tener el mismo potencial para generar neuronas y glía.

Finalmente, señalar que el término inglés "stem cell" fue primeramente empleado por embriólogos del siglo XIX, al referirse a células de la línea germinal y del sistema hematopoyético (ver Comentario de Ramalho-Santos y Willenbring en *Cell* 2007). Fue precisamente en estudios de hematopoyesis y, ligeramente más tarde, en estudios de las células de las criptas de la pared intestinal (ver revisión de Potten y Loeffler en *Development* 1990), donde se formularon las principales características que debería de cumplir una célula madre o troncal: células con capacidad casi ilimitada de proliferación (autorrenovación) y capacidad de dar lugar a células diferenciadas.



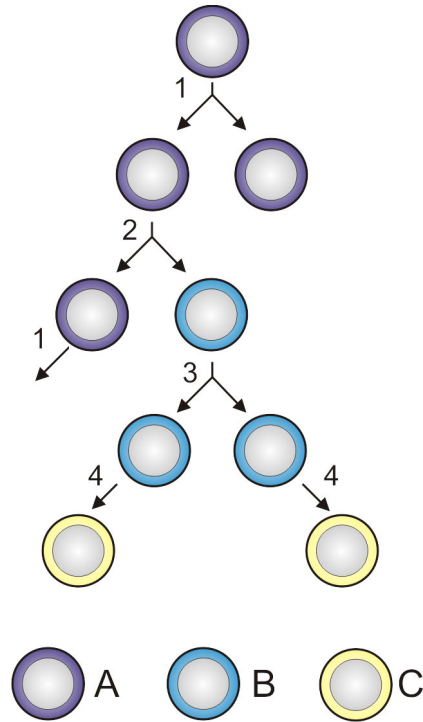
Colonia de células madre embrionarias humanas (células ES), en una matriz de fibroblastos embrionarios de ratón.

### **¿Y por una célula madre neural?**

Una célula madre neural sería aquella célula con capacidad de autorrenovación y de generación de neuronas y células de la macroglía (astrocitos y oligodendrocitos, principalmente, si nos referimos al Sistema Nervioso Central).

### **¿Y por célula progenitora o progenitor? ¿Y por célula precursora o precursor?**

Respecto a los términos progenitor y precursor, la opinión más general es que los dos términos pueden usarse indistintamente para referirse a células proliferativas que carecen de capacidad de autorrenovación y cuya capacidad de diferenciación sería, en general, más limitada que la de la célula madre. Así, a pesar de que algunos progenitores o precursores tienen alta capacidad de proliferación (de tipo simétrico), dicha capacidad es transitoria, de modo que finalmente generan células diferenciadas. Es decir, carecen de la capacidad de autorrenovación, propiedad que únicamente poseen las células madre o troncales. En cuanto a la localización de las CMN y los progenitores, algunos estudios sugieren que durante el desarrollo embrionario de la corteza cerebral, las CMN se encontrarían en la zona ventricular mientras que los progenitores intermedios en la zona subventricular (ZSV) adyacente. Esta distinción entre CMN y progenitor ha sido detalladamente estudiada en la ZSV del cerebro adulto: sólo las células madre o células tipo B poseen características de CMN, estas células generan progenitores o células tipo C de amplificación transitoria. Destaca José Manuel que, además, algunas células madre (tipo B) también contactan con la superficie ventricular en etapas adultas, lo que sugiere una transición de CMN embrionarias a CMN adultas. En esta transición tendría un papel predominante la glía radial, como se menciona a continuación.



A: célula madre; B: célula progenitor; C: célula diferenciada.

**2. ¿Hay datos sólidos que avalen la existencia de células con capacidad de diferenciarse a neuronas, astrocitos y oligodendrocitos (es decir, multipotentes) en el Sistema Nervioso Central (SNC) embrionario *in vivo*? ¿Y en el adulto? ¿En qué regiones? O, si por el contrario, ¿sólo podemos observar su potencial máximo cuando alteramos su ambiente extracelular o cambiamos su repertorio genético, por ejemplo?**

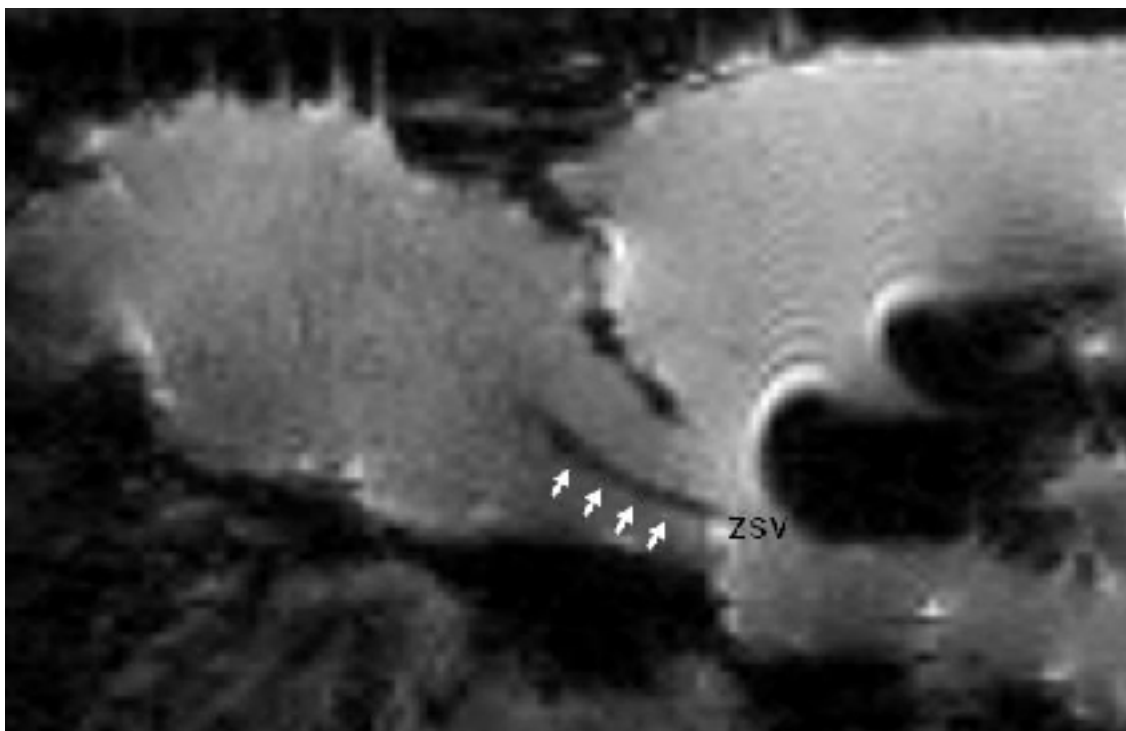
La opinión general es que durante el desarrollo del cerebro existen células neuroepiteliales que poseen las características de célula madre o troncal neural. Además, también células de la glía radial podrían tener estas mismas propiedades, aunque mayoritariamente generan neuronas y astrocitos (también generan oligodendrocitos pero en menor número). Las acciones de factores extrínsecos e intrínsecos limitarían el fenotipo al que finalmente se diferenciarían estas células y los progenitores intermedios. Distintas poblaciones de CMN podrían existir en diversas regiones cerebrales por lo que tendríamos que hablar de CMN de la corteza, o del BO o del cerebelo etc pues, en condiciones basales, generan células específicas (en particular, neuronas) de esa región. Incluso, CMN localizadas en distintos lugares dentro de la ZSV, dan lugar a determinados tipos de neuronas del BO, según ha publicado el grupo de Arturo Alvarez-Buylla en Science (Merkle et al., 2007). Sin embargo, la restricción regional podría no ser absoluta, de modo que células de una región trasplantadas en otras distintas, podrían diferenciarse en neuronas de la región hospedadora y perder la identidad de la región de origen.

Convendría indicar, finalmente, que quizá por limitaciones de tipo experimental, los datos de la literatura que apoyan la existencia *in vivo* de CMN con capacidad de diferenciación a los tres linajes celulares (neuronas, astrocitos y oligodendrocitos) no son abundantes. Son más abundantes los datos que muestran la existencia de células bipotentes: que se diferencian a neuronas y astrocitos (en la corteza cerebral, por ejemplo), neuronas y oligodendrocitos (en la médula espinal y en la corteza) o a astrocitos y oligodendrocitos (también en la médula espinal). Haría falta también un análisis más riguroso de la capacidad de autorrenovación (no sólo de la proliferación) de las CMN *in vivo*, aunque técnicamente resulta difícil de realizar, incluso en roedores (por ejemplo, el trasplante seriado de clones de CMN).

En el cerebro adulto de mamífero se destaca por todos la existencia de CMN en la ZSV, células que producen neuronas, astrocitos y oligodendrocitos. Si bien es cierto que, en condiciones basales, se observa una mayor formación de neuronas (específicamente del BO) que de astrocitos y, sobre todo, que de oligodendrocitos, a partir de estas células de la ZSV. Células con características de CMN podrían existir también en la ZSV del cerebro humano según se describe en el artículo publicado en Nature por Sanai et al. (2004). También algunas células localizadas en el giro dentado o en zonas limítrofes (zona subgranular del giro dentado y la zona subventricular del ventrículo lateral hipocampal, respectivamente), tendrían características de

CMN. Respecto a vertebrados no mamíferos, destacar la existencia de células multipotentes en la retina y corteza cerebral de aves, reptiles y peces.

Añadir, finalmente que el potencial máximo de las CMN para diferenciarse a células de distintos linajes, puede aumentar cuando se altera su ambiente extracelular o su repertorio genético. Esto se ha observado en roedores sometidos a isquemia cerebral donde aumenta la producción de neuroblastos a partir de CMN de la ZSV. Además, la eliminación de los progenitores tipo C por tratamiento con un antimitótico, provoca una activación de las CMN de la ZSV. Es decir, debemos de dejar claro que el potencial máximo de la CMN no coincide necesariamente con su capacidad basal de proliferación y diferenciación *in vivo* ya que, en esta situación, existen restricciones ambientales y genéticas que limitan estas capacidades.



Células marcadas con contraste paramagnético emigrando desde la zona subventricular hasta el bulbo olfatorio. Modelo *in vivo* (RM ponderada T2). Imagen cedida por el Laboratorio de Investigación de Neurociencias Clínicas (LINC), Hospital Clínico Universitario-Universidad de Santiago de Compostela.

### **3. La polémica acerca de las regiones y zonas del SNC adulto donde existe neurogénesis sigue abierta. ¿Qué regiones del adulto identificaríamos como claramente neurogénicas? Y, con los datos de que disponemos, ¿en qué otras (si alguna) no descartaríamos que existiese?**

Al igual que, respecto a la existencia de CMN en el cerebro adulto, hay prácticamente unanimidad en identificar al eje formado por la ZSV-corriente migratoria rostral (CMR)-BO por una parte y al giro dentado (GD) del hipocampo, como las zonas y regiones donde se ha probado la existencia de neurogénesis en el cerebro adulto. Señalar, de todos modos, que respecto a la migración rostral de neuroblastos hacia el BO, sólo un reciente trabajo ha publicado datos que apoyan la presencia de dicha corriente migratoria en el cerebro humano (Curtis et al. 2007, Science), hallazgo que deberá ser corroborado por otros grupos. Dado que la pregunta acerca del significado funcional y la fisiología de estas nuevas neuronas, no se ha planteado en este debate por haber sido objeto de uno anterior en el boletín de la SENC, el lector interesado puede consultar artículos recientes (Aimone et al. y Meshi et al., Nature Neurosci 2006; Lledo et al., Nature Reviews Neurosci 2006; Gould, Nature Reviews Neurosci 2007).

Finalmente, indicar que no existe acuerdo en la comunidad científica respecto a la existencia de neurogénesis en otras regiones del cerebro de mamífero adulto como la corteza, la amígdala o la sustancia nigra, al menos en condiciones basales (ver el reciente artículo de E. Gould en Nature Reviews Neurosci, 2007). Alberto, no obstante, no descartaría que pudiera tener lugar generación de interneuronas en la corteza adulta.

### **4. ¿En qué aspectos están ayudando los conceptos de célula madre y de célula madre neural al avance del conocimiento científico en biología básica o fundamental?**

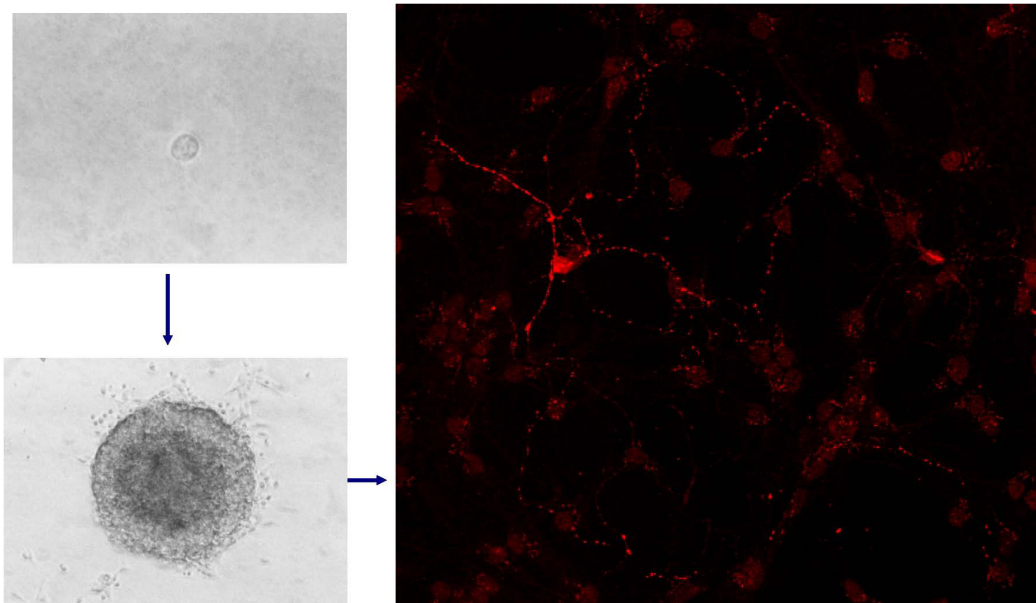
## debate

### ¿Y respecto al avance en el conocimiento de la biología de enfermedades?

En cuanto a la biología básica, se destaca que las células madre están siendo un modelo experimental muy útil para estudiar los mecanismos básicos de la división y diferenciación celular. Dentro del sistema nervioso, las CMN son un buen modelo para estudiar algunos procesos básicos de la diferenciación y determinación neural, como por ejemplo, el estudio de las señales y mecanismos de acción que regulan la diferenciación de una célula multipotente a neurona o glía. Esta idea ha permitido conocer, no sólo factores de transcripción que inducen y determinan la adquisición de un fenotipo celular particular, sino también, represores de la diferenciación de una CMN hacia un determinado linaje neuronal o glial. Es decir, la investigación en células madre somáticas y, en particular, en CMN además de ser una buena herramienta de trabajo para realizar los estudios mencionados y otros, está aportando riqueza conceptual a nuestros planteamientos. Salvador señala que, desde el punto de vista evolutivo, el mantenimiento de poblaciones de CMN en el cerebro de mamíferos adultos, no parece haber supuesto una ventaja evolutiva (al menos hasta donde sabemos hoy) por su carácter casi vestigial. Sin embargo, esta visión podría cambiar, si se demostrase fehacientemente que la incorporación de nuevas neuronas en el GD del hipocampo adulto favorece o regula procesos de la memoria y el aprendizaje.

Respecto al conocimiento de la biología de las enfermedades, se indica que su relevancia es relativamente escasa hasta el momento. Sin embargo, también se señala que alteraciones en el comportamiento de algunas poblaciones de células madre, podrían favorecer la formación de tumores. Además, se está intentando derivar células madre a partir de tejidos de personas con una determinada enfermedad y también células madre ES de embriones obtenidos tras el diagnóstico preimplantacional, para realizar análisis genéticos. Refiriéndonos al sistema nervioso central, si bien es cierto que no se ha descrito una enfermedad causada por defecto o exceso en poblaciones de CMN, algunos trabajos recientes sugieren que alteraciones en moléculas reguladoras de la neurogénesis-gliogénesis y de la proliferación y muerte celular, podrían estar implicadas en problemas de retraso mental y microcefalia (Ver Gauthier et al., *Neuron* 2007; Baala et al., *Nature Genetics* 2007). Por otra parte, el conocimiento de las moléculas y células que forman parte del nicho de las CMN, es crítico para desarrollar la terapia regenerativa (ver más adelante).

Finalmente, decir que las células madre tienen interés en la industria farmacéutica como una posible fuente celular para el descubrimiento de nuevos fármacos.



Autorrenovación y diferenciación de células madre neurales (CMN). La inmunotinción con un anticuerpo contra sinapsina sugiere la presencia de botones sinápticos en neuronas derivadas de las CMN. Imagen cedida por el Laboratorio de Carlos Vicario, Instituto Cajal, CSIC, Madrid.

**5. La polémica acerca de si células del sistema hematopoyético dan lugar a neuronas y glía *in vivo* también sigue abierta. ¿Hay datos claros que indiquen la conversión de células hematopoyéticas en neurales *in vivo*? ¿O quizá, la gran mayoría de los datos publicados se pueden explicar por una posible fusión de células hematopoyéticas con neurales? En cualquier caso, ¿podría existir aplicabilidad en terapia celular de la posible fusión entre ambos tipos de células?**

En este punto hay acuerdo general de que, en condiciones basales, las células del sistema hematopoyético no producen células neurales *in vivo*, (sólo generarían microglía). Salvador no descarta que ocurra, sin embargo, en situaciones de lesión o en el cerebro inmaduro.

Respecto a la aplicabilidad terapéutica de la fusión celular, la mayoría de los participantes opina que en la actualidad es nula o escasa. Pero, por otra parte, se señala que, tal vez, cuando conozcamos más acerca de este proceso celular así como de la biología de otras células (la microglía, concretamente), pueda tener alguna utilidad terapéutica como medio de introducir factores tróficos en el sistema nervioso y para estimular la angiogénesis en situaciones de hipoxia-isquemia.

**6. ¿En qué lesiones, enfermedades neurodegenerativas o trastornos del desarrollo que afectan al SNC sería posible la aplicación terapéutica de los avances conseguidos en el campo de las células madre y de la neurogénesis en el adulto? ¿Cuál sería la mejor estrategia general a seguir para su aplicación? Por ejemplo: ¿trasplantes intracraneales de células madre o su progenie, inyecciones de células madre por vía intravenosa, activación de la neurogénesis endógena, empleo de diversos tipos de células para liberar factores tróficos o neurotransmisores, etc.?**

Las enfermedades y lesiones que afectan al sistema nervioso en las que se considera que las terapias de tipo celular, neuroprotectora o neuroregenerativa, o combinaciones de ellas, podrían ayudar en su tratamiento, son aquéllas en las que la enfermedad no produce una alteración generalizada (al menos inicialmente), sino que afecta, principalmente, a una región cerebral como ocurre en la enfermedad de Parkinson y la enfermedad de Huntington. Se indica, de todos modos, que los beneficios de los primeros ensayos clínicos con trasplantes celulares han sido escasos e, incluso, han producido efectos secundarios (disquinesias) en algunos pacientes de Parkinson. Pero también se destaca que el conocimiento en el campo de las células madre, la neuroprotección y el empleo de vectores genéticos podría ayudar a mejorar las expectativas terapéuticas de los mencionados tratamientos. Ver, como muestra de estos avances, los nuevos artículos publicados en Lancet, Nature y PNAS de 2007 (Kaplitt et al.; Lindholm et al., Chan et al.; Redmon et al), que describen resultados obtenidos en enfermos y en modelos animales de la enfermedad de Parkinson.

Respecto al Huntington, Pep y Jordi proponen como más viable la combinación de terapia de reemplazamiento de las neuronas que mueren y terapia neuroprotectora con factores tróficos y/o antiapoptóticos. Esta combinación quizá permita la regeneración de las conexiones correctas y la prevención de la muerte neuronal que tiene lugar en estadios intermedios y tardíos de la enfermedad.

Respecto al Parkinson, dado que las células se trasplantan ectópicamente en el estriado, el mayor beneficio de la terapia celular estibaría en el suministro de dopamina y factores neurotróficos que pudieran enlentecer/retrasar la muerte de las terminales dopaminérgicas que provienen de la sustancia *nigra*. De ese modo, tal vez pueda conseguirse paliar los síntomas motores de la enfermedad.

En cuanto a la regeneración en situaciones de isquemia cerebral, se destaca que, en modelos animales se ha observado una considerable movilización y migración de neuroblastos desde la ZSV hasta el estriado infartado, aunque debe de incrementarse la supervivencia y diferenciación de estas nuevas células.

También se señala que la inyección de CMN por vía intravenosa, se está investigando para el tratamiento de enfermedades en cuya etiología hay componentes de tipo autoinmune, como ocurre en la enfermedad lateral amiotrófica y en la esclerosis múltiple.

**7. ¿De qué tipos de células de origen humano (ES, neurales, hematopoyéticas, fibroblastos reprogramados, etc.), es/sería factible obtener neuronas y glía en cultivo para emplear en trasplantes celulares en la clínica? Nota: Al hablar de neuronas y glía, nos referimos a células que pertenecen a dichos linajes celulares basándonos, no sólo en la expresión de marcadores celulares, sino también, en su morfología y funcionalidad.**

Algunos participantes se inclinan por el empleo de CMN y progenitores neurales como fuente de neuronas y glía, porque las primeras células ya han recibido señales *in vivo* que las instruyen a generar productos neurales. Este hecho facilitaría su diferenciación a la neurona o glía deseada.

No se le ve muchas ventajas, sino más bien inconvenientes (en estos momentos), al empleo de las células madre ES. Esto es debido a su alta tendencia a producir teratomas, a la presencia de aberraciones cromosómicas en las líneas de células humanas existentes (según nos apunta Pep que ha sido presentado en el 1st Annual Public Symposium of the ESTOOLS, 2007; ver también Baker et al. Nature Biotech 2007), y al posible rechazo inmunológico. José señala que la reprogramación de fibroblastos (u otras células adultas), es un hecho fascinante pues además de acabar con las limitaciones ético/legales y las implicaciones políticas, permitirá obtener células similares a las embrionarias y, de ellas, derivar otras compatibles con el paciente. Naturalmente, habrá que evaluar el comportamiento de estas células (producción o no de teratomas, etc.) para determinar su potencial aplicabilidad clínica (ver Maherali et al., Cell Stem Cell 2007; Wernig et al., Nature 2007).

Respecto a la utilización de células madre de origen no neural para producir neuronas y glía, no se observa como una alternativa viable al tejido cerebral (al menos, por el momento), ya que habría que manipularlas excesivamente en cultivo para restringir su destino celular. Además, los resultados obtenidos hasta la fecha son muy muy limitados, es decir, se ha conseguido que las células expresen un marcador como la  $\beta$ -III-tubulina pero sin lograrse una morfología, expresión de neurotransmisores, canales iónicos que demuestre que se trata de células neuronales o gliales. Sin embargo, las células de la médula ósea y del cordón umbilical podrían tener eficacia terapéutica, no como fuente de neuronas, sino como células de soporte, a través de mecanismos de acción aún básicamente desconocidos.

José destaca que las células madre derivadas del cuerpo carotídeo, que han identificado recientemente en su laboratorio, pueden tener aplicabilidad potencial en la enfermedad de Parkinson y en otras patologías donde este factor neurotrófico GDNF produzca efectos beneficiosos.

**8. ¿Podemos proponer estrategias encaminadas a favorecer que neuronas trasplantadas o generadas por activación de células madre endógenas, sobrevivan a largo plazo y, en el mejor de los casos, se incorporen a los circuitos neuronales y permitan el funcionamiento de los mismos tras una enfermedad o lesión? ¿Y estrategias para favorecer el restablecimiento de las conexiones o, al menos, de la funcionalidad parcial de los circuitos degenerados o lesionados?**

La opinión general es que el logro de estos objetivos queda todavía lejano y que las limitaciones para trasladar nuestros conocimientos al éxito de la terapia en pacientes, son muy grandes, en este momento. No obstante, se está de acuerdo en que cuanto mayor sea nuestro conocimiento de los factores y mecanismos que favorecen y regulan la migración, supervivencia neuronal, y la formación y mantenimiento de las conexiones neuronales, más cerca estaremos de mejorar las estrategias para alcanzar los mencionados objetivos, como se resalta en la pregunta 6. Asimismo, aunque muy incipiente todavía, el uso de biomateriales podría servir de soporte para la inyección de células y factores neurotróficos encapsulados con el objetivo de aumentar la supervivencia de las células trasplantadas, así como para producir estructuras que favorezcan el reestablecimiento de circuitos dañados.