

Axel Castro Ábrego, Néstor Fabián Díaz Martínez y Guadalupe García López

¿De dónde provienen las células troncales pluripotentes?

Una mirada a sus fuentes

Las células troncales embrionarias humanas se consideran un modelo fantástico para estudiar el desarrollo embrionario y se ha propuesto su uso en terapias de reemplazo celular. Antes, sin embargo, deben superarse varios obstáculos. Por este motivo, investigadores de todo el mundo han buscado fuentes alternas y se ha propuesto utilizar las células del epitelio amniótico humano, ya que, además de tener características de células troncales, poseen propiedades antiinflamatorias, antibacterianas, antivirales y muestran bajo rechazo inmunológico. Estas células las podemos encontrar en las membranas fetales humanas, un tejido extraembrionario que se considera desecho médico después del nacimiento.

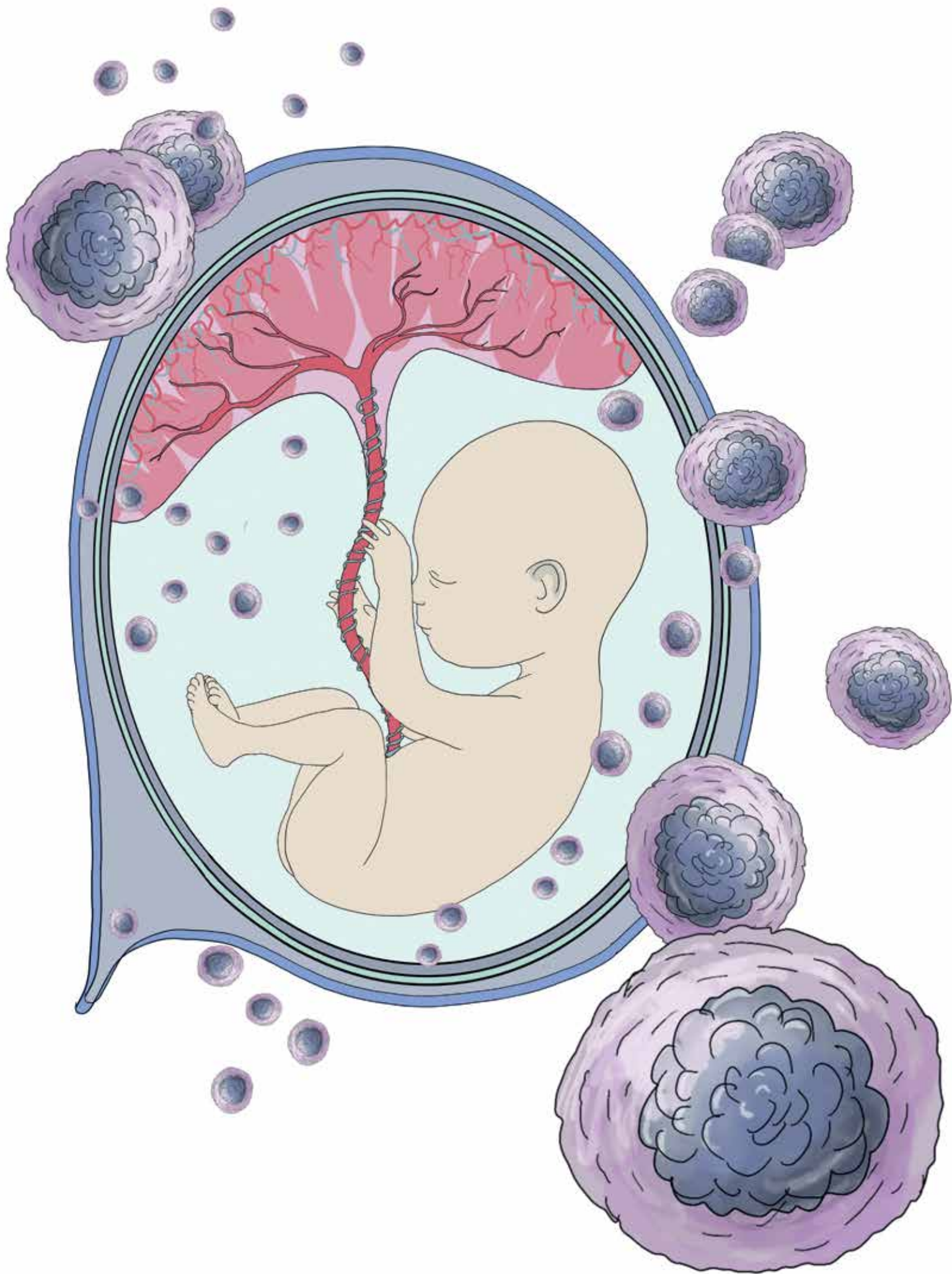
Células en el cuerpo humano

El cuerpo humano está formado por millones de células de distintos tipos, las cuales, al unirse y formar tejidos, realizan funciones muy específicas en nuestra vida diaria, como respirar, enviar la sangre a todo nuestro cuerpo, comer, pensar, por mencionar algunas. Estas células son generadas en su gran mayoría durante el desarrollo embrionario a partir de una sola célula sumamente interesante, que es conocida como *célula troncal* (también comúnmente llamada *célula madre*).

Células troncales

Las células troncales se distinguen por su capacidad de duplicarse por tiempo indefinido; es decir, dan origen a células idénticas a ella misma (autorrenovación) y convertirse en un tipo de célula con una función específica (diferenciación). Las encontramos desde etapas muy tempranas del desarrollo embrionario e incluso también en el cuerpo adulto; por ejemplo, en la piel, la médula ósea y el cerebro.

Lo interesante en la obtención de estas células es que pueden mantener sus propiedades intactas en cultivo, lo que nos permite conocer más acerca de esta



fascinante estirpe celular y analizar cómo se podrían utilizar en diferentes áreas de la biomedicina.

¿Cómo se clasifican las células troncales?

De acuerdo con su capacidad de producir tipos celulares especializados, las células troncales se clasifican en: totipotentes, pluripotentes, multipotentes y unipotentes. Las primeras se pueden convertir en todas las células que forman nuestro cuerpo, incluyendo a células de tejidos extraembrionarios, como las membranas fetales, las cuales protegen y mantienen saludable al feto hasta el momento del nacimiento; las pluripotentes tienen una menor capacidad de diferenciación y pueden convertirse en cualquier célula del cuerpo; las multipotentes se limitan a convertirse en células de un órgano o tejido –por ejem-

plo, las células troncales neurales pueden convertirse solamente en neuronas, astrocitos y oligodendrocitos, que son las células que forman nuestro sistema nervioso–; finalmente, las unipotentes sólo pueden transformarse en un tipo de célula, como es el caso de las células que forman la piel (véase la **Figura 1**). Las más estudiadas por los científicos son las células troncales pluripotentes.

¿Cómo se obtuvieron las primeras células troncales en el laboratorio?

M. Evans y G. Martin fueron los primeros en obtener células troncales pluripotentes (CTP) a partir de embriones de ratón. El doctor Evans y sus colaboradores lograron esta proeza al separar las células de la masa celular interna de un embrión de ratón

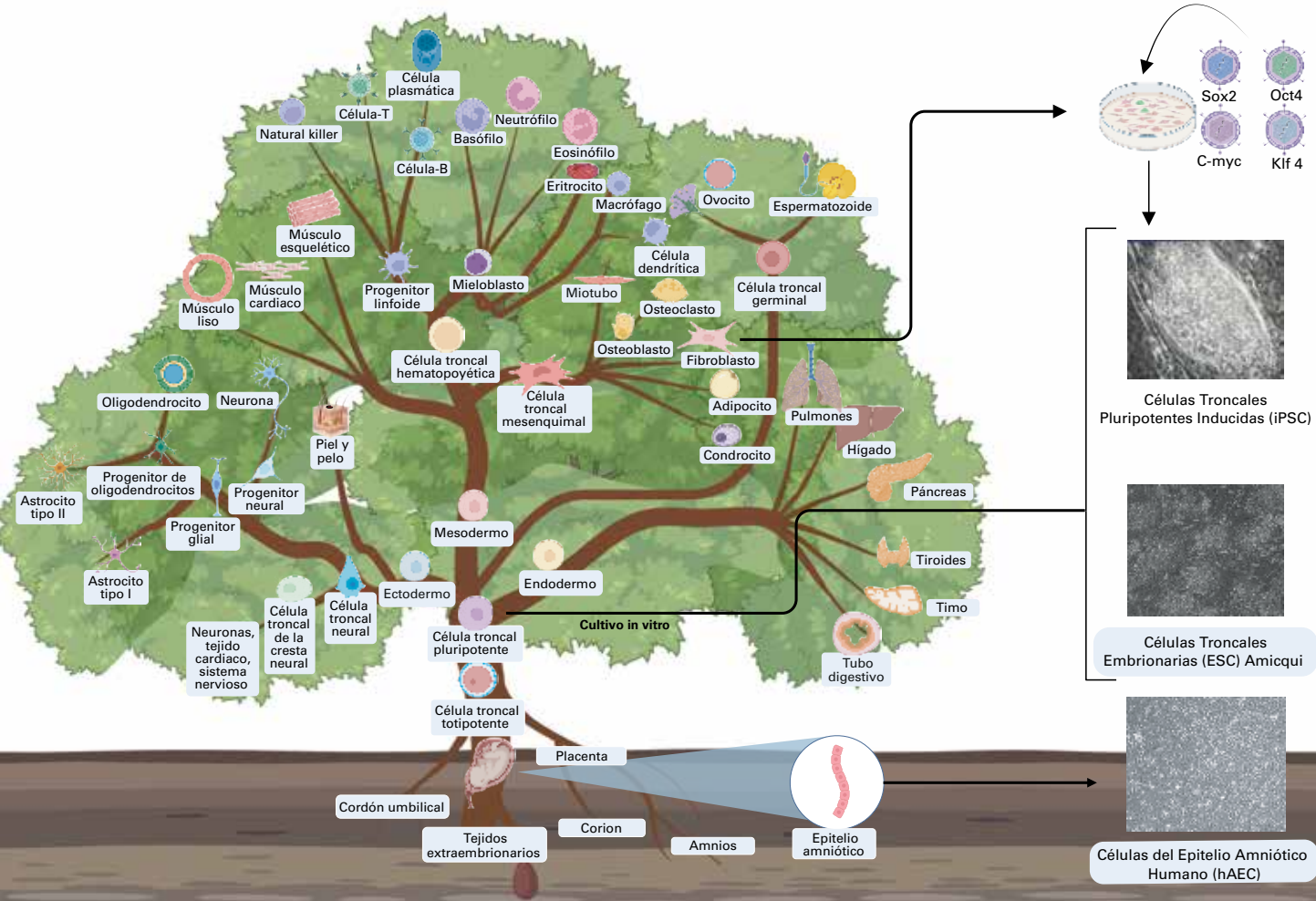


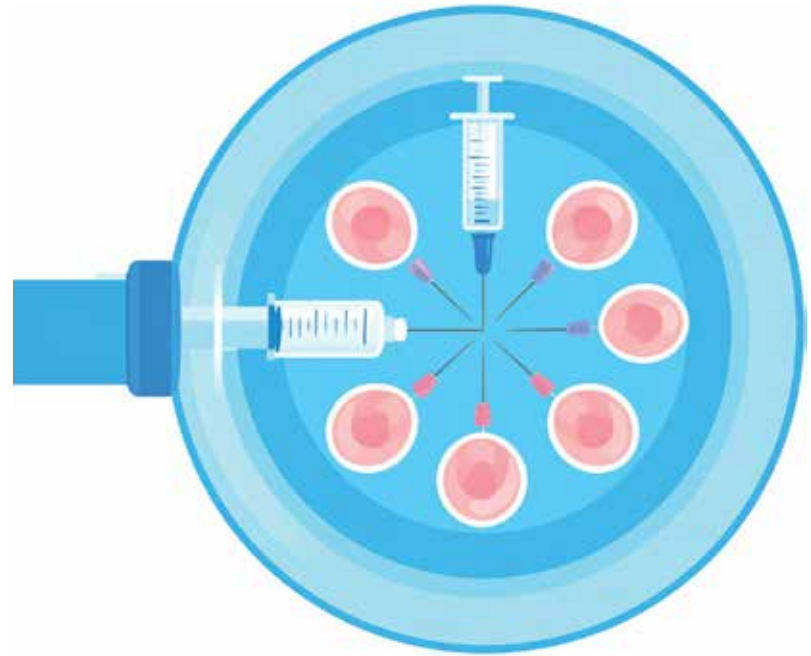
Figura 1. Tipos de células troncales, de acuerdo con su capacidad de producir tipos celulares diferenciados.

de 3.5-4.5 días de gestación. Posteriormente, para que las CTP pudieran crecer, alimentarse y dividirse, fueron colocadas sobre una capa de células, conocida como capa alimentadora o nodriza y que consiste en fibroblastos de embriones de ratón. Estos fibroblastos habían sido previamente cultivados en condiciones de laboratorio y tratados con mitomicina C (fármaco que inhibe la replicación del ADN y la división celular). Mientras, el doctor Martin cultivó las células internas del embrión en un medio generado a partir de células de carcinoma embrionario; es decir, un medio que estuvo en contacto con células de origen cancerígeno. De esta forma, en ambos casos se desarrollaron varios cúmulos de células conocidos como colonias, y así surgieron las células troncales embrionarias de ratón (CTER) (Evans y Kaufman, 1981; Martin, 1981).

Pero no fue sino hasta 1998 cuando el doctor J. A. Thomson y su grupo de colaboradores lograron obtener las primeras líneas de células troncales embrionarias humanas, a partir de embriones de cinco días de gestación, obtenidos por **fertilización in vitro**. De esta forma, una vez que los padres lograron el embarazo, los embriones sobrantes (supernumerarios) fueron donados para realizar investigación en esta área; con ello, las células de la masa interna fueron cultivadas —en las condiciones descritas por Evans y Martin en ratones—, y finalmente se obtuvieron cinco líneas de células troncales embrionarias humanas (CTEH) (Thomson y cols. 1998).

■ Pruebas de laboratorio para identificar las células troncales pluripotentes

■ La obtención de estas líneas de CTEH es apenas el comienzo de una aventura apasionante en el campo de la investigación científica, pues hay que demostrar mediante pruebas rigurosas que realmente se trata de una célula troncal y esto se debe a que estas células no tienen características de forma o estructura que nos permitan identificarlas bajo un microscopio. No obstante, debido a su naturaleza única, tienen características que pueden ser comprobadas en el laboratorio. Por ejemplo: presentan moléculas específicas (proteínas y genes, entre otras) que sólo



pueden encontrarse en estas células, y que cada una de ellas, dependiendo de su tipo, presenta, lo cual sirve para catalogarlas. De igual forma, se debe verificar su potencial de diferenciación para convertirse en células que componen todo el cuerpo, objetivo para el que existen diversos métodos, por ejemplo: en una placa de cultivo, los investigadores adicionan a las CTEH proteínas que les darán instrucciones específicas para convertirse en una célula especializada. Estos métodos se basan precisamente en replicar lo que ocurre durante el desarrollo embrionario del ser humano, y al obtener el tipo de célula deseado, se comprueba que posea las propiedades para realizar su función biológica; es decir, si se obtienen neuronas, éstas deben producir señales para comunicarse con otras neuronas.

■ ¿Cuál es la importancia de las CTEH?

■ Las CTEH se consideran un fantástico modelo de estudio para investigar eventos que ocurren durante el desarrollo humano y que tienen importantes consecuencias no sólo en el campo de las ciencias básicas, sino también en áreas clínicas, como son los defectos en el nacimiento, la infertilidad y la pérdida del embarazo; estos eventos resultan complicados de estu-

◀ **Fertilización in vitro**
Procedimiento médico utilizado por parejas infértiles para tener un embarazo, en el cual se realiza la fecundación a partir del óvulo de la madre y el espermatozoide del padre en una caja de cultivo.

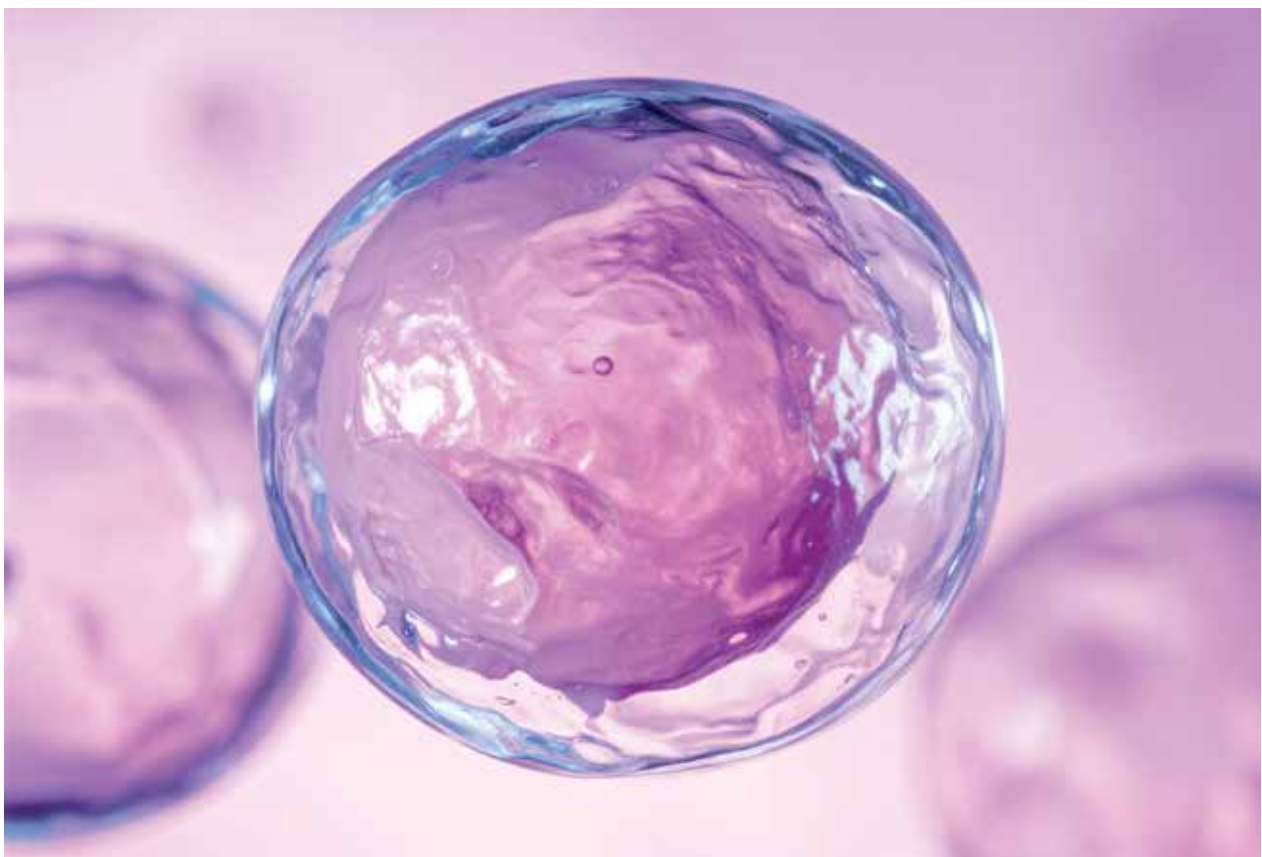
diar debido a la falta de modelos experimentales con condiciones semejantes a las de los seres humanos, así como por cuestiones ético-legales que limitan la posibilidad de hacer ciertos estudios con personas. Otro aspecto que también ha llamado la atención a nivel mundial, como ya se ha mencionado, es su capacidad de diferenciación en el laboratorio hacia diversos tipos de células, lo que nos permite descubrir los mecanismos que controlan la especialización celular, así como identificar genes involucrados en dichos procesos, información que es útil para la creación de métodos eficaces para la obtención de células diferenciadas y, con ello, poder utilizarlas en **terapias de reemplazo celular**. Por citar algunos casos, en la diabetes tipo I, enfermedad en que las células beta pancreáticas encargadas de producir insulina (proteína que controla los niveles de azúcar en el cuerpo) son afectadas, al recibir los pacientes nuevas células beta podrían tener una mejor calidad de vida; o en la enfermedad de Parkinson, donde se mueren de forma selectiva las neuronas dopaminérgicas de

un área específica del cerebro (lo cual provoca que los pacientes tengan movimientos involuntarios), el tratamiento sería reponer estas neuronas mediante la diferenciación de las células troncales. No obstante, a pesar de los resultados prometedores en los laboratorios de investigación, antes de que las cTEh se conviertan en una realidad en la clínica, quedan diversas barreras que se tienen que superar.

■ **Principales desafíos en el uso de las células troncales embrionarias humanas**

■ Uno de los principales desafíos en la obtención de las cTEh es el uso de embriones humanos en desarrollo, lo cual se ve reflejado en el número limitado de líneas celulares de este tipo. Si bien el número de líneas en bancos que las almacenan ha crecido relativamente, la diversidad de ellas se mantiene limitada; es decir, la mayoría de las líneas representan sobre todo a la población europea o asiática. De esta forma, el potencial benéfico que pudieran traer este

Terapias de reemplazo celular
Consisten en sustituir el tipo celular dañado, ya sea por una enfermedad, accidente o incluso por la vejez.



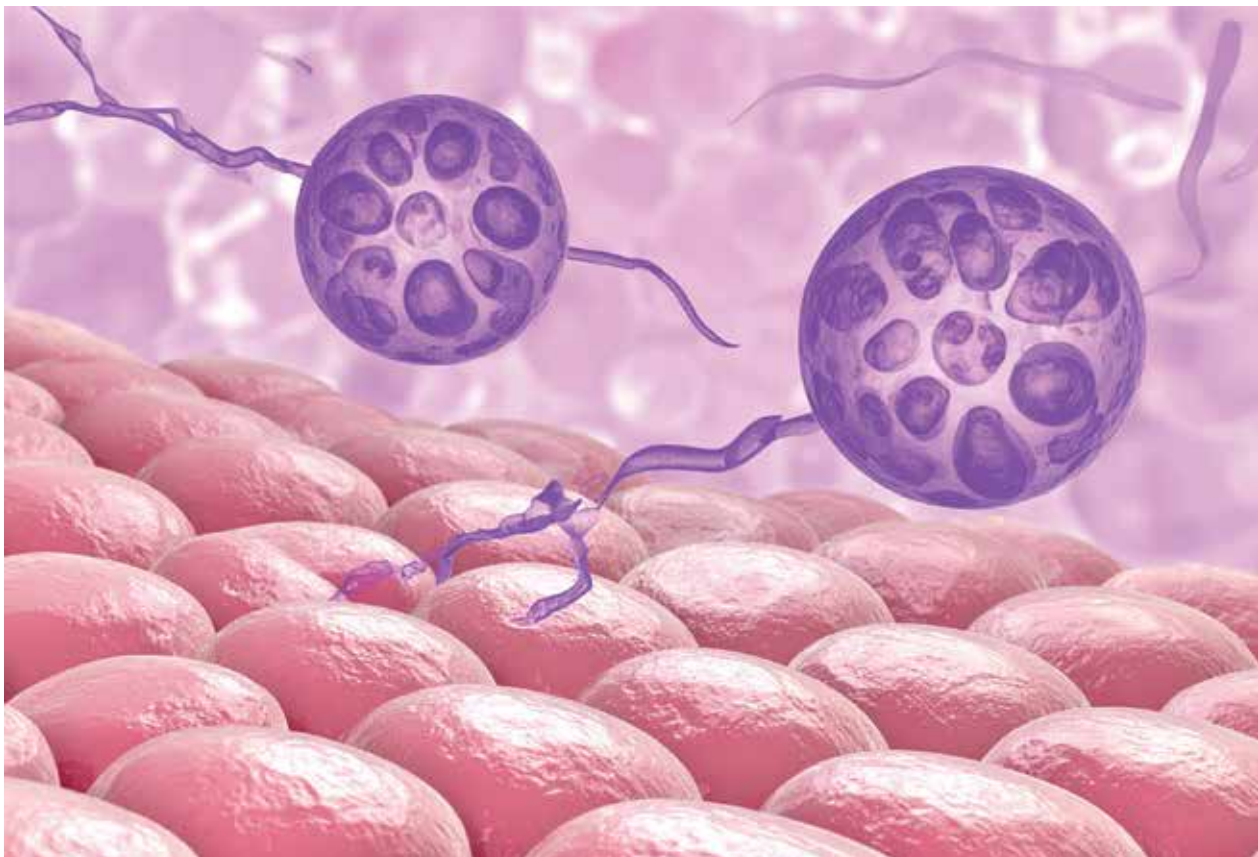
tipo de células sólo sería limitado para países que promueven este tipo de investigaciones, que por lo general son países desarrollados o de primer mundo. Otro gran desafío es que debido a su naturaleza, si se queda una población celular en estado indiferenciado y es trasplantada a un paciente, existe el riesgo de la formación de teratomas. Éstos son los motivos por los cuales se han buscado fuentes alternativas para la obtención de CTEH en todo el mundo.

Fuentes alternas de células troncales embrionarias humanas

Después de una labor titánica en el laboratorio y de una estrategia sin precedentes, el doctor Yamanaka logró crear células troncales a partir de células especializadas de la piel (fibroblastos), mediante el uso de cuatro factores de transcripción: OCT-4, SOX-2, KLF-4 y c-MYC (proteínas capaces de unirse específicamente al ADN, para apagar o prender genes), lo que permitió la creación de células troncales pluri-

potentes inducidas (hiPSC, por sus siglas en inglés; *human Induced Pluripotent Stem Cells*). La estrategia de reprogramación consistió en introducir las cuatro moléculas antes mencionadas mediante **vectores virales** y con ello lograron transferir la información genética a las células. De esta forma, al poder reprogramar células de un individuo adulto, puesto que éstas tienen toda la información necesaria para evitar problemas de rechazo al ser trasplantadas en la persona de la que fueron tomadas, pueden usarse en terapias celulares (Takahashi y cols., 2007). Sin embargo, se ha reportado que el proceso de reprogramación provoca que las células troncales inducidas que se obtienen tengan integrada información genética de los virus usados, lo que incrementa el riesgo de producir tumores (Lee y cols., 2013). De la misma manera, las células troncales inducidas conservan una memoria del tejido de origen, lo cual provoca que, al momento de diferenciarse en el laboratorio, estas células conservarán un sesgo en su capacidad de convertirse en el tejido de donde se obtuvo esa

Vectores virales
Vehículos para transferir proteínas a las células.



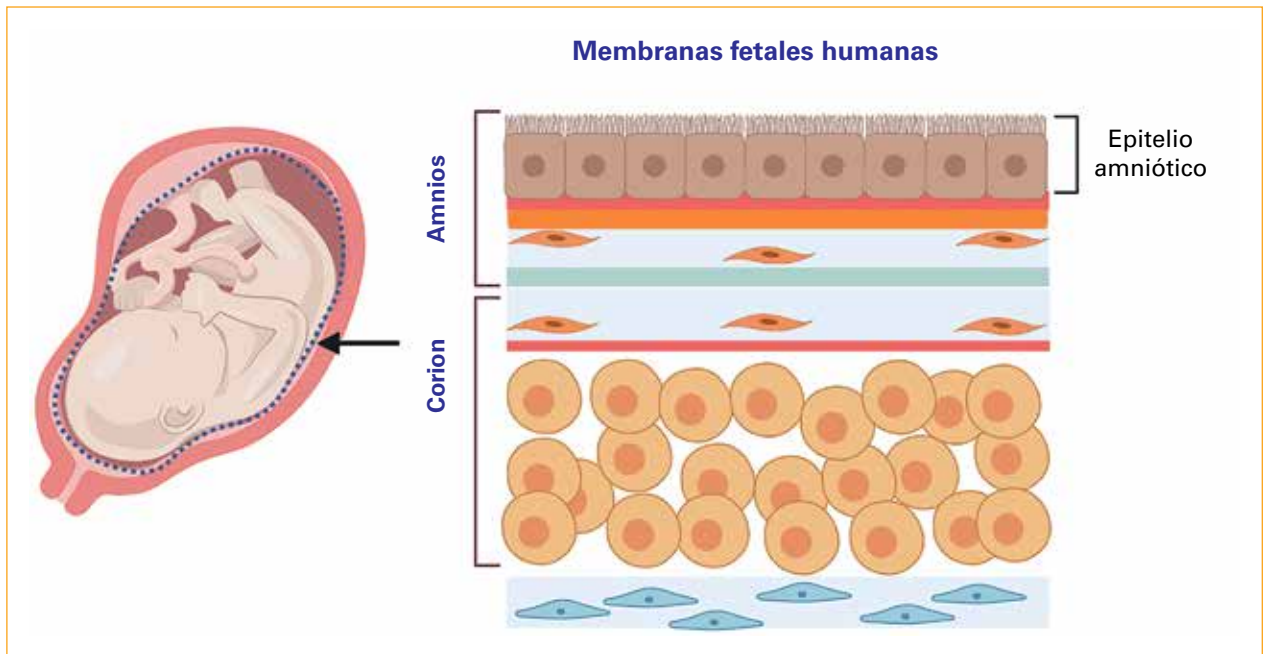


Figura 2. Estructura de las membranas fetales humanas.

célula (Kim y cols., 2010). Finalmente, estos procedimientos son complejos y costosos, motivo por el cual no todos los laboratorios en el mundo tienen libre acceso a ellos.

Otra posible fuente de obtención de células troncales sería a partir de tejidos adultos. Sin embargo, como es de imaginar, es difícil tomarlas, ya que se requieren métodos invasivos en los que es necesario realizar una incisión para llegar al sitio donde se encuentran. Asimismo, este tipo de células, como ya se mencionó, no poseen una capacidad de diferenciación a todos los tipos celulares que componen a un organismo y su obtención puede implicar problemas ético-legales. Por todo ello, en los últimos años se ha sugerido que las células troncales más adecuadas pueden encontrarse en los tejidos extraembrionarios y en especial en las membranas fetales humanas.

son desechados de manera rutinaria si el producto no presentó complicaciones durante el embarazo. No obstante, estos tejidos presentan algunas características muy importantes.

Los tejidos extraembrionarios están constituidos por la placenta, el cordón umbilical y las membranas fetales humanas (MFH) (véase la **Figura 2**). Ahora nos enfocaremos en las MFH, las cuales están conformadas por dos capas, denominadas amnios y corion. Entre las funciones específicas que tienen, está la de darle un ambiente libre de patógenos y de agentes inflamatorios al producto; es decir, tienen propiedades antibacterianas, antivirales y antiinflamatorias, permiten la tolerancia inmunológica entre el feto y la madre, soportan la deformación local y el estiramiento mecánico, entre otras. Además de todas estas características, en el amnios se encuentran unas células sumamente peculiares: las células epiteliales, las cuales pueden obtenerse y mantenerse en el laboratorio luego de un parto y con el **consentimiento informado de la paciente**. Dichas células en cultivo tienen una forma cuboide y son capaces de producir múltiples proteínas y moléculas que les permiten realizar las funciones ya descritas. No obstante, lo asombroso de ellas es que, a diferencia de todas las

Consentimiento informado del paciente

Documento legal mediante el cual se ceden los derechos del material biológico para poder realizar procedimientos médicos de diagnóstico o investigación.

■ **Membranas fetales y células del epitelio amniótico humano**

■ Los tejidos extraembrionarios, en general, han sido poco valorados en el campo de la medicina, pues debido a que cumplen su función después del parto,

otras células que componen a los tejidos extraembrionarios, éstas se originan en el **epiblasto**. De esta forma, posteriormente al parto estas células podrían tener características de células troncales pluripotentes. Por esta razón, en los últimos años se han realizado diversas investigaciones para demostrar esta hipótesis en laboratorios de todo el mundo.

Uno de los primeros indicios de su capacidad pluripotente proviene de estudios en donde se demostró que dichas células presentan moléculas específicas de células troncales pluripotentes (como ya se mencionó), así como la capacidad de diferenciarse en tipos celulares representativos de todo el cuerpo; por ejemplo, en el laboratorio se ha logrado su transformación en células del páncreas, neuronas y en células del corazón, entre otras, utilizando protocolos especializados de señales moleculares. Otra cualidad de las células del epitelio amniótico humano, que podría ser útil en la medicina regenerativa, es que han sido trasplantadas tanto en animales como en humanos y no presentan rechazo inmunológico ni formación de tumores.

Por lo tanto, podemos apreciar que las células del epitelio amniótico pueden ser una fuente novedosa de células troncales que podrán ser utilizadas en terapias de reemplazo celular y en modelos de estudio *in vitro* del desarrollo temprano, con la ventaja de que con ellas se pueden evitar los problemas ético-legales de las cteñ e ipsc. Sin embargo, es necesario continuar la investigación con esas dos líneas celulares, ya que seguirán siendo el estándar de oro del estudio de células troncales pluripotentes.

Epiblasto

Estructura que se encuentra en embriones de etapas muy tempranas de desarrollo, de donde se formarán todos los tejidos del cuerpo humano y se obtienen las cteñ.

Axel Castro Ábrego

Instituto Nacional de Perinatología.
2709@ciencias.unam.mx

Néstor Fabián Díaz Martínez

Instituto Nacional de Perinatología.
nfdiaz00@yahoo.com.mx

Guadalupe García López

Instituto Nacional de Perinatología.
guadalupegl2000@yahoo.com.mx

Referencias específicas

- Evans, M. J. y M. H. Kaufman (1981), "Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos", *Nature*, 292(5819):154-156. Disponible en: <<https://doi.org/10.1038/292154a0>>, consultado el 3 de mayo de 2025.
- Kim, K. *et al.* (2010), "Epigenetic memory in induced pluripotent stem cells", *Nature*, 467(7313):285-290. Disponible en: <<https://doi.org/10.1038/nature09342>>, consultado el 3 de mayo de 2025.
- Lee, A. S. *et al.* (2013), "Tumorigenicity as a clinical hurdle for pluripotent stem cell therapies", *Nature Medicine*, 19(8):998-1004. Disponible en: <<https://doi.org/10.1038/nm.3267>>, consultado el 3 de mayo de 2025.
- Martin, G. R. (1981), "Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 78(12):7634-7638. Disponible en: <<https://doi.org/10.1073/pnas.78.12.7634>>, consultado el 3 de mayo de 2025.
- Takahashi, K. *et al.* (2007), "Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors", *Cell*, 131(5):861-872. Disponible en: <<https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.11.019>>, consultado el 3 de mayo de 2025.
- Thomson, J. A. *et al.* (1998), "Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts", *Science*, 282(5391):1145-1147. Disponible en: <<https://doi.org/10.1126/science.282.5391.1145>>, consultado el 3 de mayo de 2025.