



Joan Pijoan. *Genètica*, 2007. Cera i aquarel·la sobre paper, 24 x 32 cm.

CÈL·LULES MARE EMBRIONÀRIES I MEDICINA REGENERATIVA

Anna Veiga, Begoña Aran, Ignasi Rodríguez, Ángel Raya, Juan Carlos Izpisua Belmonte

EMBRYONARY STEM CELLS AND REGENERATIVE MEDICINE.

EMBRYONARY STEM CELLS HAVE REPRESENTED A SCIENTIFIC REVOLUTION IN RECENT YEARS GIVEN THEIR POTENTIAL CAPACITY TO TURN INTO ANY CELL TYPE IN THE ORGANISM. THEIR THERAPEUTIC IMPORTANCE LIES IN THE FACT THAT THEY CAN BE USEFUL FOR TREATING DISEASES CAUSED BY A DEFICIT IN CELL FUNCTIONING. NUMEROUS RESEARCH GROUPS WORLD-WIDE ARE WORKING TO FIND OUT THE DIFFERENTIATION MECHANISMS, AS WELL AS ALTERNATIVE TECHNIQUES TO USING PRE-EMBRYOS, IN ORDER TO DISCOVER A SAFE AND EFFICIENT THERAPY FOR THESE TYPES OF ILLNESS.

Les cèl·lules mare (CM) són cèl·lules indiferenciades que poden trobar-se en embrions (CM embrionàries), alguns teixits fetals, cordó umbilical, placenta (CM fetals) i en teixits adults (CM adultes). Són cèl·lules pluri o multipotents (en alguns casos totipotents) que poden donar lloc a diferents tipus cel·lulars, depenent del seu origen i plasticitat. La investigació en cèl·lules mare és una eina de gran utilitat per a descobrir nous fàrmacs, per a estudiar el desenvolupament, per al control genètic i també en teràpies de patologies degudes a pèrdua de funció cel·lular. La teràpia cel·lular, a través del trasplantament de cèl·lules mare diferenciades en diferents tipus cel·lulars, pot representar una alternativa terapèutica en malalties com ara algunes alteracions neurodegeneratives, accidents vasculars, lesions de medul·la espinal, insuficiència cardíaca i la diabetis juvenil, entre altres.

Centrant-nos en les cèl·lules mare embrionàries (CME), convé recordar algunes dates determinants en aquesta àrea d'investigació convertida avui dia en una de les més innovadores, amb avenços extremadament ràpids i espectaculars.

L'any 1978 naix al Regne Unit el primer individu de l'espècie humana resultant d'una fecundació *in vitro* (Edwards i Steptoe, 1978). Vint anys més tard es publica l'obtenció de cèl·lules mare embrionà-

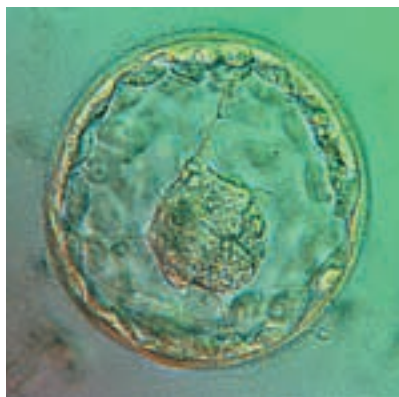
ries a partir de preembrions humans sobrants de processos de reproducció assistida (Thomson *et al.*, 1998). Des de llavors, les publicacions científiques relacionades amb aquest àmbit no han deixat d'incrementar-se.

Les cèl·lules mare embrionàries procedeixen de la massa cel·lular interna de blastocists. Es tracta de preembrions de 5-6 dies amb aproximadament 150-200 cèl·lules. La massa cel·lular interna, origen de les CME en condicions de cultiu *in vitro*, és la que donaria lloc al fetus en condicions *in vivo*, si el preembrió s'implantava i la gestació arribava a terme. El cultiu d'aquesta estructura dóna lloc al creixement de les CME. Aquesta mena de cèl·lules posseeixen unes característiques específiques a causa de la capacitat d'autorenovació indefinida i de la pluripotencialitat de què gaudeixen. Les CME poden donar lloc a noves cèl·lules mare indiferenciades o convertir-se en diferents tipus cel·lulars dels més de 200 que hi ha en un individu adult de l'espècie humana.

La investigació en CME avança ràpidament, però els factors genètics i ambientals que controlen tant el seu estat indiferenciat com els processos que permeten la diferenciació a diferents tipus cel·lulars no s'han establert completament.

Els diferents grups que investiguen en aquest àmbit intenten de-

**«LA INVESTIGACIÓ
EN CÈL·LULES MARE ÉS UNA
DE LES MÉS INNOVADORES,
EXPERIMENTA AVENÇOS
EXTREMADAMENT RÀPIDS
I ESPECTACULARS»**



Blastocist expandit. Al centre s'aprecia la massa cel·lular interna (MCI).



Colònia de cèl·lules mare embrionàries (CME).

terminar quines condicions de cultiu propicien l'estat indiferenciat i quines causen determinats tipus de diferenciació. La identificació i caracterització dels mecanismes genètics, epigenètics i cel·lulars responsables de mantenir l'estat indiferenciat de les CME i de dirigir la seua diferenciació cap a tipus cel·lulars específics és una àrea d'investigació en què es produeixen avenços continus.

La teràpia cel·lular consisteix en el trasplantament de cèl·lules diferenciades a partir de CM i va destinada a reparar teixits en què s'ha perdut la funcionalitat de les cèl·lules. A l'hora de plantejar possibilitats terapèutiques és important tenir en compte que les CME posseeixen una gran capacitat de proliferació i per tant abans de trasplantar-les cal avaluar el risc de produir tumors. S'ha demostrat ja el potencial d'aquestes cèl·lules per diferenciar-se en diversos tipus cel·lulars i la funcionalitat quan són emplantades en models animals com ara el ratolí.

Sembla que els primers assajos en humans podrien portar-se a terme en un futur molt pròxim. En l'espècie humana s'ha obtingut ja diferenciació a cèl·lules de múscul cardíac, cèl·lules neuronals, cèl·lules hematopoètiques, cèl·lules pancreàtiques, cèl·lules endotelials, hepatòcits i trofòderma. És imprescindible poder controlar i dirigir la diferenciació cel·lular i obtenir poblacions pures de cèl·lules diferenciades per plantejar una teràpia sense risc per al pacient i amb possibilitats d'èxit.

Nombrosos grups a Europa (Dinamarca, Suècia, Regne Unit, Finlàndia, Espanya, França) i en la resta del món (EUA, Israel, Xina, Corea del Sud, Singapur, Índia, Austràlia) estan derivant actualment línies de CME a partir de blastocists obtinguts de preembrions sobrants de

programes de fecundació *in vitro*. La investigació encaminada a comprendre els mecanismes que controlen l'autorenovació i la pluripotencialitat es porta a terme en aquells països en què la legislació permet la recerca amb preembrions humans i amb cèl·lules mare embrionàries.

Espanya es troba entre els països en què es permet realitzar aquesta mena d'investigacions. Les lleis 14/2006 i 14/2007 de Tècniques de reproducció assistida i Biomedicina, respectivament, estableixen el marc legal al nostre país i regulen la recerca amb material embrionari; concretament permet l'aplicació de tècniques com ara la transferència nuclear i la partenogènesi per a l'obtenció de CME.

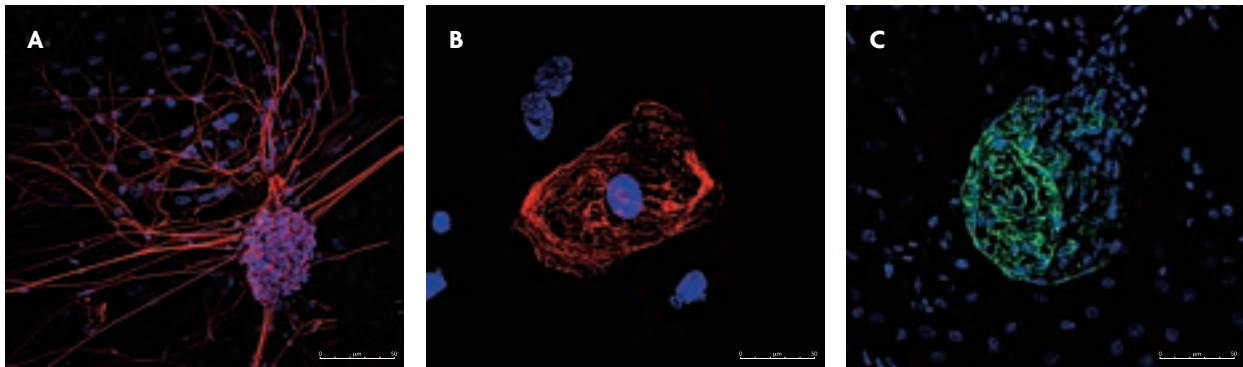
La majoria de les línies de CME obtingudes fins avui procedeixen de preembrions dels programes de fecundació *in vitro*, donats per les parelles que ja no els desitgen utilitzar amb finalitat reproductiva i que opten per destinar-los a investigació. La qualitat dels preembrions utilitzats sembla un factor clau a l'hora d'optimitzar el procés. La utilització de preembrions cromosòmicament anormals i portadors de malalties pot ser d'utilitat com a models de patologies diverses.

S'han publicat fins a la data aproximadament 200 línies de CME, amb distintes metodologies (Veiga *et al.*, 2007). La metodologia d'obtenció de les CME implica actualment l'ús d'alguns productes d'origen animal, encara que determinats protocols descrits recentment eviten aquesta mena de substàncies. L'objectiu és la derivació de línies de CME en condicions definides, sense productes d'origen animal i en condicions de *good manufacturing practice* (GMP), necessàries o en tot cas molt recomanables per a plantejar teràpies d'aplicació clínica.

S'estan establint registres i bancs de cèl·lules mare i és important que es dispose de tota la informació relativa a les línies de CME existents i en utilització, sobretot quant a les característiques de la metodologia d'obtenció i a les propietats de diferenciació d'aquestes cèl·lules. El Registre Europeu de Línies de CME (EU hESC Registry), projecte finançat per la Comissió Europea (FP6) en què col·laboren el Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona i el Berlín Centre for Regenerative Therapies, constitueix una eina imprescindible per als investigadors d'aquest camp.

Els problemes tècnics que hi ha avui dia per a plantejar l'aplicació clínica de la teràpia cel·lular fan necessària la investigació en profunditat per a elucidar els mecanismes que controlen la diferenciació, la desdiferenciació i la

**«LES CÈL·LULES MARE
EMBRIONÀRIES POSSEIXEN
UNA GRAN CAPACITAT DE
PROLIFERACIÓ I PER TANT
CAL AVALUAR EL RISC QUE
PRODUESQUEN TUMORS EN
SER TRASPLANTADES»**



Distints tipus cel·lulars: A. Presència de beta-tubulina després de la diferenciació induïda de cèl·lules mare a ectoderma (neurona). B. Presència d'alfa-actineta després de la diferenciació induïda de cèl·lules mare a mesoderma (cardiomiòcit). C. Presència d'alfa-fetus proteïna després de la diferenciació espontània de cèl·lules mare a endoderma (teixit glandular).

transdiferenciació. Cal controlar el creixement, la migració, la destinació i la diferenciació cel·lular per assegurar processos estables després del trasplantament de les cèl·lules.

El rebuig immunològic és un altre dels problemes que cal resoldre i s'estudien distintes fórmules per a evitar-lo, o almenys reduir-ne els efectes. Entre aquestes cal destacar l'ús de fàrmacs immunosupressors, l'ús de cèl·lules HLA compatibles en el trasplantament i la inducció d'immunotolerància mitjançant administració prèvia de material embrionari o hematològic del donant. Una altra de les opcions és l'obtenció de CME procedents de preembrions clonats mitjançant transferència nuclear. Aquesta tècnica, també coneguda com a clonatge terapèutic, requereix la mateixa metodologia que la descrita per Wilmut i col·laboradors el 1997 per al naixement de l'ovella Dolly. Es tracta de la transferència del nucli d'una cèl·lula somàtica a un ovòcit del qual s'ha eliminat el nucli.

La finalitat del clonatge terapèutic no és reproductiva, com en el cas de Dolly, sinó l'obtenció de preembrions clonats amb els quals derivar cèl·lules mare embrionàries. El trasplantament amb cèl·lules obtingudes a partir d'un preembrió clonat del mateix pacient evitaria l'aparició de problemes de rebuig immunològic. D'altra banda, aquesta tècnica constitueix una eina molt útil per a conèixer els mecanismes cel·lulars i moleculars de determinades malalties i poder estudiar models de tractament. La derivació de CME a partir de preembrions obtinguts per transferència nuclear ja ha estat duta a terme amb èxit en el ratolí i altres models animals, encara que no s'ha aconseguit encara en l'espècie humana.

Hi ha actualment un ampli ventall de tècniques que permeten l'obtenció de CME, amb avantatges i inconvenients inherents a la seua utilització

**«EL TRASPLANTAMENT
AMB CÈL·LULES
OBTINGUDES A PARTIR D'UN
PREEMBRIÓ CLONAT DEL
MATEIX PACIENT EVITARIA
L'APARICIÓ DE PROBLEMES
DE REBUIG IMMUNOLÒGIC»**

que les fan més o menys reproduïbles i aplicables (Green, 2007). Diversos grups també han descrit recentment la possibilitat de convertir en cèl·lules pluripotents diferents tipus cel·lulars mitjançant reprogramació cel·lular, evitant en aquest cas la utilització de preembrions.

El Banc de Línies Cel·lulars del Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona va iniciar la seua activitat al juliol del 2005 amb el projecte «Derivació de cèl·lules mare embrionàries en condicions lliures de xenobiòtics i caracterització *in vivo* de la seua pluripotencialitat».

Fins al moment s'han obtingut cinc línies de CME, dues de les quals han estat ja dipositades en el Banc Nacional de Línies Cel·lulars (www.isciii.es), després de fer-ne una caracterització fenotípica i genètica exhaustiva. L'objectiu és l'eliminació de productes d'origen animal en el procés de derivació, com també la utilització de protocols GMP per a fer possible la utilització d'aquestes cèl·lules en teràpia cel·lular. ☺

BIBLIOGRAFIA

- EDWARDS, R. G. i P. C. STEPTOE, 1978. «Birth after the reimplantation of a human embryo». *Lancet*, 2: 366.
- GREEN, R. M., 2007. «Can we develop ethically universal stem-cell lines». *Nature*, 8: 480-486.
- THOMSON, J. A. *et al.*, 1998. «Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts». *Science*, 282: 1145-1147.
- VEIGA, A., CAMARASA, M. V., ARAN, B., RAYA, A. i J. C. IZPISÚA, 2007. «Selection of embryos for stem cell derivation: can we optimise the process?». In PELLICER, A. i C. SIMON (eds.), 2007. *Stem Cells in Reproductive Medicine: Basic Science and Therapeutic Potential*. Informa Healthcare.
- WILMUT, I., SCHNIEKE, A. E., MCWHIR, J., KIND, A. J. i K. H. CAMPBELL, 1997. «Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells». *Nature*, 385: 810813.

Anna Veiga, Begoña Aran, Ignasi Rodríguez, Àngel Raya i Juan Carlos Izpisua Belmonte. Banc de Línies Cel·lulars. Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona.

