

# Las *stem cells* de cordón umbilical y su potencial utilidad en medicina regenerativa del sistema nervioso

Stella Delcourt, Lucas Otaño, Nadia Giselle Innamorato, Marcos Bujas, Edgardo Cristiano y Pablo Argibay

El trasplante de *stem cells* (SCs), a partir de la sangre contenida en el cordón umbilical se ha desarrollado principalmente en los últimos 30 años. En 1974, Knudtson comunicó que la sangre placentaria poseía la capacidad de formar colonias granulocíticas y eritroides al sembrarla en un medio semisólido. Posteriormente, otros trabajos confirmaron y ampliaron estos hallazgos<sup>1</sup>. El primer trasplante exitoso fue realizado en Francia por Eliane Glukman, en el año 1989, en un niño con anemia de Fanconi. Las células utilizadas fueron obtenidas del cordón umbilical de la hermana (histocompatible), recolectadas y criopreservadas en los Estados Unidos, para luego ser enviadas a París<sup>2</sup>.

Años más tarde, en 1994, Kurtzberg y col. efectuaron el primer trasplante con células de cordón umbilical provenientes de un donante no relacionado. Desde entonces, las células de cordón umbilical han sido utilizadas con mayor frecuencia en trasplantes autólogos y alogénicos como sustituto de las células de la médula ósea<sup>3</sup>.

La proximidad en el tiempo entre *stem cells* de cordón, *stem cells* fetales y células con características de multipotencialidad en la médula ósea, ha hecho pensar que se podrían utilizar dichas células en medicina regenerativa, además de su aplicación en enfermedades hematológicas. En este sentido, las enfermedades degenerativas del sistema nervioso son un blanco atractivo para la terapia con SCs, siendo el cordón umbilical una fuente potencial de estas células.

En relación a la potencial diferenciación de las células de cordón en células de estirpe neural, Sanchez-Ramos y colaboradores, investigaron la expresión de marcadores neuronales en la sangre de cordón, sobre una población general de células sanguíneas<sup>4</sup>. Este grupo encontró que las SCs de cordón tratadas con ácido retinoico (RA) y el factor de crecimiento nervioso (NGF) exhibían un cambio en el fenotipo y en la expresión de marcadores moleculares asociados con neuronas y glía, tales como Musashi-1 y beta tubulina II, proteínas que se encuentran en un desarrollo neuronal temprano. Este grupo también encontró otros marcadores como ARN mensajero (ARNm) de glipican 4, pleiotropina; y de la proteína ácida fibrilar

glial (GFAP), todos asociados con células de estirpe neural. Por otra parte, Zigova y colaboradores observaron la expresión de antígenos neurales en células de cordón umbilical trasplantadas en cerebros de roedores neonatos<sup>5</sup>. Previo al trasplante, las células fueron expuestas a RA y NGF. Los neonatos de un día de vida recibieron una inyección de una suspensión de células en la zona subventricular del cerebro. Un mes luego del trasplante, los animales fueron sacrificados, sus cerebros crioseccionados y se practicó inmunocitoquímica para la identificación de fenotipos neuronales. Los resultados mostraron que el 20% de las células de cordón trasplantadas sobrevivieron sin inmunosupresión en el entorno del cerebro del neonato. Adicionalmente, marcadores específicos revelaron que algunas células derivadas del cordón fueron inmunopositivas para la GFAP y unas pocas células expresaron el marcador de neuronas inmaduras Tuj1 ( $\beta$  tubulina clase III).

Este estudio da cuenta de que al menos algún porcentaje de las células de cordón umbilical trasplantadas se diferenciaron en fenotipos gliales y neuronales luego de una exposición a señales instructivas para el cerebro en desarrollo.

El grupo de Gazbuzova y colaboradores, realizó una investigación sobre la esclerosis lateral amiotrófica (ALS), una enfermedad caracterizada por la degeneración neuronal motora<sup>6</sup>. El objetivo principal del estudio era determinar los efectos a largo plazo de células mononucleares de cordón umbilical administradas por vía intravenosa en el progreso de la enfermedad. El estudio se realizó sobre un modelo murino de ALS y se examinó la distribución de las células trasplantadas dentro y fuera del sistema nervioso central, la migración de las células hacia las áreas en degeneración en el cerebro y la médula espinal y su inmunofenotipo. Los resultados fueron similares a los encontrados por otros grupos en cuanto a la expresión de marcadores neuronales específicos. También observaron que las células trasplantadas estaban distribuidas ampliamente en los órganos periféricos, incluyendo el bazo, además de ser recuperadas de la circulación periférica.

En el estudio de Li y colaboradores, se tuvo como objetivo observar si células de cordón humano CD34+, trasplan-

tadas en la médula espinal podían sobrevivir, diferenciar-se y mejorar las funciones neuronales en ratas con daños en la médula espinal<sup>7</sup>.

Para ello las ratas fueron divididas al azar en dos grupos. Un grupo fue sometido a una hemisección izquierda de la médula espinal y trasplantado con células de cordón CD34+ marcadas con bromodeoxiuridina (BrdU). Al otro grupo se le practicó una hemisección izquierda de la médula y se le inyectó PBS, constituyendo el grupo control. Las funciones neurológicas fueron determinadas antes y 24 h, 1, 2, 3 y 4 semanas luego de la lesión en la médula y el trasplante de células usando una puntuación de Tarlov\* modificada. La distribución y diferenciación de las células trasplantadas en la médula espinal fueron evaluadas por análisis histológicos e inmunocitoquímicos. Los resultados mostraron que hubo una recuperación funcional en el grupo trasplantado comparado con el grupo control. Además, se encontró que las células de cordón humano CD34+ fueron capaces de sobrevivir en el microambiente de la médula espinal del animal, con la expresión de una proteína específica nuclear neuronal (NeuN) en el 2% de las células marcadas con BrdU, y con la expresión de una proteína específica astrocitaria, la GFAP, en el 7% de las células trasplantadas.

Por otra parte, Jang y Park purificaron poblaciones de células troncales hematopoyéticas de cordón umbilical, aislándolas mediante selección magnética (MACS) y fluorescente (FACS) usando un anticuerpo específico contra CD133<sup>8</sup>. Las células CD 133+, se hicieron crecer en un medio que contenía ácido retinoico luego de lo cual expresaron fenotipos gliales y neuronales. Los estudios con RT-PCR indicaron que estas células también expresaban transcritos de ARNm para el transportador ABCG2 (un marcador universal de células troncales), nestina, Musashi-1 y receptores de RA (RAR-alfa, RAR beta, entre otros). Las células CD133+ tratadas con ácido retinoico también expresaron transcritos de ARNm para proteínas estructurales características de neuronas como tubulina beta III o NSE. De la misma manera, observó a través de RT-PCR, Western blot e inmunocitoquímica, la expresión del marcador astrocitario GFAP y de la proteína asociada a mielina (MBP), marcador para oligodendrocitos.

Un aspecto interesante de este trabajo es que se encontró una regulación positiva de varios factores de transcripción (del tipo hélice-loop-hélice) importantes para la neurogénesis temprana, como Otx2, Pax6, Wnt1, entre otros.

En el estudio de Taguchi y colaboradores, se utilizaron

células CD34+ de sangre de cordón umbilical para estudiar los efectos de esta población enriquecida en la recuperación de la isquemia cerebral y la consecuente degeneración neuronal<sup>9</sup>. Ratonos inmunocomprometidos fueron trasplantados por vía intravenosa con células CD34+, 48 horas antes de la inducción del daño. En este estudio se observó una recuperación y se la asoció con la neovascularización en los límites de la zona isquémica. Es interesante destacar que, cuando la neovascularización era suprimida con agentes antiangiogénicos, la recuperación no era efectiva. Este estudio sugiere que la administración de las células de cordón estimula la neovascularización en la zona isquémica y este ambiente angiogénico con la generación de mediadores nutricionales neuronales por las células CD34+, como factor de crecimiento endotelial VEGF, FGF-2 y IGF-1, estimulan la regeneración neuronal. Además, la neurogénesis endógena es acelerada en tanto los progenitores neuronales migran hacia el área dañada, con la subsiguiente maduración.

En relación específicamente a las células mesenquimales provenientes de la sangre del cordón umbilical, numerosos estudios muestran una pluripotencialidad que incluiría la capacidad de transdiferenciación de las células de cordón en células de fenotipo neural. Sin embargo, el bajo número de células mesenquimales obtenidas de esta fuente hace que sea poco probable que se puedan utilizar para el reemplazo neural en enfermedades del adulto humano. Por otra parte, son escasos los trabajos efectuados sobre amplificación y diferenciación de células provenientes de material humano en los cuales se ha fundamentado biológicamente el proceso e investigado los mecanismos de diferenciación. El tema tiene actualmente el mayor interés científico, económico y social ya que se ha establecido una controversia entre los bancos de sangre de cordón umbilical públicos y privados<sup>10</sup>, en relación a la utilidad de las células troncales de cordón en el tratamiento de enfermedades no hematológicas. Sólo se justificarían bancos de cordón autólogos si se demostrara su utilidad clínica futura en cuestiones tales como: pluripotencialidad real y capacidad de diferenciación en el caso de células humanas; obtención por amplificación de suficientes células para tratar a un adulto; posibilidad clara de diferenciación no sólo fenotípica, sino también funcional y descripción de los mecanismos biológicos que dirigirían la capacidad putativa de transdiferenciación.

Las terapias autólogas con células troncales de cordón umbilical sólo serán efectivas si se logra expandir la población inicial de células obtenidas posparto, manteniendo sus características de pluripotencialidad. El objetivo de la medicina regenerativa en este sentido, sería obtener “factorías” celulares de material indiferenciado que pu-

\* La escala de Tarlov es una medición que censa los movimientos de las extremidades inferiores en caso de lesiones, en este caso en la medula espinal, en cinco categorías.

diera utilizarse para el trasplante y reemplazo de tejidos dañados en forma autóloga.

La potencialidad de estos tratamientos podría ser enorme si se allanara el camino de las dificultades planteadas previamente. Recientemente, Hirata y colaboradores han mostrado en un modelo experimental de isquemia cardíaca la recuperación funcional luego de la inyección de células CD34+ obtenidas de sangre de cordón umbilical<sup>11</sup>. Por otra parte, Ende y colaboradores mostraron que la administración de células provenientes de cordón umbilical humano a ratones diabéticos insulino-dependientes (ratones NOD, diabéticos no obesos, por sus siglas en inglés), mejora su supervivencia, el control metabólico y la insulinitis propia de la enfermedad. Es interesante destacar el hecho de que no se utilizó inmunosupresión en el estudio<sup>12</sup>.

En conclusión, independientemente de las discusiones estériles\*\* en torno a la creación o no de bancos de células de cordón públicos o privados o de si estas células

tienen potencialidad de tratamiento en enfermos no hematológicos<sup>13</sup>, lo cierto es que existe evidencia experimental de que al menos una población de células progenitoras derivadas de cordón umbilical podrían diferenciarse en tejidos diversos entre ellos los tejidos neurales. Un verdadero conflicto ético es desechar los potes de basura con miles de cordones umbilicales y no investigar siquiera esta potencial herramienta terapéutica. El dilema no es "si existe evidencia clínica o no de que las células de cordón umbilical tengan aplicación clínica". Es obvio que hoy no la hay. El dilema es "empezar o no estudios clínicos serios, controlados y seguros en pacientes afectados por diversas enfermedades, sin alternativa terapéutica útil". Para esto es indispensable no seguir desperdiciando un material biológico inestimable, ya sea que lo haga el Estado o grupos privados, en ambos casos en forma gratuita o rentada, pero sin engaños ni fantasías.

---

\*\* Estériles en el sentido de que en definitiva los propietario únicos y legítimos de un producto biológico proveniente de un neonato son los padres, y éstos adecuadamente informados, sin presiones y sin engaños de por medio, son libres de hacer lo que ellos determinen con este material. Estéril también es esta discusión, teniendo en cuenta los centenares de miles de cordones umbilicales que se descartan cada año.

---

## REFERENCIAS

1. Barker JN, Krepski TP, DeFor TE y col. Searching for unrelated donor hematopoietic stem cells: availability and speed of umbilical cord blood versus bone marrow. *Biol Marrow Transplant* 2002; 8(5): 257-60.
2. Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerbach AD y col. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical cord blood from an HLA-identical sibling. *N Engl J Med* 1989; 321: 1174-8.
3. Gluckman E. Current status of umbilical cord blood hematopoietic stem cell transplantation. *Exp Hematol* 2000; 28(11): 1197-205.
4. Sanchez-Ramos JR, Song S. Expression of neural markers in human umbilical cord blood. *Exp Neurol* 2001; 171: 109-115.
5. Zigova T, Song S. Human umbilical cord blood cells express neural antigens after transplantation into the developing rat brain. *Cell Transplant* 2002; 11: 265-274.
6. Garbuzova-Davis S, Willing AE y col. Intravenous administration of human umbilical cord blood cells in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis: distribution, migration, and differentiation. *J Hematother Stem Cell Res* 2003; 12: 255-270.
7. Li HJ, Liu HY, Zhao ZM. Transplantation of human umbilical cord stem cells improves neurological function recovery after spinal cord injury in rats. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao* 2004; 26: 38-42.
8. Jang YK, Park JJ. Retinoic acid-mediated induction of neurons and glial cells from human umbilical cord-derived hematopoietic stem cells. *J Neurosci Res* 2004; 75: 573-584.
9. Taguchi A., Soma T. Administration of CD34+ cells after stroke enhances neurogenesis via angiogenesis in a mouse model. *J. Clin. Invest* 2004; 114: 330-338.
10. Steinbrook R. The cord-blood-bank controversies. *N Engl J Med* 2004; 351: 2255-7.
11. Hirata Y, Sata M, Motomura N y col. Human umbilical cord blood cells improve cardiac function after myocardial infarction. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 327(2): 609-14.
12. Ende N, Chen R, Reddi AS. Effect of human umbilical cord blood cells on glycemia and insulinitis in type 1 diabetic mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 325(3): 665-9.
13. Argibay P. Controversia en torno a la criopreservación de sangre proveniente de cordón umbilical con fines autólogos y a nivel privado. *Rev. Hosp. Ital. B.Aires* 2004; 24(2): 42-44.