

## **Cultivos Celulares. Células madre y la regeneración ósea**

ÁLVARO GONZÁLEZ GARCINUÑO<sup>1</sup>

*Universidad de Salamanca*  
alvaro\_gonzalez@usal.es

### SUMARIO

La Investigación Biomédica se ha desarrollado a gran velocidad en los últimos años. Los avances en el campo de las células madre y la ingeniería tisular son una realidad del siglo XXI con un amplio potencial por delante, para el tratamiento de numerosas enfermedades. En el presente artículo se realiza una revisión a las técnicas usadas para el tratamiento de enfermedades relacionadas con el hueso mediante el empleo de células madre o mejoras en el implante de nuevos tejidos a los enfermos gracias a la producción de tejidos “*ex vivo*” por ingeniería tisular. Los estudios aquí descritos se encuentran en su mayoría en las primeras fases de investigación, y algunos de ellos han resultado productivos cuando se han ensayado en animales de experimentación o en humanos. La potencialidad de estos cultivos celulares ha sido demostrada y vislumbra un futuro esperanzador por sus múltiples aplicaciones en muchas patologías.

*Palabras clave:* Ingeniería tisular, células madre, enfermedades óseas, leucemia

### SUMMARY

Biomedical research has been developed really quickly in recent years. Advances in stem cells and tissue engineering are a reality in 21<sup>th</sup> century with a great potential in the future for treatment of numerous diseases. In this article has been made a review of techniques used to treat bone with stem cells or improvements in tissue implants through tissue production *ex vivo*. Most of the studies described are in the first step of investigation,

1 Álvaro González Garcinuño es estudiante de 2º de Grado en Biotecnología.

and some of them had good results when have been testing at experimental animals or at humans. The potentiality of these cells crops has been probed and reveals a hopeful future because of their multiple applications in a lot of diseases.

*Key words:* tissue engineering, stem cells, bone diseases, leukemia

## 1. LAS CÉLULAS MADRE. INTRODUCCIÓN. CLASIFICACIÓN

Definimos célula madre o “stem cell” como una célula progenitora, autorrenovable, capaz de regenerar uno o más tipos celulares diferenciados. Tradicionalmente se han dividido las células madre en dos grandes grupos:

- Células madre embrionarias: son las que derivan de la masa celular del embrión cuando este se encuentra en el estado de blastocito (durante las dos primeras semanas desde la fecundación). Estas células son pluripotenciales, es decir, son capaces de generar todos los tipos celulares.
- Células madre adultas: son fruto de sucesivas divisiones de las anteriores. Son las órgano-específicas, es decir, son multipotenciales, capaces de originar células de un órgano concreto del embrión, y solo de ese tipo. Son muy usadas en terapia celular.

El uso de las células madre para tratar diversas enfermedades es una realidad en muchos casos y en otro una fuente continua de investigación. A continuación enumeramos una serie de aspectos donde ya hay conocimiento de los beneficios que tiene el uso de células madre, son: tumores cerebrales, enfermedades retinianas, cáncer de ovarios, cáncer de testículos, estudios de hematología (leucemias), carcinoma renal, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, defectos en el hueso y en el cartílago...<sup>2</sup>

Nuestro estudio se centrará en estas últimas enfermedades, las patologías del hueso y del cartílago y los tratamientos existentes y retos del futuro en las mismas.

## 2. TÉCNICAS USADAS PARA MANTENER CÉLULAS MADRE. CULTIVOS

La blástula se forma hacia la primera semana del desarrollo embrionario, de cuya MCI (masa celular interna) se obtienen células. Se desarrolla por el método de Evans y Kaufman, que mantienen las células gracias a distintos factores inhibitorios. Una vía usada a menudo es la congelación de las mismas (criopreservación)

2 Cf., S. Grisolfá, M<sup>a</sup>. D. Miñana, E. Bendala-Tufanisco, *Mesenchymal stem cells: biology and potential clinical uses*, Ministerio de Sanidad y Consumo, Madrid 2003.

en nitrógeno líquido a  $-196^{\circ}\text{C}$ . Otro mecanismo es usar ciertas sustancias químicas llamadas factores de transcripción que consiguen bloquear procesos de diferenciación. Son ejemplos de estos factores: OCT3-4, NANOG y SOX2. Tratan de suprimir a Cdx2 que es la responsable de la diferenciación del endodermo primitivo.

La supresión de los programas de diferenciación es un factor clave para mantener la pluripotencialidad.

La gran dificultad del cultivo de las células comienza cuando queremos inducir su diferenciación hacia uno u otro cultivo. Este proceso es laborioso, no se consigue bien y tampoco está perfectamente definido. Para la diferenciación de las células embrionarias el gran problema es la detección de las condiciones óptimas para cada cultivo, y aparte de definir las bien, ser capaces de controlarlas durante todo el proceso. Ya que la proliferación celular (densidad) cambia los factores y su influencia de forma poco controlable además de generar uniones célula-célula y uniones célula-matriz que dificultan el crecimiento individual.

Los medios que hasta ahora han funcionado son varios, con suero líquido, y suplementado con factores diversos, albúmina, transferrina, insulina... Todos los cultivos deben realizarse en monocapa.

Todas las líneas celulares descubiertas y bien aisladas pasan a formar parte en Europa de un banco llamado *Registro Europeo de Líneas de Células Madre embrionarias*. Este registro busca reunir toda la información de todas las líneas, y sus formas de cultivo. Además permite la interacción entre los laboratorios europeos para el flujo de información y de líneas celulares.

El futuro de las técnicas de células madre se presenta esperanzador. Se acaban de probar la implantación de células madre en el tejido nervioso que permite la regeneración de las neuronas muertas (hecho clave para potenciar el desarrollo cerebral). También se trabaja mucho en el desarrollo de nuevas células cardíacas, hasta ahora, evasivas, que solucionaría muchas enfermedades de este tipo. Con un buen desarrollo de las células madre se podrían evitar procesos de trasplante de tejidos o de órganos que siempre resultan incómodos para el paciente y supone evitar fenómenos de rechazo.

### 3. EL TEJIDO ÓSEO. CONCEPTOS CLAVE DE SU ESTRUCTURA. TIPOS DE HUESO

El tejido óseo o hueso se compone de células y matriz. La matriz son fibras y sustancia fundamental con mucha sal de calcio (dando dureza y resistencia al hueso). El hueso es además el lugar de asiento de la médula ósea (órgano hematópoyético de los vertebrados). Entre las células distinguimos:

- Células osteoprogenitoras: células de origen mesenquimático que darán lugar a osteoblastos. En el hueso adulto conservan la capacidad de dividirse (en respuesta a estímulos como una fractura ósea).
- Osteoblastos: son derivadas de las anteriores y son las encargadas de realizar la síntesis de toda la matriz (fibras y sustancia fundamental). Forman la capa más interna de la estructura ósea (periostio). Son cúbicos o prismáticos y sus mitocondrias guardan gránulos de polifostato de calcio para la calcificación de la matriz.
- Osteocitos: Son los osteoblastos embebidos por su propia secreción, es decir, incorporados en la matriz ósea calcificada. Son fusiformes con prolongaciones muy finas a lo largo de la matriz que les permiten interactuar los unos con los otros. Estos ya no sintetizan matriz pero la conservan.
- Osteoclastos: células grandes y multinucleadas, adosadas a las zonas de reabsorción del hueso en las lagunas de Howship. De su compleja estructura citológica, nos quedamos con las múltiples prolongaciones citoplasmáticas llamándose borde fruncido que contactan con el hueso. Los osteoclastos destruyen la matriz ósea por secreción de colagenasas y ácidos que acidifican el medio e inducen la osteólisis enzimática. Se originan directamente de los monocitos.

La matriz son fibras (mayoritariamente colágeno con 100 nm de espesor y estriación periódica cada 64 nm pero están mineralizadas, dando propiedades distintas a las del conjuntivo) y también sustancia fundamental (con glucoproteínas, proteoglucanos y sales minerales).

El hueso se puede clasificar en plano, corto o largo (si atendemos a la forma), en esponjoso y compacto (si atendemos a la estructura) o en inmaduro y definitivo (si nos fijamos en el desarrollo).

La unidad básica del hueso es la osteona, con el Sistema de Havers que es típica de los huesos compactos (en la zona central). Está formado por un canal de Havers alrededor del cual se agrupan de 5 a 20 células óseas (osteocitos u osteoblastos). Los canales de Havers se comunican entre sí por los conductos de Volkmann.

#### 4. OSIFICACIÓN. PROCESO FISIOLÓGICO ESTÁNDAR

La osificación u osteogénesis es el proceso de crear nuevo hueso, podemos hablar de dos tipos o modelos: desde conjuntivo o mesénquima (intramembranosa) o desde el cartílago (endocondral).

La *intramembranosa* engloba a huesos planos y también es el mecanismo seguido en caso de fracturas. El tejido mesenquimal de los alrededores se diferencia por unos factores a osteoblastos, que comienzan a sintetizar la matriz, haciendo la sustitución y convirtiéndose en osteocitos.

La *endocondral* es típica de huesos largos y cortos, y se parte de cartílago hialino como molde. Se estructura en 5 zonas diferenciadas: zona cartílago normal, zona cartílago seriado (condrocitos alineados), zona cartílago hipertrofiado (condrocitos grandes intactos), zona cartílago calcificado (condrocitos grandes degenerados), zona cartílago osteoide.

Los osteoblastos se incluyen en las cavidades o huecos dejados por los condrocitos degenerados y desde allí cambian la matriz por una nueva (aprovechan el espacio dejado).

## 5. INGENIERÍA DE TEJIDOS ÓSEOS

Los lesiones o defectos en el tejido óseo se han tratado tradicionalmente usando implantes de injertos autólogos, alogénicos o xenogénicos; en otros casos, implantando biomateriales que sustituyan al tejido dañado. Podemos definir a las terapias convencionales que se han venido usando hasta nuestros días:

- Autoinjertos: la más usada. Consiste en la implantación de injertos autólogos, que conllevan la toma de un fragmento de hueso del paciente y su posterior trasplante a otra zona del mismo.
- Aloinjertos: toma y procesamiento del hueso de un cadáver y su posterior trasplante al paciente. Este tipo de injerto es acelular y presenta resultados menos positivos que los autoinjertos, ya que su tasa de incorporación es menor, debido a la ausencia de células osteoprogenitoras.
- Xenoinjertos: encarnan una pequeña proporción de las terapias para reemplazo óseo y utiliza fragmentos de hueso obtenidos de animales de distintas especies.
- Materiales: existen implantes de materiales que no tienen su origen en seres vivos, como metales, plásticos o cerámicos.

Sin embargo, existe una clara desventaja en la utilización de estos medios dado que podemos encontrarnos con escasez de donantes, dificultades para la extracción, problemas de rechazo de trasplantes o con la incapacidad de los materiales para remodelarse y ejercer funciones fisiológicas<sup>3</sup>. Por lo tanto, en los

<sup>3</sup> Cf., C. Estrada, A. C. Paz, L. E. López, "Ingeniería de tejido óseo: consideraciones básicas", *Revista EIA*, 5 (2006) 93-100.

últimos años se ha implantado una serie de técnicas que buscan solucionar los problemas que antes hemos comentado. El conjunto de estas técnicas forman lo que se denomina ingeniería de tejidos óseos. Las técnicas se basan en su mayoría en el cultivo celular y las variantes que este puede presentar: cultivo celular en matrices tridimensionales, en medios de cultivo suplementados con factores de crecimiento.

En la regeneración ósea que utiliza la ingeniería de tejidos confluyen tres elementos fundamentales: matrices tridimensionales, moléculas de señalización y diferentes tipos celulares. Todos estos elementos deben encontrarse bajo unas condiciones físico-químicas adecuadas que permitan la regeneración del tejido u órgano que queremos reemplazar.

Por lo tanto, para la ingeniería de tejidos óseos el método más usado consiste en el cultivo de células en matrices tridimensionales biodegradables altamente porosas, que hayan sido tratadas con factores de crecimiento (moléculas de señalización). A continuación estas matrices deberán ser implantadas sobre el defecto óseo, esperando que induzcan o dirijan el crecimiento del nuevo tejido. Las células adheridas a la matriz deberán proliferar y diferenciarse en un tejido normal, mientras que la matriz metabolizará o degradará.

A continuación nos centraremos específicamente en cada uno de los elementos anteriormente mencionados.

### 5.1. MATRICES TRIDIMENSIONALES

Son dispositivos que proporcionan a las células el apoyo necesario para su proliferación y para el mantenimiento de sus funciones diferenciadas. Además van a aportar las señales biológicas requeridas para la conservación de la expresión génica específica. Estas señales serán fundamentales para la arquitectura del tejido. Las células interactúan con estos dispositivos de manera activa en el proceso de regeneración del tejido, lo cual induce la liberación de factores de diferenciación y crecimiento, mientras que sintetizan su propia matriz extracelular (MEC), que proporciona un ambiente y arquitectura específicos del tejido, y sirve como reservorio de agua, nutrientes, citocinas y factores de crecimiento, entre otros. Cuando se cultivan las células óseas en matrices se forman las denominadas adhesiones en 3D. Estas estructuras difieren un poco en composición, forma, distribución y actividad con respecto a las adhesiones focales observadas en las células que crecen sobre el sustrato típico de los experimentos de cultivo de células. Al usar este tipo de matrices más “naturales” las células parecen desplegar una mayor adhesión, movilidad, velocidad de proliferación celular y morfologías más similares a las del tejido del que buscamos un reemplazo. Esto nos lleva a una conclusión determinante: la forma de la matriz cumple alguna función en el control de la forma y la

actividad del resto de células del tejido óseo. Las matrices tridimensionales para la ingeniería del tejido óseo deben cumplir una serie de propiedades:

- **Biocompatibilidad:** no deberá causar respuesta inmune ni ser tóxica para el tejido una vez que se haya trasplantado al mismo.
- **Porosidad:** deberá tener poros que serán necesarios para la correcta difusión de gases y nutrientes entre las células cultivadas. En el tejido óseo la comunicación celular está aumentada con respecto a otros tejidos por lo que el factor porosidad es uno de los más importantes de cara al cultivo celular en matrices 3D.
- **Biodegradable:** deberá ser absorbida por el tejido que la rodea sin que sea necesaria su eliminación por medios quirúrgicos.
- **Osteoinductividad:** las células madres son agrupadas en los sitios de regeneración y estimuladas para diferenciarse hacia la línea osteogénica.
- **Propiedades mecánicas:** debemos tener en cuenta que las zonas de reemplazo estarán sometidas a tensiones y fuerzas mecánicas.
- **Osteoconducción:** la matriz deberá tener unas propiedades topográficas que permitan que las células osteogénicas migren hacia la superficie de la matriz tridimensional a través de un coágulo de fibrina, que se establece después de haber implantado el material.

Este tipo de matrices 3D se puede sintetizar siguiendo distintos métodos como son *gas foaming*, *solvent casting*, *rapid prototyping* y *H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foaming* los cuales permiten el procesamiento de distintos tipos de materiales.

Las matrices tridimensionales y su uso en la regeneración ósea es un campo que aun no está plenamente desarrollado pero que, sin embargo, es especialmente prometedor. Es por eso por lo que se pretende mejorar el estudio y el conocimiento sobre el diseño de estas matrices. Cuanto más se parezcan las propiedades de la matriz a las del hueso, las alternativas sintéticas tendrán un porcentaje mayor de éxito al ser trasplantadas al tejido a reemplazar.

## 5.2. CÉLULAS

Las células más usadas para la regeneración ósea son las células madres mesenquimales (MSC). Estas células cumplen una serie de requisitos que las hacen ideales para su cultivo. Básicamente estas características son: fácil obtención, conservación y expansión; mantenimiento de su función y multipotencialidad necesaria para diferenciarse o transdiferenciarse a una variedad de células especializadas.

Las MSC se obtienen desde el tejido adiposo o desde médula ósea. Para la osteogénesis la célula seguiría un proceso de diferenciación que comenzaría con su transformación en un osteoblasto transitorio y que pasaría por estadios intermedios como el osteoblasto, osteocito y finalmente hueso.

En general la fuente más usada para obtener células madres es aquella que utiliza a las células madres de individuos adultos que han mostrado la capacidad de formar algunos tipos de tejidos. Las células madres embrionarias dado la controversia que presentan aún no son muy utilizadas.

### 5.3. FACTORES DE CRECIMIENTO

La morfogénesis del hueso precisa de una serie de moléculas de señalización, que son los conocidos factores de crecimiento. Los factores de crecimiento que están más relacionados con la osteogénesis son:

- a) Las proteínas morfogénicas óseas (BMP).
- b) El factor insulinoide de crecimiento (IGF).
- c) El factor transformante del crecimiento de tipo beta.
- d) El factor de crecimiento derivado de plaquetas.
- e) El factor de crecimiento de fibroblastos.

Por lo tanto, estos factores son los que se añadirán a los medios de cultivos de células osteoprogenitoras (MSC) para la regeneración ósea.

### 5.4. MODELO ANIMALES DE REGENERACIÓN ÓSEA

Los modelos animales que se usan en la ingeniería de tejido son tan diversos como los materiales o los factores de crecimiento que se usan para el cultivo celular. En general y como para otro tipo de experimentos, los estudios en animales se inician en modelos como el ratón o la rata, para pasar después a conejos, cerdos y ovejas.

## 6. PATOLOGÍAS DEL TEJIDO ÓSEO Y SU TRATAMIENTO CON CÉLULAS MADRE

### 6.1. OSTEOPOROSIS

En primer lugar, vamos a ver la base de la enfermedad y luego explicaremos las formas de tratamiento.



La osteoporosis es una enfermedad en la que se va perdiendo poco a poco la masa ósea y así el hueso queda más poroso, frágil y delgado. De esta forma es más susceptible a romperse por golpe. Suele ser un proceso natural, que comienza entre los 30-35 años de vida en los seres humanos. La enfermedad se considera cuando esta pérdida se produce de forma acelerada. Es muy común en las mujeres tras la menopausia. Hablamos de osteopenia como paso anterior a la osteoporosis, que se llama así cuando el proceso es contundente y acelerado.

Tradicionalmente se ha tratado la osteoporosis con medicamentos administrados al paciente que incrementaran los niveles de las hormonas que se relacionan con metabolismo del calcio y los fosfatos (calcitonina, PTH y vitamina D). Aparte de administrar estas hormonas, muy usado también es, para las mujeres tras la menopausia, la administración de estrógenos que contrarrestan las pérdidas de los mismos en esa fase de la vida.

Pero actualmente, el mundo de los cultivos celulares y la terapia regenerativa se ha fijado en esta patología y ha desarrollado nuevas técnicas que exponemos a continuación:

#### *a) Cápsulas de tejido óseo*

Desarrollado por investigadores de la Universidad de Estrasburgo (Francia)<sup>4</sup>. Se basan en el contacto de las células madre con dos factores clave: BMP y TGFβ1 que inducen su diferenciación a hueso/cartílago.

Por esto han fabricado unas microcápsulas, que son un reservorio de estos factores, los cuales, sólo los liberan si las células de alrededor lo requieren. En el hueso dañado se inyectan conjuntamente las células madre indiferenciadas y los factores, así crecen en velocidades controladas.

Las microcápsulas están formadas por poli-L-lysina y por poli-L-glutamico. Han demostrado efectos positivos en los ensayos con ratones.

Respecto al cultivo de las células, se incuban en presencia de gel de alginato, al 1% en agua MiliQ. Se implantan tres embriones por mililitro de la mezcla antes descrita.

#### *b) Regulación de la expresión-mecanismos*

Se sabe que las células madre mesenquimales generan tejido óseo y regeneran pero se desconoce exactamente el mecanismo desde que son incluidas a la circulación sistémica hasta que realizan su efecto en el tuétano del hueso. A continuación

4 Benkirane-Jesel, *Active multilayered capsules for in vivo bone formation*, Estrasburgo, Francia 2010.

se explica el estudio de J. A. Gasser del Instituto de Investigación Biomédica de Basilea (Suiza)<sup>5</sup>.

Se marcaron radiactivamente las uniones específicas de los MSC (células madre mesenquimales) con timidina y las células fueron marcadas con el gen de la proteína verde-fluorescente (GFP). Se probó en varios tipos del desarrollo de la osteoporosis en mujeres post-menopáusicas. Tras esperar los tiempos oportunos se observó que una gran parte de las células administradas eran retenidas por el pulmón y otras grandes fracciones se quedaban en duodeno, bazo o timo.

Se observaron unas 900 células en la tibia y se vio efecto sobre hueso. Se observó que la inyectada de forma intravenosa producía menos efecto en la conservación-proliferación del hueso que la PTH incluso. Sin embargo, si se administra muy próxima a la tibia por inyección sí se observan los efectos de regeneración ósea que se esperan de las células MSC.

Las conclusiones de este experimento muestran que la administración exclusiva de MSC no induce el hueso y que debe ser combinado con factores como los de antes (BMP...) o deben ser activadas por un estímulo fuerte como una fractura en cuyo caso podrían ser activas.

### *c) Potenciación del desarrollo de MSC con interferón (INF) gamma.*

El INF $\gamma$  es producido por nuestro propio cuerpo, y según estudios de la McGill University puede ser clave para tratamiento de osteoporosis. Los experimentos in-vitro revelaron que al poner MSC en presencia de genes que codifican el INF $\gamma$  se producía una nueva síntesis de osteoblastos. Las propias células volvían a producir INF $\gamma$  por lo que incrementaba su concentración y potenciaba la acción (feed-back positivo). Al extrapolarse a animales se encuentra el problema de la inhibición del efecto de INF $\gamma$  porque se inactiva su receptor. Por tanto, para definir la ruta exacta del interferón se requiere de más investigación, aunque seguro está que es una llave importante. Hasta ahora se ha usado interferón en tratamientos de cáncer.

## 6.2. PERIDONTITIS AGRESIVA

La periodontitis agresiva es una enfermedad que puede llevar a la pérdida del diente, de su función y afectar a la estética del paciente. Esta patología suele afectar a personas con buena salud, menores de 30 años. La pérdida vertical del hueso alveolar en torno a los primeros molares e incisivos es una de sus principales características clínicas.

5 J.A. Gasser, *Stem Cells in the Treatment of Osteoporosis*, Instituto de investigación Biomédica en Basilea, Suiza 2003.

Tradicionalmente, para los casos más graves de esta enfermedad en los que el hueso se ve muy afectado se procedía a la ostectomía (técnica quirúrgica de remoción de parte del hueso con cambio en la forma del maxilar). Sin embargo, con el desarrollo de prácticas como el cultivo celular están empezando a aparecer nuevas soluciones menos agresivas. Entre estas soluciones destaca fundamentalmente el cultivo de osteoblastos sobre titanio.

*Interacción entre osteoblastos y superficies de titanio*<sup>6</sup>: la principal aplicación de este método es la obtención de implantes. Este proceso consiste en cultivar células osteoblásticas sobre sustratos de titanio que presenten las superficies típicamente usadas en los implantes dentales. Se ha demostrado en diversos estudios que la osteointegración mejora por el incremento de la rugosidad de la superficie dado que tiende a imitar así a la superficie real del diente. En un principio se cultivan las células osteoblásticas durante 24 horas (período clave para la adhesión celular) y a continuación, durante 1, 2, 5 y 7 días en los cuales dichas células llevarán a cabo su programa de proliferación. Normalmente, el titanio se recubre de fosfato cálcico, colágeno y materiales poliméricos que asociados a factores de crecimiento óseo como la BMP-2 se consideran recubrimientos osteoinductivos.

### 6.3. ARTROSIS

La artrosis es una enfermedad producida por el desgaste del cartílago, tejido amortiguador que protege los extremos de los huesos y que favorece el movimiento de la articulación. Es la enfermedad reumática más frecuente, especialmente en personas de edad avanzadas. Suele aparecer con una frecuencia mucho mayor en mujeres que en hombres. Cabe destacar que la artrosis es un tipo de artritis ya que esta última engloba a las distintas enfermedades relacionadas con el desgaste de las articulaciones.

En la actualidad los tratamientos para la artrosis son en general paliativos, que ayudan a controlar el dolor. Podemos encontrar tratamiento farmacológico y no farmacológico. El uso de analgésicos, antiinflamatorios o corticosteroides son solo algunos ejemplos del primer tipo de tratamiento. Mientras que ejercicios, reducción de peso o aplicaciones de frío y calor sobre las articulaciones pertenecerían al grupo de tratamientos no farmacológicos.

Sin embargo, con el desarrollo de la terapia celular se están llevando a cabo experimentos que buscan la obtención de tratamientos esperanzadores que irían

6 A. Pérez Borrego, L. Domínguez, P. Hernández, *Utilización de células madres en el tratamiento de defectos óseos periodontales*, Facultad de Ciencias Médicas "Enrique Cabrera" La Habana, Cuba 2009.

más allá de los meramente paliativos y que supondrían la regeneración de las zonas desgatadas por la edad u otras causas. Uno de estos tratamientos es el siguiente.

*Técnicas de implantación de condrocitos autólogos*<sup>7</sup>: el cultivo de condrocitos permite generar células que sean capaces de sintetizar colágeno de tipo I. El cultivo de condrocitos permite reparar el cartílago dañado “in vitro”. La técnica consiste en obtener una muestra de condrocitos de la persona (cuanto más joven mejor), el cultivo en monocapa de los condrocitos y la implantación posterior en la zona o zonas lesionadas. Actualmente, aunque el cartílago que se consigue es estéticamente idéntico al original, lo cierto es que la funcionalidad no es la misma, ofreciendo una menor resistencia y una mayor capacidad de deshiscencia. En un intento de mejorar la técnica, solucionando este problema se suelen añadir formatos de matriz no degradables que en nuestro caso son los ácidos poliláctico (PLA) o poliglicólico (PGA). Los condrocitos deben cultivarse en el seno de este biomaterial y una vez que se ha rellenado uniformemente se procede a la implantación.

Sin embargo a día de hoy esta técnica solo se realiza a nivel experimental y sobre animales modelos, por lo que aún será necesario más experimentación y estudio hasta su final y esperada aplicación en humanos.

## 7. REGENERACIÓN DE LA MÉDULA ÓSEA

Aunque estrictamente no vamos a hablar en este punto de regeneración ósea, en cuanto al hueso, sí vamos a hablar de la forma de combatir enfermedades que afectan a una estructura localizada en el interior del hueso, la médula ósea. La enfermedad más común de este tejido es la leucemia.

La leucemia es “el cáncer de la sangre”. Es especialmente desarrollado en la infancia y se caracteriza por un incremento descontrolado de glóbulos blancos inmaduros. Estas células se expanden de forma rápida ya que van en el torrente sanguíneo y pueden alcanzar otros tejidos fácilmente induciendo cambios no deseables. Distinguimos varios tipos de leucemia, aguda o crónica con variedades dentro de cada una. Hasta el momento, se ha tratado la leucemia mediante técnicas de quimioterapia o radioterapia, pero ahora parece inducirse una nueva forma de regeneración especialmente en la leucemia de los niños.

7 J. I. Lee, M. Sato, H. W. Kim, J. Mochida, “Transplantation of scaffold-free spheroids composed of synovium-derived cells and chondrocytes for the treatment of cartilage defects of the knee”, *Eur Cell Mater* 22 (2011) 275-90; discussion 290.

Se ha comprobado que tiene efectos positivos el inocular una infusión con tuétano de hueso o con células del cordón umbilical que son capaces de diferenciarse de forma correcta a todos los modelos de células sanguíneas<sup>8</sup>.

El cordón umbilical es preferible frente al hueso porque facilita los trasplantes, ya que son células del propio individuo y es menos probable que al trasplantarse, genere fenómenos de rechazo o inmunogenicidad en el cuerpo receptor. Los resultados son bastantes favorables; en un estudio realizado en los EEUU se comprobó que un tercio de los pacientes tratados con cordón umbilical dejaban de padecer la enfermedad en 2 años. Este tipo de tratamiento con células del cordón es casi exclusivo para los niños, mientras que para los adultos, se recomienda usar el tuétano del hueso.

Debido a la potencia que puede alcanzar esta técnica, vamos a ver brevemente el aislamiento de las células del cordón umbilical.

La extracción de la sangre del cordón umbilical se hace durante el parto, se trata de una operación simple con escasos riesgos para feto y madre. La extracción de sangre del cordón ha de realizarse cuando ya ha sido cortado del bebe pero todavía unido a la placenta. La sangre se guarda en unos contenedores especiales y se lleva a las instalaciones donde será congelada. Generalmente se tarda 1 o 2 días desde la extracción hasta el almacenamiento en el laboratorio. La temperatura de la sangre ese tiempo se debe conservar de 4 a 10°C.<sup>9</sup>

Aparte de estas dos técnicas, hay una intermedia, que se basa extraer células madre de la sangre (hematopoyéticas), por métodos variados de enriquecimiento ya que allí se encuentran en cantidades muy pequeñas (comparados con el tuétano del hueso) pero aseguran un tratamiento efectivo y no invasivo.

## 8. CONCLUSIONES

A lo largo de este trabajo hemos realizado una aproximación muy resumida a las distintas técnicas de regeneración ósea que conllevan cultivo de células madres. A pesar de lo conciso del trabajo, hemos podido observar la cantidad de aplicaciones que este método presenta; y lo que es más importante, el amplio número de posibilidades futuras que exhibe este interesante campo de investigación.

8 J. Pérez de Oteyza, *Células madre de cordón umbilical y Medicina Regenerativa*, Hospital universitario Ramón y Cajal, Madrid 2008.

9 J. McConaughy, "Treating Leukemia With Stem Cells", *Revista CBS News Health-watch*, 2009.

Sin duda, las investigaciones venideras en la regeneración ósea se deberán centrar en varios puntos fundamentales. La profundización en el conocimiento de los fenómenos de diferenciación de las células madres, el progreso en su manipulación *ex vivo* para su posible uso terapéutico o la búsqueda de nuevas fuentes de MSC de acceso más fácil son algunos de las líneas que deben estudiarse. Además, la mejora del conocimiento sobre la vascularización o de los factores implicados en la angiogénesis supondría un acercamiento hacia la creación de piezas óseas *ex vivo*. La conjunción de estas vías futuras de investigación, podría traer como resultado la consecución de avances científicos inimaginables hasta ahora.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

- A. Pérez Borrego, L. Domínguez, P. Hernández, *Utilización de células madres en el tratamiento de defectos óseos periodontales*, Facultad de Ciencias Médicas “Enrique Cabrera” La Habana, Cuba 2009.
- Benkirane-Jesel, *Active multilayered capsules for in vivo bone formation*, Estrasburgo, Francia 2010.
- C. Estrada, A. C. Paz, L. E. López, “Ingeniería de tejido óseo: consideraciones básicas”, *Revista EIA*, 5 (2006) 93-100.
- M. A. Cuadrado, *Inducción y regeneración ósea bajo la influencia de la proteína morfogenética ósea (BMP)*, Universidad Complutense de Madrid 1991.
- <http://dicciomed.eusal.es/palabra/osteona>  
<http://es.scribd.com/doc/55512816/OSIFICACION>  
<http://learn.genetics.utah.edu/content/tech/stemcells/sctoday/>  
<http://tejidoconectivo.galeon.com/productos1027189.html>  
<http://www.actionbioscience.org/esp/biotecnologia/pecorino2.html>  
[http://www.cmrb.eu/registre\\_europeu.html](http://www.cmrb.eu/registre_europeu.html)  
[http://www.ecmjournal.org/journal/supplements/vol006supp02/pdf/oral\\_021\\_Gasser.pdf](http://www.ecmjournal.org/journal/supplements/vol006supp02/pdf/oral_021_Gasser.pdf)  
<http://www.embrios.org/celulasmadre>  
<http://www.mamografia.com/osteoporosis.html>  
<http://www.monografias.com/trabajos86/cultivo-celulas-madre-embionarias-como-herramienta/cultivo-celulas-madre-embionarias-como-herramienta.shtml>  
<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/001299.htm>  
<http://www.pnas.org/content/107/8/3406.full?sid=2c037a15-cd4f-4749-a31d-9992554ef81c>  
<http://www.sciencedaily.com/releases/2009/03/090304114252.htm>  
[http://www.todoosteoporosis.com/osteoporosis\\_tratamiento1.html](http://www.todoosteoporosis.com/osteoporosis_tratamiento1.html)
- J.A. Gasser, *Stem Cells in the Treatment of Osteoporosis*, Instituto de investigación Biomédica en Basilea, Suiza. 2003.
- J. Pérez de Oteyza, *Células madre de cordón umbilical y Medicina Regenerativa*, Hospital universitario Ramón y Cajal, Madrid 2008
- J. McConnaughey, “Treating Leukemia With Stem Cells”. *Revista CBS News Healthwatch*, 2009.

- J. Becerra, J. A. Andrades, J. A. Santamaría, M. Cifuentes y E. Guerado, *Regeneración ósea, terapia celular e ingeniería tisular*, Universidad de Málaga. Servicio de Cirugía Ortopédica y Traumatología. Hospital Costa del Sol. Marbella. Málaga 2001.
- J. I. Lee, M. Sato, H. W. Kim, J. Mochida, "Transplantation of scaffold-free spheroids composed of synovium-derived cells and chondrocytes for the treatment of cartilage defects of the knee". *Eur Cell Mater*, 22 (2011) 275-90; discussion 290.
- R. Paniagua, *Citología e Histología Vegetal y Animal*, Madrid 2007.
- S. Grisolia, M<sup>a</sup>. D. Miñana, E. Bendala-Tufanisco, *Mesenchymal stem cells: biology and potential clinical uses*, Ministerio de Sanidad y Consumo. Madrid 2003.