

ANALES MEDICOS

Volumen 49
Volume

Número 4
Number

Octubre-Diciembre 2004
October-December

Artículo:

Regeneración cerebral. Realidades, posibilidades y esperanzas

Derechos reservados, Copyright © 2004:
Asociación Médica del American British Cowdray Hospital, AC

**Otras secciones de
este sitio:**

-  [Índice de este número](#)
-  [Más revistas](#)
-  [Búsqueda](#)

***Others sections in
this web site:***

-  [Contents of this number](#)
-  [More journals](#)
-  [Search](#)



www.Medigraphic.com

Regeneración cerebral. Realidades, posibilidades y esperanzas

Jaime Belkind-Gerson,* Ramón Suárez-Rodríguez**

RESUMEN

Existe una amplia gama en el límite de la capacidad que poseen los organismos vivos para la regeneración de tejidos lesionados. El ejemplo más dramático en los vertebrados es la salamandra, la cual puede tener una regeneración completa de cola, extremidades, ojo, mandíbula y corazón. En el humano, hallazgos recientes sugieren que aun en el tejido nervioso, donde anteriormente se creía no había capacidad de regeneración, parecen existir mecanismos importantes para restaurar el tejido neural lesionado. Esta es una revisión sobre la evidencia experimental que apoya la regeneración nerviosa.

Palabras clave: Células troncales, lesión cerebral, reparación cerebral, regeneración, trasplante de células.

ABSTRACT

There is a wide range to the limit of the regenerative capacity amongst different living organisms. The most dramatic example in the vertebrates, is the salamander which can completely regenerate its tail, extremities, eyes, mandible and even heart. In the human being, important recent scientific findings have suggested possible mechanism that may lead to regeneration even in neuronal tissue, previously believed to have little or no regenerative capacity. In this work, we discuss some of these observations and how they may be used in human neuronal regeneration.

Key words: Stem cells, brain lesion, brain repair, regeneration, cell transplantation.

INTRODUCCIÓN

¿Cómo reparan los organismos complejos sus tejidos dañados?

Ésta es una de las preguntas más interesantes en las ciencias de la biología y la medicina. La reparación de tejidos en los mamíferos es mucho más ineficiente en comparación con la dramática regeneración tisular (incluyendo partes del cuerpo u órganos completos) en el caso de organismos simples como la planaria, la hidra o incluso en algunos vertebrados.¹

Un ejemplo asombroso de estos últimos es la salamandra (*Figura 1*), la cual puede regenerar completamente la cola, las extremidades, el ojo, la mandíbula y el corazón.¹ Cuando niños, cuántas veces



Figura 1. La salamandra nos ha dado información muy valiosa sobre los mecanismos involucrados en el proceso de regeneración.

* Centro de Investigaciones en Salud Poblacional. Instituto Nacional de Salud Pública.

** Centro de Investigación en Biotecnología, Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

Recibido para publicación: 04/10/04. Aceptado para publicación: 21/10/04.

Correspondencia: Dr. Jaime Belkind-Gerson

Instituto Nacional de Salud Pública

Av. Universidad 655, Col. Santa María Ahuacatitlan 62508 Cuernavaca, Morelos

Tel: (777) 329 3000, ext. 2732. Fax: (777) 317 5485.

E-mail: cuernavacajaime@yahoo.com

tratamos de atrapar una lagartija por la cola para quedarnos agarrando exclusivamente ésta, que continuaba moviéndose, mientras el animal que la había dejado escapaba, ¡para luego hacer crecer una nueva!

En los últimos años, el tema de la regeneración ha despertado aún más interés, gracias a algunos hallazgos recientes de extrema importancia.

El primero de ellos es el descubrimiento de células troncales (CT) del adulto, que aparentemente persisten durante la vida del individuo. Al menos en condiciones de experimentación, estas células indiferenciadas se autorreplican y pueden dar lugar a células diferenciadas pertenecientes a diversos tipos de órganos y a diferentes capas embrionarias.²⁻⁴ Más adelante relataremos algunas experiencias propias sobre este campo en nuestro laboratorio.

El segundo descubrimiento es la tecnología de transferencia de núcleo o la clonación. Ésta es la técnica mediante la cual se transfiere un núcleo de una célula somática a un ovocito para reconstituir un organismo completo. Mediante la transferencia de núcleo, se ha demostrado que el núcleo de una célula somática puede regresarse a un estado totipotencial (*Figura 2*).

El tercer hallazgo, aunque aún controversial, es el descubrimiento de que células de tejidos específicos pueden aparentemente migrar y llegar hasta otros órganos donde se establecen y diferencian a un tipo celular propio del órgano. Los ejemplos más notables de este fenómeno son las observaciones realizadas en pacientes femeninas receptoras de un trasplante de órgano sólido o de médula ósea proveniente de un donador masculino. Meses después del trasplante, se encontraron células que contenían el cromosoma Y en el hígado en forma de hepatocitos y colangiocitos,⁵ en el riñón como células epiteliales renales,⁶ en el pulmón como células epiteliales y endoteliales,⁷ en el corazón como cardiomiocitos⁸ y en el cerebro como neuronas.⁹ Ya que en esta revisión nos concretamos a tratar la regeneración cerebral, discutiremos con más detalle la evidencia actual de regeneración neuronal cerebral.

CÉLULAS TRONCALES NEURALES

A mediados del siglo XIX, en respuesta al tema de regeneración en los mamíferos, J Cohnheim¹ planteó una hipótesis en la que postulaba que todas las células del

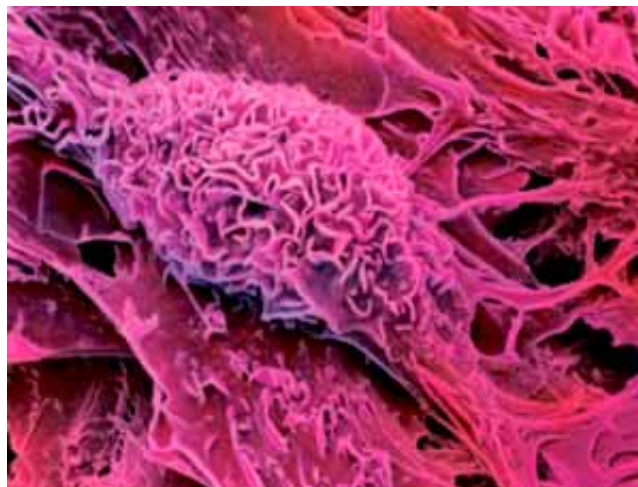


Figura 2. Imagen de microscopia electrónica de barrido de una célula troncal embrionica que se obtuvo gracias a la técnica de transferencia de núcleo.

proceso regenerativo provenían del torrente sanguíneo y, por lo tanto, de la médula ósea. Experimentos iniciales en animales sugirieron que, en el proceso regenerativo, solamente las células inflamatorias provenían de la sangre y médula ósea. Debido a estas observaciones, los estudios subsecuentes se enfocaron en analizar el papel regenerativo de las células locales en cada órgano. Este tipo de estudios dio luz a los hallazgos de las células troncales que residen en varios órganos, entre otros: músculo, tejido adiposo, hígado, membranas sinoviales y cerebro. La observación increíble que el cerebro humano posnatal posee células troncales que aparentemente perduran durante nuestra vida adulta y que pueden dar lugar a nuevas neuronas ha abierto una puerta importante en el campo de la medicina regenerativa. Hasta hace poco tiempo, se creía que la habilidad cerebral de restaurar su función a través de la regeneración neural era nula. Incluso existe trabajo en el cual se reporta que las células troncales cerebrales vivas se aislaron de cadáveres humanos de hasta cinco días de muertos mantenidos en refrigeración.¹⁰ Las células troncales obtenidas de estos cadáveres dieron lugar a nuevas neuronas y células gliales *in vitro*. En la actualidad, se cree que la presencia de las células troncales en el cerebro puede, al menos en parte, explicar la gran plasticidad cerebral y mejoría funcional que se observa en muchos pacientes después de una lesión cerebral, incluso extensa. No se

sabe aún, sin embargo, el papel específico y la capacidad regenerativa de éstas en respuesta a las diferentes patologías adquiridas y congénitas del sistema nervioso central. En la actualidad un gran número de publicaciones científicas están dedicadas a este campo de investigación.

Otra serie de reportes asombrosos han descrito la manera en que células troncales de otros sitios del cuerpo, en especial de médula ósea, pueden diferenciarse *in vitro* a diversos tipos de neuronas.^{9,11,12} Con base en observaciones como éstas se ha logrado trasplantar células troncales derivadas de médula ósea, células troncales de cerebro, células troncales embrionicas y células troncales derivadas de tumores al cerebro de animales de experimentación (como modelos de reparación cerebral) en diversos tipos de enfermedades. La mayor evidencia de que existe mejoría funcional con los implantes se ha registrado en la enfermedad de Parkinson. Por ejemplo, en un modelo que utilizó ratones con Parkinson experimental se observó aumento importante en el nivel de dopamina y mejoría funcional después de un trasplante de neuronas fetales de la región ventral mesencefálica al estriatum (el conjunto del núcleo caudado y el putamen del núcleo lenticular recibe el nombre de estriatum).¹³ En humanos, trasplantes similares han causado mejoría clínica que se observa gradualmente, pero no de inmediato.¹⁴ Esto sugiere que se van acumulando conexiones sinápticas que eventualmente llevan a una transmisión dopaminérgica suficiente para mejorar los defectos neurológicos. En autopsias de pacientes que han recibido tales trasplantes, se ha observado que las células trasplantadas sobreviven y que en ellas ha surgido un crecimiento axónico con formación de nuevas conexiones sinápticas. Estos pacientes también demuestran mejoría en la captación de [¹⁸F] fluorodopa en el estriatum en estudios tomográficos de emisión de positrones (PET scan), lo cual sugiere que las células trasplantadas han mejorado la neurotransmisión mediada por dopamina a ese nivel.¹⁵

En el caso del infarto cerebral, aunque hay algunas similitudes con la enfermedad de Parkinson (es decir, mueren neuronas en un sitio específico del cerebro y al ser reemplazadas mejora la función) existen diferencias importantes. Entre éstas, la muerte neuronal es mixta, es decir, generalmente no sólo

mueren un tipo de neuronas; además, las vías neurológicas que se interrumpen son complejas. Sin embargo, las células troncales son células inmaduras e *in vitro* responden a señales que se presentan en su microambiente para llevar a cabo funciones de supervivencia, proliferación y diferenciación. Por esto se cree que, bajo ciertas condiciones, las células troncales pueden diferenciarse hacia el tipo celular requerido para regenerar el tejido dañado con las señales adquiridas directamente en el sitio de la lesión. Quizás gracias a esto, a pesar de las dificultades mencionadas, el tratamiento experimental de lesiones isquémicas focales en animales ha demostrado ser una gran promesa. Entre los más excitantes reportes de estudios con modelos animales, mencionaremos los trasplantes corticales fetales en la neocorteza del adulto con lesiones isquémicas, que han reintegrado conexiones neurales con la corteza, el tálamo y los núcleos subcorticales del receptor.¹⁶ Los animales trasplantados presentaron una notable mejoría neurológica. En otros experimentos, neuronas derivadas de un teratoma humano (células NT2) implantadas al estriatum después de un infarto sobreviven y se reintegran al cerebro del receptor, formando nuevas conexiones y crecimiento axónico y revirtiendo deficiencias neurológicas del animal.¹⁷

El primer estudio de implantación neural para infarto cerebral en humanos incluyó 12 pacientes tratados con neuronas LBS derivadas de un teratocarcinoma.¹⁸ Aunque este estudio no estaba diseñado para evaluar mejoría clínica, después de la implantación, los pacientes trasplantados mejoraron su puntuación en las escalas neurológicas de la *European Stroke Scale* y del NIHSS. Estudios tomográficos por emisión de positrones (PET scan) demostraron aumento de actividad metabólica en el área del trasplante seis y 12 meses después del mismo. Dieciocho meses después del implante, los resultados de la autopsia de un paciente demostraron que las células implantadas habían sobrevivido y habían formado nuevas conexiones. Estos estudios han despertado gran interés y optimismo en este campo. En la actualidad se trata de entender si los implantes contribuyen a la mejoría clínica gracias a uno o más de los siguientes mecanismos: 1) restablecimiento de vías neurales largas, 2) formación de conexiones locales o 3) mediante mecanismos neurohumorales.

Como mencionábamos, una característica importante de las células troncales es que responden a las señales que se presentan en su microambiente. También hemos comentado que existen células troncales derivadas de médula ósea. Con base en estas premisas, revisemos de nuevo la hipótesis de Cohneim que parecía haber sido desechada hace varios años.

REPARACIÓN NEURAL CON CÉLULAS DERIVADAS DE LA MÉDULA ÓSEA

Recordemos lo anteriormente dicho acerca de los hallazgos de células derivadas de un trasplante de órganos o de médula ósea que con el tiempo han migrado a diferentes órganos del receptor para diferenciarse hacia uno o más tipos celulares del órgano donde se han restablecido. Estos datos sugieren que: 1) existen células (posiblemente troncales) en órganos implantados y en la médula ósea que pueden dar origen a células de distinto tipo, incluso de distintos órganos; y 2) que éstas probablemente migran a través de la sangre para llegar a su nuevo destino de implantación. Además de estas premisas, existen gran número de reportes en los que se documenta la implantación en diferentes órganos de células derivadas de médula ósea (ya sean células totales o diferentes subpoblaciones) que se inyectaron por vía hematógena en animales de experimentación. Junto con esto, existen muchos artículos que describen la obtención *in vitro* de células precursoras de tejidos no hematopoyéticos, a partir de células de médula ósea.

La teoría de Cohneim vuelve a aparecer como posible o quizás hasta probable con estas tres observaciones: 1) células de diversos tipos en diferentes tejidos que poseen cromosoma Y en receptora femenina de trasplante de órgano o de médula ósea de donador masculino, 2) implantación y diferenciación de células originadas en médula ósea que fueron inyectadas al torrente sanguíneo de animales de experimentación y 3) obtención *in vitro* de células precursoras de tejidos no hematopoyéticos a partir de células de médula ósea. Es importante agregar que, así como hay evidencia a favor de estas observaciones, la hay en contra. Recientemente se encontró tanto *in vitro* como *in*

vivo (a nivel hepático) que las células originarias de médula ósea no se diferenciaron hacia células maduras del receptor, sino que se fusionaron las células donadas con las del receptor, formando nuevas células que contenían cromosomas de ambos, receptor y donador. No se sabe aún si esto representa un estado intermedio que después lleva a la generación de células “normales” o si estas nuevas células pudieran representar patología para el receptor. Estas observaciones han puesto en duda los reportes previos que concluían que las células originarias de médula ósea se habían diferenciado hacia células de otros órganos, cuando pudieron haberse fusionado con células del huésped causando un error de interpretación.¹⁹

REPARACIÓN NEURAL POR TEJIDO SANO ADYACENTE

Uno de los problemas más importantes para regenerar las lesiones del sistema nervioso central, particularmente las de médula espinal, es que es difícil restablecer vías neurales, particularmente vías largas. Varios años de experimentos fallidos en lesiones medulares finalmente lograron hacernos entender que en la lesión existen inhibidores del crecimiento del cono axónico. Dichos inhibidores dificultan la reintegración de las vías que se han interrumpido, aunque se implanten células troncales o neuronas a ese nivel. En los últimos años, este campo también ha tenido progreso importante ya que se han encontrado y descrito inhibidores del crecimiento neural, que se derivan de la mielina y de la cicatriz glial.²⁰ Una vez que existe una lesión neural, las neuronas dañadas entran en contacto con la mielina que se ha liberado de otras neuronas lesionadas. La mielina contiene varios inhibidores que impiden que las neuronas que no han muerto restablezcan sus conexiones. Entre estos factores, los más importantes que se han descrito hasta el momento son: Nogo, *myelin-associated glycoprotein* y *oligodendrocyte-myelin glycoprotein*.²⁰

Es interesante el que todos estos factores actúan a nivel de un receptor específico y otro que comparten en común (p75^{NTR}). En modelos experimentales, ha sido posible bloquear a este receptor y observar una regeneración axónica de hasta 2 cm.

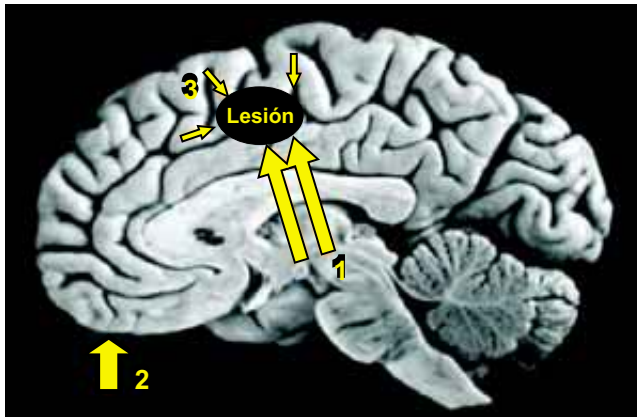


Figura 3. Probables mecanismos de regeneración cerebral. 1) Migración, replicación y diferenciación de células troncales. 2) Células (¿troncales?) que llegan por vía hematológica. 3) Reintegración de vías por neuronas cercanas a lesión.

Con esto, la esperanza de la curación de este tipo de lesiones ha surgido con nuevo ímpetu. Otro hallazgo interesante es que en estos mismos modelos se observó que, al bloquear los receptores de las proteínas que causan inhibición, se formaron nuevas vías que emanaban de neuronas no lesionadas, adyacentes a la lesión. Con esta observación existe evidencia de que, al parecer, hay al menos tres mecanismos para regenerar al sistema nervioso central (Figura 3): 1) células troncales neurales que habitan el sistema nervioso central y que pueden reproducirse y diferenciarse hacia el tipo neuronal requerido; 2) células que migran de otros lados, posiblemente con origen en la médula ósea, y pueden implantarse en el cerebro y dar lugar a nuevas neuronas; y 3) reintegración de vías neurales por las neuronas viables, vecinas a la lesión.

NUESTRA EXPERIENCIA Y CONCLUSIONES

Recientemente hemos descrito el aislamiento y cultivo de un tipo de células que provienen de intestino delgado y grueso posnatal de roedores y de humanos con alta capacidad reproductiva (Suárez-Rodríguez y Belkind-Gerson. *Stem Cells* 2004; 22: 1373-1365). Dichas células son positivas a la expresión de nestina, una proteína expresada en células troncales neurales del cerebro (Figura 4).

Cuando estas células son expuestas a un medio de cultivo definido *in vitro*, expresan una alta proporción de factores transcripcionales proneurales (SOX10, MASH-1 y neurogenina-2 (Figura 5) y se diferencian hacia neurona o neuroglia (Figura 6).

En nuestros cultivos, pudimos también encontrar células positivas a O4, es decir que estas células parecen ser oligodendrocitos. Normalmente no existen oligodendrocitos en el intestino. Esto sugiere que en este modelo *in vitro* algunas de las células pueden



Figura 4. Inmunohistoquímica de células troncales positivas a nestina. Nótese células en diferentes estadios de diferenciación y las abundantes conexiones que forman entre sí.

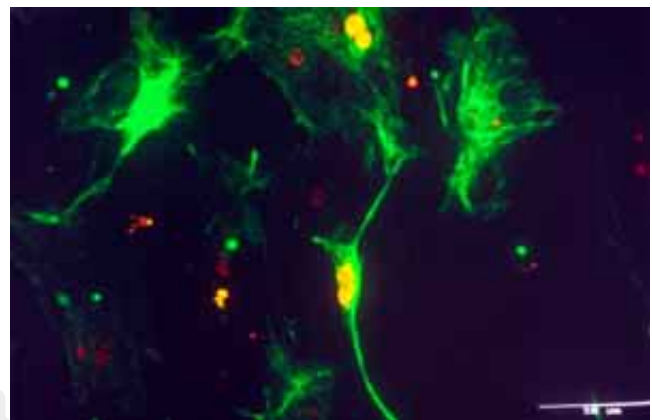


Figura 5. Inmunofluorescencia de células troncales positivas a nestinas (verde). Varias de ellas son también positivas a neurogenina-2 (expresión nuclear, amarillo). Nótese cómo algunas células que están en proceso de división tienen más de un núcleo.

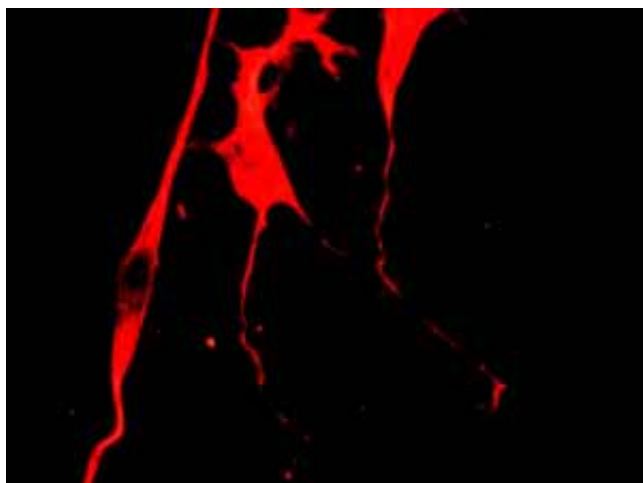


Figura 6. Inmunofluorescencia de neuronas derivadas de células troncales intestinales, positivas a β -tubulina III (proteína específica neuronal).

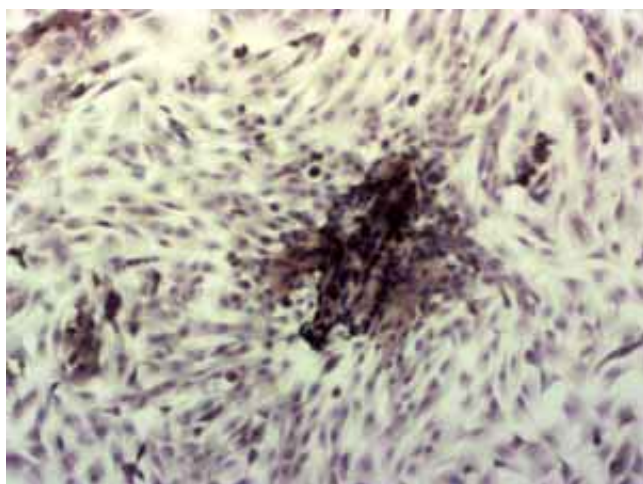


Figura 7. Inmunohistoquímica para la expresión de $p75^{NTR}$ en las células troncales intestinales. Nótese cómo aproximadamente 50% expresan este receptor.

diferenciarse hacia un fenotipo del sistema nervioso central, y no del sistema nervioso entérico.

Las neuronas que resultan de dicha diferenciación expresan varios neurotransmisores, tanto motores excitatorios como inhibitorios y sensoriales, que se encuentran normalmente expresados en el sistema nervioso central y en el sistema nervioso entérico.

El hallazgo de estas células derivadas de un tejido fácilmente accesible a la biopsia, como lo es

el intestino, sugiere la posibilidad del uso de estas células en trasplantes autólogos para lesiones del sistema nervioso central; además de lograr modelos que ayuden a entender los fenómenos normales de diferenciación celular intestinal y, de esta manera, sugerir tratamientos alternos en patología gastrointestinal.

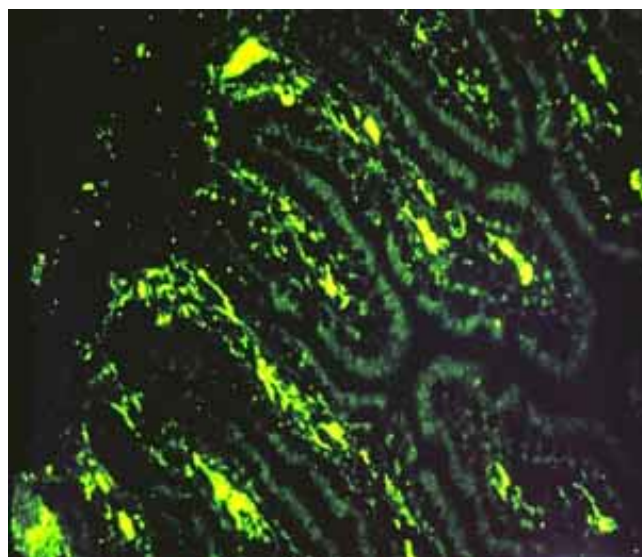


Figura 8. Inmunofluorescencia en sección de intestino delgado de roedor para buscar la actividad de nestina. Nótese cómo la mayor expresión se encuentra próxima a vasos sanguíneos.

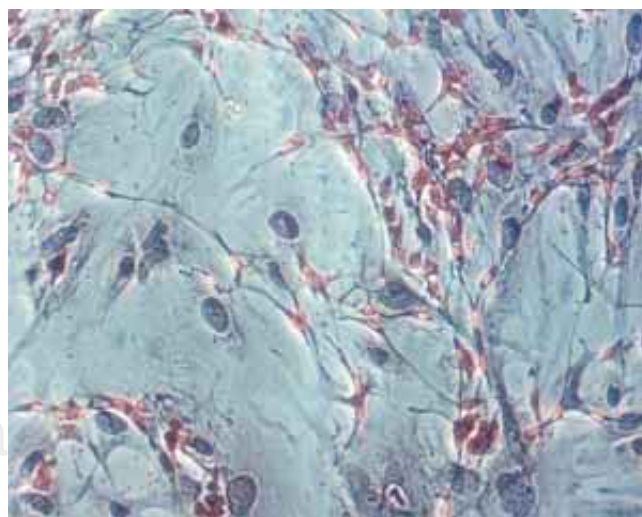


Figura 9. Inmunohistoquímica que demuestra expresión de CD34 en células troncales intestinales (microscopía de contraste de fases).

El origen de estas células troncales no es aún conocido; sin embargo, algunos datos nos orientan. Aproximadamente 50% de las células troncales expresan p75^{NTR} (Figura 7). Este receptor se expresa en células que migran de la cresta neural en vida embrionaria, lo cual sugiere que su origen, al igual que el del sistema nervioso entérico, puede ser de la cresta neural. Por otra parte, en secciones de intestino delgado de roedores, encontramos que la expresión más alta de nestina tiene lugar cerca de áreas de la mucosa y submucosa, particularmente cerca de vasos sanguíneos (Figura 8). Esto nos incitó a buscar marcadores hematógenos en las células troncales intestinales. Encontramos alta expresión de c-kit, CD34, CD45 RO y CD20 (Figura 9), lo que hace suponer un posible origen hematógeno de al menos una fracción de las células troncales intestinales.

Nuestras observaciones con respecto a la génesis de las células troncales intestinales sugiere un doble origen. Una parte parece provenir de líneas hematógenas y otro de la cresta neural. Tales observaciones sobre el origen de las células troncales en los tejidos posnatales son un ejemplo, entre otros, de las controversias que existen actualmente en el campo de la regeneración tisular, tal como anteriormente discutíamos acerca de las controversias de la teoría de Cohnheim. Muchas dudas serán contestadas en los próximos años, seguramente para toparnos con una nueva lista de incógnitas. Aun así, en los últimos años, en este campo se han realizado importantes adelantos y la posibilidad de regeneración de tejidos que se consideraban irregenerables, como son el corazón y el cerebro, están demostrando enormes promesas para un futuro próximo.

Estos estudios deben de darnos armas en el campo regenerativo en al menos dos frentes: 1) entender y posiblemente poder manipular los mecanismos intrínsecos naturales de regeneración tisular y 2) permitir los trasplantes celulares (locales o por vía hematógena) con un armamentario celular donde éstas cuentan con las características “ideales” para reparar cada tipo de lesión en cada tipo de órgano. Por ahora vivimos una etapa muy emocionante en esta rama de la medicina; el futuro está lleno de promesas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Prockop DJ et al. One strategy for cell and gene therapy: Harnessing the power of adult stem cells to repair tissues. *Proc Nat Acad Sci USA* 2003; 100 (suppl 1): 11917-11923.
2. Peterson DA. Stem cells in brain plasticity and repair. *Cur Op Pharmacol* 2002; 2 (1): 34-42.
3. Seaberg RM, Van der Kooy D. Adult rodent neurogenic regions: The ventricular subependyma contains neural stem cells, but the dentate gyrus contains restricted progenitors. *J Neuroscience* 2002; 22 (5): 1784-1793.
4. Stocum DL. Stem cells in regenerative biology and medicine. *Wound Repair Regeneration* 2001; 9 (6): 429-442.
5. Theise ND et al. Liver from bone marrow in humans [see comment]. *Hepatology* 2000; 32 (1): 11-6.
6. Poulosom R et al. Bone marrow contributes to renal parenchymal turnover and regeneration. *J Pathology* 2001. 195 (2): 229-235.
7. Suratt BT et al. Human pulmonary chimerism after hematopoietic stem cell transplantation [see comment]. *Am J Resp Crit Care Med* 2003; 168 (3): 318-322.
8. Deb A et al. Bone marrow-derived cardiomyocytes are present in adult human heart: A study of gender-mismatched bone marrow transplantation patients [see comment]. *Circulation* 2003; 107 (9): 1247-1249.
9. Mezey E et al. Transplanted bone marrow generates new neurons in human brains. *Proc Nat Acad Sci USA* 2003; 100 (3): 1364-1369.
10. Palmer TD et al. Cell culture. Progenitor cells from human brain after death. *Nature* 2001; 411 (6833): 42-43.
11. Zhao LR et al. Human bone marrow stem cells exhibit neural phenotypes and ameliorate neurological deficits after grafting into the ischemic brain of rats. *Exp Neurol* 2002; 174 (1): 11-20.
12. Vescovi A et al. Neural stem cells: plasticity and their transdifferentiation potential. *Cells Tissues Organs* 2002; 171 (1): 64-76.
13. Herman JP, Aboius ND. Dopaminergic neural grafts after fifteen years: results and perspectives. *Prog Neurobiol* 1994; 44 (1): 1-35.
14. Olanow CW, Freeman T, Kordower J. Transplantation of embryonic dopamine neurons for severe Parkinson's disease [see comment]. *New Engl J Med* 2001; 345 (2): 146; author reply 147.
15. Wechsler LR, Kondziolka D. Cell therapy: Replacement [see comment]. *Stroke* 2003; 34 (8): 2081-2082.
16. Sorensen JC et al. Fetal neocortical tissue blocks implanted in brain infarcts of adult rats interconnect with the host brain. *Exp Neurol* 1996; 138 (2): 227-235.
17. Kleppner SR et al. Transplanted human neurons derived from a teratocarcinoma cell line (NTera-2) mature, integrate, and survive for over 1 year in the nude mouse brain. *J Comp Neurol* 1995; 357 (4): 618-632.
18. Kondziolka D et al. Transplantation of cultured human neuronal cells for patients with stroke [see comment]. *Neurology* 2000; 55 (4): 565-9.
19. Preston SL et al. The new stem cell biology: something for everyone. *Mol Pathol* 2003; 56 (2): 86-96.
20. David S, Lacroix S. Molecular approaches to spinal cord repair. *An Rev Neuroscience* 2003; 26: 411-440.