



Estrategias para la regeneración de tejidos: células, inductores bioquímicos, bionanomateriales y bioconstrucciones. Alcances clínico-quirúrgicos

RESUMEN

La medicina regenerativa es una área multidisciplinaria destinada a la recuperación morfológica y funcional de tejidos y órganos severamente lesionados. Los principales recursos que emplea la medicina regenerativa son: células madre o troncales autólogas, y moldes estructurales de soporte físico-mecánico tisular construidos *ex vivo*, que pueden formar órganos bioartificiales; otra posibilidad es la estimulación de células madre *in vivo* para su proliferación. La ingeniería tisular combina, integralmente, el uso de células, factores bioquímicos y físicos, nanomateriales y métodos de bioingeniería para mejorar o reemplazar las funciones biológicas de tejidos y órganos.

El entendimiento progresivo de los procesos de proliferación y diferenciación celulares, y la manipulación *in vitro* de las células madre, ha sido la plataforma del desarrollo de la medicina regenerativa. En esta revisión se describen las diferentes estrategias que utiliza la medicina regenerativa en la regeneración de tejidos, y los principales beneficios clínico-quirúrgicos conseguidos con su aplicación.

Palabras clave: medicina regenerativa, estrategias, logros clínico-quirúrgicos.

Tissue regeneration strategies: cells, biochemical inductors, bionanomaterials and bioconstructions. Clinical and surgical achievements

ABSTRACT

Regenerative medicine is a medical multidisciplinary area with the aim of morphologic and functional restoration of tissues or organs in order to re-establish normal function. The main bases of regenerative medicine are the use of autologous stem or progenitor cells and the *ex vivo* construction of physical-mechanical tissue structuring organization, which with stem cells may form bioartificial organs. Another eventual strategy is *in vivo* stem or progenitor cell stimulation for proliferation. Tissue engineering entirely combines the use of cells, biochemical and physicochemical factors, nanomaterials and bioengineering methods to improve or replace biological functions of tissues and organs.

Víctor Manuel Valdespino-Gómez¹
Patricia Margarita Valdespino-Castillo²
Víctor Edmundo Valdespino-Castillo³

¹ Departamento de Atención a la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, México DF.

² Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, México DF.

³ Unidad Médica de Atención Ambulatoria, Instituto Mexicano del Seguro Social, Campeche, Campeche, México.

Recibido: 26 de julio, 2013

Aceptado: 13 de noviembre, 2013

Correspondencia:

Dr. Víctor M. Valdespino Gómez.
Andrés Molina Enríquez 361
09479 México DF
Tel.: (55) 56743439
vvaldespinog@yahoo.com.mx



The progressive understanding of the proliferation and differentiation of the process of stem cells and their *in vitro* manipulation has been the launching platform for the field of regenerative medicine.

In this review we describe the main strategies used for regenerative medicine in tissue regeneration along with the main obtained clinical-surgical benefits.

Key words: Regenerative medicine, strategies, clinical benefits.

ANTECEDENTES

La medicina regenerativa es un área en la que participan dominios biomédicos y médicos destinada al tratamiento de lesiones celulares-tisulares agudas o crónicas, dirigida a resolver problemas en los que, en la actualidad, los tratamientos convencionales no son efectivos, y su objetivo es lograr soluciones temporales o permanentes que restablezcan la función normal de tejidos y órganos.

Los diferentes avances biomédicos en la identificación, aislamiento y direccionamiento de los distintos tipos de células madre o troncales (*stem*), y de los componentes estructurales y funcionales que las rodean, junto con la construcción de nanomateriales biológicos por ingeniería tisular, han permitido conjuntar esfuerzos multidisciplinarios y constituir una gran variedad de complejas estrategias de reparación, regeneración y sustitución de células, tejidos y órganos.¹ Estos avances, a su vez, se han conseguido a partir del mejor entendimiento en la regulación de la expresión génica, sobre todo de la identificación de los factores de transcripción relacionados con la pluripotencialidad y unipotencialidad, de los cambios epigenéticos moduladores de la transcripción génica, y de los principios de señalización de los diferentes procesos celulares, sobre todo los relacionados con la reprogramación y la diferenciación celular.²

De manera simultánea, otros diferentes progresos nanobiotecnológicos con impacto en la salud han favorecido de manera interdisciplinaria las diferentes estrategias de regeneración de tejidos, en particular la construcción de nanopartículas, de nanoestructuras y los diferentes avances en las herramientas y tecnologías de bioingeniería tisular.³

La medicina regenerativa es una área multidisciplinaria nueva dirigida al reemplazo, reparación o restauración de la función normal de órganos y tejidos lesionados por enfermedades. Esta compleja estrategia terapéutica implica usar células vivas, administradas solas o en combinación con biomateriales e, incluso, con moldes estructurales de órganos. En la actualidad, el tratamiento definitivo de la etapa final de lesión en un órgano es el trasplante alogénico. Los pacientes que, por fortuna, reciben un órgano donado deben recibir prácticamente de por vida tratamiento inmunosupresor. Los avances recientes en medicina regenerativa e ingeniería tisular son potenciales para sustituir tejidos u órganos generados a partir de sus propias células. Los resultados exitosos del empleo de tejidos y órganos bioconstruidos en modelos preclínicos y en algunos casos clínicos de pacientes, avalan estos principios.

En la actualidad, en los Institutos Nacionales de Salud de Estados Unidos están registrados 95 protocolos terapéuticos que emplean diferentes modalidades de medicina regenerativa,

sobre todo relacionados con pacientes con lesiones agudas de cerebro y corazón, crónicas de hígado, vasculares periféricas (la mitad eran pacientes diabéticos), neurológicas y dentales (<http://www.clinicaltrials.gov>).

En esta breve revisión se analizan las principales estrategias o recursos generales empleados por la Medicina regenerativa, sus logros sobresalientes obtenidos en ensayos clínicos, y las perspectivas de su aplicación e iniciativas para su desarrollo en la comunidad biomédica mexicana.

Antecedentes y principios de la medicina regenerativa

La medicina regenerativa es el proceso de reemplazar o regenerar las células, tejidos u órganos en el organismo humano para recuperar su función normal. Este proceso es extraordinariamente complejo e implica la participación de un conjunto interdisciplinario de dominios y herramientas biomédicas en las diversas variedades de reemplazo de células, tejidos o de un órgano. El concepto de medicina regenerativa lo utilizó, inicialmente, Leland Kaiser, en 1992.⁴

La regeneración de miembros en algunos organismos, como las salamandras, que se forman después de 6 a 8 semanas de su amputación, ha sido un incentivo para desarrollar la medicina regenerativa en los humanos. Algunos antecedentes del moderno paradigma de la medicina regenerativa en humanos son los trasplantes de órganos sólidos y de células en suspensión, como el trasplante renal (desde 1954), y el trasplante de médula ósea (desde 1968). La medicina regenerativa tiene el potencial de solucionar los problemas de escasez de órganos disponibles para donación y el problema del rechazo del órgano trasplantado.

Los ensayos clínicos de la regeneración de tejidos se iniciaron con el empleo de las células madre, tallo, troncales o *stem*,⁵ y han continuado

con el uso de moléculas moduladoras para este tipo de células, y de diferentes componentes de la matriz extracelular; ejemplos de estos son las células madre hematopoyéticas, el factor de crecimiento de granulocitos y algunos bioproductos, como la matriz extracelular dérmica descelularizada o algunos compuestos análogos del sulfato de heparán. En pocas oportunidades se han utilizado algunas bioconstrucciones tisulares para fabricar segmentos de órganos sencillos, con moldes estromales de tejidos alogénicos descelularizados, cuyas células son sustituidas por células autólogas.⁶

Las oportunidades de la medicina regenerativa son inmensas, particularmente en beneficio de los pacientes con enfermedades degenerativas e isquémicas, con disfunciones hormonales, como diabetes mellitus, o de hormona de crecimiento, enfermedades neurodegenerativas (Parkinson, Alzheimer y Huntington), lesiones cardiovasculares (infarto de miocardio, isquemias periféricas), o lesiones en la córnea, piel, articulaciones y huesos, entre otras.⁶

Principales componentes que modulan la regeneración celular y tisular

Las células madre pluripotenciales, en sus diversas variedades, son la base fundamental para favorecer la regeneración celular, la reparación funcional tisular o para la construcción *ex vivo* de órganos. Se requiere un número suficiente de ellas para alcanzar la masa crítica celular específica que conforma cada órgano. Esto corresponde, en número, al 50% de las células parenquimatosas de cada órgano, y ser moduladas para entrar al proceso de diferenciación celular y obtener un estado celular terminalmente diferenciado. Los procesos de regulación de la proliferación-renovación y diferenciación de las células madre requieren señalamientos intrínsecos y extrínsecos; estos últimos constituidos por señales bioquímicas autocrinas, yuxtacrinas, paracrinas y endocrinas moduladas por el microambiente que rodea a



las células (dosificados, degradados, etc.), particularmente por los componentes de la matriz extracelular. Muchas de las funciones bioquímicas de los componentes de la matriz extracelular pueden facilitarse, sustituirse o amplificarse con productos nanotecnológicos fabricados como bionanopartículas y bionanoestructuras. La construcción de la arquitectura morfológica y funcional de un tejido u órgano *in vivo* o *ex vivo* requiere biosensores especializados que regulen las condiciones fisiológicas particulares de las células terminalmente diferenciadas (por ejemplo, condiciones hemodinámicas, pH, estímulos mecánicos-eléctricos, etc.).

Células madre pluripotenciales

Las células madre, o células *stem*, en sus distintas variedades, se han utilizado en la terapia celular para la regeneración de tejidos. Se agrupan según su fuente tisular en: embrionarias, fetales, adultas o generadas a partir de inducción *in vitro* de células somáticas adultas. Las células madre también pueden clasificarse de acuerdo con su potencialidad de generar todos, muchos o algunos tipos celulares en: totipotentes, pluripotentes-multipotentes u oligopotentes. Las células madre adultas o somáticas, ubicadas en los diferentes tejidos, son pluripotentes-multipotentes, y se encuentran en nichos específicos en los tejidos del cuerpo (por ejemplo, células madre de la médula ósea, células madre cardíacas, células madre obtenidas del cordón umbilical, etc.).⁷

Las células madre de tejidos adultos o somáticas pueden obtenerse de un individuo-paciente, expandirse y diferenciarse *in vitro*, incorporarse a un tejido en construcción y, luego, ser regresadas como sustituto biológico al mismo individuo (autoinjerto), para evitar tratamientos inmunosupresores. Las células madre hematopoyéticas se han aplicado durante más de 40 años a pacientes con alteraciones hematopoyéticas severas, y para reconstituir la población celular de la médula ósea, después de tratamientos con irradiación-qui-

mioterapia a pacientes con cánceres avanzados. Las células madre mesenquimales de la médula ósea pueden inducirse para diferenciarse *ex vivo* en las células derivadas del mesodermo, como: osteocitos, adipocitos, condrocitos, etc., aunque su índice de proliferación es menor que el de las células madre embrionarias. Éstas, aunque tienen la capacidad casi infinita de proliferar y diferenciarse en todas las células, su injerto no es factible debido a limitaciones bioéticas relacionadas con su obtención. Por estas condiciones, en los últimos años surgió la posibilidad de emplear células madre pluripotentes inducidas, que se generan a partir de la reprogramación *in vitro* de células somáticas adultas. Estas células madre pluripotentes inducidas luego, pueden expandirse y re-dirigirse fenotípicamente a linajes específicos como sustento de la terapia celular en el campo de la medicina regenerativa.⁸

En términos generales, los pasos para emplear células madre pluripotentes inducidas como terapia celular son la expansión y direccionamiento de su diferenciación a través de cultivos celulares tridimensionales que cuenten con condiciones parecidas a las fisiológicas que requieren para su crecimiento y diferenciación.

En la actualidad, diferentes hospitales de los Institutos Nacionales de Salud de Estados Unidos (<http://www.clinicaltrials.gov>) han registrado 4,609 protocolos clínicos en fase III que emplean distintos tipos de células madre (sobre todo células madre hematopoyéticas) o biomoléculas que favorecen su expansión.

Moléculas inductoras de regeneración celular-tisular

El proceso normal de regeneración de tejidos depende de un estricto control de renovación y diferenciación de las células madre, dado por su exposición de señales externas de diferentes proteínas y de pequeñas moléculas orgánicas (menores a 900 daltons); estas últimas, tam-

bién de manera independiente, pueden actuar directamente sobre un lecho tisular lesionado, promoviendo su reparación y regeneración. La identificación de todas estas moléculas inductoras es una de las metas fundamentales de la medicina regenerativa porque pueden activar, *in vivo*, los mecanismos de reparación tisular, sin necesidad de recurrir a la terapia celular. Los avances en el estudio de la biología de las células madre han empezado a identificar nuevos blancos moleculares para su intervencionismo.

Algunos de los factores de crecimiento y diferenciación conocidos, y algunas citocinas, corresponden a ejemplos de proteínas y de pequeñas moléculas inductoras de regeneración tisular. Están en evaluación diferentes sustancias que modulan a ciertos o varios tipos de células madre multipotentes. La proliferación de células madre hematopoyéticas es favorecida por las proteínas Notch, por el factor de las células *stem*, por el factor de crecimiento 1 de los fibroblastos por la trombospodina, por la proteína 2 unida al factor de crecimiento de insulina, y por la prostaglandina E₂. Las células madre mesenquimales de médula ósea que originan osteoblastos, condrocitos y adipocitos son modificadas por la proteína morfogénica ósea-4, las proteínas de la vía Hedgehog, y por los agonistas del receptor nuclear gama que induce la proliferación de peroxisomas (PPAR-g, etc).⁹

El principal agente de uso clínico para la proliferación, diferenciación y movilización de las células madre hematopoyéticas es el factor estimulante de colonias de granulocitos que, al colocarse en liposomas y conjugado con polietilén glicol, aumenta su duración de acción y su farmacocinética. Otros agentes con funciones parecidas al factor estimulante de colonias de granulocitos son el factor de las células *stem*, y el antagonista del receptor 4 de la quimiocina CXCR4, con efecto más rápido en la movilización de las células madre hematopoyéticas, aunque no movilizan las células madre

mesenquimales, ni las células progenitoras estromales de la médula ósea. Pequeñas moléculas, como algunas citocinas que modifican las moléculas que participan en el anclaje y adhesión celular; y otras emplean como blancos de acción las diferentes modificaciones celulares relacionadas con el anclaje a moléculas de adhesión celular; y otras más actúan indirectamente en diferentes células que forman el nicho celular de las células madre hematopoyéticas, como en osteoblastos a través de su receptor de la hormona paratiroidea.⁹

Uso de matriz extracelular o sus derivados como estrategia

Todos los tejidos están constituidos por células rodeadas de matriz extracelular, compuesta por material relativamente soluble (geles de proteoglicanos y polisacáridos) e insoluble que constituye un estroma estructural de soporte (proteínas fibrosas). Los principales componentes de la fracción soluble son los glicoaminoglucanos, heparán sulfato, condroitín sulfato y keratan sulfato y el ácido hialurónico. En la fracción soluble de la matriz extracelular se alojan los diferentes factores de crecimiento, citocinas y enzimas que degradan todos estos componentes que, en conjunto, regulan el crecimiento, renovación y diferenciación de las células madre y las células terminalmente diferenciadas de los tejidos; también modulan las respuestas inflamatoria y de cicatrización en el microambiente en condiciones de lesiones tisulares. La fracción insoluble de la matriz extracelular está formada por colágena tipo I, fibronectina, laminina y otras proteínas fibrosas que forman un molde estructural donde se distribuyen todos los otros diferentes tipos de células que conforman un tejido (incluso células endoteliales, fibroblastos, etc.). Los diferentes dominios bioquímicos de las moléculas constitutivas de la fracción soluble e insoluble de la matriz extracelular sirven de guías de anclaje y facilitan la función de los diferentes tipos celulares en un tejido en parti-



cular, permiten generar las propiedades físicas e interacciones específicas del sistema extracelular en patrones espaciales y temporales de reacciones bioquímicas y biomecánicas que regulan el comportamiento celular. Por ello, el fenotipo de las células parenquimatosas que conforman un tejido específico (genoma, epigenoma, proteoma) está influido por las condiciones globales de su microambiente tisular, como el tipo de matriz extracelular, concentración de oxígeno, pH, fuerzas mecánicas, ambiente bioquímico, tipos y condiciones de las células estromales, etc. En respuesta al daño, la matriz extracelular libera diferentes péptidos no totalmente identificados, que estimulan la proliferación-diferenciación de las células madre adultas y modulan la respuesta inmunológica innata local. En suma, la composición, organización y función de la matriz extracelular es muy compleja, e influye en el microambiente tisular como soporte biomecánico o bioquímico específico para el funcionamiento fisiológico celular.^{10,11} A partir de todas estas propiedades se explica el beneficio clínico del uso de la matriz extracelular alogénica descelularizada y de algunos análogos del heparán sulfato en el proceso de facilitación en la reparación de heridas.¹² Los análogos del heparán sulfato, comparados con el heparán sulfato nativo, son más resistentes a su degradación por glicanasas o heparanasas y proteasas en condiciones de respuesta local inflamatoria, por lo que su empleo favorece la reparación tisular.

Descelularización de tejidos alogénicos y su recelularización por células autólogas

Una de las estrategias avanzadas de la terapia celular es la construcción de órganos *ex vivo*, que requiere un molde estructural parecido o igual al estroma del órgano que se desea regenerar. Los mejores esqueletos estromales corresponden a los obtenidos a partir de órganos semejantes alogénicos (donantes), después de eliminar todas las células del tejido parenquimatoso y no parenquimatoso o descelularización de tejidos.

Una vez logrado este primer paso, las células del donante se sustituyen por células madre autólogas del individuo receptor; este paso se denomina recelularización. La eliminación de las células del donante en el estroma de soporte celular se realiza mediante una combinación de métodos físicos (congelamiento, sonicación), iónicos (detergentes iónicos), químicos (detergentes no iónicos) y enzimáticos (tripsina, endonucleasas, exonucleasas).^{10,11} Idealmente, la recelularización de los esqueletos estromales se realiza con células autólogas, que son clonadas previamente *ex vivo* por medio de cultivos-3D, con biorreactores específicos.⁷ Los cultivos celulares tridimensionales-3D *in vitro* permiten mejor exposición de las células a los microambientes fisiológicos y favorecen la proliferación celular.¹³

Las nanopartículas y las nanoestructuras favorecen el transporte y la entrega de los compuestos inductores de regeneración tisular

La nanomedicina es la aplicación médica de la nanotecnología, y su amplia gama de herramientas incluye a los nanomateriales y biosensores nanoelectrónicos. El objetivo de los nanoproducidos es que los compuestos biológicos identificados como inductores de cambios fenotípicos celulares (por ejemplo, factores de crecimiento, citocinas, etc.) interactúen oportunamente en tiempo y en adecuadas concentraciones en las células blanco, para modificarlas y así permitir la conducción de los diferentes procesos celulares fundamentales o especializados en los tejidos, entre ellos la proliferación de las células madre. Los nanoproducidos pueden mejorar las propiedades farmacológicas de las moléculas inductoras de regeneración celular, por su capacidad de modificar su farmacocinética y farmacodinamia. Los nanoproducidos deben ser biocompatibles, no tóxicos, inertes, biodegradables (o no) y no producir inmunorreactividad o ser insignificante; en particular, las nanoestructuras deben contener una porosidad conveniente que facilite el

intercambio y la permeabilidad de oxígeno, nutrientes, catabolitos, y permitir la vascularización y el crecimiento tisular. El objetivo del uso de nanoestructuras es favorecer las interacciones entre las superficies del material con las funciones biológicas, imitar el microambiente celular y promover funciones como la adhesión, movilidad y la diferenciación celular.¹⁴

Las nanopartículas (2,500 a 10,000 nm) más conocidas son los liposomas, los dendrímeros y las partículas conjugadas con iones metálicos, o con pequeñas moléculas orgánicas como polietilenglicol; las nanoestructuras más conocidas son los nanotubos de carbón o de fullerenos. Otros nanoproduitos biomédicos menos conocidos son los biosensores nanoelectrónicos, que se utilizan en la construcción de biorreactores específicos de expansión y diferenciación celulares, estos se colocan dentro de los moldes tisulares e hidrogeles constituidos por materiales poliméricos parecidos a los componentes naturales de la matriz extracelular, con la finalidad de mantener condiciones particulares de cultivo.¹⁵

En el tratamiento de algunos tipos de cáncer, de infecciones y de sustitución hormonal se han utilizado algunas nanopartículas, como paclitaxel unido a la albúmina, daunorubicina y doxorubicina que se colocan en liposomas unidas con polietilenglicol, etc. En la actualidad se han aprobado cerca de 30 productos nanotecnológicos para uso clínico, sobre todo moléculas en partículas liposomales y conjugados con polímeros orgánicos.¹⁶

Para rastrear células madre, en ensayos preclínicos de Medicina regenerativa se han diseñado algunos biomarcadores moleculares integrados en nanopartículas entre ellos, conjugados con partículas superparamagnéticas de óxido de hierro, que pueden detectarse por medio de resonancia magnética y los *quantum dots* que funcionan como marcadores celulares luminiscentes y pueden detectarse mediante ultrasonido.¹⁷

Algunos productos nanoestructurados de ingeniería tisular, además de contar con las propiedades previamente anotadas, permiten una resistencia mecánica particular y cinética de degradación específica.¹⁴ Así, para imitar el microambiente tisular se ha diseñado la combinación de diferentes nanomembranas, nanotubos, geles o matrices tridimensionales nanométricas. En la elaboración de nanoestructuras se han empleado materiales naturales o sintéticos; algunos de ellos biodegradables o permanentes utilizados previamente en el campo médico antes del advenimiento de la ingeniería de tejidos, como las suturas quirúrgicas compuestas de poliésteres y de colágena.

Los materiales naturales pueden ser derivados de fuentes humanas o animales e incluyen colágena, proteína de la seda, *matrigel*, submucosa de intestino delgado, agarosa, alginato y quitosán. Algunos esqueletos estromales naturales descelularizados se han empleado como moldes para facilitar el proceso de recellularización de tejidos *in vivo*, como los obtenidos de la dermis, intestino delgado y vasos sanguíneos. Los esqueletos tisulares sintéticos se han construido con ácidos polihidroxílicos, politetrafluoroetileno, titanio o cerámica. También se ha recurrido a diferentes nanofibras, nanotubos de carbón o matrices nanofibrosas conjugadas con la proteína morfogénica ósea que promueven la osteogénesis y la biomineralización de las células madre mesenquimales.¹⁸

A pesar de las múltiples cualidades logradas con los diferentes nanomateriales en su uso experimental, la aplicación clínica de casi todos ellos requiere una valoración detallada de su toxicidad.

La ingeniería celular y tisular en la construcción de órganos

La ingeniería de tejidos se refiere al uso combinado de células, factores inductores



físico-químicos, biomateriales, y moldes de arquitectura estromal con la finalidad de reemplazar un órgano. La construcción de cada órgano requiere componentes biológicos específicos. Los avances en el estudio de estos componentes han permitido fabricar tejidos y órganos en el laboratorio.¹⁹

Para la construcción de órganos y tejidos pueden utilizarse células autólogas y alogénicas y, ocasionalmente, xenogénicas, que se implantan en moldes tridimensionales biocompatibles y biodegradables, compuestos de gran variedad de nanomateriales. Estos moldes permiten a las células su anclaje, migración, exposición a factores bioquímicos, nutrientes, y ejercen influencias mecánicas y biológicas que modifican su comportamiento, y la reconstrucción de su estroma tisular. El ensamblado de las células en el molde estructural para la construcción de los órganos complejos requiere superar la dificultad de lograr el suministro de sangre por redes capilares para obtener oxígeno y nutrientes. Esta dificultad se ha logrado resolver parcialmente *in vitro*, a partir del uso de biorreactores de ingeniería tisular, que simulan las condiciones ambientales que requieren las células para su proliferación y diferenciación, que incluyen oxígeno, pH, humedad, temperatura, nutrientes, factores bioquímicos y presión osmótica.

Los avances científicos en biomateriales, células madre, factores de crecimiento y diferenciación, y en la fabricación de soportes tridimensionales nanométricos, han favorecido la fase inicial para la fabricación de tejidos y órganos complejos en el laboratorio.²⁰ El reemplazo de un tejido complejo requiere reconstruir su parénquima, vascularidad, y tejidos de soporte, que son muy especializados entre los diferentes órganos.¹¹ En los últimos años la construcción de órganos complejos, como el corazón, el hígado y el pulmón en modelos preclínicos, ha demostrado el enorme potencial que puede lograrse con esta tecnología.

Logros clínico-quirúrgicos en el empleo de estrategias de medicina regenerativa

Aunque el beneficio clínico del trasplante de células madre hematopoyéticas de médula ósea ha sido el logro más significativo obtenido desde hace 50 años, algunas otras modalidades empleadas en protocolos clínicos de medicina regenerativa han demostrado gran utilidad terapéutica en problemas complejos de salud, que no se habían resuelto con los tratamientos convencionales. En los siguientes párrafos se describen las principales estrategias de la medicina regenerativa que han mejorado significativamente los resultados clínicos terapéuticos en algunas enfermedades.

Células

El Sistema de Salud de Canadá aprobó el uso de células madre mesenquimales alogénicas (Prochymal) para el tratamiento de pacientes con enfermedad aguda de injerto contra huésped (complicación del alotrasplante) cuando no hay respuesta al tratamiento con corticoesteroides.²¹ En protocolos terapéuticos frecuentemente se utilizan dos tipos de células oligopotentes autólogas: condroblastos expandidos *in vitro*, que se implantan en pacientes con defectos condrales, y células madre corneales tomadas del limbo que, directamente o expandidas *in vitro*, se utilizan para la regeneración de úlceras corneales pequeñas.^{6,22,23}

Moléculas conjugadas en nanopartículas y nanoestructuras inductoras de efectos celulares

El principal grupo de nanopartículas utilizadas en la clínica son los liposomas, que funcionan como acarreadores y facilitadores de entrega de algunos medicamentos a células con cierta sensibilización biológica; por ejemplo, el efecto anti-tumoral de la doxorubicina colocada en liposomas es absolutamente superior que el de la doxorubicina sola.^{9,16}

Para mejorar el flujo de segmentos de órganos se han empleado diferentes *stents* o tubos de malla; particularmente en pacientes con estenosis coronaria el flujo sanguíneo mejora con la aplicación por cateterismo de *stents* metálicos o *stents* metálicos cubiertos con una capa de polímeros conjugados a rapamicina o paclitaxel, que se liberan localmente durante varios meses.²⁴

Con anticuerpos conjugados con nanopartículas magnéticas fluorescentes pueden identificarse, mediante imagenología molecular, diferentes biomarcadores que identifican a las células específicas.¹⁶ En la regeneración de tejidos duros, como el hueso, se utilizan diferentes nanofibras y nanotubos de carbón enlazados con la proteína morfogénica ósea-4, que promueven la osteogénesis y biomineralización de las células madre mesenquimales.¹⁸

Mallas de matriz extracelular descelularizada o productos de sus componentes

Desde hace 10 años, para cubrir defectos aponeuróticos en la reparación de una hernia inguinal, se emplean biomallas de matriz extracelular descelularizada alogénica o xenogénica, casi siempre para la reparación en condiciones de un entorno infectado o de hernias encarceladas.

En procedimientos reconstructivos, de cirugía plástica y odontológica, frecuentemente se utiliza un tipo de matriz extracelular dérmica acelular alogénica (AlloDerm, BioHorizons IPH).^{25,26} Con materiales naturales, combinados con sintéticos, como los apósitos de Dermograft (Shire, Inc) y Hyalofill-F (Hyalec) se han construido algunos sustitutos de piel. El Dermograft se elabora con componentes de matriz extracelular y fibroblastos homólogos que se colocan en una malla bioabsorbible de ácido poliláctico. Estos materiales se aprobaron en Canadá para el tratamiento de úlceras de pies en pacientes

diabéticos; el Hyalofill-F está compuesto de ésteres de ácido hialurónico.¹²

La aplicación intraarticular de hialuronato sódico. Hyalgan (Fidia, Farmaceutici), polímero biodegradable componente de la matriz extracelular soluble, en pacientes con osteoartritis, disminuye el dolor, mejora la biomecánica articular y retarda la necesidad de sustitución protésica de la articulación.²⁷⁻²⁹

Combinación de productos y estrategias multidisciplinarias de medicina regenerativa

Ocasionalmente se han construido, *ex vivo*, segmentos de órganos no complejos, como: tráquea, vejiga urinaria, vasos sanguíneos y válvulas cardíacas. En su biofabricación se han utilizado esqueletos estromales descelularizados alogénicos, que son recelularizados con células madre autólogas, que luego mediante un procedimiento quirúrgico se aplican en pacientes que requirieron resecciones segmentarias y reconstrucciones de esas porciones; los resultados y el seguimiento de esos pacientes han demostrado beneficios significativos. Esos segmentos u órganos no requieren en su construcción o implantación conectarse a la circulación sanguínea, circunstancia que ha permitido su fabricación bioartificial, y se han aplicado en ensayos preclínicos y casos clínicos ocasionales. Ejemplos clínicos de ellos son: la construcción *ex vivo* y su trasplante de un segmento bronquial en una paciente adulta con broncomalacia,^{30,31} y la construcción de neo-vejigas en siete pacientes jóvenes con alteraciones vesicales biodinámicas severas, a través del proceso de recelularización autóloga sobre un molde-esqueleto homólogo.³² Se han conseguido otros éxitos clínicos en la construcción de segmentos de tráquea para la reparación quirúrgica de su continuidad, a partir de expandir células madre hematopoyéticas autólogas en un molde estromal construido artificialmente (2011)³³ y en un molde alogénico (2011).^{34,35}



Perspectivas

Los diferentes logros clínicos conseguidos en la última década por las diversas modalidades de productos y protocolos de regeneración de tejidos, aunque limitados, estimulan a continuar los trabajos que diferentes grupos multidisciplinarios conducen.

La terapia celular y el empleo de moléculas inductoras de regeneración tisular integrados a nanomateriales para el tratamiento de diferentes enfermedades son extraordinariamente promisorios a corto y mediano plazos.

Por limitaciones bioéticas para el uso de las células madre embrionarias, la mejor alternativa de terapia con células madre es emplear células madre pluripotentes obtenidas del cordón umbilical o células madre inducidas, obtenidas a partir de células somáticas.³⁶ Para esta segunda opción se requiere avanzar aún más en el estudio del control de los procesos de reprogramación celular y de direccionamiento específico de dichas células pluripotentes hacia las distintas variedades de células terminalmente diferenciadas.

Asimismo, se requiere progresar en la identificación mayoritaria de los factores bioquímicos activos que participan en la regeneración celular-tisular y en la determinación de los dominios bioquímicos moleculares que interaccionan con los correspondientes de los componentes de la matriz extracelular y que, en conjunto, modulan el reservorio y la entrega de señales bioactivas a las células madre blanco (o células en proceso de diferenciación o células terminalmente diferenciadas) para la recepción y transducción de señales intracelulares, síntesis de proteínas especializadas, activación de funciones celulares especializadas y con ello modifiquen su patrón fenotípico.

De la misma manera se requiere seguir progresando en la construcción de nanopartículas y

nanoestructuras que faciliten e incrementen la entrega, el anclaje funcional y la construcción tridimensional de los diferentes componentes del estroma tisular; todas ellas cumpliendo los requerimientos de condiciones integrales de buenas prácticas clínicas.

Los avances recientes en ingeniería tisular han demostrado que es posible la sustitución parcial de órganos no complejos, como: tráquea, vejiga urinaria, vasos sanguíneos y válvulas cardíacas que se han construido *ex vivo*; y su aplicación en casos clínicos esporádicos ha demostrado su utilidad terapéutica.

Los órganos complejos, como el corazón, pulmón e hígado, necesitan una construcción bioartificial más elaborada, por requerir conectarse a la circulación arteriovenosa durante su fabricación *ex vivo* y durante su implantación *in vivo*. La construcción tisular de cada órgano es sumamente compleja y depende de la regeneración de un meganúmero de células parenquimatosas, como de diferentes tipos de células estromales, cubiertas de matriz extracelular soluble, así como de un molde estromal estructural de matriz extracelular insoluble específico.

Takebe y colaboradores consiguieron recientemente generar nódulos funcionales de tejido hepático humano en ratones, a partir de su construcción *in vitro* con células endodérmicas derivadas de células madre pluripotentes inducidas, cultivadas con dos tipos de células estromales, células endoteliales y células madre mesenquimales humanas que, al cabo de una semana, se auto-organizan y forman brotes tridimensionales, que luego pueden ser trasplantados (por ejemplo, en el mesenterio).³⁷ Invariablemente se requiere el empleo de biorreactores complejos de regeneración tisular *ex vivo* que imiten las condiciones fisiológicas corporales humanas de los diferentes tejidos y órganos. Para el caso de la construcción de órganos complejos que requieren un estroma de matriz extracelular

insoluble sintético, como esqueleto tisular, en los últimos años se ha desarrollado un avance tecnológico que permite su construcción a través de bioimpresoras tisulares tridimensionales-3D. Esta biofabricación asistida por computadora se realiza capa por capa de los moldes estromales, o incluso del parénquima celular.^{3,38-40}

La bioconstrucción tisular de órganos sólidos requiere muchos tipos de células en proporciones específicas. Por ejemplo, para la reparación-regeneración del tejido dañado por infarto de miocardio o, eventualmente, en la bioconstrucción de un corazón *ex vivo* (contando con un estroma alogénico descelularizado), se requieren megacantidades de células cardíacas progenitoras (células multipotentes-oligopotentes, más de 1,000 millones), junto con células precursoras de células endoteliales y de células de músculo liso, tanto como de la participación de factores dependientes de las células estromales, como los relacionados con el sistema renina-angiotensina y de factores de crecimiento que promuevan la angiogénesis, inhiban la apoptosis, movilicen las células progenitoras, estimulen la proliferación de los cardiomiocitos e inhiban o reduzcan la inflamación y la fibrosis. También se requiere un biorreactor que imite las condiciones del latido cardíaco, relacionadas con las actividades eléctricas del marcapaso y las funciones mecánicas de la bomba hemodinámica.⁴¹ Con todo lo anterior, el último paso es la colocación de las células (p.ej. intramiocárdica, intracoronaria) del tejido u órgano bioconstruido en el paciente, y la conservación de su función por periodos prolongados.⁴¹

Para cubrir las necesidades de este ejemplo se requieren mayores avances en las áreas de la biología de las células madre inducidas, de los factores microambientales que modulan la proliferación y diferenciación de los cardiomiocitos, y en los diferentes rubros de ingeniería tisular relacionados con la tecnología de biorreactores y de bioimpresión específicas, y en medicina-cirugía cardiovascular.⁴¹⁻⁴³

CONCLUSIONES

La era de la aplicación de las diferentes estrategias de la medicina regenerativa en el tratamiento de problemas complejos de salud está hoy en progreso. Las diversas estrategias corresponden a terapia celular, utilización de moléculas inductoras de regeneración tisular, empleo de bionanomateriales y de bioconstrucciones elaboradas por ingeniería tisular. En la última década algunas de estas estrategias han logrado beneficios significativos en el campo clínico. Este proyecto podría lograrse en nuestro medio, a través de un trabajo colaborador interdisciplinario de académicos, inversionistas del sector privado, y cuerpos reguladores de la atención médica (como la COFEPRIS).

REFERENCIAS

1. Weber B, Emmert MY, Schoenauer R, Brokopp C, Baumgartner L, Hoerstrup SP. Tissue engineering on matrix: future of autologous tissue replacement. *Semin Immunopathol* 2011;33(3):307-315.
2. Sánchez A, Schimmang T, Garcia-Sancho J. Cell and tissue therapy in regenerative medicine. *Adv Exp Med Biol* 2012;741:89-102.
3. Khawaja C, Law R, Shepherd B, Dorfman S, Csete M. 3D Cell bio printing for regenerative medicine research and therapies. *Gene Ther Reg* 2012;7(1):1-19.
4. Kaiser LR. The future of multihospital systems. *Top Health Care Financ* 1992;18:32-45.
5. Riazi AM, Kwon SY, Standford WL. Stem Cell Sources for Regenerative Medicine. *Methods Mol Biol* 2009;482:55-90.
6. Sánchez A, Schimmang T, Garcia-Sancho J. Cell and tissue therapy in regenerative medicine. *AdvExp Med Biol* 2012;741:89-102.
7. Lodi D, Iannitti T, Palmieri B. Stem cells in clinical practice: applications and warnings. *J Exp Clin Cancer Res* 2011;30:9.
8. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, et al. Induction of Pluripotent Stem Cells from Adult Human Fibroblast by Defined Factors. *Cell* 2007;131(5):861-872.
9. Green EM, Lee RT. Proteins and Small Molecules for Cellular Regenerative Medicine. *Physiol Rev* 2013;93(1):311-325.
10. Badylak SF, Taylor D, Uygun K. Whole-Organ Tissue Engineering: Decellularization and Recellularization of Three-Dimensional Matrix Scaffolds. *Annu Rev Biomed Eng* 2011;13:27-53.



11. Badylak SF, Weiss DJ, Caplan A, Macchiarini P. Engineered whole organs and complex tissues. *Lancet* 2012;379(9819):943-952.
12. Papanas N, Eleftheriadou I, Tentolouris N, Maltezos E. Advances in the Topical Treatment of Diabetic Foot Ulcers. *Curr Diabetes Rev* 2012;8(3):209-218.
13. Li XJ, Valadez AV, Zuo P, Nie Z. Microfluidic 3D cell culture: potential application for tissue-based bioassays. *Bioanalysis* 2012;4(12):1509-1525.
14. Peran M, Garcia MA, Lopez-Ruiz E, Bustamante M, Jimenez G, Madeddu R, et al. Functionalized nanostructures with application in regenerative medicine. *Int J Mol Sci* 2012;13:3847-3886.
15. Seliktar D. Designing cell-compatible hydrogels for biomedical applications. *Science* 2012;336:1124-1128.
16. Aora P, Sindhu A, Dilbaghi N, Chaudhury A, Rajakumar G, Rahuman AA. Nano-regenerative medicine towards clinical outcome of stem cell and tissue engineering in humans. *J Cell Mol Med* 2012;16:1991-2000.
17. Yukawa H, Kagami Y, Watanabe M, Oishi K, Miyamoto Y, Okamoto Y, et al. Quantum dots labeling using octarginine peptides for imaging of adipose tissue-derived stem cells. *Biomaterials* 2010;31:4094-4103.
18. Wang J, Valmikinathan CM, Liu W, Larecin CT, Yu X. Spiral-structure, nanofibrous, 3D scaffolds of bone tissue engineering. *J Biomed Mater Res A* 2008;29:3815-3821.
19. Atala A, Kasper FK, Mikos AG. Engineering complex tissues. *Science Transl Med* 2012;4:160rv12.
20. Polak DJ. Regenerative medicine. Opportunities and challenges: a brief overview. *J R Soc Interface* 2010;7:S777-S781.
21. Prasad VK, Lucas KG, Kleiner GI, Talano JA, Jacobsohn D, Broadwater G, et al. Efficacy and safety of ex vivo cultured adult human mesenchymal stem cells (Prochymal™) in pediatric patients with severe refractory acute graft-versus-host disease in a compassionate use study. *Biol Blood Marrow Transplant* 2011;17:534-541.
22. Oldershaw RA. Cell sources for the regeneration of articular cartilage: the past, the horizon and the future. *Int J Exp Pathol* 2012;93:389-400.
23. Marchini G, Pedrotti E, Pedrotti M, Barbaro V, Di Iorio E, Ferrari S, et al. Long-term effectiveness of autologous cultured limbal stem cell grafts in patients with limbal stem cell deficiency due to chemical burns. *Clin Experiment Ophthalmol* 2012;40:255-267.
24. Pendyala L, Jabara R, Shinke T, Chronos N, Robinson K, Li J, et al. Drug-eluting stents: present and future. *Cardiovas Hematol Agents Med Chem* 2008;6:105-115.
25. Fosnot J, Kovach SJ III, Serletti JM. Acellular Dermal Matrix. *General Principles for the Plastic Surgeon. Aesthet Surg* 2011;31(Suppl 7):S5-12S.
26. Van der Veen VC, van der Wal MB, van Leeuwen MC, Ulrich MM, Middelkoop E. Biological background of dermal substitutes. *Burns* 2010;36:305-321.
27. Gigante A, Callegari L. The role of intra-articular hyaluronan (synovial) in the treatment of osteoarthritis. *Rheumatol Int* 2011;31:427-444.
28. Mar J, Romero Jurado M, Arrospe A, Enrique Fidalgo A, Soler Lopez B. Cost-analysis of viscosupplementation treatment with hyaluronic acid in candidate knee replacement patients with osteoarthritis. *Rev Esp Ortop Traumatol* 2013;57:6-14.
29. Clegg TE, Caborn D, Mauffrey C. Viscosupplementation with hyaluronic acid in the treatment for cartilage lesions: a review of current evidence and future directions. *Eur J Orthop Surg Traumatol* 2013;23:119-124.
30. Macchiarini P, Jungebluth P, Go T, Asnaghi MA, Rees LE, Cogan TA, et al. Clinical transplantation of a tissue-engineered airway. *Lancet* 2008;372:2023-2030.
31. Bader A, Macchiarini P. Moving towards in situ tracheal regeneration: the bionic tissue engineered transplantation approach. *J Cell Mol Med* 2010;14:1877-1889.
32. Atala A, Bauer SB, Soker S, Yoo JJ, Retik AB. Tissue-engineered autologous bladders for patients needing cystoplasty. *Lancet* 2006;367:1241-1246.
33. Jungebluth P, Alici E, Baiguera S, Le Blanc K, Blomberg P, Bozoky B, et al. Tracheobronchial transplantation with stem cell seeded bioartificial nanocomposite: a proof of concept study. *Lancet* 2011;328:1997-2004.
34. Elliot MJ, De Coppi P, Spegglorin S, Roebuck D, Butler CR, Samuel E, et al. Stem-cell-based, tissue engineered tracheal replacement in a child: a 2-year follow-up study. *Lancet* 2012;380:994-1000.
35. Ott HC. Engineering tissues for children: building grafts that grow. *Lancet* 2012;380:957-958.
36. Ruan J, Shen J, Wang Z, Ji J, Song H, Wong K, et al. Efficient preparation and labeling of human induced pluripotent stem cells by nanotechnology. *Int J Nanomedicine* 2011;6:425-435.
37. Takebe T, Sekine K, Enomura M, Koike H, Kimura M, Ogaeri T, et al. Vascularized and functional human liver from an iPSC-derived organ bud transplant. *Nature* 2013;481:481-484. doi:10.1038/nature 12271.
38. Xu T, Zhao W, Zhu JM, Albanna MZ, Yoo JJ, Atala A. Complex heterogeneous tissue constructs containing multiple cell types prepared by inkjet printing technology. *Biomaterials* 2013;34:130-139.
39. Koch L, Gruene M, Unger C, Chichkov B. Laser assisted cell printing. *Curr Pharm Biotechnol* 2013;14:91-97.
40. Marga F, Jakab K, Khatiwala C, Shepherd B, Dorfman S, Hubbard B, et al. Toward engineering functional organ modules by additive manufacturing. *Biofabrication* 2012;4(2):1-12.
41. Maher B. How to build a heart. *Nature* 2013;499:20-22.
42. Ptazek LM, Mansour M, Ruskin N, Chien KR. Towards regenerative therapy for cardiac disease. *Lancet* 2012;379:933-942.
43. Pashuck ET, Stevens MM. Designing Regenerative Biomaterial Therapies for Clinic. *Science Transl Med* 2012;4(160):160sr4.