

EL MALALT VOL SABER - EL ENFERMO QUIERE SABER

9 de junio de 2004

Resumen - elaborado por GAEM - de las conferencias impartidas

Presentació del Sr. Ernest Maragall.- Podem treure'n aquestes conclusions:

La millor resposta és la que nosaltres mateixos podem donar.

Agrair l'existència d'una organització ben portada, que és la demostració de no conformar-se en ser subjectes passius d'una situació.

Afirmació en positiu d'una situació concreta, prendre la iniciativa.

Presentación a cargo del Sr. Ernest Maragall.- Podemos extraer estas conclusiones:

- *La mejor respuesta es la que podemos dar nosotros mismos..*
- *Agradecer la existencia de una organización bien gestionada, que es la demostración de no conformarse a ser sujetos pasivos de una situación.*
- *Afirmación en positivo de una situación concreta, tomar la iniciativa.*

La investigación clínica actual y perspectivas futuras (Dr. Xavier Montalbán)

La esclerosis múltiple es una enfermedad crónica e inflamatoria desmielinizante del sistema nervioso central.

- La causa todavía es desconocida. Sí sabemos que tiene un sistema de producción de la inflamación a través del sistema inmune.
- En el estado español tenemos de 25.000 a 30.000 afectados y cada día se diagnostican 8 casos nuevos.
- Existe un componente genético prevalente en todos los casos.
- El mecanismo de la enfermedad es claramente inmunológico.
- Con la RMN podemos claramente identificar las lesiones producidas de una forma precisa, podemos ver la desmielinización y su alcance.
- Los síntomas iniciales de la enfermedad son: Neuritis óptica, visión doble y pérdida del equilibrio.
- Además de la desmielinización existe una pérdida de neuronas del axón y esto es la causa de que - al cabo de 30, 40 años - pueda tener una secuela, que exista una alteración.
- La E.M. es la segunda causa de discapacidad del adulto-joven.
- Conocemos bien la historia de la enfermedad y lo que no queremos es que progrese, sino que baje la concentración e intensidad de los brotes.
- Existen varias formas clínicas de la misma enfermedad.
- No todos los pacientes se tratan de la misma forma ni con los mismos fármacos pues al haber diferentes formas de la enfermedad el funcionamiento es distinto.

Objetivos clínicos del tratamiento:

- Curar la enfermedad.
- Detener la progresión de la misma.
- Disminuir la intensidad y el número de los ataques.
- Solucionar o aliviar los síntomas.

Qué podemos hacer:

- No curamos la enfermedad.
- Podemos mejorar la sintomatología del número de ataques.
- Disminuir la progresión de la enfermedad.

Nuevos tratamientos:

La RMN (Resonancia Magnética Nuclear) nos ayuda muchísimo en la evaluación terapéutica de los nuevos tratamientos, que reducen en un 90% las nuevas lesiones y también la carga lesional. Tratamos ahora pacientes con un diagnóstico claro, con primeros ataques y una RMN clara, pero al cabo de dos años de tratar con estos nuevos fármacos:

- El 50% han tenido un nuevo ataque.
- Del 15% al 30% han tenido una nueva progresión.
- Y el resto ha tenido una progresión de la RMN.

Hay pacientes que no responden a la medicación, no responden a copolímeros ni a interferones.

- Es una medicina basada en la evidencia.
- No sabemos qué hacer cuando un paciente no responde con copolímeros ni interferones.
- Con la mitoxantrona, a dosis menores que en la terapia cancerígena, se ha visto una reducción del número de brotes en pacientes que no respondían al copolímero ni al interferón.
- Los linfocitos han de cruzar la barrera hematoencefálica. Si bloqueamos el paso de entrada de estas células no podrán hacer daño.
- Los anticuerpos policlonales sirven para evitar la entrada dentro del sistema nervioso central.
- La terapia combinada (politerapia), fármacos que actúan a diferentes niveles más interferón.

El futuro inmediato:

El fármaco xariprodem es un fármaco neuroprotector y es también antiinflamatorio. Actualmente hay un ensayo clínico para ver si tiene eficacia o no como neuroprotector en la E.M. Las estatinas, indicadas para el tratamiento del colesterol, podrían tener propiedades antiinflamatorias pero no podemos caer en el marketing de las compañías farmacéuticas intentando dar pistas de su nueva habilidad, que aún no se ha demostrado. Los estrógenos, el cannabis con efecto sintomático no demostrado aún, podría tener efectos neuroprotectores.

No siempre la inflamación es perjudicial, no siempre hemos de eliminar la inflamación, los linfocitos pueden transportar factores neurotróficos que protegen a las neuronas y mejoran así la supervivencia de estas células. Las ratas que no pueden generar la inflamación no pueden regenerar la mielina. Sabemos desde hace tres años que existen 4 tipos histológicos de E.M. y esto explicaría que existen pacientes que responden bien a unos medicamentos y a otros no y que unos tienen brotes más violentos y otros van muy bien.

Transplante de células hematopoyéticas (Dr. Albert Saiz)

El transplante autólogo de progenitores hematopoyéticos.

El 80% de los pacientes debutan con una enfermedad remitente-recidivante caracterizada por brotes e inflamación y, con el tiempo, unos 10, 15 a 20 años, un porcentaje de estos pacientes presentarán un incremento progresivo de su discapacidad, que llamaremos forma secundariamente progresiva. Para la primera fase de la enfermedad tenemos diferentes fármacos para solucionarla, interferones, pero tenemos pacientes con la fase secundaria progresiva con elevada discapacidad. La terapia con mitoxantrona se rechaza por su elevada cardiotoxicidad, la causa no la sabemos.

Se sabe que es un mal funcionamiento del sistema inmune que ataca la mielina propia, desencadenando el proceso inflamatorio como medida defensiva. Una alternativa terapéutica podría ser destruir este sistema inmune y darle a este paciente el sistema inmune de una persona normal mediante transplante: la toxicidad de este tratamiento es grave, del 40% y puede ser mortal. Otra alternativa sería destruir este sistema inmune y darle al paciente sus propias células madre de la médula ósea, con la idea de que estas células desarrollen un sistema inmune nuevo que reaccione de forma normal (transplante autólogo). La solución informática: cuando en un ordenador tengo un problema se recomienda salir y volver a entrar; pacientes con EM que desarrollaron un cáncer hematológico y que por este cáncer se les tuvo que trasplantar, y se vio que en algunos de estos pacientes la enfermedad se curó o permaneció estable. Consiste en:

- Estimular al paciente para que fabrique células madre.
- Se hace la recogida de estas células vía sangre.
- Con quimioterapia destruimos el sistema inmune del paciente.
- Reinfundimos lo que habíamos guardado.

La toxicidad mediana depende del centro en donde se realiza el transplante, de la edad del paciente (riesgo alto por encima de los 50 años de edad), de la discapacidad del paciente y del tipo de medicamentos que vayamos a usar para el transplante, de tal forma que la mortalidad puede ir desde el 0% a un 8%. También puede haber una toxicidad causada por la quimioterapia usada en el transplante que produce un cáncer secundario.

¿Cuándo trasplantar? No lo sabemos con certeza, pues no existen marcadores específicos para esta enfermedad.

Es una terapia inmunosupresora que quita la inflamación en gran medida y durante mucho tiempo. El problema es que las células de memoria del sistema inmune aún permanecen después de la quimioterapia, de tal forma que lo único que logramos es eliminar durante un largo período de tiempo la enfermedad, pero no eliminamos su agresividad.

La terapia génica (Dr. Jordi Barquinero)

Hablamos de una cuestión de futuro más que de presente. La terapia génica consiste en la introducción de genes (información genética) en los tejidos de la persona, con una finalidad terapéutica: curar o mitigar una enfermedad.

Las células madre son una de las dianas más idóneas para la terapia génica. Estas células, por decirlo así, son las madres de las otras células, tienen la capacidad de regenerar tejidos y una vez que se dividen son capaces de generar células ya maduras. Están localizadas en todos los órganos importantes del organismo (corazón, hígado, tejido adiposo, etc.), pero las más interesantes para la terapia génica, y con una mayor capacidad de división, son las de la médula ósea porque son las células que se encuentran en el interior de los huesos y son capaces de generar todas las células de la sangre (las plaquetas, los glóbulos rojos y los leucocitos).

El sistema inmune está formado por linfocitos que derivan de estas células madre. Así pues, si queremos manipular genéticamente el sistema inmune, tenemos que recurrir a la manipulación de estas células madre.

¿Cómo modificarlas? Mediante vectores, concretamente vectores virales. Estos vectores virales no son más que virus que se han desarmado (inactivados), virus a los que se les han quitado todos sus genes y nos hemos quedado con todas sus proteínas. Estos virus se han especializado a lo largo de toda su evolución en infectar células e inyectarles su material genético. Por lo tanto, aparece la idea de usar virus con una carga genética terapéutica. Así pues los virus, una vez que infecten a las células dañadas, no introducirán ahora sus genes nocivos sino los genes terapéuticos que les hemos introducido, pues recordemos que estos virus han sido previamente desarmados y son organismos especializados en infectar células, ya que para sobrevivir han de usar el material genético de la célula "huésped" o infectada.

En la práctica, podemos ahora infectar células de la médula ósea, pues es un tejido que podemos cultivar con facilidad en el laboratorio e ir añadiendo nuestros vectores virales que infectarán las células. Esto es en teoría lo que tendría que pasar, pero esto no es así por la baja eficiencia de transducción (la introducción de estos genes) y porque hay problemas de inmunidad y de citotoxicidad, aparte de problemas éticos. Sin embargo hasta el año 2000 la terapia génica no obtuvo buenos resultados y lo que se hizo con éxito fue sustituir el gen defectuoso por el correcto. De esta forma, de diez niños tratados, se curaron nueve, impulsando así las técnicas de terapia génica. Pero por desgracia en verano del 2002 un primer niño desarrolló un tipo de leucemia y a finales de ese mismo año un segundo niño desarrolló otra leucemia. Así el pánico se apoderó de todos los grupos de investigación, como de las respectivas agencias reguladoras, y fueron detenidos todos los estudios de terapia génica puestos en marcha, que utilizaban virus que infectaban a células madre. Hasta ahora.

Lo que sucedió con este virus - que, como tal, integra el material genético dentro de las células -, fue que su material genético se integró al lado de un gen que, cuando se activa, transforma las células en cancerosas. Lo que no se explicaba es: ¿por qué de diez casos sólo se habían desarrollado dos leucemias y en otros estudios no se había desarrollado ninguna? Se ha descubierto muy recientemente que en estos dos casos no sólo importa el sitio de inserción del propio gen terapéutico, sino que éste puede transformarse en cancerígeno, de tal manera que la leucemia podría desarrollarse por dos causas: 1 - El propio gen que se creía terapéutico (de hecho lo es) y 2 - El sitio de inserción.

La mayoría de cánceres son candidatos primarios a estudios de terapia génica. En segundo lugar, las enfermedades monogénicas (enfermedades hereditarias en las que hay un defecto en un solo gen) y una ristra de enfermedades, entre las que se encuentran las enfermedades autoinmunes e infecciosas.

En la actualidad la mayoría de estudios se encuentran en fase IV, esto quiere decir que se está buscando si existe toxicidad, etc. Esto indica que la terapia génica es una técnica muy joven, hemos de dejar que vaya madurando.

Se sabe que una serie de determinantes antigénicos, endógenos o exógenos, desencadenan una respuesta inmunitaria. Todavía no se saben los antígenos que desencadenan la respuesta inmune específica en la E.M. El antígeno ha de ser presentado a las células T, que son las responsables de desencadenar la respuesta inmune y además tiene que haber el reconocimiento por parte de otras moléculas, por las llamadas vías de coestimulación. Cuando se bloquean estas vías de coestimulación tenemos lo que se llama tolerancia. Esto es lo que querríamos conseguir, pero para lograrlo hemos de saber cuáles son los antígenos que desarrollan estas enfermedades. Así, no parece que el bloqueo de las vías de coestimulación sea permanente y cuando desaparece este bloqueo reaparece la enfermedad.

Lo que ahora estamos haciendo en nuestro grupo de trabajo es inyectar un antígeno en ratones, que sí sabemos que desencadena la enfermedad; hay unas proteínas que cuando son inyectadas en ratones desencadenan esta enfermedad, así estas proteínas están actuando como antígenos de la enfermedad y lo que hacemos en nuestro grupo es insertar esta proteína en las células madre, de manera que este antígeno va a ser presentado como propio y toda aquella célula T que lo presente será eliminada. Esto ocurre en el timo, que es el órgano en el que se procesan todas las células presentadoras de antígeno.

“Todo lo que hacemos tiene que ir encaminado a los pacientes”.

Transplantes celulares e Ingeniería celular (Drs. Francesc Xavier Rodríguez y Dr. Xavier Navarro)

Como ya se ha descrito, la E.M. es una enfermedad autoinmune, crónica, desmielinizante que, a largo plazo por causas autoinmunes, genera una serie de focos dispersos de desmielinización, una pérdida axonal y una reactividad glial que es deletérea al proceso de la enfermedad. Ante esto tenemos: a) Estrategias que permitan tratar de aminorar un poquito el proceso de la enfermedad (serían estrategias **neuroprotectoras o inmunomoduladoras**) y b) Otras que estarían enfocadas a tratar de regenerar el tejido perdido lesionado, por tanto estaríamos buscando la regeneración del tejido lesionado o la **remielinización**.

En las etapas iniciales de la enfermedad existe un proceso espontáneo de remielinización, que se basa en el reclutamiento de progenitores endógenos que, en respuesta al punto de la inflamación, migran hacia el lugar de la misma, y generan oligodendrocitos nuevos que generarán nuevas vainas de mielina, permitiendo la restitución funcional de lo perdido. En otras palabras, se da lugar a la remielinización, pero a medida que evoluciona esta enfermedad este proceso cada vez es menos eficaz, detectándose fallos en el reclutamiento de nuevos progenitores mediante impedimentos físicos que obstaculizarían la entrada a progenitores nuevos. Estos impedimentos serían las lesiones, cicatrices de desmielinización axonal. Se ha visto que hay pacientes que, en la zona donde tenemos a los axones desnudos, manifiestan una penetración de progenitores en la zona a remielinizar, pero que no pueden diferenciarse en nuevos oligodendrocitos y por lo tanto no pueden crear una nueva vaina de mielina (la envoltura del axón). Se desconocen las causas, pero sí se han detectado toda una serie de señales que inhiben la remielinización creada por estos progenitores - que han llegado a la zona de lesión - o una migración limitada debido a estas barreras gliales, o bien no tenemos nada que remielinizar puesto que no tenemos axón ya que está destruido por la enfermedad.

Ante esto, los transplantes celulares constituyen una alternativa con el objetivo de remielinizar el axón, pero estas células, además de regenerar el axón, expresan una serie de factores que promueven la regeneración y neuroprotección de las neuronas lesionadas o circundantes a la lesión. La primera aproximación - es lo que se ha estado practicando en los últimos 20 años - es el trasplante de células mielinizantes, donde podemos encontrar precursores de oligodendrocitos, oligodendrocitos maduros, células de Swan y células de glia envolvente.

En el proceso de diferenciación de las células oligodendrociales, como cualquier otro tipo celular, hay toda una serie de estados de desdiferenciación, desde el progenitor más desdiferenciado hasta el oligodendrocito más maduro. Cada estado tiene unas propiedades concretas; mientras que los primeros tienen una mayor capacidad de migración, la remielinización tendría lugar en los últimos estados de desdiferenciación con el oligodendrocito ya maduro. En los primeros estudios se utilizaron oligodendrocitos ya maduros o, en la etapa inmediatamente inferior, oligodendrocitos inmaduros. Estas células tenían una capacidad muy baja de supervivencia, así como de remielinización después de la lesión. Por ello, los siguientes estudios se han centrado más en la utilización de progenitores, que migran mucho más, proliferan también más que los adultos y además permiten la remielinización de los axones desnudos una vez desdiferenciados.

Un estudio interesante es aquel en el que se obtuvieron precursores de oligodendrocitos a través de cerebros de fetos humanos, de 21 a 23 semanas de gestación, o a través de

un cerebro humano adulto mediante intervenciones temporales de la zona subcortical, en donde pueden seleccionarse las células que nos interesan de todo el conjunto de células que se obtienen y, tras un breve período de cultivo de unos 7 días, se transplantaron en el cuerpo calloso de un modelo genético eficiente y útil de ratones, que sirvió para demostrar la capacidad de estas células para desdiferenciarse en oligodendrocitos y poder así remielinizar los axones. Los resultados para las células fetales fueron que estas células tienen una capacidad de migración bastante elevada, desde el punto de inyección, que se diferencian en el tipo glial mayoritario de la zona a donde llegan. Así en el cuerpo calloso se diferencian en oligodendrocitos mientras que en el estriado se diferencian en astrocitos. Un detalle del cuerpo calloso es que estos oligodendrocitos son capaces de remielinizar axones desnudos.

Cuando se hizo el mismo estudio con células precursoras de oligodendrocitos, procedentes de cerebros humanos adultos, se observó el mismo comportamiento pero con algunas diferencias. Los precursores de adultos tienen una menor capacidad de migración y de proliferación que los fetales. Pero, a diferencia de los fetales, los precursores adultos remielinizan antes los axones desnudos que los fetales, los precursores adultos están mucho más desdiferenciados que los fetales y cada una de estas células remieliniza un número mayor de axones que los fetales. Así compensamos la falta de proliferación. Sin embargo, esta estrategia dio una serie de problemas, por una parte **éticos**, para poder disponer de precursores a partir de células procedentes de fetos humanos. Por otro lado, en el caso de los adultos, la **disponibilidad limitada** de cerebros humanos, pues no es fácil disponer de estos precursores tampoco en adultos. Por otro lado, la **capacidad de migración** de estos precursores está limitada al punto de trasplante, a la zona de aplicación o a las zonas colindantes al trasplante. Además, se utilizan células de una **fente heteróloga**, esto quiere decir que las muestras proceden de pacientes distintos. Así pues, se pueden dar casos de rechazo futuro y no hay que olvidar que estamos transplantado oligodendrocitos y que pueden ser atacados en futuros brotes de la enfermedad por el sistema inmune.

Una célula alternativa a los precursores oligodendrocíticos es la célula de Swan, que es la responsable de la mielinización en el sistema nervioso periférico y puede obtenerse fácilmente, a partir de nervios periféricos que no implicarían pérdidas funcionales de importancia. Se pueden expandir con facilidad en cultivo, congelarse y autotransplantarse con facilidad. Se ha visto que estas células son capaces de remielinizar axones del sistema nervioso central, a pesar de venir del sistema nervioso periférico, pero única y exclusivamente en las áreas circundantes al trasplante y en modelos de animales de lesión focal. Es importante destacar que, como estas células provienen del sistema nervioso periférico, su patrón de mielinización es también periférico. Como la respuesta inmune que se desencadena en esta enfermedad va contra los oligodendrocitos, en otro nuevo brote estas células de Swan podrían ser resistentes a futuros ataques. La validación siempre se hace a partir de células procedentes de diferentes especies y capaces de remielinizar axones del sistema nervioso central. Esto condujo a la realización del primer ensayo clínico en julio de 2001, - de trasplantes celulares para tratamiento de la E.M. -, de células autólogas intracraneales en un único foco desmielinizante, para pacientes que presentaban cualquiera de los tres tipos de E.M. Así, a los 5 meses, se realizaron biopsias para tratar de averiguar cuál había sido su efecto en las células trasplantadas, llevándose la sorpresa de que no se encontró ninguna de las células trasplantadas. Esto concluyó con la interrupción de todo el ensayo a principios del año pasado.

Más recientemente, puesto que hay más tipos celulares y la experimentación continúa, se ha usado la célula glial envolvente que se conoce desde hace un tiempo y que se puede

obtener de un modo autólogo a partir de biopsias del bulbo olfatorio, lo cual implicaría una pequeña afectación del sentido del olfato del paciente, o se pueden obtener heterólogas (de otras personas) a partir de cadáveres que hayan fallecido en 24 h. Estas células, al igual que las células de Swan, pueden expandirse en un cultivo pero de modo más limitado, pueden congelarse y se pueden cultivar. Una de las ventajas de estas células es que presentan un fenotipo intermedio entre el astrocito y la célula de Swan, lo que les da ciertas ventajas, ya que al ser un fenotipo tipo astrocito, le da una mayor capacidad de integración en el sistema nervioso central que las células de Swan, que son del sistema periférico y podrían ser repelidas fuera del sistema nervioso central. Por otro lado, su patrón de remielinización es periférico, con lo cual sería resistente a futuros ataques o brotes. Se ha validado el sistema en células de cerdos y ratas, diferentes modelos de animales de desmielinización focal. Sin embargo, al igual que las células de Swan, tienen una capacidad muy baja de migración *in vivo* y por lo tanto sólo serían efectivas en el área circundante a la zona del trasplante. Un punto a su favor es que se han hecho estudios en humanos que han sufrido lesiones traumáticas y se ha visto que, aparentemente, no presentan ningún tipo de efectos secundarios y que, al parecer, sí promueve la regeneración axonal y la recuperación funcional. Pero todos estos estudios están todavía en fase de experimentación. Por lo tanto, en el ámbito de las células mielinizantes, las conclusiones podrían ser que sí que son capaces de remielinizar axones *in vitro* e *in vivo*, pero sólo en modelos de animales de desmielinización focal o genéticos **sin presencia de reacción inflamatoria** asociada. Esto es importante, pues en la E.M. es la respuesta inmunológica la que provoca la lesión y existe así un componente inflamatorio. Estas células son de baja disponibilidad, ya sea por motivos **éticos** de obtención del tejido o por la **capacidad de proliferación** de estas células en cultivo y además *in vivo*, tienen una capacidad muy baja de migración, lo que implica tener que hacer muchas intervenciones quirúrgicas en muchos puntos del sistema nervioso, tratando de buscar los diferentes focos desmielinizantes. La conclusión final sería que estas células, según parece, serían poco idóneas para el tratamiento de una enfermedad multifocal y crónica como es la E.M.

Así pues, llegamos a las células de moda que, como ya sabéis, son las células madre, que se pueden obtener de múltiples tejidos. Cada día aparece una nueva célula madre, pero en términos generales es posible obtener células madre que se hallen en diferentes estados de diferenciación, según la proximidad a las células maduras. Las células madre embrionarias, las más desdiferenciadas - que son totipotenciales -, podrían dar lugar a cualquier tipo de célula del cuerpo humano. Unas células atractivas para estos trasplantes, además de las hematopoyéticas, son las células madre neurales de adulto. Estas células madre están restringidas a dar única y exclusivamente los tipos celulares del sistema nervioso y tienen distintos niveles de desdiferenciación. Se pueden encontrar precursores de neuronas, precursores gliales que podrían dar un precursor exclusivo de astrocito o un precursor exclusivo de oligodendrocito. Cualquiera de estas células es una célula candidata a ser utilizada en E.M., para tratar de conseguir oligodendrocitos capaces de remielinizar axones desnudos.

¿Cuáles son sus ventajas? Permiten obtener un número ilimitado de células, tienen una elevada supervivencia en la migración *in vivo*, tienen tropismo por las áreas en degeneración, permiten el acceso a múltiples áreas del sistema nervioso central al mismo tiempo y permiten la manipulación génica para incrementar sus propiedades terapéuticas. Sin embargo, hay muchas cuestiones abiertas aún y son cuestiones muy amplias, como cuál es la fuente ideal y cuál es el tipo de célula madre a transplantar. No se conoce aún la mejor ruta de administración de estas células y si estas células una vez transplantadas se diferencian en una célula correcta, la deseada, que en nuestro caso sería un oligodendrocito, en cantidad suficiente, y si permanecen durante largo tiempo en el tejido diana, así como si estas células son funcionales o no. Pues la mayoría de los estudios

que se realizan están basados en marcadores histológicos, y esto no quiere decir que esta célula sea realmente funcional.

Entonces la primera decisión a tomar sería quizás, según lo planteado, utilizar una de estas opciones: 1) Célula madre embrionaria o 2) Célula madre neural. La **célula madre embrionaria** es una célula que permite una expansión ilimitada, todas o prácticamente todas las células embrionarias son células madre, tienen una gran capacidad diferenciadora, es decir, se pueden desdiferenciar en cualquier tipo de célula del organismo, presentan un fenotipo estable en cultivo, lo que quiere decir que no hay problemas de mantenerlas en cultivo sin límite. El problema es que estas células son tumorígenas (que pueden generar tumores) cuando están en un estado desdiferenciado, lo que significa que si una sola célula de las transplantadas se queda desdiferenciada puede acabar generando un tumor. No es posible en la actualidad el trasplante de células autólogas (células obtenidas del mismo paciente) y, como se puede desdiferenciar en cualquier célula del cuerpo humano, la posibilidad de error de que se desdiferencie en otra célula que no sea el oligodendrocito es mucho mayor.

La **célula madre neural** en principio tiene una expansión mucho más limitada que las células madre embrionarias. Es una población rara en el adulto, pero cada día se están desarrollando protocolos y procedimientos nuevos para purificar y aislar estas células de una manera más eficaz. Su desdiferenciación es mucho más restringida, sólo pueden diferenciarse en el tipo de células del sistema nervioso. Si estas células se cultivan durante largo tiempo pierden su fenotipo, es decir, estamos perdiendo esa especificidad que podríamos obtener después de la obtención del tejido. La ventaja que tienen, sobre todo con respecto a las células madre embrionarias, es que no son tumorígenas. Sí que permiten su obtención a partir del propio paciente y pueden responder mejor a las señales gliales del tejido para acabar diferenciándose en la célula correcta.

Los **métodos de trasplante** son variados y pueden ser: 1) En la misma lesión, 2) En el ventrículo, 3) Por vía intravenosa. Con las **células madre embrionarias**, los métodos utilizados son: sobretodo en el tejido, en la misma zona de lesión y, únicamente con las humanas, se ha hecho un trasplante intraventricular con el objetivo de que las células tengan mayor capacidad de acceder a todo el sistema nervioso. Los resultados varían según el tipo de cepa y de modelo de ratón utilizado. Así alguno de estos experimentos ha permitido una remielinización abundante, en algunos se ha podido observar la diferenciación en los tres tipos celulares; por lo tanto en alguno de ellos han correspondido a oligodendrocitos. Es importante que en la mayoría de ellos no se haya manifestado presencia de tumores, que estas células son capaces de migrar extensamente a través del sistema nervioso central y que, en cultivo, si se tratan correctamente, son capaces de dar los tres tipos de células neurales - las neuronas, los oligodendrocitos o los astrocitos - que, transplantados *in vivo*, en la médula espinal para un ratón deficiente para la mielinización, se diferencian en oligodendrocitos y mielinizan axones, y lo mismo tras su trasplante en una médula contusionada de rata. La realidad es que estamos lejos de poder asegurar una diferenciación masiva de las células madre embrionarias a oligodendrocitos, pues su número sigue siendo muy escaso en la experimentación *in vivo*, demostrando que hay que crear protocolos estrictos y más eficientes.

Con las **células madre neurales**, del mismo modo, se han obtenido células de diferentes especies, diferentes estados de 16 semanas embrionarios, humanos, fetales, post-natales, etc. Todo esto sólo contribuye a una mayor dispersión de las variables, lo que hace que las conclusiones que se puedan obtener no sean comparables entre los diferentes estudios. En estas células se ha buscado que el trasplante sea intraventricular, para tratar de llegar a todas las áreas del sistema nervioso. Resumiendo

los resultados, estas células permanecen a largo plazo en el sistema nervioso, se diferencian algunas en oligodendrocitos permitiendo así la remielinización extensa en algunos casos, incluso permitiendo una mejora de la conducción axonal. Estas células muestran un tropismo claro hacia las áreas inflamadas de sustancia blanca, se diferencian en gliales, reducen la inflamación y permiten una mejora de los síntomas clínicos.

El trabajo estrella, sin embargo, se publicó el año pasado por el grupo De Martino, el cual obtuvo progenitores de la zona subventricular, aunque es posible obtener estos precursores del bulbo olfativo del adulto y tendría unas características muy similares a estos precursores post-natales de la zona ventricular, con un tipo de ratón deficiente para la mielinización. El objetivo era comparar el método de inyección, ya sea intraventricular o intravenosa. Estos estudios permitieron demostrar que, independientemente del tipo de inyección, estas células tenían una localización selectiva por las áreas inflamadas del sistema nervioso central, permitían una remielinización extensa, se diferenciaban preferencialmente en oligodendrocitos y neuronas, que es lo deseable. Además permitía el rescate de precursores oligodendrogiales endógenos que contribuían a mejorar los efectos beneficiosos de la terapia. Esto llevó a una mejora clínica clara así como una mejora de la velocidad de comunicación axonal, es decir, había una remielinización eficiente.

Las células troncales de la médula ósea. Actualmente hay una cierta controversia sobre cuál es exactamente su capacidad, pero tienen una serie de características que las hacen atractivas: son extremadamente sencillas de obtener sin riesgo para el donante, se pueden obtener de pacientes de forma autóloga o heteróloga, y en el caso de las heterólogas tienen la ventaja de que, una vez expandidas en cultivo, dejan de expresar el Complejo de Histocompatibilidad Mayor de Tipo II, lo que las hace especialmente atractivas para el trasplante entre diferentes pacientes, reduciendo la posibilidad de rechazo. El hecho de que también sean muy fáciles de expandir permite jugar a modificar genéticamente estas células en cultivo, de una manera eficiente. Se han hecho unos cuantos estudios, dos en particular, que han obtenido células de rata adulta que se han transplantado en un modelo de desmielinización focal con rotura de barrera hematoencefálica y se ha comparado la inyección intravenosa con la focal con el trasplante en la misma zona de lesión. En ambos casos han conseguido una remielinización extensa y mejora de velocidad de conducción nerviosa. Pero hay que volver a decir que estos modelos experimentales no son comparables con los modelos de E.M., simplemente podemos decir que son capaces de diferenciarse en oligodendrocitos y remielinizar axones. Por tanto, y como conclusión muy general, decir que estas células son una alternativa prometedora para el tratamiento de la E.M., pero que, antes de llegar al nivel humano, hay que poder saltar unas cuantas barreras importantes como las citadas anteriormente: la ausencia a largo plazo de generación de tumores; que estas células sean funcionales y que permanezcan durante un largo plazo en la zona, una vez transplantadas en el tejido diana; y, a medida que vayamos conociendo más las bases moleculares y celulares de la diferenciación del oligodendrocito, tratar de modificarlas para incrementar su eficiencia y, por tanto, la eficacia de las estrategias en el futuro.

La ingeniería celular nos permite modificar las células para tratar de incrementar sus posibilidades, como:

- Tratar que estas células expresen factores interesantes o que permitan mejorar cualquiera de los parámetros necesarios para tratar de recuperar funcionalmente a los pacientes, como la regeneración axonal, reclutamiento de precursores o de diferenciación en oligodendrocitos. Estos sistemas permiten una expresión regulada exógenamente, de factores tróficos o de transcripción, que favorecerían cualquiera de estas acciones.

- La expresión de genes suicida, que actualmente se usa en el cáncer, para eliminar las células transplantadas, en el caso de que hayan generado un tumor después de un cierto tiempo desde el trasplante. Simplemente con la inyección de un fármaco podríamos eliminarlas.
- La expresión de estado celular nos permitiría realmente tener una célula que exprese algo únicamente si se diferencia en un tipo celular o en alguna de las etapas de diferenciación de esa célula o bien en la expresión de proteínas *reporters*.
- Actualmente se están desarrollando sistemas de visualización o técnicas de imagen no invasivas, que permitirían seguir y visualizar esas células una vez transplantadas en el paciente.

Un ejemplo muy rápido de lo que se podría hacer: los factores tróficos tienen una serie de actividades según los diferentes estados de maduración del oligodendrocito o sobre cada uno de los diferentes efectos que uno esperaría. Serían: proliferación, migración, diferenciación o supervivencia. Por ejemplo, la Neurotrofina III o NT3 tendría un efecto en proliferación de los progenitores y de supervivencia en cualquiera de los estados de diferenciación del oligodendrocito. Un estudio muy reciente, publicado por un grupo español, ha hecho un trabajo de cultivo *in vitro*, donde se ha conseguido que precursores de oligodendrocito sobreexpresen la NT3. Han observado que estas células tienen una mayor capacidad de proliferación que las células no transfectadas, que también tienen una mayor capacidad de supervivencia, en ausencia de factores tróficos, que cuando se ponen en contacto con neuronas empiezan a expresar de una manera mucho más intensa las proteínas de la mielina, es decir, estaríamos favoreciendo su proceso de diferenciación hacia oligodendrocitos y no es un proceso puntual, sino que se mantiene en el tiempo.

Alfred Torres Altarriba
Biólogo y Bioquímico

Revisión: Lluís Compte