

UTILIZACIÓN POTENCIAL DE CÉLULAS MADRE EN ENFERMEDADES DEGENERATIVAS RETINIANAS

STEM CELL POTENTIAL USES IN RETINAL DYSTROPHIES

PINILLA I¹, MARTÍN NIETO J², CUENCA N²

Desde hace unos 25 años se conoce el modo de obtener y mantener en cultivo las células madre de embriones de ratones (1). A finales del año 1998, y después de intensos trabajos de experimentación, un grupo de investigadores de la Universidad de Wisconsin (EEUU) consiguió el primer cultivo de células madre embrionarias humanas (2). A partir de ese momento, las células madre han sido presentadas como la gran esperanza terapéutica del nuevo siglo.

Las células madre embrionarias humanas son inmortales y tienen un potencial casi ilimitado de desarrollo. Tras mantenerse durante meses en cultivo, estas células mantienen la capacidad de diferenciarse en cualquier tipo celular. Esta capacidad proliferativa y de diferenciación promete la posibilidad de suministrar tipos celulares específicos para investigación básica o trasplante terapéutico, este último aplicado a diversos tipos de patologías como las enfermedades cardíacas, la leucemia, la diabetes, el Parkinson o las enfermedades degenerativas retinianas.

Las principales aplicaciones de la investigación de las células madre son: la identificación de los mecanismos de actuación de diferentes fármacos y evaluación de su potencial terapéutico; la comprensión, prevención y tratamiento de enfermedades congénitas; el estudio de la diferenciación celular a nivel de investigación básica y la obtención de tejidos y células para el trasplante. Una vez conseguida la diferenciación de las células madre en un tipo específico de célula precursora o madura, ésta podría ser empleada en la terapia de determinadas enfermedades humanas causadas por la muerte o disfunción de un tipo celular concreto (neuronas

dopaminérgicas en el Parkinson, células productoras de insulina en la diabetes, fotorreceptores en la retinosis pigmentaria o células de epitelio pigmentario retiniano (EPR) en la DMAE.

Las líneas de células madre embrionarias humanas no son la única fuente posible de células con fines terapéuticos. Por ejemplo, a nivel de retina pueden obtenerse precursores neuronales a partir de ojos de fetos de embarazos no llegados a término, de células hematopoyéticas y del cordón umbilical. También se ha descrito la posibilidad de que existan células multipotenciales retinianas a nivel de la pars plana del cuerpo ciliar en humanos adultos (3), de modo similar a otros vertebrados como anfibios o peces. La utilización de células embrionarias y fetales humanas en terapia celular ha suscitado repercusiones ético-sociales, además de las dificultades técnicas que supone conseguir su integración efectiva en el tejido receptor a nivel morfológico y funcional.

Existen todavía numerosas incógnitas por resolver sobre la diferenciación dirigida de las células madre hacia un tipo celular determinado. Se sabe que las células madre y progenitoras reciben instrucciones de determinados genes reguladores y también información de su entorno. El conjunto de estas señales es lo que dicta el destino de dichas células y determina qué tipo de tejido van a originar. Las células madre embrionarias pueden formar cuerpos embrioides en cultivo y pueden ser dirigidas a una diferenciación neural mediante la adición al medio de ácido retinoico o de FGF2 tras una fase de proliferación en presencia de distintos factores. La posterior diferenciación hacia neuronas retinianas puede conseguirse mediante el cocultivo con

¹ Servicio de Oftalmología. Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud.
E-mail: isabel.pinilla@telefonica.net

² Departamento de Fisiología Genética y Microbiología. Facultad de Ciencias. Universidad de Alicante.

células retinianas o la sobreexpresión de algún gen regulador (como *Crx*).

Las células madre en diferenciación hacia diversos tipos neuronales o células de EPR han sido utilizadas en terapias celulares en distintos modelos animales de retinosis pigmentaria, consiguiéndose en general una mejoría de la respuesta funcional y una conservación anatómica (4). Recientemente se ha observado el establecimiento de conexiones sinápticas correctas tras el trasplante de células postnatales precursoras de bastón en ratones ciegos (5).

Aunque existen aún numerosos problemas relativos a su utilización efectiva en pacientes, incluidas las barreras ético-legales, la terapia sustitutiva con células madre se presenta como un futuro prometededor en el tratamiento de un gran número de enfermedades neurodegenerativas de la retina.

BIBLIOGRAFÍA

1. Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature* 1981; 292: 154-156.
2. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998; 282: 1145-1147.
3. Coles BL, Angenieux B, Inoue T, Del Rio-Tsonis K, Spence JR, McInnes RR, et al. Facile isolation and the characterization of human retinal stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 15772-15777.
4. Lund RD, Wang S, Klimanskaya I, Holmes T, Ramos-Kelsey R, Lu B, et al. Human embryonic stem cell-derived cells rescue visual function in dystrophic RCS rats. *Cloning Stem Cells* 2006; 8: 189-199.
5. MacLaren RE, Pearson RA, MacNeil A, Douglas RH, Salt TE, Akimoto M, et al. Retinal repair by transplantation of photoreceptor precursors. *Nature* 2006; 444: 203-207.

STEM CELL POTENTIAL USES IN RETINAL DYSTROPHIES

UTILIZACIÓN POTENCIAL DE CÉLULAS MADRE EN ENFERMEDADES DEGENERATIVAS RETINIANAS

PINILLA I¹, MARTÍN NIETO J², CUENCA N²

The way to obtain and maintain a culture of mice embryo stem cells has been known for about 25 years (1). In late 1998, after intense experimentation work, a group of Wisconsin University researchers obtained the first culture of human embryo stem cells (2). As of that time, stem cells have been presented as the great therapeutic hope of the new century. The human embryo stem cells are immortal and have almost unlimited development potential. After remaining months in a culture, said cells maintain the ability to differentiate into any type of cell. This proliferation and differentiation capacity carries the promise of supplying specific cell types for basic research or therapeutic transplant for application to various types of pathologies such as heart disorders, leukemia, diabetes, Parkinson's or retinal degenerative diseases.

The main applications in stem cell research are: the identification of action mechanisms of various drugs and the assessment of their therapeutic potential, the understanding, prevention and treatment of congenital diseases, the study of cell differentiation at the basic research level and the obtainment of tissues and cells for transplants. After achieving the differentiation of stem cells in a specific type of precursor or mature cell, it could be utilized for some human diseases caused by the death or dysfunction of a specific cell type (dopaminergic neurons in Parkinson's, insulin-producing cells in diabetes, photoreceptors in pigmentary retinosis or retinal pigmentary epithelium) in ARMD.

The lines of human embryo stem cells are not the only source of cells for therapeutic use. For instance, neuronal precursors for the retina can be obtained from the eyes of fetus which did not complete

their development, from hematopoietic cells and the umbilical cord. The literature has also described the possibility of multipotential retinal cells in the pars plana of the ciliar body in human adults (3), as is the case in other vertebrate species such as amphibians or fish.

The use of human embryo and fetal cells in cell therapy has given rise to ethical and social issues, in addition to the technical difficulties involves in obtaining the effective integration of said cells in the recipient tissue at the morphological and functional level.

Many questions remain to be answered about controlled differentiation of stem cells to form a given cell type. It is known that stem and progenitor cells receive instructions from specific regulatory genes as well as obtaining information from their environment. These signals determine the destiny of said cells and the type of tissue they will originate. Embryo stem cells can form embryoid bodies in culture and can be directed towards neural differentiation by adding retinoic acid or FGF2 to the culture medium after a proliferation phase in the presence of various factors. The subsequent differentiation into retinal neurons can be achieved by a joint culture with retinal cells or overexposure of some regulatory gene (such as Crx).

Stem cells which differentiate into various neuronal types or retinal pigmentary epithelium have been utilized in cell therapy on various animal models of pigmentary retinosis, generally obtaining an improvement in functional response and anatomic preservation (4). Recently, researchers have observed the establishment of correct synaptic connections after transplanting rod-precursor postnatal cells in blind

¹ Ophthalmology Service. Miguel Servet University Hospital. Zaragoza. Aragon Institute of Health Sciences.
E-mail: isabel.pinilla@telefonica.net

² Genetic Physiology and Microbiology Dept. Sciences College. Alicante University.

mice (5). Even though numerous problems remain to be solved for effectively applying said cells in patients, including ethical and legal barriers, substitution therapy with stem cells holds a promising outlook for treating a large number of retinal neurodegenerative diseases.

REFERENCES

1. Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature* 1981; 292: 154-156.
2. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998; 282: 1145-1147.
3. Coles BL, Angenieux B, Inoue T, Del Rio-Tsonis K, Spence JR, McInnes RR, et al. Facile isolation and the characterization of human retinal stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 15772-15777.
4. Lund RD, Wang S, Klimanskaya I, Holmes T, Ramos-Kelsey R, Lu B, et al. Human embryonic stem cell-derived cells rescue visual function in dystrophic RCS rats. *Cloning Stem Cells* 2006; 8: 189-199.
5. MacLaren RE, Pearson RA, MacNeil A, Douglas RH, Salt TE, Akimoto M, et al. Retinal repair by transplantation of photoreceptor precursors. *Nature* 2006; 444: 203-207.