



# Biología de las células madre mesenquimales y sus aplicaciones en medicina regenerativa



**Hugo Gonzales Figueroa**

Universidad Ricardo Palma  
Laboratorio de Biotecnología Animal,  
Facultad de Ciencias Biológicas  
Universidad Ricardo Palma  
hgonzales@urp.edu.pe  
Lima-Perú

**Hugo Mauricio Gonzales Molfino**

Universidad Ricardo Palma  
Facultad de Ciencias Biológicas  
Universidad Ricardo Palma  
hugo.gonzales@urp.edu.pe  
Lima-Perú

## Resumen

Las células madre mesenquimales (CMM) se pueden definir como células estromales mesenquimales multipotentes que proliferan *in vitro* y tienen una morfología similar a fibroblastos, forman colonias *in vitro* y pueden diferenciarse en osteoblastos, condrocitos y adipocitos, así como mantienen interacciones con el sistema inmune. Estas CMM pueden ser aisladas y expandidas en medio de cultivo debido a sus propiedades de adhesión al plástico del matraz de cultivo, diferenciación y proliferación *in vitro*. Se ha logrado aislar y mantener en cultivo CMM de articulaciones del quirrido de caballo, cuya subpoblación STRO-1 positiva mantenida en condiciones de hipoxia se diferencia por el linaje de condrocitos identificados por la reacción azul Alcian.

Las propiedades inmunorreguladoras de las CMM causan la alteración de la proliferación y las funciones efectoras de la mayoría de las poblaciones celulares del sistema inmune, innato y adaptativo.

Las características de diferenciación multilineaje y de inmunoregulación de las CMM está permitiendo su uso en medicina regenerativa; se estima que en los próximos 5 años el potencial de esta nueva estrategia terapéutica podrá visualizarse porque habrá muchos productos y protocolos de tratamiento basados en la medicina regenerativa

**Palabras clave:** células madre mesenquimales (CMM), multipotencia, inmunoregulación, linajes celulares, cultivo *in vitro*, proliferación

## Abstract

*Mesenchymal stem cells (MSCs) can be defined as multipotent mesenchymal stromal cells that proliferate in vitro and have a fibroblast-like morphology and form in vitro colonies. They can distinguish into osteoblasts, chondrocytes, and adipocytes, as well as interact with the immune system. These MSCs can be isolated and expanded in culture medium due to their properties of adhesion to the culture flask plastic, differentiation and proliferation in vitro. Isolation and CMM culture of joints of the horse chiridium has been achieved, whose subpopulation STRO-1 positive maintained in hypoxia conditions differs from chondrocyte lineage identified by the Alcian blue reaction.*

*The immunoregulatory properties of MSCs cause alteration of the proliferation and effector functions of most cell populations of the immune, innate and adaptive system.*

*The multilinear differentiation and immunoregulation characteristics of MSCs are allowing their use in regenerative medicine. It is estimated that in the next 5 years the potential of this new therapeutic strategy can be visualized because there will be many products and treatment protocols based on regenerative medicine.*



**Keywords:** *mesenchymal stem cells (MSC), multipotency, immunoregulation, cell lineages, in vitro culture, proliferation.*

## Introducción

La diversidad de células que contiene un organismo multicelular surge de una única célula, el huevo o cigoto, el cual se denomina totipotente porque tiene la capacidad de originar poblaciones celulares que se agrupan en tres capas embrionarias: ectodermo, mesodermo y endodermo. Las células de estas capas embrionarias son pluripotentes porque a partir de ellas se diferencian las poblaciones específicas de cada órgano del cuerpo de un animal adulto, que en su totalidad alcanza a 200 tipos diferentes de células. Las células madre adultas, que son capaces de diferenciarse *in vivo* en células de los tejidos en las que residen, se pueden encontrar en todos los órganos (Kuijk et al., 2011, pp. 71-85), pero la mayor fuente de células madre adultas es la médula ósea (Camacho et al., 2017, pp. 254–271)

Cada tejido contiene un nicho de células madre, que es un microambiente donde interactúan entre ellas, para autorrenovarse y promover su diferenciación al tipo celular que pertenecen. La autorrenovación se mantiene a través de la división mitótica simétrica, mientras que la división mitótica asimétrica da lugar a células progenitoras en un estado más diferenciado que la célula madre inicial, proporcionando la capacidad de diferenciación de las células madre, lo que permite que los tejidos estén en constante renovación (Ranera, 2012, p. 210).

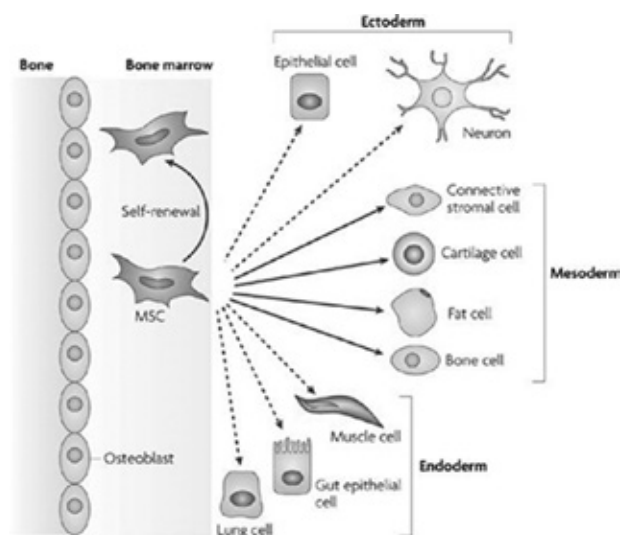
El conocimiento actual de la biología de las células madre, sobretodo de los mecanismos moleculares de autorrenovación y diferenciación celular, está permitiendo visualizar el gran potencial que tienen en el campo de la medicina regenerativa, es decir, en la curación de enfermedades sin tratamiento, en la regeneración de tejidos dañados por la vejez o por un traumatismo, en la creación de órganos listos para trasplante o en la solución de trastornos genéticos.

En esta revisión se presentan algunos resultados sobre el desarrollo de la biología de las células madre mesenquimales (CMM) y sobre las metodologías adecuadas para su expansión y cultivo *in vitro*.

## Características de las CMM

Las células madre mesenquimales (CMM) son un subconjunto heterogéneo de células madre estromales que pueden aislarse de muchos tejidos adultos (Uccelli et

al., 2008, pp. 726–736). Pueden diferenciarse en células del linaje mesodérmico, como adipocitos, osteocitos y condrocitos (Lo & Parham, 2009, pp. 204-213), así como en células de otros linajes embrionarios, como páncreas (Santana et al., 2006, pp. 866-883), tejido neurogénico (Paredes et al., 2011, pp. 589-599), entre otras (fig.1). Alternativamente se pueden definir como células estromales mesenquimales multipotentes que proliferan *in vitro*, se adhieren al plástico del matraz de cultivo y tienen una morfología similar a fibroblastos, forman colonias *in vitro* y pueden diferenciarse en osteoblastos, condrocitos y adipocitos (Horwitz et al., 2005, pp. 393-395); y otra de las propiedades que más llama la atención de los especialistas, actualmente, son las interacciones que tienen con el sistema inmune (Regmi et al., 2019, pp. 1-19).



**Figura 1.** Tomada de Uccelli et al., 2008 Nature Reviews Immunology 8: 726–736

## Aislamiento y cultivo *in vitro* de las CMM

Las células madre mesenquimales es uno de los tipos de células madres adultas más interesantes por su gran plasticidad y el gran potencial que albergan para aplicaciones en terapia celular (Beyer Nardi & da Silva Meirelles, 2006, pp. 249–282). Estas CMM pueden ser aisladas y expandidas en medio de cultivo debido a sus propiedades de adhesión al plástico del matraz de cultivo, diferenciación y proliferación *in vitro* (Pittenger et al., 1999, pp. 143-147). Las condiciones ideales de cultivo, serían mantener las CMM, de las diferentes fuentes que se obtienen (médula ósea, sangre de cordón umbilical, tejido adiposo, páncreas, hígado, músculo esquelético, dermis, membrana sinovial y pulpa dental), con características fenotípicas y funcionales similares a las que exhiben en sus

«Algunos resultados, como los de Song & Tuan (2004), evidencian que no existen diferencias morfológicas ni inmunofenotípicas entre las células obtenidas de médula ósea, de la sangre del cordón umbilical o del tejido adiposo, aunque las CMM de la sangre de cordón umbilical tienen un mayor potencial de expansión, su potencial de diferenciación es menor, al no hacerlo hacia el linaje adipogénico.»

nicho original, proliferación celular y capacidad de diferenciarse a varios linajes celulares (Bianco & Cossu, 1999, pp. 257-263). Sin embargo, hay que tener en cuenta tres criterios fundamentales para definir como CMM a una población celular que se aísla de un órgano específico: la adhesión al plástico del matraz de cultivo, la expresión del antígeno de superficie específico y su potencial de diferenciación. Es decir, primero deben adherirse al plástico en condiciones de cultivo estándar; segundo, más del 95 % de la población de CMM debe expresar los antígenos CD105, CD73 y CD90, y no debe expresar (< 2% positivo) CD45, CD34, CD14 o CD11b, CD79a o CD19 y HLA clase II. Por último, deben diferenciarse en condiciones estándar *in vitro* a osteoblastos, adipocitos y condroblastos (Dominici et al., 2006, pp. 315-317).

Los estudios sobre proliferación de esta heterogeneidad de poblaciones de CMM han demostrado que son capaces de mantenerse por largos periodos de tiempo en cultivo *in vitro* sin diferenciarse, en el caso de las CMM, de la médula ósea humana, estas pueden doblarse aproximadamente 38 veces en cultivo, lo que correspondería a unos 15 pases (Bruder et al., 1997, pp. 326-334).

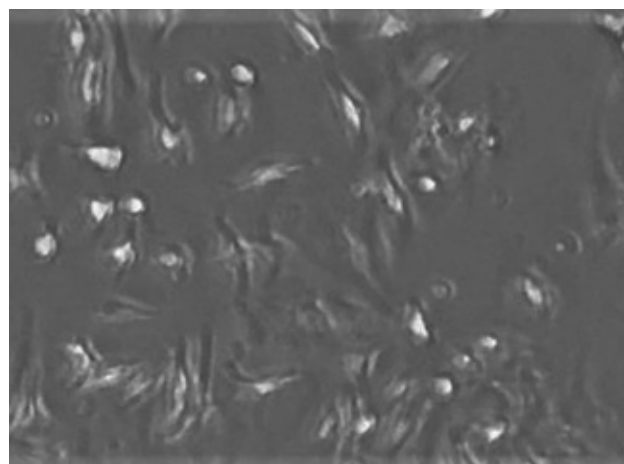
Algunos resultados, como los de Song & Tuan (2004), evidencian que no existen diferencias morfológicas ni inmunofenotípicas entre las células obtenidas de médula ósea, de la sangre del cordón umbilical o del tejido adiposo, aunque las CMM de la sangre de cordón umbilical tienen un mayor potencial de expansión; su

potencial de diferenciación es menor, al no hacerlo hacia el linaje adipogénico.

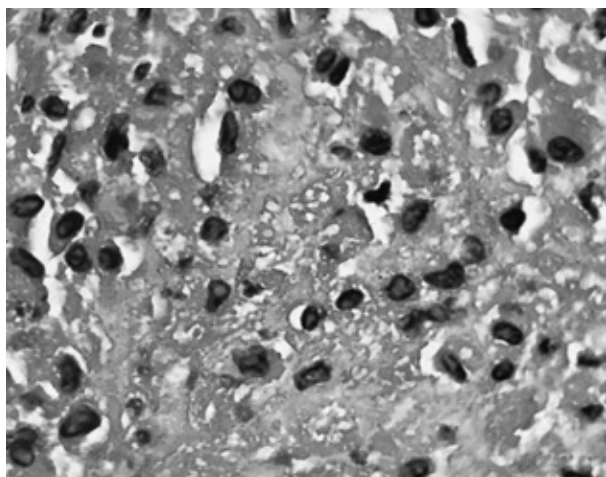
De la misma manera, es necesario establecer las condiciones de cultivo más adecuadas durante la expansión para potenciar las propiedades beneficiosas de estas células antes de su uso en terapia celular. El oxígeno es un parámetro determinante para procesos biológicos y moleculares (Godwin et al., 2012, pp. 25-32). Las CMM, cuando se encuentran en sus nichos en el interior de los organismos, están rodeadas por un microambiente de oxígeno considerablemente más bajo que el porcentaje de oxígeno atmosférico que se utiliza en las incubadoras habitualmente, por lo que al mantener a las células en un entorno diferente al fisiológico sus características podrían ser alteradas.

#### **Aislamiento y cultivo *in vitro* de CMM del fluido sinovial de articulaciones del quiridido de caballo**

En el laboratorio de biotecnología animal, estamos aislando y manteniendo en cultivo CMM obtenidas del líquido sinovial del quiridido de caballo, de la población heterogénea aislada; hemos identificado una subpoblación con las características básicas de las CMM, es decir, tienen forma fibroblastoide (fig. 2) se fijan al plástico y dan positivo al antígeno STRO-1, usado como indicador de una maduración completa de las CMM, las que cuando se mantienen en condiciones de hipoxia se diferencian a condrocitos, uno de los linajes celulares fenotípicos característicos (fig. 3), identificado por la reacción azul Alcian, lo que nos permite afirmar que STRO-1 también es un marcador molecular para reconocer CMM completamente maduras.



**Figura 2.** CMM de forma fibroblastoide aisladas de las articulaciones del quiridido de caballo y mantenidas en cultivo *in vitro*



**Figura 3.** Condrocitos diferenciados a partir de CMM aisladas de las articulaciones del quiridío de caballo Identificadas por la reacción azul Alcian

### Efectos inmunomoduladores de las CMM

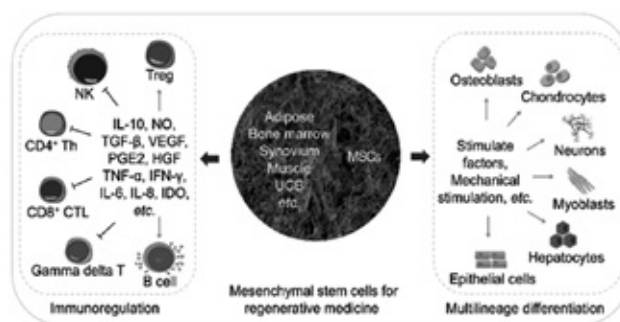
Las propiedades inmunorreguladoras de las CMM causan la alteración de la proliferación y las funciones efectoras de la mayoría de las poblaciones celulares del sistema inmune, innato y adaptativo (Uccelli et al., 2008, pp. 726-736). En la última década se han acumulado múltiples evidencias de la habilidad de las CMM de inhibir la respuesta inmune, lo que se inició con la observación de que las CMM derivadas de médula ósea suprimen la proliferación de los linfocitos T (Haddad & Saldanha-Araujo, 2014, p. 14). En este contexto, el interés científico se orientó hacia la caracterización de las propiedades inmunorreguladoras, que incluye la alteración de la proliferación y de las funciones efectoras de la mayoría de las poblaciones celulares del sistema inmune, innato y adaptativo (Miranda Rodríguez et al., 2015, pp. 20-31).

En estudios *in vitro* se ha demostrado que las CMM no expresan los antígenos del sistema principal de histocompatibilidad de clase II, lo que indica que constituyen un potencial terapéutico en la enfermedad injerto contra huésped porque pueden reducir o suprimir las reacciones inmunes inducidas (Yi & Song, 2012, pp. 213-221). Se ha sugerido que muchos de estos efectos son mediados predominantemente por factores paracrinos, pues las CMM secretan un número considerable de factores inmunomoduladores. También se ha planteado que la acción inmunosupresora pudiera estar vinculada con la participación de otros sistemas inmunorregulatorios (Socarrás-Ferrer et al., 2013, pp. 16-23). Las cualidades inmunomoduladoras de las CMM y su baja inmunogenicidad las convierten en una fuente atractiva de células madre a emplear en

la terapia celular, bien para la regeneración de tejidos o para establecer la homeostasis en sitios con estados inflamatorios crónicos patogénicos (Uchibori et al., 2009, pp. 373-381).

### Uso de las CMM en medicina regenerativa

Las propiedades de las células madre mesenquimales de diferenciación multilineal y de inmunorregulación (fig. 4) está permitiendo su uso en el tratamiento de enfermedad cardiovascular, de trastornos osteoarticulares, en enfermedades oculares, en hepatopatías, en lesiones de la piel, en medicina estética, entre otras. Sin embargo, se necesita un mayor conocimiento de sus propiedades biológicas que permitan avances acerca del potencial de esta nueva estrategia terapéutica; se estima que en los próximos 5 años habrá muchos productos y protocolos de tratamiento basados en la medicina regenerativa (Han et al., 2019, pp. 1-32).



**Figura 4.** Propiedades biológicas de las CMM que están permitiendo su uso en medicina regenerativa. Tomado de Han et al., Cells 2019, 8 (8)

### Bibliografía

- Beyer Nardi, N., & da Silva Meirelles, L. (2006). *Mesenchymal Stem Cells: Isolation, in vitro expansion and characterization*. In Handbook of experimental pharmacology 174. Springer-Verlag Berlin Heidelberg
- Bianco, P., Cossu, G. (1999). *Uno, nessuno e centomila: searching for the identity of mesodermal progenitors*. Exp Cell Res 251.
- Bruder, SP, Jaiswal, N., Haynesworth, SE. (1997). *Growth kinetic, self-renewal, and the osteogenic potential of purified human mesenchymal stem cells during extensive subcultivation and following cryopreservation*. J Cell Biochem 64 (2).
- Camacho Assef, JA., Camacho Escalante, L., Gómez Mantilla, N., Camacho Assef, V., López Borroto, K., García Garriga, H. (2017). *Células madre. Generalidades (Parte I)*. Medicego 23 (2).



- Dominici, M., Le Blanc, K., Mueller, I., Slaper-Cortenbach, I., Marini, FC., Krause, DS., Deans, RJ., Keating, A., Prockop, DJ., Horwitz, EM. (2006). *Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement.* Cytotherapy 8 (4).
- Godwin, EE., Young, NJ., Dudhia, J., Beamish, IC., Smith, RK. (2012). *Implantation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells demonstrates improved outcome in horses with overstrain injury of the superficial digital flexor tendon.* Equine Vet J 44(1).
- Haddad, R., Saldanha-Araujo, F. (2014). *Mechanisms of T-Cell immunosuppression by Mesenchymal Stromal Cells: what do we know so far?* Bio Med Research International Volume 2014, Article ID 216806, 14 pp
- Han, Y., Li, X., Zhang, Y., Han, Y., Chang, F., Ding, J. (2019). *Mesenchymal Stem Cells for Regenerative Medicine.* Cells 8 (8).
- Horwitz, EM., Le Blanc, K., Dominici, M., Mueller, I., Slaper-Cortenbach, I., Marini, FC., Deans, RJ., Krause, DS., Keating, A. (2005). *Clarification of the nomenclature for MSC: The International Society for Cellular Therapy position statement.* Cytotherapy. 7(5).
- Kuijk, EW., Chuva de Sousa Lopes, SM., Geijsen, N., Macklon, N., Roelen, BAJ. (2011). *The different shades of mammalian pluripotent stem cells.* Human Reproduction Update 17 (2).
- Lo, B., Parham, L. (2009) *Ethical issues in stem cell research.* Endocr Rev. 30 (3).
- Miranda Rodríguez, A., Galván Cabrera, JA., de León Delgado, J. (2015). *Propiedades inmunomoduladoras de las células madre mesenquimales.* Revista Cubana de Hematol, Inmunol y Hemoter. 31(1).
- Mohyeldin, A., Garzon-Muvdi, T., Quiñones-Hinojosa, A. (2010). *Oxygen in stem cell biology: a critical component of the stem cell niche.* Cell Stem Cell, 7(2): p. 150-61
- Reig, JA. (2011). *Phenotypic differences during the osteogenic differentiation of single-cell derived clones isolated from human lipoaspirates.* J Tissue Eng Regen Med. 5(8).
- Pittenger, MF., Mackay, AM., Bewick, SC., Jaiswal, RK., Douglas, R., Mosca, JD., Moorman, MA., Simonetti, DW., Craig, S., Marshak, D. R. (1999). *Multilineage potential of adult human mesenchymal cells.* Science 8(5411).
- Ranera, B. (2012). *Células madre mesenquimales equinas: Obtención y análisis de sus propiedades in vitro.* Tesis doctoral. Repositorio de la Universidad de Zaragoza-Zaguan.
- Regmi, S., Psathak, S., Oh Kim, J., Soon Yong, Ch., Jeong, JH. (2019). *Mesenchymal stem cell therapy for the treatment of inflammatory diseases: Challenges, opportunities, and future perspectives.* European J.Cell Biol. 98.
- Santana, A., Ensenat-Waser, R., Arribas, M I., Reig, J., Roche, E. (2006). *Insulin-producing cells derived from stem cells: recent progress and future directions.* J. Cell. Mol. Med.10.
- Socarrás-Ferrer, BB., Del Valle-Pérez, LO., De la Cuétara-Bernal, K., Marsán-Súarez, V., Sánchez Segura, M., Macías-Abraham, C. (2013). *Células madre mesenquimales: aspectos relevantes y aplicación clínica en la medicina regenerativa.* Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter 29 (1).
- Song, L., Tuan, RS. (2004). *Adult mesenchymal stem cells: characterization, differentiation, and application in cell and gene therapy.* J Cell Mol Med 8:301–316
- Uccelli, A., Moretta, L., Pistoia, V. (2008). *Mesenchymal stem cells in health and disease.* Nat Rev Immunol. 8(9).
- Uchibori, R., Okada, T., Ito, T., Urabe, M., Mizukami, H., Kume, A., Ozawa, K. (2009). *Retroviral vector-producing mesenchymal stem cells for targeted suicide cancer gene therapy.* J Gene Med. 11(5).
- Yi, T., Song, SU. (2012). *Immunomodulatory properties of mesenchymal stem cells and their therapeutic applications.* Arch Pharm Res. 35(2).

Recibido el 24 de noviembre de 2019

Aceptado el 30 de noviembre de 2019