

Tras la huella de las células madre

On the track of stem cells

Prof. DrC. Porfirio Hernández Ramírez^I; Dra. Elvira Dorticós Balea^I

^IInstituto de Hematología e Inmunología. Ciudad de La Habana, Cuba.

RESUMEN

En los últimos años ha surgido un gran interés en conocer la biodistribución de las células madre en el organismo después que son infundidas o inyectadas directamente en una parte del cuerpo. Para esto se han usado diferentes procedimientos, entre ellos, el marcaje de las células con diferentes fluorocromos, tales como la proteína con fluorescencia verde y la proteína con fluorescencia roja; o bien se les hace una transfección con plasmidos que codifican proteínas fluorescentes o se emplean sondas moleculares fluorescentes para la identificación de cromosomas. Recientemente se han introducido técnicas imagenológicas de avanzada no invasivas, entre las que tenemos la resonancia magnético nuclear, así como procedimientos basados en el marcaje con radionúclidos para la obtención de imágenes detectadas por tomografía por emisión de positrones (PET, del inglés *positron emission tomography*), o por tomografía computarizada por emisión de fotón único (SPECT, del inglés *single- photon emission computed tomography*).

Palabras clave: células madre, marcaje celular, biodistribución, fluorescencia, resonancia magnético nuclear, PET, SPECT.

ABSTRACT

In past years there was an increasing interest by to know about the biodistribution of stem cells in organism after its perfusion or direct injection in a part of the body. Thus, we used different procedures including the cell labeling with distinct fluorochromes, such as the green fluorescence protein and the red fluorescence protein or a plasmid transfection codifying the fluorescent proteins of fluorescent molecular stents to identify the chromosomes. Recently non-invasive leading

imaging techniques have been introduced including nuclear magnetic resonance. As well as procedures based on radionuclide labeling to obtain the positron emission tomography (PET) images or by photon-emission computed tomography (SPECT).

Key words: Stem cells, cellular labeling, biodistribution, fluorescence, nuclear magnetic resonance, PET, SPECT.

En los últimos años, el empleo de la medicina regenerativa ha adquirido gran relevancia y en particular, la terapia celular regenerativa, teniendo en cuenta las posibilidades que pueden ofrecer las células madre para el tratamiento de algunas enfermedades que hasta el momento resultan incurables o tienen una respuesta muy pobre a las terapéuticas actualmente en uso.

Ante el auge y perspectivas de las células madre, desde hace ya algún tiempo los investigadores han mostrado un gran interés en conocer no solamente sus mecanismos de acción,¹ sino también la biodistribución de las células madre en el organismo después que son infundidas o inyectadas directamente en una parte del cuerpo y la localización del sitio o de los sitios de su asentamiento. También se ha planteado la posibilidad de investigar el desplazamiento y el asentamiento de las células madre movilizadas endógenamente en determinadas situaciones.^{2,3}

La investigación del recorrido y la localización de las células madre se ha denominado por algunos autores "rastreo" o seguimiento del tráfico celular.⁴

Con estos fines se han utilizado varios procedimientos, entre ellos, el marcaje de las células con diferentes fluorocromos, tales como la proteína con fluorescencia verde y la proteína con fluorescencia roja; o bien se les hace una transfección con plásmidos que codifican proteínas fluorescentes o se emplean sondas moleculares fluorescentes para la identificación de cromosomas específicos. Entre otros biomarcadores usados con frecuencia está la β -galactosidasa, que facilita la detección de las células con esta actividad enzimática, el empleo de células portadoras de un determinado marcador molecular y también el uso de células madre de un donante de sexo diferente al del receptor y de esta forma, utilizar el cromosoma y como indicador.⁴⁻¹⁰

Para la identificación de los biomarcadores se pueden aplicar diferentes medios en dependencia del tipo de marcaje celular empleado. Cuando se requiere la evaluación de biomarcadores fluorescentes se utilizan habitualmente microscopios convencionales de fluorescencia y en ocasiones, la microscopía confocal.⁸ Por otra parte, para la identificación de actividad enzimática o de marcadores moleculares se indican métodos inmunoquímicos o la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), respectivamente.^{7,8,11,12}

El inconveniente fundamental de estos procedimientos es que la identificación de los biomarcadores debe hacerse en muestras de tejidos, que en los animales de experimentación se toman habitualmente después de su sacrificio y en los humanos mediante una biopsia del tejido objeto de estudio.

Más recientemente se han incorporado otros métodos con una concepción más dinámica y que permiten seguir el trayecto de las células madre después de su implantación. Estos métodos se basan en técnicas imagenológicas de avanzada, no invasivas, que han abierto nuevas posibilidades y perspectivas para el estudio de la biodistribución de las células madre. Uno de ellos consiste en el marcaje de las células con micropartículas de hierro muy magnetizadas y su seguimiento en el organismo mediante imágenes obtenidas por resonancia magnética nuclear (RMN). La precisión de esta técnica se ha observado en modelos animales, en los que se ha comprobado, por la tinción con azul de Prusia, la incorporación del hierro a las células marcadas, así como su viabilidad apreciada por la técnica del azul tripán. Después del sacrificio de los animales, la existencia de células marcadas fue confirmada mediante la coloración del hierro en los tejidos en que se detectaron previamente por la RMN.^{4,13,14}

Recientemente se han dado los primeros pasos para la aplicación clínica de este método de identificación *in vivo* de las células inyectadas y que han evidenciado la utilidad y la seguridad del proceder.^{15,16}

Otros métodos no invasivos dependen del marcaje celular con elementos radiactivos.^{4,17,18} En uno de ellos se usa el Flúor¹⁸ en forma de flúor-desoxi-glucosa y el trayecto se sigue con las imágenes aportadas por tomografía por emisión de positrones (PET, del inglés *positron emission tomography*).¹⁹ Aunque esta es una técnica que ya se aplica en la clínica, requiere de un equipo costoso y no disponible aún en la mayor parte de las instituciones médicas.

También recientemente se ha implementado otro método de medicina nuclear que ha resultado efectivo para el seguimiento del trayecto de las células madre después de su inyección. En esta técnica, el marcaje celular se hace con Tecnecio, usualmente en forma de HMPAO-Tec^{99m} (HMPAO, del inglés *hexametil pentanoic amine oxine*), que no altera la viabilidad celular.

Este método resulta más factible, pues el seguimiento de las células marcadas se hace mediante tomografía computadorizada por emisión de fotón único (SPECT, del inglés *single-photon emission computed tomography*) y las imágenes se adquieren con una cámara Gamma, equipo con mayor disponibilidad en los centros médicos, que permite adquirir imágenes locales de regiones de interés, regionales y de cuerpo completo. Esta técnica ha mostrado su efectividad tanto en modelos animales como en ensayos clínicos en humanos.^{20,21} Su empleo en pacientes con cardiopatías tratados con células madre marcadas, ha permitido localizar la biodistribución miocárdica de estas células.

Estas técnicas imagenológicas han abierto nuevas y prometedoras perspectivas para el seguimiento del trayecto y del asentamiento de las células madre aplicadas en los ensayos clínicos, que resultan cada día más frecuentes, en particular con la administración de células madre adultas autólogas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hernández-Ramírez P. Medicina regenerativa y células madre. Mecanismos de acción de las células madre adultas. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter 2009; 25: Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892009000100002&lng=es [visitado 2010 Ene 18].

2. Summer JP, Shapiro EM, Maric D, Conroy R, Koretsky AP. In vivo labeling of adult neural progenitors for MRI with micron sized particles of iron oxide: Quantification of labelled cell phenotype. *Neuroimage* 2009;44:671-8.
3. Moraes L, Batista CM, Méndez-Otero R. Migration is impaired but PSA-NCAM expression is not reduced in the rostral migratory stream of R6/2 mice. II Simposio Internacional Terapias Avanzadas & Células-Tronco. Rio de Janeiro, Brasil, 21 a 23 setembro, 2007. p. 53 (P107).
4. Grimm J, Kircher MF, Weissleder R. Cell tracking. Principles and applications. *Radiologe* 2007;47:25-33.
5. Sutton EJ, Henning TD, Pichler BJ, Bremer C, Daldrup-Link HE. Cell tracking with optical imaging. *Eur Radiol* 2008;18:2021-32.
6. Klessling F. Noninvasive cell tracking. *Handb Exp Pharmacol* 2008;(185 Pte 2):305-21.
7. Adel Moallen S, Johangin L. On the track of mesothelial progenitor cells from the peritoneal cavity transplanted to immunodeficient mice. *Pak J Biol Sci* 2007;10:2790-9.
8. Bragelton TR, Blau HM. Optimizing techniques for tracking transplanted stem cells in vivo. *Stem Cells* 2005;23:1251-65.
9. Körbling M, de Lima MJ, Thomas E, Khanna A, Najjar AM, et al. Fusion of circulating blood cells with solid organ tissue cells in clinical stem cell transplants: A potential therapeutic model? *Regen Med* 2008;3:157-64.
10. Körbling M, Estrov Z. Adult stem cells for tissue repair -a new therapeutic concept? *N Engl J Med* 2003;349:570-82.
11. Cheng K, Benten D, Bhargava K, Inada M, Joseph B, et al. Hepatic targeting and biodistribution of human fetal liver stem-progenitor cells and adult hepatocytes in mice. *Hepatology* 2009;50:1194-203.
12. Coura RS, Nardi NB. Biodistribución of murine mesenchymal stem cells. II Simposio Internacional Terapias Avanzadas & Células-Tronco. Rio de Janeiro, Brasil, 21 a 23 setembro, 2007. p. 34 (P060).
13. Amsalem Y, Marder Y, Feinberg MS, Landa N, Miller L, et al. Iron-oxide labeling and outcome of transplanted mesenchymal stem cells in the infacted myocardium. *Circulation* 2007;116(11 Suppl):138-45.
14. Syková E, Jendelová P, Herynek V. MR tracking of stem cells in living recipients. *Methods Mol Biol* 2009;549:197-215.
15. De Vries IJ, Lesterhuis WJ, Barentsz JO, Verdijk P, van Krieken JH, et al. Magnetic resonance tracking of dendritic cells in melanoma patients for monitoring of cellular therapy. *Nat Biotechnol* 2005;23:1407-13.
16. Bulte JW. In vivo MRI cell tracking: Clinical studies. *AJR Am J Roentgenol* 2009;193:314-25.

17. Terrovitis J, Kivork KF, Lautamaki R, Engles JM, Barth AS, et al. Ectopic expresión of the sodium-iodide symporter enables imaging of transplanted cardiac stem cells in vivo by single emisión computed tomography or positron emission tomography. *J Am Coll Cardiol* 2008;52:1652-60.
18. Nyolczas N, Charwat S, Posa A, Hemetsberger R, Pavo N, et al. Tracking the migration of cardially delivered therapeutic stem cells *in vivo*: State of the art. *Regen Med* 2009;4:407-22.
19. Doyle B, Kremp BJ, Chareonthaitawee P, Reed C, Schmeckpeper J, et al. Dymnamic tracking during intracoronary inyection of 18F-FDG-labeled progenitor cell therapy for acute myocardial infarction. *J Nucl Med* 2007;48:1708-14.
20. Assis ACM, Carbol JL, Cardoso VN, Ferreira RLB, Góes AM, et al. Time dependent migration of systemically delivered mesenchymal stem cells to the infacted heart. II Simposio Internacional Terapias Avançadas & Células-Tronco. Rio de Janeiro, Brasil, 21 a 23 setembro, 2007. p. 18 (P024).
21. Salis FV, Lago MR, Lins Filho MIM, Poloni AFC, Pereira SM, et al. Marçãcao de células mononucleares da medula ósea com HMPAO-99MTC, para implante no miocárdio dilatado de chagásicos. II Simposio Internacional Terapias Avançadas & Células-Tronco. Rio de Janeiro, Brasil, 21 a 23 setembro, 2007. p. 34 (P061).

Recibido: 17 de marzo de 2010.

Aprobado: 2 de abril de 2010.

Prof. DrC. *Porfirio Hernández Ramírez*. Instituto de Hematología e Inmunología. Apartado 8070, CP 10800. Ciudad de La Habana, Cuba. Tel (537) 643 8695, 643 8268, Fax (537) 644 2334. e-mail: ihidir@hemato.sld.cu Website: <http://www.sld.cu/sitios/ihj>