



MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT

El corazón humano es en construcción y funcionalidad una obra maestra de la naturaleza. Como centro del sistema circulatorio reacciona ante cualquier exigencia, proveniente incluso de los rincones más recónditos de nuestro cuerpo. Los vasos sanguíneos de mayor diámetro, las arterias y las venas, son simples vías de transporte, mientras que los capilares representan la verdadera vía de suministro. La longitud total estimada de los vasos sanguíneos es de 130.000 kilómetros. Junto con el corazón, constituyen el primer sistema orgánico funcional que se forma en

vecinas. Sin duda, las señales moleculares también juegan un papel determinante en el marco de la **regeneración de tejidos**.

CONGESTIÓN EN EL FLUJO SANGUÍNEO

En Alemania, las enfermedades cardiovasculares devenidas, por ejemplo, en infartos de miocardio, causan más de la mitad de todos los fallecimientos. Los infartos se deben a una escasa irrigación del músculo cardíaco o miocardio, provocada por un bloqueo o estrechamiento de las arterias coronarias. A raíz

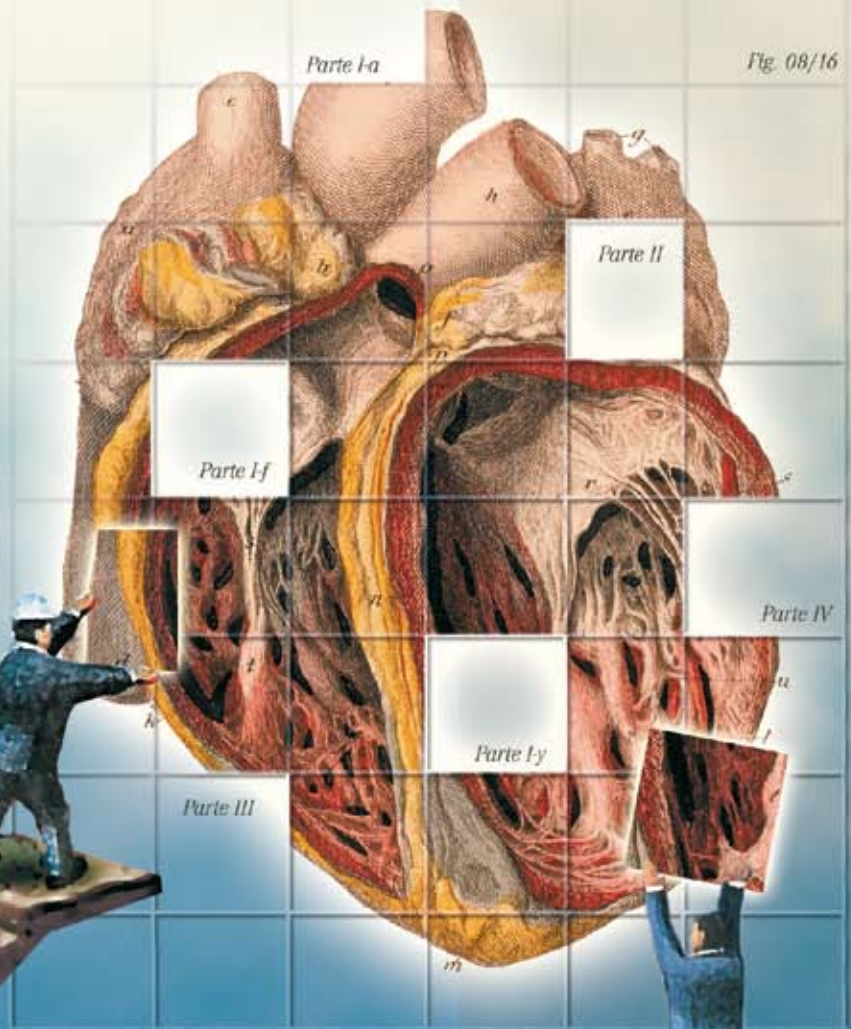


Órganos del laboratorio celular

Cómo la bioingeniería genera tejidos artificiales

el embrión. El pequeño corazón ya comienza a latir en la cuarta semana de embarazo, y lo hará unas 2.500 millones de veces durante un ciclo de vida normal.

Los principales componentes celulares son las células del miocardio (cardiomiocitos), responsables de la función de bombeo del corazón, las células endoteliales, que revisten el interior de ventrículos, aurículas y arterias coronarias, y las células del músculo liso, que regulan el diámetro de los vasos. Todas éstas surgen del mesodermo, la capa germinal media del embrión temprano. El proceso de diferenciación y especialización en un tipo de tejido específico es extremadamente complejo y todavía no se comprende en detalle. Lo controlan un sinnúmero de señales moleculares que al unirse a receptores (antenas en la superficie de las células diana) desencadenan una cascada de reacciones bioquímicas en el interior de la célula. Esto genera numerosos cambios ya sea en su metabolismo, su actividad locomotriz o en los puntos de contacto con células





▲ Los científicos estudian la formación de vasos colaterales en el modelo animal. Las imágenes tomadas con una técnica especial, muestran la irrigación sanguínea de las patas traseras de un ratón **antes** del cierre de una arteria central en la pierna izquierda (a) e inmediatamente después de inducir experimentalmente la oclusión o cierre de ésta (b). Debido a la formación de vasos colaterales, después de siete (c) o de 21 días (d) se incrementa notablemente el flujo de sangre en la pierna.

→ de la falta de nutrientes y oxígeno, el músculo cardíaco afectado muere transformando su estructura durante el proceso. Se forma la denominada cicatriz miocárdica, que ya no contribuye a la función de bombeo del corazón. El daño en el tejido es permanente, ya que la musculatura del corazón no se puede regenerar. Los científicos suponen que las células del miocardio terminan su ciclo de divisiones una vez que el corazón ha concluido su desarrollo y ha alcanzado su tamaño definitivo. Por ende, hace tiempo están buscando nuevos enfoques para un eficaz tratamiento de los infartos de miocardio.

En el Instituto Max Planck de Bad Nauheim, Wolfgang Schaper y sus colaboradores examinan, entre otras cosas, la regulación de la **regeneración de vasos sanguíneos**. En principio, el cuerpo podría evitar las consecuencias negativas de una oclusión vascular

formando circuitos de derivación, llamados vasos colaterales. Estos se forman por división celular y transformación del tejido alrededor de la oclusión a partir de la red de microarterias preexistentes. Así se generan arterias realmente funcionales que, en condiciones favorables, pueden sustituir completamente la arteria obstruida (Fig. B). Pero en realidad, el crecimiento de estos "bypass naturales" es en la mayoría de los casos demasiado lento para evitar que el corazón sufra daños. Sin embargo, los investigadores de Bad Nauheim pudieron demostrar que ciertos factores biológicos aceleran en gran medida el crecimiento vascular y facilitan el desarrollo de un vaso colateral efectivo que, en el caso ideal, compensa íntegramente el flujo sanguíneo (Fig. A). Como muestran recientes estudios elaborados por investigadores del instituto Max Planck de Colonia, esto no sólo se aplica al sistema cardíaco o a la enfermedad oclusiva arterial periférica (como por ejemplo la pierna de fumador), sino también al cerebro.

TAXI GENÉTICO AL INTERIOR DE LA CÉLULA

Los **factores de crecimiento** descritos se pueden inyectar directamente en el tejido con fines terapéuticos o ser producidos localmente, insertando el gen correspondiente en las células; a este procedimiento se lo llama **terapia génica**. Para ello, los científicos se valen de diferentes "vehículos de transporte": una posibilidad es incorporar el gen de interés en un **plásmido** bacteriano que, a su vez, se inyecta en el tejido afectado, por ejemplo, en el músculo cardíaco. Las células musculares, a diferencia de las neuronas, incorporan ADN plasmídico puro del medio. Es posible incrementar todavía más la velocidad de transferencia cuando se recubre el material genético por diminutos glóbulos de grasa llamados liposomas. Por su similar composición química, estos contenedores pueden fundirse fácilmente con la membrana

celular liberando su contenido en el interior de la célula. Si todo transcurre sin inconvenientes, la célula receptora transportará parte de este material genético al núcleo, donde el plásmido permanecerá fuera del cromosoma y será utilizado como patrón de síntesis de la proteína terapéutica, durante un período que generalmente dura entre una y dos semanas.

Los **virus** son vectores mucho más efectivos como medio de transporte, porque ya tienen mecanismos naturales para descargar su material genético en las células del hospedante. Mediante ingeniería genética, los científicos lograron desactivar el agente patógeno del virus y reconstruirlo de tal modo, que pueden introducir un gen particular dentro de las células diana sin generar los síntomas específicos de la enfermedad. En general, los retrovirus infectan sólo a células con capacidad de dividirse. Una excepción entre ellos son los lentivirus, a los que pertenece el virus del SIDA, que son capaces de infectar células que no se dividen. Incluso los denominados virus adeno-asociados se ofrecen como un vehículo de transporte. Dado que son mucho más pequeños, pueden infiltrar el material genético en las células muy eficazmente. El virus del herpes simple que causa las vesículas labiales es especialmente adecuado para transportar genes al interior de las células nerviosas. Todos estos virus se incorporan al genoma de la célula huésped, dando lugar a una expresión prolongada del gen de interés. Pero esta integración al genoma también conlleva un riesgo, porque el virus puede insertarse en un gen activo causando su destrucción o bien activarlo, si se tratara de un gen del cáncer (oncogén). Esto puede suceder en una de cada 10.000 células genéticamente modificadas. Aunque estas estimaciones deberán ser confirmadas por datos clínicos, es cierto que el riesgo aumenta proporcionalmente con el número de células alteradas.



▲ Después de la oclusión artificial de una arteria principal se forman numerosos vasos colaterales que restablecen el flujo sanguíneo.

MAESTROS DE LA REGENERACIÓN

Los humanos tienen una muy limitada capacidad de regeneración. Otros organismos, como las salamandras y las planarias, pueden regenerar extremidades o incluso nuevos individuos a partir de un fragmento. Para eso reviven una serie de mecanismos que son importantes en el desarrollo embrionario. Así, el 20% de las células de una planaria son células madre, que siguen siendo capaces de formar cualquier tipo de tejido. Cuando se daña a los tejidos, estas células madre se acumulan en la zona lesionada y forman una pequeña esfera de células indiferenciadas, a partir de la cual se regeneran los órganos y tejidos. Usando modernas técnicas de biología molecular, los científicos están tratando de identificar las señales que desempeñan un papel determinante en este proceso y que, potencialmente, podrían utilizarse para aumentar la capacidad de regeneración en seres humanos. Porque, aunque exista una brecha evolutiva de varios millones de años entre estos organismos y los humanos, se observan sorprendentes similitudes moleculares: así, el *coctel* molecular obtenido del muñón de una salamandra denominado "extracto regenerativo", es capaz de desdiferenciar las células del corazón de un mamífero (que se consideran incapaces de dividirse o diferenciarse) y lograr una nueva división celular.



En muchos estudios sobre la angiogénesis terapéutica, es decir, la formación de vasos sanguíneos, se utilizan ante todo **adenovirus**. Se los conoce como los agentes patógenos de las enfermedades respiratorias. Al igual que los plásmidos, permanecen fuera del cromosoma y durante un período de entre una y dos semanas logran la expresión del gen en las células huésped. Mientras tanto, son numerosos los estudios clínicos que demuestran fehacientemente la inocuidad del uso de adenovirus. Desde enero de 2004 se aprobó para su comercialización una terapia génica desarrollada por científicos chinos, que se basa en adenovirus. Apunta a la curación de una forma específica de tumores en cabeza y cuello. Sin embargo, los científicos de Bad Nauheim dudan de que la terapia génica para la formación de vasos sanguíneos tenga resultados positivos inmediatos. Años de investigación básica han demostrado que no uno, sino innumerables factores intervienen en su crecimiento. Sería aconsejable aplicar directamente una "fábrica de proteínas" integral, como lo son por ejemplo los **leucocitos**. Schaper y sus colaboradores demostraron que un tipo específico de glóbulos blancos, los **monocitos**, de hecho realmente estimulan el crecimiento de los vasos colaterales o arteriogénesis.

DOS EN UNO

Aún más interesante sería ampliar el potencial regenerativo del ser humano. Nuestro cuerpo logra soldar un hueso roto o renovar la piel después de una quemadura solar, pero carece de la capacidad de regenerar extremidades u órganos completos. Sin embargo, una serie de organismos multicelulares logran tan sorprendente regeneración. Ya en 1742, el naturalista suizo Abraham Trembley comprobó en sus experimentos con hidras de agua dulce, que los especímenes mutilados permanecían vivos e incluso se regeneraban en

animales completos. En 1768, el italiano Lazzaro Spallanzani describió por primera vez la regeneración de las extremidades completas en salamandras (**véase el recuadro superior**). Éstas, al igual que los peces cebra, incluso pueden regenerar partes del corazón.

Investigadores de las más diversas disciplinas científicas (desde la biomedicina, los biomateriales, la ingeniería y la biología celular, hasta las diferentes disciplinas quirúrgicas) cooperan juntos para activar la capacidad regenerativa de nuestro cuerpo implantando células vivas o reemplazando el tejido dañado por tejido constructivo. Una base fundamental para el éxito de esta tecnología llamada **tissue engineering** (en adelante ingeniería de tejidos), es el cultivo de células. El americano Ross G. Harrison logró cultivar células nerviosas in vitro por primera vez en 1907. En la década de 1960, los científicos fueron capaces de producir capas de células a partir de células individuales tomadas del cuerpo. En 1975, lograron reproducir células de la piel humana fuera del cuerpo y seis años más tarde se realizaron los primeros trasplantes de piel autólogos (cultivados a partir de células del mismo paciente) en pacientes con quemaduras graves. Mientras tanto, casi no

hay un tipo de célula que no se haya intentando reproducir in vitro.

CÉLULAS CON POTENCIAL

Estas células pueden ser inyectadas en órganos y tejidos enfermos, degenerados o parcialmente destruidos, reduciendo los defectos, mejorando el funcionamiento o, incluso, sanando completamente: un enfoque prometedor, incluso para la terapia cardíaca. Lamentablemente, es bastante difícil hacer crecer tejido cardíaco, ya que en general, las células adultas (diferenciadas) ya no se dividen. Una alternativa podría ser el uso de células madre. Las **células madre embrionarias** son pluripotentes, es decir, que tienen la capacidad de formar cualquier tejido, aunque ya no otro organismo completo. Se las obtiene del interior de la estructura embrionaria, el blastocito, y se las transfiere a placas de cultivo recubiertas con una capa de células de tejido conectivo y una solución especial de nutrientes. Allí se multiplican hasta llegar a un centenar de células, que a su vez se transfieren a nuevas placas de cultivo, de modo que a partir de unas pocas células madre embrionarias finalmente se obtienen varios millones: todas ellas capaces de diferenciarse en cualquier tipo de célula con el →

MARCO LEGAL

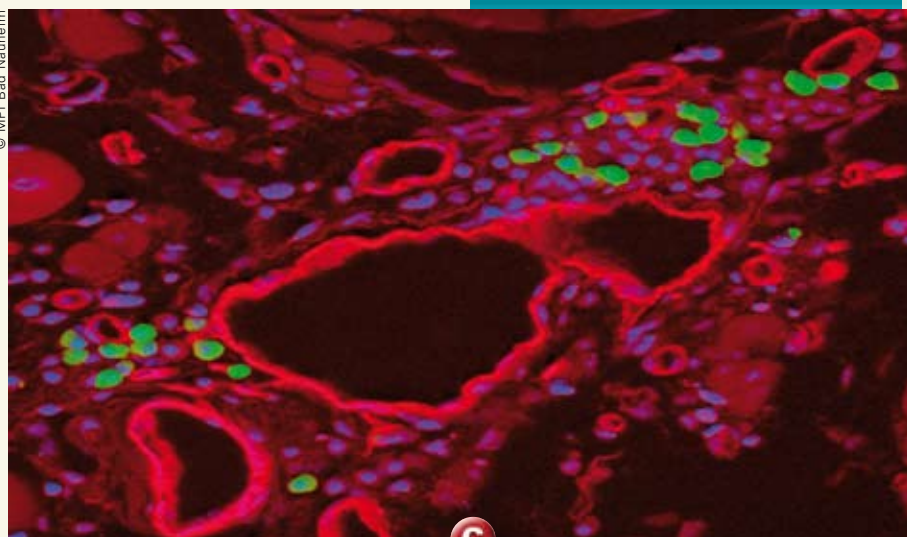
La "Ley para Garantizar la Protección de los Embriones en Relación con la Importación y el Uso de Células Madre Embrionarias Humanas" prohíbe la producción de células madre embrionarias en Alemania. A su vez permite la importación, bajo determinadas condiciones: las líneas celulares deben haber sido generadas antes de la fecha límite (ésta había sido postergada durante una reciente votación en el parlamento federal de Alemania al 1º de mayo de 2007) y sólo podrán utilizarse para investigaciones relevantes que no cuenten con otra alternativa para la experimentación; los donantes de óvulos y espermia no deben haber recibido beneficios económicos a cambio y, finalmente, todas las importaciones deben ser aprobadas por el Instituto Robert Koch.

→ estímulo adecuado. Neurofisiólogos de la Universidad de Colonia han logrado sustituir de manera selectiva en ratones, parte de una cicatriz miocárdica por células madre embrionarias. Demostraron que, efectivamente, las nuevas células se acoplaron funcionalmente a los tejidos musculares preexistentes y que incluso se tonificó el pequeño corazón de ratón. En contraste, investigaciones clínicas demuestran que si bien los implantes de mioblastos (células musculares aún no diferenciadas) mejoraron la función cardíaca, los pacientes sufrieron trastornos del ritmo cardíaco (arritmias). Al parecer, las células implantadas no fueron capaces de conectarse con las células vecinas para darle continuidad al impulso durante la transmisión de los latidos; algo esencial para lograr que el músculo del corazón se contraiga de manera coordinada.

RATONES QUE BRILLAN VERDE

Mientras la obtención de células madre embrionarias es éticamente controvertida (véase el recuadro de la página 3), los procesos para obtener **células madre adultas** no son cuestionados. Pero la pregunta acerca de si éstas últimas son realmente una alternativa, continúa sin respuesta; los datos experimentales son demasiado contradictorios. Hace no tantos años, algunos investigadores todavía afirmaban que las células de médula ósea podían diferenciarse en una variedad de tipos de células después del trasplante (véase Biomax, número 10). Mientras tanto, hay cada vez más dudas; según estudios recientes, las células madre adultas extraídas de la médula ósea y luego implantadas en el corazón, no se convierten en células musculares, sino únicamente en diversos tipos de células sanguíneas.

En el Instituto Max Planck de Bad Nauheim, los científicos han estudiado intensamente el papel que desempeñan las células madre de médula ósea en el crecimiento de los vasos sanguíneos. Con el fin de identificarlas en el tejido, los investigadores implantaron células madre adultas de médula ósea con 'luminiscencia verde' en los animales de laboratorio, y luego indujeron artificialmente la formación de vasos colaterales. Las células madre de médula ósea fueron tomadas de ratones transgénicos, a los que se les había incorporado el gen de una medusa que codifica una proteína verde fluorescente. La pregunta era si estas células madre se incorporarían a la pared de los vasos colaterales, para lo cual examinaron más de tres mil muestras de teji-



© MPI Bad Nauheim

C

Las células madre de médula ósea que brillan de color verde fluorescente, se reúnen en torno a una arteria colateral en crecimiento. No son incorporadas a la estructura del vaso.

do bajo el microscopio. Pero no encontraron ni una célula verde-luminosa en dichas paredes que pudiera haber derivado de las células madre que circulaban en sangre. En lugar de eso descubrieron que en el entorno inmediato de las paredes de los vasos colaterales había principalmente monocitos y linfocitos T, que por su resplandor verde evidenciaban su origen transgénico (Fig. C). Sin embargo, los expertos detectaron que los monocitos al menos estimulaban el crecimiento vascular.

REPUESTOS SALIDOS DEL BIORREACTOR

La ingeniería de tejidos abre oportunidades sin precedentes en la producción de vasos sanguíneos artificiales. De una pequeña biopsia de los vasos de un paciente se extraen las células adecuadas para luego disponerlas en medios de cultivo, donde se multiplican mediante la adición de factores de crecimiento. De una matriz biológica plana (sustrato de crecimiento) surge una malla tridimensional de tejido conectivo a partir de la cual los bioingenieros pueden elaborar un verdadero tubo. A continuación se siembran células de músculo liso en el exterior y células endoteliales en el interior. En un biorreactor especialmente desarrollado que proporciona los nutrientes y el oxígeno necesarios, las células comienzan a formar un tejido funcional. Para acostumbrar al tejido a las condiciones de estrés fisiológico que genera el flujo de la sangre, se lo expone a un flujo pulsante del medio de cultivo. Los nuevos vasos así construidos, resisten una presión hidrostática interna experimental de 1000 mm Hg, lo que equivale de 6 a 8 veces la presión arterial sistólica: un resultado esperanzador para cientos de miles de pacientes que necesitan un *bypass*.

Sin embargo, hacer crecer órganos completos tan complejos como un corazón, es un desafío mucho mayor. No obstante, la demanda clínica es enorme. Los pacientes que necesitan un trasplante de corazón a veces permanecen durante varios años a la espera de un donante. E incluso cuando hay un órgano disponible, deben sortearse varios obstáculos inmunológicos. Dado que el sistema inmunológico rechaza los órganos exógenos, es necesario suprimirlo de por vida mediante medicamentos, a veces a expensas de efectos secundarios que en parte son significativos. En general, un órgano trasplantado no se mantiene funcional por más de una década. Para que estos pacientes tengan nuevas perspectivas, aún deberán hacerse grandes esfuerzos en el campo de la ingeniería de tejidos.

PIE DE IMPRENTA

Sociedad Max-Planck, departamento de información y relaciones públicas, Hofgartenstraße 8, 80539 München / e-mail: presse@gv.mpg.de

Redacción: Dra. Christina Beck

Traducción: Astrid Wenzel

Diseño: www.haak-nakat.de

La Versión en español se hizo con el apoyo del DAAD y con fondos del Ministerio de Relaciones Exteriores de Alemania.

DAAD

Deutscher Akademischer Austausch Dienst
Servicio Alemán de Intercambio Académico

explora
Un Programa CONICYT

