

CÈL·LULES MARE I MALALTIES NEURODEGENERATIVES

Escrit per:

Carolina Parada i David Bueno

Departament de Genètica
Universitat de Barcelona

L'augment en l'esperança de vida va associat a un increment significatiu en la incidència de determinades malalties, entre les quals cal destacar les malalties neurodegeneratives per l'alt cost personal, social i econòmic que representen. Aquestes malalties, com les demències de tipus Alzheimer i els desordres del sistema motor com la malaltia de Parkinson, incapaciten progressivament les persones que les pateixen i són actualment irreversibles. La seva incidència, combinada amb el cost personal i social i la gran despesa econòmica que generen fa que siguin considerades a tot occident com un greu problema de salut pública. Per posar un exemple, als Estats Units s'ha calculat que cada pacient afectat de la malaltia de Parkinson gasta uns 2500 dòlars cada any només en medicaments, i que la despesa anual a nivell estatal que genera aquesta malaltia és d'aproximadament 5'6 bilions de dòlars, incloent les despeses de tenir cura dels pacients i la pèrdua dels ingressos que suposa pels familiars de les persones afectades. A més, es preveu que tots aquests costos incrementaran proporcionalment amb l'augment de la població major de 65 anys, que es calcula que l'any 2050 serà el doble de l'actual. Tota aquesta problemàtica ha fet que actualment aquestes dues malalties, que són considerades com a prototip de la gran família de les malalties neurodegeneratives, siguin estudiades per un gran nombre de grups de recerca des de totes les perspectives possibles, de la clínica a la molecular, la qual cosa està generant una enorme quantitat d'informació en relativament poc temps. Tota aquesta informació ha permès establir algunes relacions clares entre les alteracions motores i del comportament associades a aquestes malalties i determinats canvis neuropatològics macroscòpics, successos cel·lulars i complexes cascades gèniques, i també ha suggerit la possibilitat de tractar els pacients activant els mateixos sistemes genètics i cel·lulars que el cervell utilitza normalment o que esdevenen durant el desenvolupament embrionari.



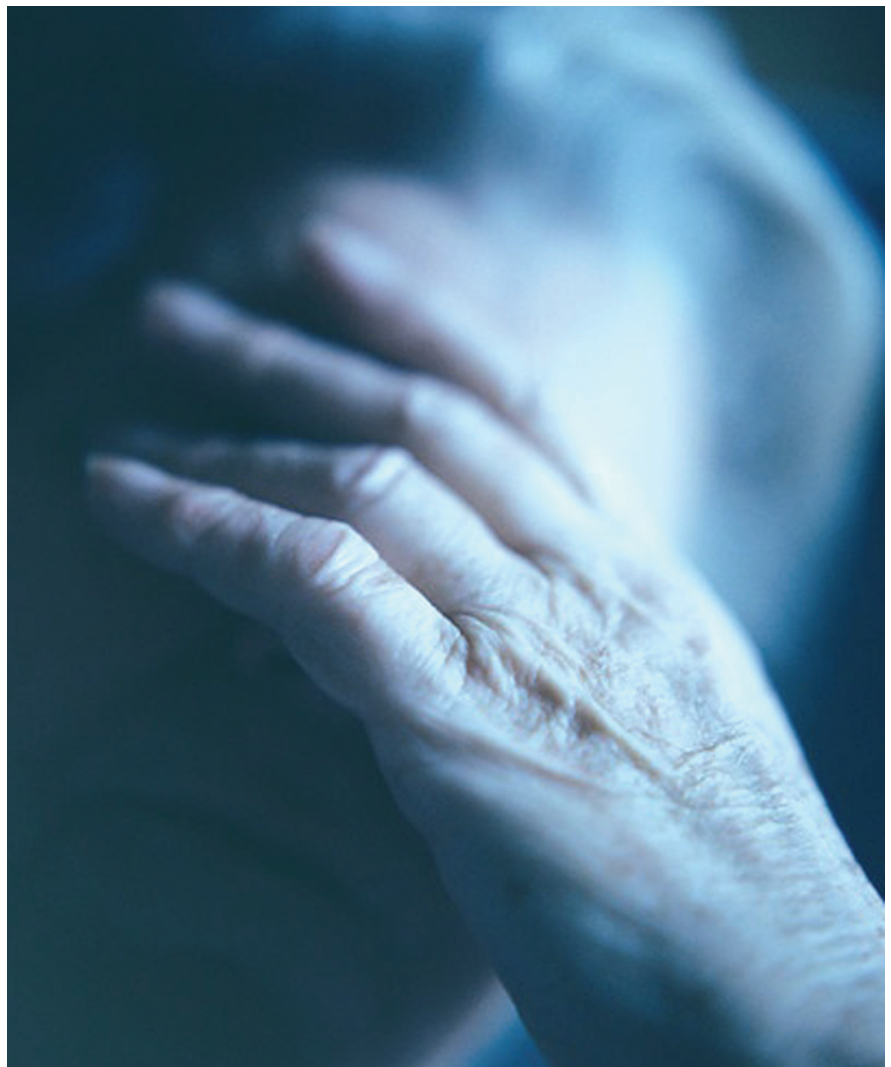
© Paul Brown

La principal referència clínica d'aquestes malalties és el deteriorament progressiu de les capacitats cognitives en la tipologia d'Alzheimer i del control voluntari del moviment en la malaltia de Parkinson. Les característiques principals de la malaltia d'Alzheimer, que generalment es comença a manifestar després dels 60 anys, són demència, pèrdua de memòria, impossibilitat d'aprenentatge, falta d'atenció i manca de judici autònom, manifestacions que van seguides d'apràxies severes, depressió o agressivitat. Des d'un punt de vista patològic, aquesta malaltia acostuma a anar associada a alteracions estructurals com

atrofia cortical severa, plaques senils formades per acumulacions del pèptid amiloide, cabdells neurofibrilars fets de filaments intracel·lulars anormals de la proteïna tau, normalment associada a microtúbuls, i pèrdua de neurones en regions específiques del cervell com l'hipocamp, el tàlam anterior i l'amígdala.

Pels afectats de la malaltia de Parkinson el desenvolupament de la malaltia és més traumàtic, atès que són completament conscients del seu problema neurodegeneratiu. Aquesta malaltia es caracteritza per tremolors als braços, a les mans, a les cames i a la mandíbula, especialment durant el repòs, retropulsió, rigidesa, lentitud en els moviments voluntaris i en algunes ocasions també demència. Des d'un punt de vista patològic, aquesta la malaltia de Parkinson va associada a la presència de cossos de Lewi, uns agregats proteics de morfologia característica, i a la mort de neurones dopaminèrgiques de la *sustància nigra* i d'altres nuclis pigmentats de l'escorça cerebral, les quals transmeten la informació al *corpus striatum* i permeten la funció motora voluntària.

Si una cosa tenen en comú totes les malalties neurodegeneratives és la pèrdua irreversible de cèl·lules neurals. Aquesta irreversibilitat és deguda a les minses capacitats regeneratives del sistema nerviós central (SNC), les quals venen donades per l'escàs reemplaçament cel·lular endogen i per la pràcticament nul·la habilitat que té el cervell per reparar el patró neural malmès per la neurodegeneració. Cal puntualitzar que aquests dos processos són essencials per poder recuperar la funció cerebral normal. De fet, tots els nostres teixits tenen una certa capacitat de regeneració, que es basa en l'existència de cèl·lules mare de teixit les quals, donat el cas, són estimulades per determinats factors tròfics per tal que proliferin i es diferenciïn en el tipus cel·lular del qual en tinguem un dèficit. En el cas concret del SNC, s'ha detectat la presència de cèl·lules mare de teixit nerviós en divisió a la zona subventricular dels ventricles laterals del cervell, al bulb olfatiu i a la zona subgranular de l'hipocamp, però



© Cristina Pedrazzini

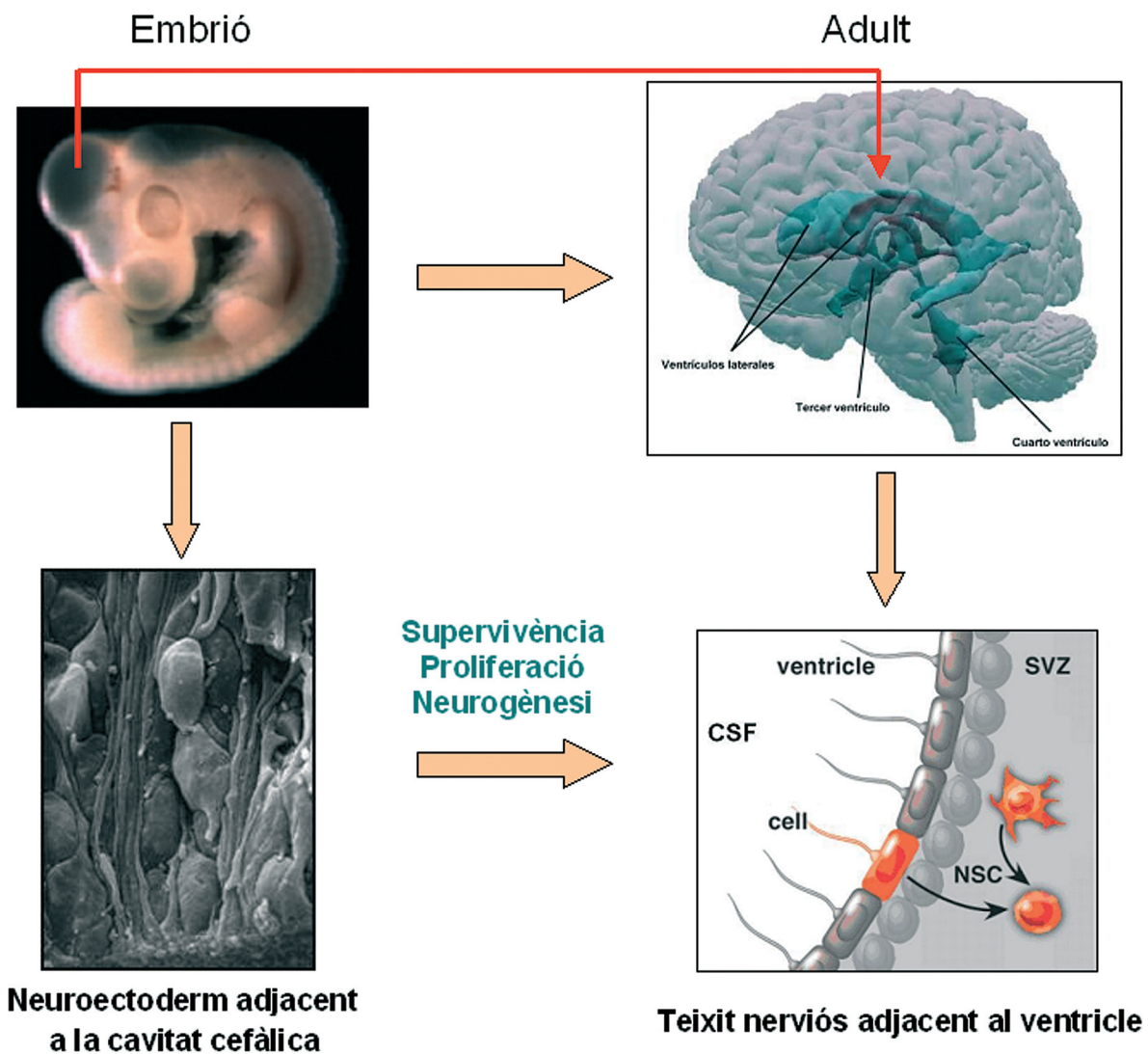
malauradament la seva capacitat de regenerar teixit nerviós és, com acabem d'esmentar, molt i molt minsa.

Actualment, als pacients afectats d'aquestes malalties neurodegeneratives se'ls subministra fàrmacs que contribueixen a endarrerir el desenvolupament de la malaltia, alentint inicialment els processos de pèrdua cognitiva i motora, altrament irreversibles. Però cada cop és més clar que per desenvolupar teràpies efectives per combatre aquestes malalties cal evitar la neurodegeneració i/o reemplaçar les cèl·lules que degeneren per altres de funcionals. Malgrat hi ha diverses propostes terapèutiques i preventives en estudi, aquí esmentarem les que se centren en l'anomenada medicina regenerativa.

La medicina regenerativa és una nova branca biomèdica l'objectiu de la qual és guarir malalties o afeccions degudes a un funcionament cel·lular anòmal aportant cèl·lules funcionals al pacient o mobilitzant les seves pròpies cèl·lules perquè reemplacin les que degeneren. Parlarem de tres alternatives incloses dins la medicina regenerativa: el trasplantament cel·lular amb cèl·lules fetals, el neuroreemplaçament (regeneració) amb cèl·lules mare adultes i la teràpia gènica. El trasplantament cel·lular amb cèl·lules fetals o de nounats consisteix a trasplantar cèl·lules neurals de fetus o nounats a les persones afectades. Aquesta aproximació terapèutica, que s'ha realitzat de manera experimental tant en animals de laboratori com en humans trasplantant neurones dopaminèrgiques a persones o altres animals models afectats

de Parkinson, presenta dues avantatges. D'una banda permet compensar la deficiència natural del teixit neural per reemplaçar les cèl·lules que degeneren tot subministrant cèl·lules noves, mentre que al mateix temps les cèl·lules trasplantades alliberen factors tròfics fetals a les cèl·lules hoste que afavoreixen la seva supervivència. Recentment s'ha demostrat la utilitat d'aquesta aproximació en pacients afectats de Parkinson i en models animals de laboratori als quals s'ha trasplantat cèl·lules neurals dopaminèrgiques mesencefàliques directament al *corpus striatum* per compensar el problema del creixement neurític a llargues distàncies. En aquests experiments, malgrat la posició ectòpica de les cèl·lules trasplantades, s'ha detectat diferenciació neural normal y alliberament de dopamina funcional. De la mateixa manera, proves realitzades en pacients afectats de la malaltia de Huntinton, una altre malaltia neurodegenerativa que es caracteritza per forts moviments involuntaris, als quals s'ha trasplantat cèl·lules estriatals fetals, han permès constatar una millora de les característiques de comportament i cognitives associades a aquesta malaltia.

En tots aquests casos, la integració funcional de les cèl·lules trasplantades depèn principalment de l'edat del receptor, sent més elevada en cervells més joves, i de la presència de substàncies neurogèniques endògenes, les quals són indispensables perquè es produeixi diferenciació neural. Per aquest motiu és de vital importància conèixer la capacitat inductiva del teixit madur que rep el trasplantament, les molècules implicades i la cascada gènica que ho controla. Els principals problemes d'aquesta aproximació són deguts a la mateixa font de les cèl·lules trasplantades. D'una banda, les cèl·lules fetals es troben generalment en estadi postmitòtic, fet que limita la seva viabilitat i per tant dificulta enormement la seva manipulació abans i durant el trasplantament. A més a més, s'ha de tenir molt present la pressió social i les implicacions ètiques que representa utilitzar cèl·lules fetals i de nounats, malgrat provinquin d'avortaments o defuncions naturals, la qual cosa fa que sigui molt difícil que es pugui aplicar el trasplantament cel·lular fetal de manera rutinària.



Una alternativa probablement més interessant és la utilització de les cèl·lules mare neurals multipotents de cervell adult, les quals tenen la capacitat de proliferar tant *in vivo* com *in vitro*, si bé es cert que la seva taxa de proliferació *in vivo* en condicions normals és extremadament reduïda. A més, aquestes cèl·lules mantenen el potencial per diferenciar-se en els tres tipus cel·lulars principals del SNC: neurones, astròcits y oligodendròcits. Les regions on s'ha detectat la presència de cèl·lules mare neurals inclouen la zona subventricular dels ventricles laterals del cervell, que corresponen a cèl·lules endimàries que recobreixen la cavitat dels ventricles cerebrals i que poden generar neurones i cèl·lules de la glia; el bulb olfactiu; i la zona subgranular de l'hipocamp (l'anomenat *gyrus dentato*), que conté astròcits que tenen la capacitat de diferenciar-se *in vitro* en neurones quan es cultiven en presència de determinats factors de creixement, com per exemple l'*Epidermal Growth Factor* i determinats membres de la família dels *Fibroblast Growth Factor*. També hi ha qui ha descrit la gènesi de noves neurones a l'escorça d'associació a primats, però aquesta possibilitat encara és controvertida.

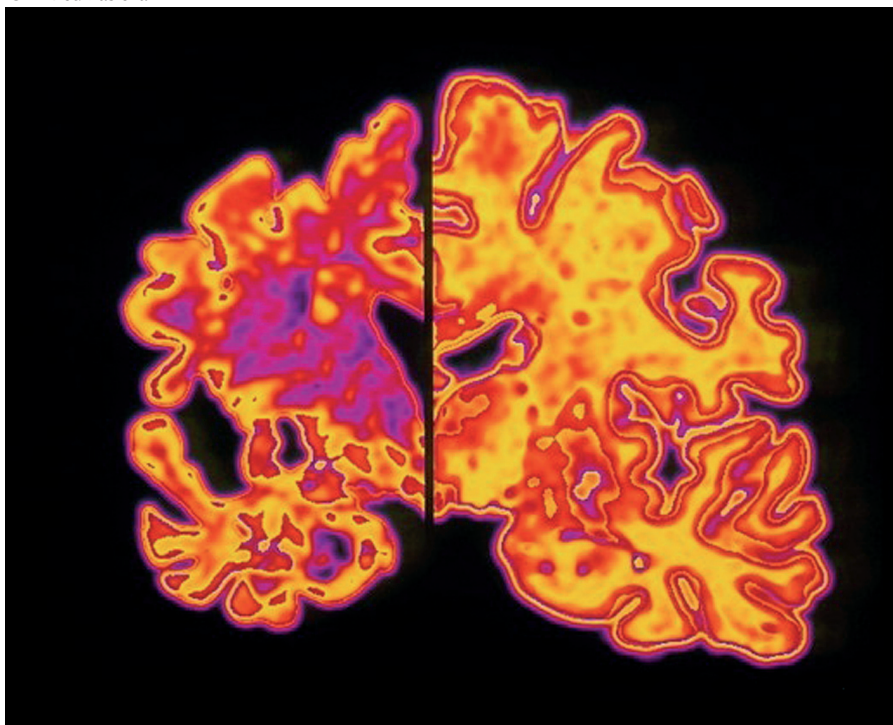
Però malgrat el coneixement actual sobre les fonts naturals i el potencial d'aquestes cèl·lules, la seva utilització no és tant senzilla com potser podria semblar atès que requereix una adaptació de les cèl·lules trasplantades a l'ambient generat per la malaltia neurodegenerativa, fet que és especialment complex en malalties caracteritzades per desmielinització. A més a més també implica el desenvolupament selectiu de fenotips cel·lulars específics molt complexos i l'establiment de les connexions adients amb els elements locals i distants originals. Hi ha estudis en què s'ha implantat cèl·lules progenitores adultes de l'hipocamp en hipocamps adults o en bulbs olfactius, les quals han adquirit les característiques morfològiques i moleculars del teixit hoste. En canvi, si s'implanten en cerebel no són capaces de diferenciar-se en neurones cerebelars. Aquests resultats confirmen la gran plasticitat de les cèl·lules mare neurals adultes, però també indiquen que aquesta plasticitat és, en principi, limitada.

Sobre els gens i les molècules implicats en la determinació dels diferents tipus cel·lulars neurals, se sap per exemple que les proteïnes de la família de les *Bone*

morphogenetic proteins dirigeixen les cèl·lules mare cap a destins neurals, mentre que la proteïna *Noggin*, un inhibidor de les anteriors, les dirigeix cap a destins gials. El que si és clar és que abans que es determini el destí de les cèl·lules mare neurals adultes cal un estímul que activi les zones neurogèniques. En aquest sentit s'ha observat que uns dels estímuls més efectius *in vivo* són la isquèmia i les agressions de tipus mecànic o químic, les quals indueixen la sobreproducció de molècules implicades en aquest processos, com per exemple el *Fibroblast growth factor No. 2* en hipocamp. Alternativament també es pot realitzar una inducció artificial en aquestes àrees mitjançant altres factors de creixement com l'*Epidermal growth factor*, el *Neural growth factor*, el *Brain derived neurotrophic factor* o el *Transforming growth factor alpha*, els quals són injectats directament dins els ventricles cerebrals, que són plens del líquid cefaloraquídi, o introduïts mitjançant una infecció adenoviral. Sigui com sigui, qualsevol d'aquestes alternatives incrementa ràpidament la proliferació de les cèl·lules subependimàries.

En aquest sentit és interessant destacar que les zones de major activitat neurogènica es troben en contacte directe amb el fluid cerebroraqúidi, la qual cosa permet suposar que aquest fluid pot tenir un paper important o fins i tot clau en la regulació de la supervivència i la proliferació de les cèl·lules mare neurals adultes. De fet, el fluid cerebroraqúidi (també anomenat fluid cerebrospinal) té el seu origen en el fluid cerebrospinal embrionari, que omple les cavitats cefàliques durant el desenvolupament embrionari. La recerca dels autors d'aquest article se centra precisament en aquest punt: l'estudi de les molècules presents en el fluid cerebrospinal embrionari i de llur implicació en la inducció de la supervivència, proliferació i diferenciació de les cèl·lules mare neurals embrionàries en els estadis de màxima proliferació i d'inici de la diferenciació neural, molècules i processos que al menys parcialment podrien ser extrapolables a les cèl·lules mare neurals adultes atès que moltes d'elles també són presents al líquid cerebroraqúidi i a més

© Alfred Pasieka

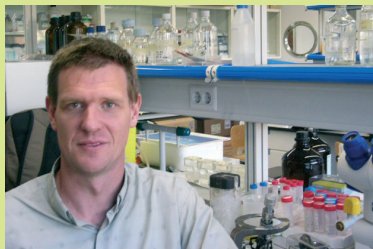


es mostren alterades en determinades malalties neurodegeneratives.

Finalment, la tercera alternativa terapèutica que volem esmentar és la de la teràpia gènica, que consisteix en trasplantar cèl·lules modificades genèticament que provenen de línies de cèl·lules mare neurals immortalitzades mitjançant la introducció d'oncogens. Aquesta aproximació també presenta diverses avantatges, com per exemple la gran capacitat proliferativa que presenten aquestes cèl·lules *in vitro*, la seva homogeneïtat i la possibilitat que expressin de manera permanent "gens terapèutics". En experiments realitzats en animals de laboratori s'ha observat que les cèl·lules manipulades genèticament són capaces d'integrar-se en els teixits hoste, i que es poden diferenciar tant en cèl·lules neurals com gials, tot repoblant la zona malmesa on han estat trasplantades. Però aquestes cèl·lules no només omplen el dèficit anatòmic, si no que a més poden

produir i alliberar factors específics, com per exemple neurotransmissors o factors de creixement, els quals poden afavorir el creixement i la regeneració de les cèl·lules veïnes. Per exemple, s'ha implantat cèl·lules modificades genèticament que produeixen l'enzim tirosin hidrolasa en models animals de Parkinson. Aquest enzim participa en la biosíntesi de catecolamines, les quals indueixen la supervivència de les neurones dopaminèrgiques, les afectades en aquesta malaltia. També s'han realitzat experiments semblants destinats a incrementar la supervivència de les neurones colinèrgiques, afectades en la malaltia d'Alzheimer, en ratolins transgènics que presenten aquesta malaltia. Els resultats són prometedors, malgrat l'èxit d'aquesta aproximació dependrà de la disponibilitat de cèl·lules que puguin ser utilitzades com a portadores dels transgens i de l'estabilitat d'aquestes cèl·lules un cop trasplantades, la qual cosa és discutida tot sovint.

En resum, malgrat els resultats d'aquests i altres experiments relatius a les alternatives terapèutiques esmentades són esperançadors, s'ha de ser molt prudent alhora de valorar la seva possible aplicació a humans de manera rutinària, atès que encara es desconeixen molts dels factors implicats en els processos de proliferació i diferenciació de les cèl·lules mare neurals adultes tant en condicions normals com durant els processos de neurodegeneració. De fet encara hi ha més preguntes que respostes. Encara cal fer molta recerca, tant bàsica com aplicada, sense oblidar cap possibilitat i explorant tots els racons, inclosa la transferència nuclear somàtica a cèl·lules mare embrionàries, i ha de comptar amb la implicació tant d'empreses privades com d'institucions públiques, moltes de les quals ja reconeixen que aquesta és (o ha de ser) una àrea prioritària de recerca, com ho demostra la recent creació de diversos instituts de medicina regenerativa. L'objectiu final bé val la pena.



David Bueno i Torrens (1965) és Doctor en Biologia i Professor Titular del Departament de Genètica de la UB. La seva Tesi doctoral, que es va centrar en l'estudi dels processos de regeneració tissular en planaris d'aigua dolça (invertebrats), va obtenir el Premi Extraordinari de

Doctorat i una menció honorífica al I Premi del Claustre de Doctors de la UB. Va realitzar una estada postdoctoral de 14 mesos a la University of Oxford on va treballar en l'anàlisi del desenvolupament de ratolins transgènics mutants per determinats factors de creixement. Actualment dirigeix un jove grup de recerca que centra els seus esforços en la identificació i l'anàlisi funcional durant el desenvolupament embrionari de molècules del fluid cerebroespinal que puguin estar implicades en la gènesi o la manifestació de malalties neurodegeneratives en adults, i/o que puguin ajudar a potenciar els processos endògens de regeneració neuronal. És autor de més de més de 30 articles en revistes científiques internacionals, de 10 llibres de text per a estudiants de Primària i Secundària, de 2 llibres de divulgació científica, ha traduït diversos llibres universitaris de l'anglès al castellà i és col·laborador del Suplement de Ciència i Medi Ambient del diari Avui.



Carolina Parada (1979) està realitzant la seva tesi Doctoral al Departament de Genètica de la UB, sota la direcció d'en David Bueno, analitzant el paper del fluid cerebroespinal embrionari sobre el comportament de les cèl·lules mare neurals durant el desenvolupament del sistema nerviós central. Ha participat en diversos projectes sobre malformacions congènites del complex craniofacial y de neurodegeneració al Grup de Neurociències de l'Institut de Genètica de la Universitat Nacional de Colòmbia, país d'on és originària.