

Del fluido cerebroespinal a la regeneración neural - pasando por las células madre

David Bueno i Torrens

Departament de Genètica, Facultat de Biologia,
Universitat de Barcelona

Muchas civilizaciones se han desarrollado junto a ríos y mares, unos medios fluidos que han servido de vehículo de cohesión y transporte favoreciendo la supervivencia de las personas que vivían a sus orillas. Para los egipcios fue el Nilo, para los mesopotámicos el Tigris y el Éufrates, y para los griegos y fenicios el Mediterráneo. Uno de los sistemas funcionalmente más complejos de los animales es el sistema nervioso, el cual logra su máxima expresión en los vertebrados, muy especialmente en órganos como el cerebro. Sorprendentemente, el cerebro también se organiza, desde sus inicios embrionarios y durante toda la vida adulta, alrededor de un fluido extraordinariamente dinámico y complejo, el denominado fluido cerebroespinal –o cerebroorraquídeo en adultos.

La formación del sistema nervioso central

El sistema nervioso central (SNC) es uno de los sistemas más interesantes y estudiados de los vertebrados puesto que controla todas las funciones vitales del organismo. El órgano más grande y complejo del SNC desde el punto de vista funcional y estructural es, sin lugar a dudas, el cerebro. El cerebro, como todo el resto del SNC, se empieza a formar muy pronto durante el desarrollo embrionario, cuando una zona del ectodermo dorsal empieza a diferenciarse en el tejido neuroectodérmico y se convierte en la llamada placa neural (Figura 1). A continuación la placa neural se pliega longitudinalmente formando un surco –el surco neural–, que termina cerrándose dorsalmente generando el tubo neural, a partir del cual se formará la médula espinal y, en su parte más anterior, el cerebro, a partir de un ensanchamiento de este tubo.

El desarrollo del SNC a partir de este primordio neural implica la acción simultánea e interdependiente de varios mecanismos, como el establecimiento de identidades posicionales que lo regionalizan y complejos procesos de histogénesis y morfogénesis. Se ha demostrado que en estos procesos intervienen un gran número de moléculas, entre las cuales destacan moléculas que difunden por los tejidos como por ejemplo factores de crecimiento y morfógenos, los cuales actúan sobre las células vecinas y regulan la expresión de multitud de factores de transcripción, que establecen las complejas redes génicas que concluyen en la formación de un SNC funcional. Se ha descrito que muchas de estas moléculas pueden difundir a través de los tejidos, pero el alcance de este tipo de difusión es limitado y se restringe a las células vecinas. Para señalizaciones de más largo alcance se hace necesaria la existencia de un medio fluido adecuado que las transporte.

La arquitectura del primordio cerebral revela la existencia de unas cavidades internas, las vesículas cefálicas, que son las precursoras del sistema ventricular del cerebro adulto (véase la Figura 1). Tanto las vesículas cefálicas embrionarias como los ventrículos del cerebro adulto están llenos de un fluido complejo muy rico en proteínas, el fluido cerebroespinal (CSF, o denominado también líquido cerebroorraquídeo), el cual actúa de elemento de cohesión del cerebro y también de difusión de señales para todas las células

con las que está en contacto. De hecho, en adultos muchas patologías del SNC quedan reflejadas en la composición específica del CSF, ya sea como causa o como consecuencia, como por ejemplo la hidrocefalia, varios defectos de formación y cierre del tubo neural, como la espina bífida, procesos de inflamación y reparación cerebral y alteraciones neurodegenerativas como la esclerosis múltiple y las enfermedades de Alzheimer y Parkinson. En este sentido, el análisis del CSF ya se utiliza como herramienta diagnóstica en adultos, y la rápida accesibilidad que permite este fluido sobre los tejidos cerebrales hace que se pueda usar como vía para suministrar agentes terapéuticos directamente al cerebro.

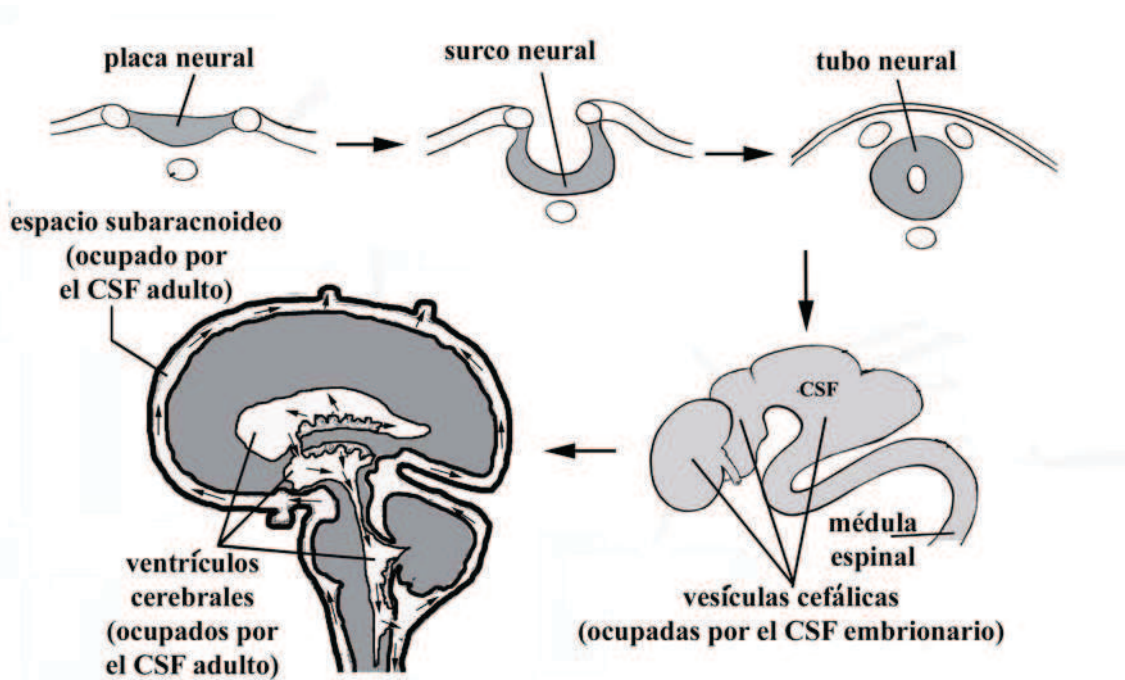


Figura 1. Esquema simplificado del desarrollo del sistema nervioso en los vertebrados, donde se muestra la formación de las cavidades cefálicas y su posterior conversión en los ventrículos cerebrales del cerebro adulto.

Las enfermedades neurodegenerativas

El aumento en la esperanza de vida va asociado a un incremento significativo en la incidencia de determinadas enfermedades, entre las cuales hay que destacar las enfermedades neurodegenerativas por el alto coste personal, social y económico que representan. Estas enfermedades, como las demencias asociadas a la enfermedad de Alzheimer y los desórdenes del sistema motor como la enfermedad de Parkinson, incapacitan progresivamente a las personas que las sufren y son actualmente irreversibles. Su incidencia, combinada con el coste personal y social y el gran gasto económico que generan, hace que sean consideradas en todo occidente como un grave problema de salud pública. Para poner un ejemplo, en los Estados Unidos se ha calculado que cada paciente afectado de la enfermedad de Parkinson gasta unos 2500 dólares cada año sólo en medicamentos, y que el gasto anual a nivel estatal que genera esta enfermedad es de aproximadamente 5'6 billones de dólares, incluyendo los gastos de cuidar a los pacientes y la pérdida de los ingresos que supone para los familiares de las personas afectadas.

Además, se prevé que todos estos costes se incrementarán proporcionalmente

con el aumento de la población mayor de 65 años, que se calcula que en el año 2050 será el doble del actual. Toda esta problemática ha hecho que actualmente estas dos enfermedades, que son consideradas como prototipo de la gran familia de las enfermedades neurodegenerativas, sean estudiadas por un gran número de grupos de investigación desde todas las perspectivas posibles, de la clínica a la molecular, lo cual está generando una enorme cantidad de información en relativamente poco tiempo. Toda esta información ha permitido establecer algunas relaciones claras entre las alteraciones motoras y del comportamiento asociadas a estas enfermedades y determinados cambios neuropatológicos macroscópicos, sucesos celulares y complejas cascadas génicas, y también ha sugerido la posibilidad de tratar a los pacientes activando los mismos sistemas genéticos y celulares que el cerebro utiliza normalmente durante el desarrollo embrionario.

La principal referencia clínica de estas enfermedades es el deterioro progresivo de las capacidades cognitivas en la tipología de Alzheimer y del control voluntario del movimiento en la enfermedad de Parkinson. Las características principales de la enfermedad de Alzheimer, que generalmente se empieza a manifestar después de los 60 años, son demencia, pérdida de memoria, imposibilidad de aprendizaje, falta de atención y carencia de juicio autónomo, unas manifestaciones que van seguidas de depresión o agresividad. Desde un punto de vista patológico, esta enfermedad acostumbra a ir asociada a alteraciones estructurales como atrofia cortical severa, placas seniles formadas por acumulaciones de péptido amiloide, ovillos neurofibrilares formados por filamentos intracelulares anormales de proteína *tau*, y pérdida de neuronas en regiones específicas del cerebro como el hipocampo, el tálamo anterior y la amígdala.

En los afectados de la enfermedad de Parkinson, el desarrollo de la enfermedad es todavía más traumático, dado que son completamente conscientes de su problema neurodegenerativo. Esta enfermedad se caracteriza por temblores a los brazos, manos, piernas y mandíbula, especialmente mientras están en reposo, rigidez, lentitud en los movimientos voluntarios y, en algunas ocasiones, también demencia. Desde un punto de vista patológico, la enfermedad de Parkinson va asociada a la presencia de los llamados cuerpos de Lewi, unos agregados proteicos de morfología característica, y a la muerte de neuronas dopaminérgicas –un tipo de neurona especializada en la secreción de dopamina, un neurotransmisor– de unas zonas muy concreta del cerebro conocidas como sustancia nigra y núcleos pigmentados de la corteza cerebral, las cuales permiten la función motora voluntaria.

Actualmente, a los pacientes afectados de estas enfermedades neurodegenerativas se les suministran fármacos que contribuyen a retrasar el desarrollo de la enfermedad, incluyendo los procesos de pérdida cognitiva y motora, que siguen siendo irreversibles. Pero cada vez se hace más evidente que para desarrollar terapias efectivas para combatir estas enfermedades hay que evitar la neurodegeneración y/o reemplazar las células que degeneran por otras de funcionales. A pesar de que hay varias propuestas terapéuticas y preventivas en estudio, aquí mencionaré las que se centran en la llamada medicina regenerativa, puesto que es en una parte de ellas en las que está trabajando mi grupo de investigación.

Las células madre neurales

Si una cosa tienen en común todas las enfermedades neurodegenerativas es la pérdida irreversible de células neurales. Esta irreversibilidad es debida a las exiguas capacidades regenerativas del SNC, las cuales vienen dadas por el escaso reemplazo celular de las neuronas cerebrales y por la prácticamente nula habilidad que tiene el cerebro para reparar el patrón neural desbaratado por la neurodegeneración. Hay que puntualizar que estos dos procesos son esenciales para poder recuperar la función cerebral normal.

De hecho, todos nuestros tejidos tienen una cierta capacidad de regeneración, que se basa en la existencia de células madre de tejido las cuales, dado el caso, son estimuladas por determinados factores para que proliferen y se diferencien en el tipo celular que sea necesario. En el caso concreto del SNC, se ha detectado la presencia de células madre de tejido nervioso en la denominada zona subventricular de los ventrículos laterales del cerebro, en el bulbo olfativo y en la llamada zona subgranular del hipocampo, pero desgraciadamente su capacidad para regenerar tejido nervioso es, como se acaba de mencionar, extremadamente exigua.

La medicina regenerativa es una nueva rama biomédica cuyo objetivo es curar enfermedades o afecciones debidas a un funcionamiento celular anómalo, aportando células funcionales al paciente o movilizándolo sus propias células para que reemplacen las que degeneran. Hablaré de dos alternativas incluidas dentro de la medicina regenerativa: el trasplante celular con células fetales y la regeneración con células madre adultas.

El trasplante celular con células fetales o de neonatos consiste en trasplantar células neurales de fetos o neonatos, obtenidas de abortos naturales o de defunciones espontáneas, a las personas afectadas. Recientemente se ha demostrado la utilidad de esta aproximación en pacientes afectados de Parkinson y en modelos animales de laboratorio a los cuales se ha trasplantado células neurales dopaminérgicas. Del mismo modo, pruebas realizadas en pacientes afectados de la enfermedad de Huntington, otra enfermedad neurodegenerativa que se caracteriza por fuertes movimientos involuntarios, a los que se ha trasplantado células fetales del *corpum striatum* –una zona del cerebro–, han permitido constatar una mejora de las características de comportamiento y cognitivas asociadas a esta enfermedad.

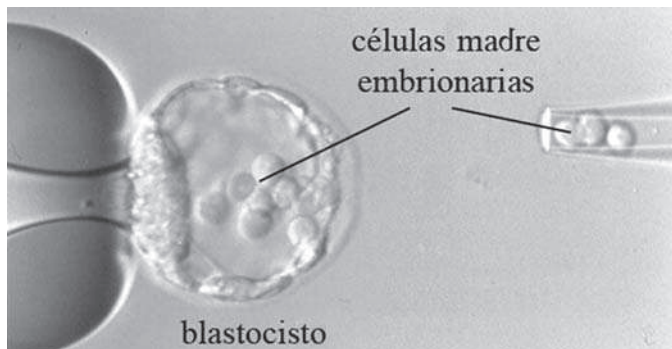


Figura 2. Obtención de células madre embrionarias a partir de un blastocisto.

En todos estos casos, la integración funcional de las células trasplantadas depende principalmente de la edad del receptor, siendo más elevada en cerebros más jóvenes, y también de la presencia de sustancias neurogénicas endógenas, del propio paciente, las cuales son indispensables para que se produzca la diferenciación neural. Por este motivo es de vital importancia conocer la capacidad inductiva del tejido maduro que

recibe el trasplante, las moléculas implicadas y la cascada génica que lo controla. Sin embargo, esta aproximación presenta varios problemas. Unos son debidos a la misma fuente de las células trasplantadas, de viabilidad limitada. Además, hay que tener muy presente las implicaciones éticas que representa utilizar células fetales y de neonatos, a pesar de que provengan de abortos o de defunciones naturales, lo que hace que sea muy difícil que se pueda aplicar este tipo de trasplante celular de manera rutinaria.

Una alternativa probablemente más interesante es la utilización de las células madre neurales de cerebro adulto, las cuales tienen la capacidad de proliferar tanto *in vivo* como *in vitro*, si bien se cierto que su tasa de proliferación *in vivo* en condiciones normales es extremadamente reducida. Estas células, como se ha dicho en un párrafo anterior, se encuentran en unas localizaciones muy concretas del cerebro, generalmente cerca de los ventrículos cerebrales y por tanto del fluido cerebroespinal (CSF). Pero a pesar del conocimiento actual sobre las fuentes naturales y el potencial de estas células, su utilización no es tan sencilla como quizás podría parecer. Por un lado, las

células trasplantadas requieren una adaptación al ambiente generado por la enfermedad neurodegenerativa. Además también implica el desarrollo selectivo de fenotipos celulares específicos muy complejos y el establecimiento de las conexiones neurales adecuadas con los elementos locales y distantes originales. Hay estudios en que se ha implantado células progenitoras –células madre– adultas del hipocampo en hipocampos adultos o en bulbos olfativos, las cuales han adquirido las características morfológicas y moleculares del tejido huésped. En cambio, si se implantan en cerebelo no son capaces de diferenciarse en neuronas cerebelares. Estos resultados confirman la gran plasticidad de las células madre neurales adultas, pero también indican que esta plasticidad es, en principio, limitada.

El fluido cerebroespinal embrionario

Sea como fuere, es interesante destacar que las zonas de mayor actividad neurogénica del cerebro se encuentran en contacto directo con el fluido cerebroespinal (CSF), lo que permite suponer que este fluido puede tener un papel importante o incluso clave en la regulación de la supervivencia y de la proliferación de las células madre neurales adultas. De hecho, el CSF adulto tiene su origen en el CSF embrionario, que llena las cavidades cefálicas durante el desarrollo embrionario (véanse los primeros párrafos de este artículo). La investigación del grupo de investigación liderado por el autor de este artículo se centra precisamente en este punto: el estudio de las moléculas presentes en el fluido cerebroespinal embrionario y de su implicación en la inducción de la

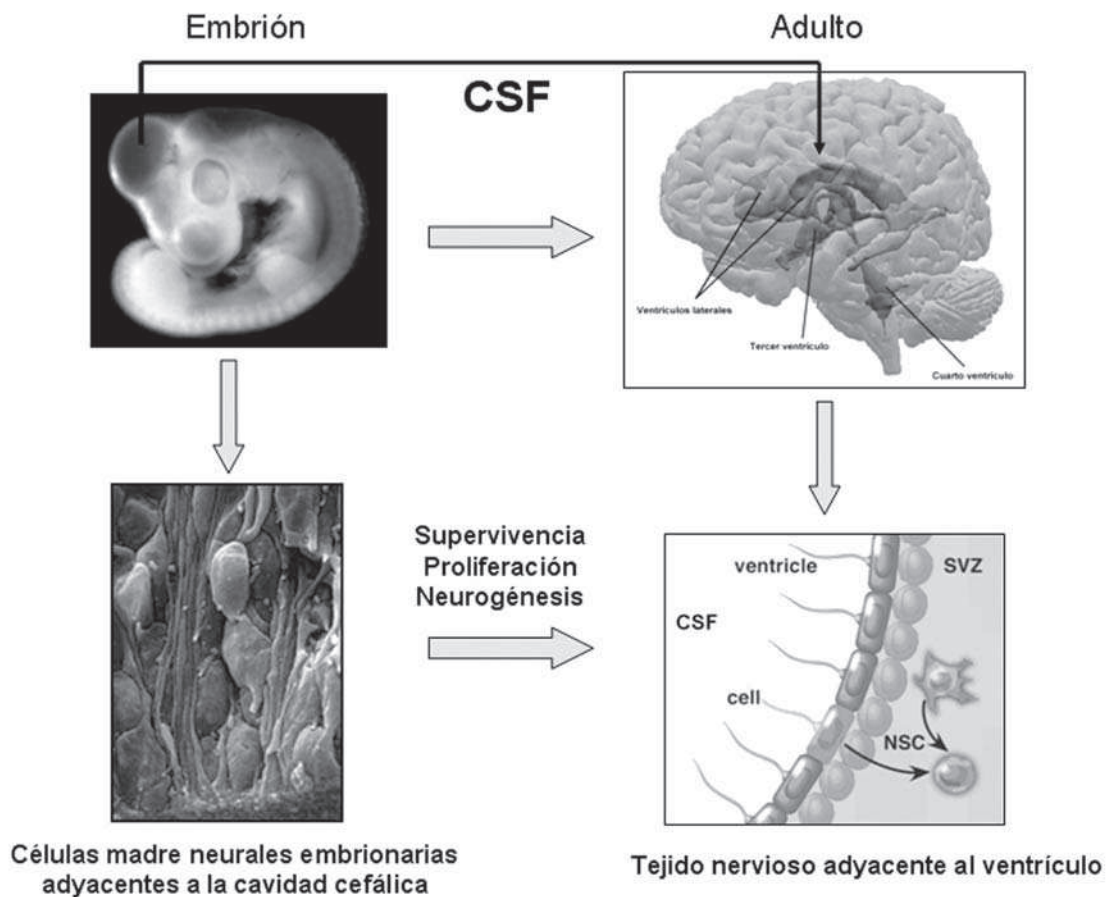


Figura 3. Resumen esquemático de la hipótesis de trabajo. El estudio del CSF embrionario sugiere que el uso de determinadas moléculas en el CSF adulto puede favorecer la neuregeneración, activando las células madre neurales del propio cerebro y evitando la muerte de neuronas.

supervivencia, proliferación y diferenciación de las células madre neurales embrionarias en los estadios de máxima proliferación y de inicio de la diferenciación neural, moléculas y procesos que al menos parcialmente podrían ser extrapolables a las células madre neurales adultas puesto que muchas de ellas también son presentes en el CSF adulto y, además, se encuentran alteradas en determinadas enfermedades neurodegenerativas.

Así, en nuestro grupo de investigación hemos demostrado que la composición del CSF embrionario es extraordinariamente compleja y dinámica, y que contiene un gran número de moléculas que pueden estar implicadas en los procesos de neurogénesis y de morfogénesis del SNC. En este sentido, se ha visto que el CSF embrionario es necesario e imprescindible para mantener las características celulares básicas de las células progenitoras neurales, es decir, para mantener su supervivencia y para estimular su proliferación y diferenciación hacia células de estirpe neural, así como también para mantener la expresión de genes que determinan el patrón característico de desarrollo cerebral.

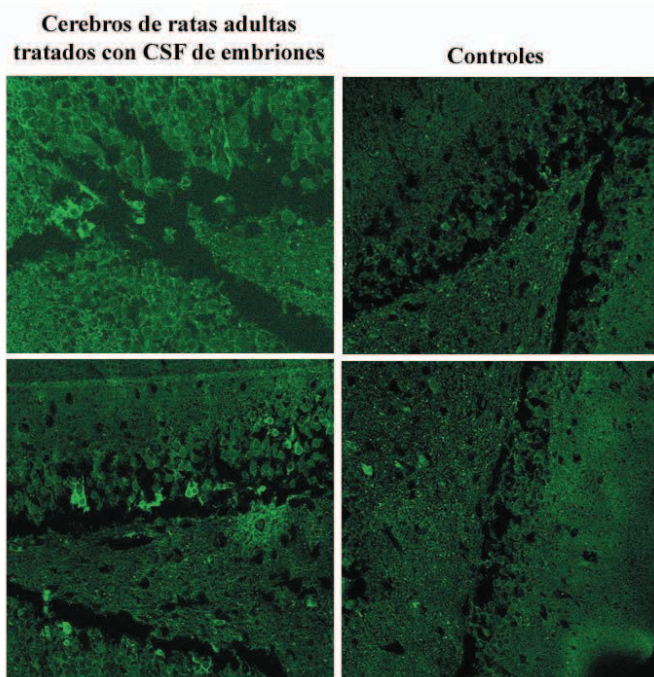


Figura 4. Resumen esquemático de la hipótesis de trabajo. El CSF embrionario sugiere que el uso de determinadas moléculas en el CSF adulto puede favorecer la neuregeneración, activando las células madre neurales del propio cerebro y evitando la muerte de neuronas. Las células marcadas se están diferenciando en neuronas.

Además, varios análisis en que se ha valorado la participación específica de algunas de las moléculas identificadas en el CSF embrionario -cómo por ejemplo del denominado factor de crecimiento de fibroblastos número 2, de la proteína de unión a retinol y de la prohormona retinol, y de varias apolipoproteínas y de las fracciones lipídicas que transportan-, han demostrado su implicación específica y necesaria en los procesos celulares y de desarrollo que conducen hacia un SNC funcional. Muchos de estos trabajos se han hecho en colaboración con un grupo de investigación de la Universidad de Valladolid. De la misma manera, otro grupo de investigación de la Universidad de Manchester (UK) con el que el autor de este artículo colabora ha demostrado la implicación del CSF fetal en la formación neuronal fetal, la última fase de desarrollo cerebral antes del nacimiento.

Estos estudios sobre la composición y la función del CSF embrionario adquieren una especial relevancia en lo que respecta a su aplicación en personas adultas. La idea es muy simple. La mayoría de las proteínas identificadas en CSF embrionario, desde donde ejercen sus efectos sobre la supervivencia, proliferación y diferenciación de las células progenitoras neurales, también se encuentran en el CSF adulto. Aun así, muchas de estas proteínas se encuentran alteradas en el CSF de pacientes afectados de enfermedades neurodegenerativas y/o neurológicas, lo que sugiere que algunas de las fracciones de estas proteínas se podrían mantener a lo largo de toda la vida. Estos hechos permiten pensar en una posible vía para terapias de neuregeneración, puesto que, cómo ya se ha dicho, las células progenitoras del SNC adulto se encuentran siempre en contacto con este fluido (Figura 3).

En resumen, a pesar de que los resultados de estos y otros experimentos relativos a las alternativas terapéuticas mencionadas son esperanzadores, uno debe ser muy prudente al valorar su posible aplicación a humanos de manera rutinaria, dado que todavía se desconocen muchos de los factores implicados en los procesos de proliferación y diferenciación de las células madre neurales adultas tanto en condiciones normales como durante los procesos de neurodegeneración. De hecho, todavía hay más preguntas que respuestas. Pero es muy posible que este fluido, el CSF, acabe desempeñando un papel comparable al que representaron las vías de transporte fluvial y marítimo para las grandes civilizaciones clásicas: la revitalización constante de todas las células con las que entre en contacto.

Bibliografía

Libros de divulgación

- Bueno, David. *Órganos a la carta*. Publicacions de la Universitat de Barcelona / Omnicellula. Barcelona, 2007
- Gomis, Ramón. *Final de la diabetes: células madre la esperanza de la biomedicina*. Universitat de Valencia. Servei de Publicacions. Valencia, 2008
- Klotzko, Arlene Judith. *¿Quieres clonarte?: ciencia y ética de la clonación humana*. Valencia, 2006.

Artículos científicos especializados

- Gato, A., Moro, J.A., Alonso, M.I., Bueno, D., De La Mano, A. and Martín, C. (2005) Embryonic cerebrospinal fluid regulates neuroepithelial survival, proliferation, and neurogenesis in chick embryos. *Anatomical Records* 284:475-484.
- Martin, C., Bueno, D., Alonso, M.I., Moro, J.A., Callejo, S., Parada, C., Martín, P., Carnivero, E. & Gato, A. (2006) FGF2 plays a key role in embryonic cerebrospinal fluid trophic properties over chick embryo neuroepithelial stem cells. *Developmental Biology* 297: 402-416.
- Parada, C., Gato, A. and Bueno, D. (2008) All-trans retinol and retinol-binding protein from embryonic cerebrospinal fluid exhibit dynamic behaviour during early central nervous system development. *NeuroReport* 19: 945-950.
- Parada, C., Escolà-Gil, J.C. and Bueno, D. (2008) Low-density lipoproteins from embryonic cerebrospinal fluid are required for neural differentiation. *Journal of Neuroscience Research* 86: 2674-2684.
- Parada, C., Parvas, M. and Bueno, D. (2007) Cerebrospinal fluid proteomes: from neural development to neurodegenerative diseases. *Current Proteomics* 4: 89-106.
- Parada, C., Aparicio, M., Gato, A. and Bueno, D. (2006) Proteome analysis of chick embryonic cerebrospinal fluid. *Proteomics* 6: 312-320.
- Parada, C., Martín, C., Alonso, M.I., Moro, J.A., Gato, A. & Bueno, D. (2005) Embryonic Cerebrospinal Fluid Collaborates With the Isthmic Organizer To Regulate Mesencephalic Gene Expression. *Journal of Neuroscience Research* 82: 333-345.
- Parada, C., Gato, A. & Bueno, D. (2005) Mammalian Embryonic Cerebrospinal Fluid proteome has greater apolipoprotein and enzyme pattern complexity than the avian proteome. *Journal of Proteome Research* 4: 2420-2428.
- Parvas, M. and Bueno, D. (2010). The embryonic blood-CSF barrier has molecular elements for specific glucose transport and for the general transport of molecules via transcellular routes. *Advances in Bioscience and Biotechnology* 1: 315-321
- Parvas, M. and Bueno, D. (2010) The embryonic blood-CSF barrier has molecular elements to control E-CSF osmolarity during early CNS development. *Journal of Neuroscience Research* 88: 1205-1212.
- Parvas, M., Parada, C. and Bueno, D. (2008) A blood-CSF barrier function controls embryonic CSF protein composition and homeostasis during early CNS development *Developmental Biology* 321: 51-63.
- Parvas, M., Rius, M. and Bueno, D. (2008) Most of the abundant protein fractions of embryonic cerebrospinal fluid are produced out of the brain anlagen. *The Open Proteomics Journal* 1: 1-4.