



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

TRABAJO FIN DE GRADO

**Terapia regenerativa celular en el tratamiento de
la Esclerosis Múltiple**

Autor: Marta Casarrubios García

D.N.I.: 51127425N

Tutor: Carlos Guillén Viejo

Convocatoria: Junio

ÍNDICE

Resumen	3
Introducción	3
Metodología	3
Resultados y discusión	4
Fisiopatología de la Esclerosis Múltiple	4
Uso de células madre mesenquimales como terapia inmunomoduladora.....	8
Ensamblaje de las células mesenquimales	12
Conclusiones	16
Bibliografía.....	17

RESUMEN

Con la terapia regenerativa se busca la curación completa del paciente que presenta una determinada patología y conociendo el mecanismo por el cual se produce dicha enfermedad, es posible acercarse a su solución. En este caso, se estudia el potencial de las células madre mesenquimales para revertir la esclerosis múltiple. Además, se propone la encapsulación de las células como método de liberación de las mismas al interior del organismo, favoreciendo su potencial terapéutico.

INTRODUCCIÓN

La esclerosis múltiple es una patología neurodegenerativa crónica, consistente en la aparición de lesiones desmielinizantes en las neuronas del sistema nervioso central (SNC). Esto da lugar a una serie de síntomas neurológicos como espasticidad, problemas visuales, fasciculaciones musculares, debilidad y descoordinación de movimiento, entre otras. Es una enfermedad que se desarrolla con mayor frecuencia en personas jóvenes, diagnosticándose a los 20-40 años, y que provoca una incapacidad a lo largo de su curso.

Este trabajo se centrará en el estudio de las posibilidades de las células madre mesenquimales en el tratamiento de la esclerosis múltiple, dada su capacidad inmunorreguladora, neuroprotectora y regenerativa.

METODOLOGÍA

Se lleva a cabo una revisión bibliográfica tanto de la fisiopatología de la esclerosis múltiple, como de las características de las células madre mesenquimales. Asimismo, se procede al estudio de diferentes artículos en los que se pretende determinar la viabilidad del uso de éstas para la esclerosis múltiple, mediante la experimentación en animales a los que previamente se les ha inducido la encefalomiелitis experimental autoinmune (EEA, modelo animal de la esclerosis múltiple), y a los que se les ha trasplantado células madre mesenquimales.

Posteriormente, se compara la evolución de la enfermedad en los animales control y en los animales trasplantados, así como la detección de diferentes variables (cuantificación de linfocitos autorreactivos, progresión de la desmielinización) en la autopsia. Por último, se nombran diferentes materiales para el correcto ensamblaje de las células mesenquimales en el organismo, con el fin de aumentar su viabilidad *in vivo*.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

FISIOPATOLOGÍA DE LA ESCLEROSIS MÚLTIPLE

La característica morfológica principal de la esclerosis múltiple es la aparición de placas de inflamación en torno a las neuronas, que terminan por destruir la vaina de mielina que rodea a los axones, impidiendo la conducción del impulso nervioso. Esto da lugar a una degeneración progresiva de las mismas, que se manifiesta en la sintomatología neurológica que presentan los pacientes.¹ La remielinización o recuperación de la conductividad neuronal se produce, aunque en menor medida, en estos pacientes, sin embargo, la pérdida de los axones es irreversible.²

Se procede a realizar un estudio de la interrelación que existe entre la inflamación, la neurodegeneración y el curso de la enfermedad, en relación con la lesión que se va produciendo progresivamente en la vaina de mielina y, en definitiva, en las neuronas.

▪ **Células de la respuesta inmune y su papel en la esclerosis múltiple**

La inflamación presente en la esclerosis múltiple está mediada por linfocitos T autorreactivos que atacan a los tejidos del sistema nervioso central. No está claro cómo estos linfocitos efectores, en un momento determinado, se activan frente a antígenos derivados de la mielina reconociéndolos como “extraños”. Se cree que la infección por determinados agentes, dispara la reactividad del propio sistema inmune hacia los componentes de la mielina. En estas circunstancias las células dendríticas, expuestas a los antígenos de la mielina y cuya función es la de la presentación de antígenos a las células efectoras, secretan una serie de citoquinas que inducen la diferenciación de los linfocitos T *naïve*, en linfocitos T efectores autorreactivos. Éstos últimos migran desde los órganos linfoides hacia la circulación, son capaces de atravesar la barrera hematoencefálica, y causan la reacción inflamatoria en el SNC que da lugar a la desmielinización.³

A continuación se muestran todas las células del sistema inmune que participan en el proceso inflamatorio: linfocitos T, linfocitos B, células dendríticas, macrófagos y células NK.

a) Linfocitos T.

- LT-Th1. La secreción de citoquinas proinflamatorias, y en especial de IFN γ , induce la expresión de moléculas del CMHII en el SNC, lo que media la producción de quimioquinas que atraen macrófagos y monocitos, y activan a los macrófagos.⁴

- LT-Th17. Producen IL9, IL17, IL21, IL22, TNF-alfa. El endotelio cerebral expresa niveles altos de receptor de LT-Th17, que junto a su ligando (LT-Th17), aumenta la permeabilidad de la BHE para las células inflamatorias: papel crucial para la entrada de las mismas, que producirán la consecuente reacción de inflamación.⁵
 - LT-Th9. La IL9 producida por las MOG-specific Th9, puede activar a los mastocitos, que inducen la desmielinización.
 - Treguladores. Controlan el desarrollo y severidad de la EM. Posible papel inmunosupresor. Su función principal es la eliminación de células T autorreactivas que escaparon al proceso de selección negativa en el timo (autolimitación del sistema inmune).
- b) Linfocitos B. Los anticuerpos secretados por los linfocitos B, contribuyen de manera significativa al proceso de desmielinización, ya que son reactivos frente a la mielina y las neuronas (reconociendo como extraña la glicoproteína que conforma la vaina de mielina).⁶ Además, actúan como células presentadoras de antígeno (APCs).
- c) Células dendríticas. Modulan respuestas adaptativas: las condiciones inflamatorias inducen la maduración de estas células que, a su vez, inducen a los linfocitos T; son capaces de infiltrarse por la BHE y pasar al SNC y participan en la reactivación de los linfocitos T autorreactivos en el espacio subaracnoideo del SNC (células dendríticas o macrófagos perivasculares)
- a) Macrófagos. Los macrófagos perivasculares del SNC, pueden activarse por las citoquinas secretadas por los linfocitos Th1. La activación de los macrófagos puede ser proinflamatoria o antiinflamatoria, dependiendo de las citoquinas a las que se expongan. Los expuestos a IFN-gamma se clasifican dentro de los macrófagos proinflamatorios, de manera que contribuyen al daño de la mielina por fagocitosis o mediante la liberación de mediadores neurotóxicos.

▪ **Papel de las células presentadoras de antígeno**

Las células presentadoras de antígeno (CPA), procesan y presentan antígenos a los linfocitos T mediante interacciones entre el complejo mayor de histocompatibilidad y los LT, la emisión de señales co-estimuladoras y la secreción de citoquinas.¹ Los antígenos de mielina y los antígenos neuronales se liberan desde el tejido dañado del SNC, son capturados por las APCs del SNC, y migran hacia los nódulos linfáticos. Es aquí donde son presentados por las

APCs a los LT *naïve*, que se diferencian en LT efectores autorreactivos, que migran al SNC y contribuyen a la patogénesis de la EM. Además, para que se produzca el proceso inflamatorio en el SNC, es necesario que los linfocitos T se reactiven en el interior del compartimento del SNC. Esta reactivación está mediada por células dendríticas que se encuentran en el espacio subaracnoideo.

Las células presentadoras de antígeno que responden a un estímulo inmune, como una infección, aumentan la expresión de moléculas coestimuladoras y del Complejo Mayor de Histocompatibilidad en la superficie celular. Todos estos cambios, dan lugar a un aumento en la interacción entre las CPA y los linfocitos T autorreactivos, de manera que estos linfocitos responden a los antígenos propios que en un principio ignoraron.⁴

- **Mecanismo de entrada de los leucocitos en el SNC**

La barrera hematoencefálica (BHE) es muy restrictiva en cuanto al intercambio de sustancias entre la sangre y el tejido del SNC. Las estrechas uniones entre las células endoteliales de la BHE (y las células epiteliales de la barrera sangre-fluido cerebroespinal), la expresión de transportadores especializados, y la presencia de células inmunes limitan el acceso de las células circulantes al SNC. Sin embargo, las células T activadas son capaces de atravesarla, gracias a que expresan moléculas de adhesión, receptores de quimioquinas (un tipo de citoquinas que median la quimiotaxis) e integrinas.^{1, 4}

- **Cómo se produce el daño axonal**

La patología de la esclerosis múltiple está caracterizada por la pérdida de la vaina de mielina que envuelve a los axones, lo que resulta en una disminución de la conducción nerviosa que da lugar a una degeneración progresiva de las neuronas. Los linfocitos autorreactivos, previamente estimulados en los nódulos linfáticos y que posteriormente han atravesado la BHE y han sido reactivados en el espacio subaracnoideo, son capaces de desencadenar la desmielinización en el interior del SNC mediante diversos mecanismos: liberando gránulos citotóxicos, induciendo la apoptosis (*tras la activación de receptores de superficie como Fas*), liberando citoquinas proinflamatorias como TNF α o mediante el daño directo de los axones.⁷

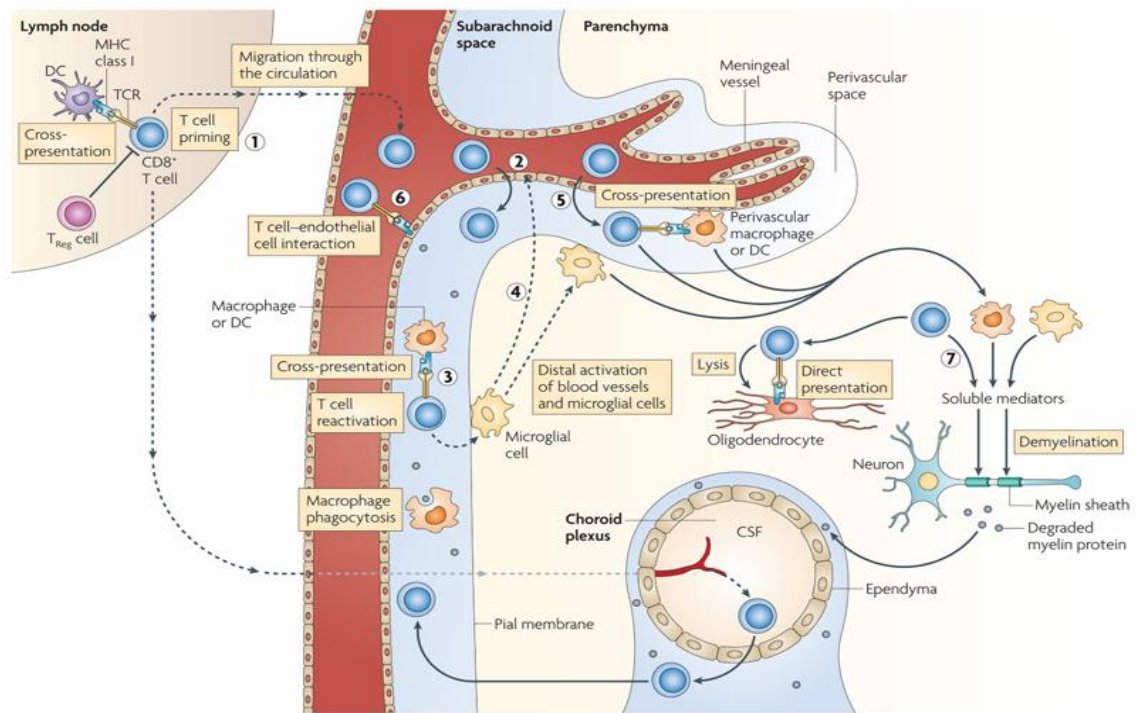


Imagen 1. De Goverman et al.⁴ Se presentan las diferentes “etapas” en las que se produce la patología de la esclerosis múltiple: desde la presentación antigénica en los nódulos linfáticos (1), la activación de las células efectoras en el espacio subaracnoideo (3)(5), hasta la degradación de la mielina por los mediadores de la inflamación (7).

▪ Futuras estrategias terapéuticas

La forma activa de la enfermedad se caracteriza por una desmielinización y neurodegeneración que se ve principalmente en pacientes que presentan un proceso de inflamación acusado en el cerebro. Sin embargo, esto no ocurre así en etapas más avanzadas de la enfermedad cuando el paciente es mayor: en este caso, el proceso inflamatorio pierde importancia llegando a niveles a los que se encuentra en pacientes-control de la misma edad.⁸ Los estudios sugieren que llega un momento en el que la neurodegeneración es independiente de la inflamación en el proceso crónico.⁹ Esto explica por qué las terapias antiinflamatorias son inefectivas a largo plazo, pero sí que son la mejor opción en la prevención del deterioro del paciente en la forma precoz de la enfermedad. Por ello, el objetivo terapéutico en etapas más avanzadas de la enfermedad no es tanto detener el proceso inflamatorio, sino la neuroprotección y neuroregeneración. Con el empleo de las células mesenquimales se busca llegar a este objetivo.¹⁰

USO DE CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES COMO TERAPIA INMUNOMODULADORA.

▪ Características de las células madre mesenquimales (MSC)

Las células madre mesenquimales son un tipo de células madre adultas descritas por primera vez por Friedenstein como células de morfología fibroblastoide¹¹ con la capacidad de diferenciarse en varios tipos celulares incluyendo osteocitos (células óseas)¹², condrocitos (células del cartílago)¹² y cardiomiocitos (células del corazón)^{13, 14} tanto *in vivo* como *in vitro*.

Las características de las células madre mesenquimales (MSC del inglés mesenchymal stem cells) que hacen posible su uso en terapias regenerativas, y en especial en el tratamiento de la esclerosis múltiple, son las siguientes:

1. Capacidad para diferenciarse en varios tipos celulares (multipotencia). Como se ha comentado anteriormente, estas células pueden dar lugar a diferentes líneas celulares, por lo que se encuentra en estudio su capacidad para dar lugar a neuronas, oligodendrocitos y astrocitos¹⁵. Éstos últimos de gran importancia, ya que su función principal es el mantenimiento de la función neuronal: ya sea facilitando el intercambio de oxígeno y nutrientes con el entramado neuronal o promoviendo la regeneración de las conexiones neuronales.
2. Secreción de citoquinas importantes en la hematopoyesis y en la capacidad inmunomoduladora¹⁶. Las más importantes son: el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF del inglés Vascular Endothelial Growth Factor) que estimula la angiogénesis y promueve la regeneración miocárdica en isquemia cardiaca; el TSG-6 (Tumor necrosis factor-stimulated gene-6) que neutraliza los efectos inflamatorios de TFG α y de la IL1; prostaglandina E2 (PGE2) de gran importancia ya que suprime la respuesta inmune (por inhibición feedback tras la activación inmune) mediada por los macrófagos, las células dendríticas, células Th1 y células NK, además de promover las Treg; galectinas 1 y 9, que inhiben el efecto proliferativo de las células T; y por último, las microvesículas generadas por las MSC, que parecen tener propiedades regenerativas gracias a la liberación por parte de éstas de pequeñas moléculas y proteínas asociadas a propiedades terapéuticas^{17,18}.
3. Propiedad inmunomoduladora sobre las células del sistema inmune¹⁷. Además del efecto inmunosupresor local mediado por la secreción de citoquinas, las células madre mesenquimales interfieren en la función de las células dendríticas y de los linfocitos T.

Este efecto se ve potenciado cuando las células son expuestas a un medio inflamatorio caracterizado por la presencia de niveles elevados de interferón- γ .¹⁹

- Las MSC expresan el complejo mayor de histocompatibilidad I (CMHI), pero no el CMHII, lo que inhibe la respuesta de los linfocitos alogénicos: disminuyendo la proliferación, activación y citotoxicidad de los linfocitos Th1 y Th17, a favor de la actividad antiinflamatoria mediada por la IL4 secretada por los LTh2^{3, 17, 18, 20}.
- Modulan la actividad de los linfocitos B, inhibiendo la proliferación y diferenciación de los mismos, de manera que se reduce la cantidad de anticuerpos reactivos a las proteínas de mielina generados por éstos.
- La acción que ejercen sobre las células NK es contradictoria: las células mesenquimales reducen los niveles de IFN γ secretado por las células NK, sin embargo, éstas últimas pueden producir la lisis de las MSC limitando su función.
- La diferenciación de monocitos en células dendríticas se ve inhibida por las MSC. De esta manera, hay una menor cantidad de células dendríticas, lo que reduce la presentación antigénica y la consecuente activación de los linfocitos T.³

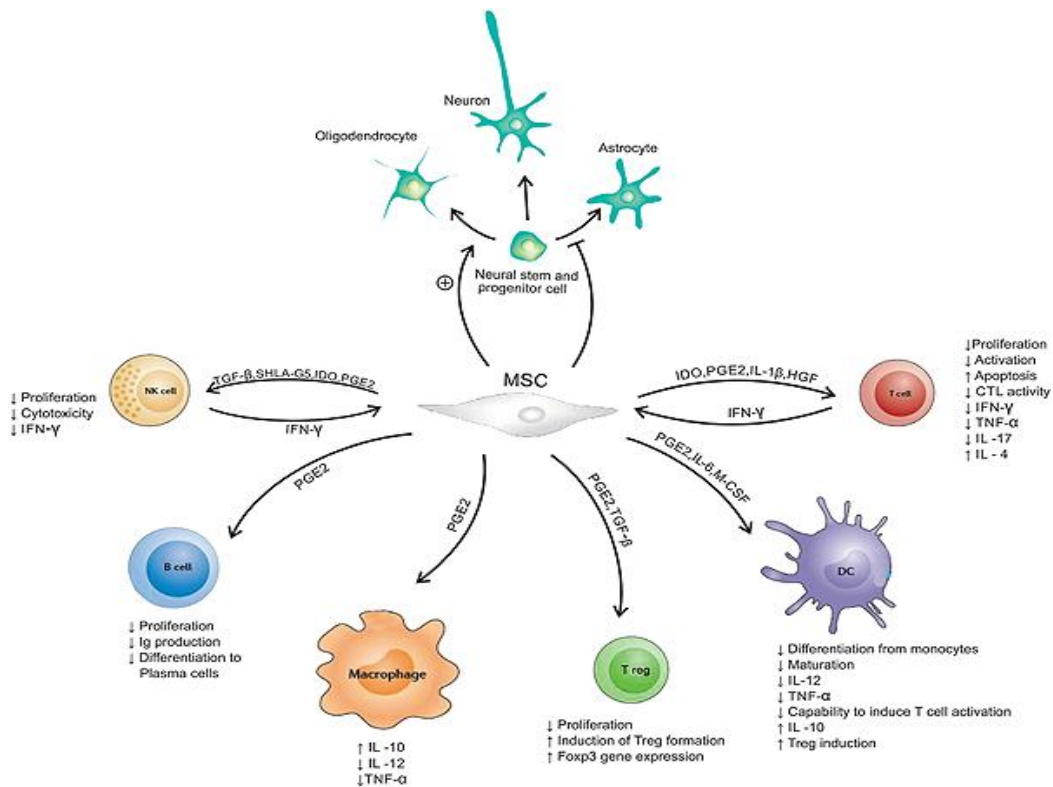


Imagen 2. De Gharibi T et al.¹⁷ Visión general de la influencia de las células madre mesenquimales sobre los diferentes componentes de la respuesta inmune. Se muestran las citoquinas secretadas por las células madre y su efecto inmunomodulador.

4. Capacidad migratoria. Uno de los mayores inconvenientes en cuanto al tratamiento de la esclerosis múltiple, es la dificultad que presentan las diferentes terapias para atravesar la barrera hematoencefálica. Varios estudios *in vivo* han demostrado la conducta migratoria de estas células hacia tejidos que presentan inflamación, de manera que son capaces, tras la inyección intraventricular, de llegar a las zonas inflamadas del cerebro de pacientes con esclerosis múltiple^{21, 22}.

- **Resultados obtenidos en la encefalomiелitis experimental autoinmune.**

La encefalomiелitis experimental autoinmune (EEA) es una enfermedad inflamatoria del sistema nervioso central, mediada por células T y macrófagos que representa el modelo animal de la esclerosis múltiple. Se induce en roedores mediante la inoculación de un extracto que contiene proteína básica de la mielina (del inglés Myelin Basic Protein MBP), lo que desencadena una respuesta inmune mediada por los linfocitos T contra la mielina del SNC. Se producen focos de inflamación y desmielinización con características patológicas que recuerdan a las de la esclerosis múltiple²³.

El efecto neuroprotector de las células madre mesenquimales en modelos de encefalomiелitis experimental autoinmune en ratones ha sido confirmado en varios estudios.

En 2005 Einstein et al. demostraron que las células precursoras neuronales, que habían sido trasplantadas en ratones a los que previamente se les había inducido la EEA, se integraban en la materia blanca del cerebro de manera que disminuían el proceso inflamatorio. Concluyen que esto se debe a la capacidad de las mismas para disminuir la infiltración celular hacia el SNC por una disminución en la expresión de los receptores ICAM-1 y LFA-1. Además, las células precursoras parecen mostrar efectos inhibitorios directos sobre la proliferación de los linfocitos reactivos a la proteína básica de mielina. Por último, destacan la importancia de la habilidad de las células trasplantadas para migrar a los focos activos de inflamación, ya que pese a que los astrocitos poseen propiedades antiinflamatorias *in vitro*, no reducen el curso clínico de la EEA debido a su incapacidad para migrar a las zonas inflamadas del cerebro.²²

En 2008 Kassis et al. testan el potencial terapéutico de las células madre mesenquimales tras su administración intravenosa e intraventricular en modelos de EEA. Los resultados muestran el papel neuroprotector de las células madre, tanto disminuyendo las manifestaciones clínicas de la EAE como previniendo el daño axonal (tabla 1). Además, el efecto neuroprotector

se ve aumentado en el grupo tratado con la inyección intraventricular, por producirse una reducción significativa del infiltrado de células proinflamatorias al SNC¹⁰.

Measure	Intraventricular		Intravenous	
	Controls (n = 31)	Mice Treated With MSCs (n = 22)	Controls (n = 24)	Mice Treated With MSCs (n = 27)
Mean (SE) maximal clinical score ^a	2.80 (0.79)	1.76 (1.01) ^b	3.42 (0.54)	1.8 (0.46) ^b
Mortality, %	13	0 ^c	21	0 ^c

Tabla 1. De Kassis I et al.¹⁰ MSCs: Mesenchymal stromal cells. ^a Puntuación clínica: 0 = asintomático; 1 = pérdida parcial de tonicidad; 2 = parálisis de la cola; 3 = debilidad de los miembros inferiores; 4 = parálisis de los miembros inferiores; 5 = parálisis mayor; 6 = muerte.

Bai et al. en 2009 demuestran la capacidad migratoria de las células madre mesenquimales hacia las lesiones desmielinizantes del SNC, donde regulan el balance de linfocitos T desde los Th1/Th17 autorreactivos hacia los linfocitos Th2. Además, éstas son capaces de alterar la producción de citoquinas y promover la oligodendrogénesis en las áreas lesionadas¹⁸.

Por último, tanto en los estudios de Payne et al. en 2011, como en los de Wang et al. en 2014 se pone en evidencia la importancia de las diferentes moléculas y receptores implicados en la quimiotaxis y la migración de las células mesenquimales. A pesar de las expectativas que éstas ofrecen en la inmunomodulación en experimentos *in vitro*, su potencial se ve disminuido *in vivo* por no expresarse, en las células mesenquimales utilizadas, la integrina $\alpha 4$. Ésta sería necesaria para facilitar la adhesión de las células mesenquimales circulantes a las células endoteliales con receptores VCAMI e ICAMI, los cuales se encuentran sobreexpresados durante la inflamación. De esta manera se facilita la permanencia de las células en los focos de desmielinización^{24, 25}. Sin embargo, es posible aumentar la expresión de dicha integrina o la secreción de determinadas moléculas por las células mesenquimales a trasplantar, mediante un cultivo previo de las mismas sometidas a diferentes condiciones^{16, 26}.

▪ **Aplicación de MSC en el tratamiento de la esclerosis múltiple.**

La habilidad que muestran las células madre mesenquimales, tanto en estudios llevados a cabo *in vitro* como *in vivo* en la regulación del proceso autoinmune, es clave para su empleo en enfermedades como la esclerosis múltiple. Se ha demostrado que éstas son capaces de mejorar la clínica del modelo animal de la esclerosis múltiple, y se muestran como posible tratamiento

en dicha enfermedad. Las células madre mesenquimales pueden inducir la recuperación neuronal en la esclerosis múltiple por diferentes mecanismos: en primer lugar, estimulando la oligodendrogénesis, que promoverá la protección de la vaina de mielina; disminuyendo el número de linfocitos Th1 y Th17, principales responsables de la autoinmunidad hacia las proteínas de la mielina y de la respuesta citotóxica hacia ésta; y por último, incrementando el número de linfocitos Th2 y Treguladores, con el consecuente aumento de la síntesis de citoquinas antiinflamatorias que reducirán el proceso inflamatorio patológico.³

Sin embargo, pese a las características que muestran estas células en el proceso autoinmune, aún no se ha conseguido que la eficacia de las células madre mesenquimales en la esclerosis múltiple sea completa.²⁷ Para lograr una efectividad mayor, que haga que el uso de las células madre mesenquimales se postule como una alternativa real en el tratamiento de estos pacientes, se han llevado a cabo diferentes estudios, en los que se busca un “acondicionamiento” de las células madre mediante cultivos *in vitro* antes de su trasplante.^{16, 26}

- Mediante el cultivo bajo determinadas condiciones que estimulen la actividad terapéutica de las células. Por ejemplo, si las células se ven sometidas a un estímulo de hipoxia, se favorece la secreción por parte de las mismas de determinadas citoquinas, que no se producen si el estímulo es inflamatorio¹⁶.
- Por medio de la formación de agregados de las propias células, el uso de hidrogeles en los medios de cultivo, o el encapsulamiento de las mismas previo trasplante; lo que promueve un microambiente favorable que aumenta su supervivencia.²⁸

ENSAMBLAJE DE LAS CÉLULAS MESENQUIMALES

▪ **Cómo el ensamblaje protege a las células y aumenta su viabilidad *in vivo*.**

El foco de la esclerosis múltiple, donde es necesaria la presencia de las células madre mesenquimales, es un lugar caracterizado por estrés oxidativo, isquemia, inflamación y una gran actividad de la respuesta inmune. Es por ello que se buscan métodos que permitan una integración adecuada de las células madre mesenquimales en el tejido, de manera que se aumente su supervivencia y su retención *in vivo*. Entre estos métodos se encuentran: el cultivo pre-trasplante bajo determinadas condiciones de estrés, la formación de agregados celulares y la encapsulación celular.²⁶

Este trabajo se centra en la encapsulación celular como método eficaz que aumenta la viabilidad *in vivo*, debido a las siguientes ventajas:

- La cápsula constituye un microambiente que permite el intercambio de nutrientes y oxígeno necesarios en la célula, además de que impide la entrada de moléculas y células de la respuesta inmune ²⁹. Esto es importante porque el lugar donde han de llegar las células madre mesenquimales es un foco de inflamación caracterizado por un ambiente hostil de citoquinas y linfocitos citotóxicos. Con la encapsulación se evita la respuesta inmunológica frente a las células implantadas aumentando, por tanto, su viabilidad *in vivo*.
- Es importante que las cápsulas permitan la salida de las moléculas secretadas por las células mesenquimales, ya que éstas serán las responsables de su acción terapéutica. Se convierten en una fuente continua de citoquinas inmunomoduladoras²⁹.
- Por último, con la encapsulación se consigue la inmovilización de las células madre mesenquimales ^{26, 29}, lo que impide su inclusión en tejidos ectópicos que podría dar lugar a la aparición de tumores. Con ello se salvaría la principal desventaja del uso de las células madre mesenquimales: su potencial tumorigénico.

▪ **Materiales en estudio.**

En general, se busca la incorporación de las células en matrices poliméricas, a su vez rodeadas de una membrana semipermeable. En la mayoría de los casos, los materiales utilizados son no biodegradables, ya que lo que se pretende es la protección de las células, no la integración de éstas en el tejido. ²⁹ En cualquier caso, las características que ha de tener la membrana son las mismas, sea cual sea el material que se utilice para componerla:

- Permitir entrada de nutrientes y oxígeno para el mantenimiento de la función celular.
- Permitir salida del producto terapéutico de interés que la célula sintetice.
- Ser biocompatibles, con lo que se intenta impedir el reconocimiento de los antígenos de superficie de las células encapsuladas, disminuyendo el poder citotóxico del SI.

M. Jurga et al. proponen en 2011 la encapsulación de células madre multipotentes en un criogel de laminina. En este caso, no solo se buscaba la protección de las células en el momento del trasplante sino la integración de las mismas en el tejido, y por ello utilizan un gel biodegradable. Estudiaron las diferentes propiedades que hacían de este material una alternativa plausible en el trasplante para la regeneración neuronal: se puede controlar la degradación del criogel mediante el grado de entrecruzamiento de las fibras; el gel favorece tanto la penetración de nutrientes y oxígeno en la matriz donde se encuentran las células, además de que permite la expansión de las mismas; las protege de la respuesta inmune del hospedador además de que permite la reparación del tejido afectado tras su biodegradación sin generar productos tóxicos.³⁰

P. Cabané T et al. realizan una revisión sobre el alginato como material utilizado en la encapsulación celular. Es el más ampliamente estudiado y utilizado, debido a las características favorables que presenta en este cometido: confiere estabilidad y resistencia al ensamblaje, favorece el intercambio de sustancias por su permeabilidad selectiva, proporciona protección a las células por la inmunocompetencia que lo caracteriza y es biocompatible con el huésped.³¹

La capacidad del colágeno como soporte celular fue demostrada en 2011 por C. Shi et al. al comprobar que creaba un microambiente que favorecía la proliferación de las células contenidas.³² Posteriormente, en 2013, J Guan et al. optimizaron las características del soporte de colágeno, de manera que lograra la retención local de las células contenidas y el aumento de su viabilidad. Horas después de la inoculación de las células madre mesenquimales en el animal de estudio, se estudia la distribución de las mismas en los animales control y en tratamiento obteniéndose, mediante técnicas de imagen, los siguientes resultados: se encuentra una mayor concentración de las células madre encapsuladas en el tejido diana que células madre sin encapsular, además de que hay una menor distribución de las mismas a nivel sistémico.³³

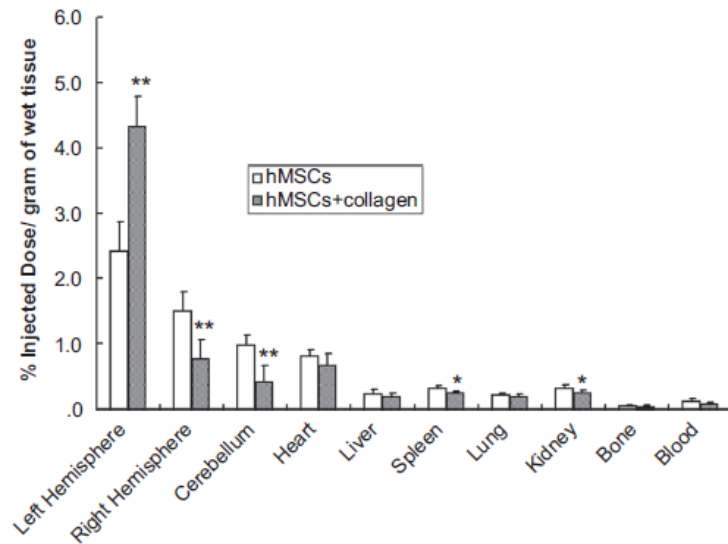


Figura 1. De Guan et al.³³ Distribución en el organismo de las células madre 12 horas después de su inoculación. Se aprecia una mayor cantidad de las mismas encapsuladas con colágeno que sin encapsular en el tejido diana (hemisferio izquierdo).

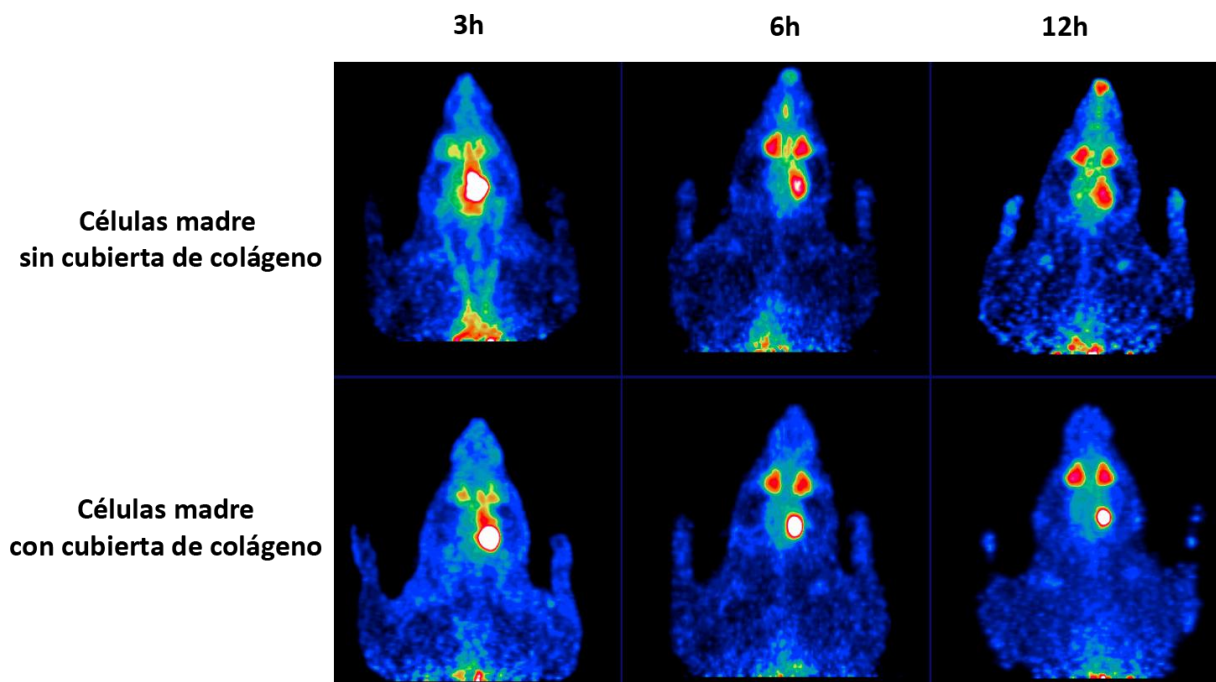


Imagen 3. Modificada de Guan et al.³³ Imagen del animal 3h, 6h y 12h tras la inoculación. Muestra una mayor actividad en la zona dañada cuando las células madre son encapsuladas con colágeno. Éste es capaz de retener las células en el órgano diana.

CONCLUSIONES

La terapia regenerativa celular supone un gran avance en la investigación de nuevas terapias individualizadas por paciente y patología. Con ésta se consigue, no solo la desaparición de la patología, sino la recuperación completa de la funcionalidad de la zona afectada con el consecuente aumento de la calidad de vida del paciente.

Con esta revisión se pretende demostrar la capacidad inmunomoduladora de las células madre mesenquimales (caracterizada por el aumento de los linfocitos T reguladores, disminución de las células y citoquinas proinflamatorias además de la disminución de los infiltrados al SNC). Y se concluye que el uso de éstas en la terapia de la esclerosis múltiple supone una importante vía de desarrollo tanto en el estudio de la enfermedad como en la curación de la misma.

Por último se estudia la posibilidad de aumentar la supervivencia de las células madre mesenquimales trasplantadas en el individuo, de manera que se impida la destrucción de las mismas por el sistema inmune del paciente y que se consiga una mayor retención en la zona de interés. Por ello se estudian diferentes métodos y materiales, entre los que se encuentran: el cultivo pretrasplante y la encapsulación en soportes de colágeno, alginato y laminina. Se concluye que el trasplante de células madre encapsuladas presenta un mayor potencial terapéutico que el trasplante de las mismas solas. Esto es así porque el soporte aumenta la supervivencia celular y minimiza la difusión sistémica de las células, favoreciéndose la retención en el tejido dañado.

Es importante continuar en el estudio de ésta alternativa terapéutica para lograr su máxima efectividad y conseguir resultados óptimos que permitan su uso y hagan de ella un importante tratamiento de la esclerosis múltiple.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) Wu GF, Alvarez E. The immunopathophysiology of multiple sclerosis. *Neurol Clin* 2011;29(2):257-278.
- (2) Chang A, Smith MC, Yin X, Fox RJ, Staugaitis SM, Trapp BD. Neurogenesis in the chronic lesions of multiple sclerosis. *Brain* 2008 Sep;131(Pt 9):2366-2375.
- (3) Al Jumah MA, Abumaree MH. The immunomodulatory and neuroprotective effects of mesenchymal stem cells (MSCs) in experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE): a model of multiple sclerosis (MS). *International journal of molecular sciences* 2012;13(7):9298-9331.
- (4) Goverman J. Autoimmune T cell responses in the central nervous system. *Nature Reviews Immunology* 2009;9(6):393-407.
- (5) O'Connor Jr W, Zenewicz LA, Flavell RA. The dual nature of TH17 cells: shifting the focus to function. *Nat Immunol* 2010;11(6):471-476.
- (6) O'Connor KC, Appel H, Bregoli L, Call ME, Catz I, Chan JA, et al. Antibodies from inflamed central nervous system tissue recognize myelin oligodendrocyte glycoprotein. *J Immunol* 2005 Aug 1;175(3):1974-1982.
- (7) Neumann H, Medana IM, Bauer J, Lassmann H. Cytotoxic T lymphocytes in autoimmune and degenerative CNS diseases. *Trends Neurosci* 2002;25(6):313-319.
- (8) Frischer JM, Bramow S, Dal-Bianco A, Lucchinetti CF, Rauschka H, Schmidbauer M, et al. The relation between inflammation and neurodegeneration in multiple sclerosis brains. *Brain* 2009 May;132(Pt 5):1175-1189.
- (9) Trapp BD, Nave K. Multiple sclerosis: an immune or neurodegenerative disorder? *Annu Rev Neurosci* 2008;31:247-269.
- (10) Kassis I, Grigoriadis N, Gowda-Kurkalli B, Mizrachi-Kol R, Ben-Hur T, Slavin S, et al. Neuroprotection and immunomodulation with mesenchymal stem cells in chronic experimental autoimmune encephalomyelitis. *Arch Neurol* 2008;65(6):753-761.

- (11) Friedenstein AJ, Chailakhyan RK, Latsinik NV, Panasyuk AF, Keiliss-Borok IV. Stromal cells responsible for transferring the microenvironment of the hemopoietic tissues: cloning in vitro and retransplantation *in vivo*. *Transplantation* 1974;17(4):331-340.
- (12) Fibbe WE. Mesenchymal stem cells. A potential source for skeletal repair. *Ann Rheum Dis* 2002 Nov;61 Suppl 2:ii29-31.
- (13) Pittenger MF, Martin BJ. Mesenchymal stem cells and their potential as cardiac therapeutics. *Circ Res* 2004 Jul 9;95(1):9-20.
- (14) Maher KO, Xu C. Marching towards regenerative cardiac therapy with human pluripotent stem cells. *Discov Med* 2013 Jun;15(85):349-356.
- (15) Jori F, Melone M, Napolitano M, Cipollaro M, Cascino A, Giordano A, et al. RB and RB2/p130 genes demonstrate both specific and overlapping functions during the early steps of in vitro neural differentiation of marrow stromal stem cells. *Cell Death & Differentiation* 2005;12(1):65-77.
- (16) Madrigal M, Rao KS, Riordan NH. A review of therapeutic effects of mesenchymal stem cell secretions and induction of secretory modification by different culture methods. *J Transl Med* 2014 Oct 11;12(1):260-014-0260-8.
- (17) Gharibi T, Ahmadi M, Seyfizadeh N, Jadidi-Niaragh F, Yousefi M. Immunomodulatory Characteristics of Mesenchymal Stem Cells and their role in the Treatment of Multiple Sclerosis. *Cell Immunol* 2015.
- (18) Bai L, Lennon DP, Eaton V, Maier K, Caplan AI, Miller SD, et al. Human bone marrow-derived mesenchymal stem cells induce Th2-polarized immune response and promote endogenous repair in animal models of multiple sclerosis. *Glia* 2009;57(11):1192-1203.
- (19) Ryan J, Barry F, Murphy J, Mahon B. Interferon- γ does not break, but promotes the immunosuppressive capacity of adult human mesenchymal stem cells. *Clinical & Experimental Immunology* 2007;149(2):353-363.

- (20) Constantin G, Marconi S, Rossi B, Angiari S, Calderan L, Anghileri E, et al. Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells Ameliorate Chronic Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *Stem Cells* 2009;27(10):2624-2635.
- (21) Ben-Hur T, Einstein O, Mizrachi-Kol R, Ben-Menachem O, Reinhartz E, Karussis D, et al. Transplanted multipotential neural precursor cells migrate into the inflamed white matter in response to experimental autoimmune encephalomyelitis. *Glia* 2003;41(1):73-80.
- (22) Einstein O, Grigoriadis N, Mizrachi-Kol R, Reinhartz E, Polyzoidou E, Lavon I, et al. Transplanted neural precursor cells reduce brain inflammation to attenuate chronic experimental autoimmune encephalomyelitis. *Exp Neurol* 2006;198(2):275-284.
- (23) Constantinescu CS, Farooqi N, O'Brien K, Gran B. Experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) as a model for multiple sclerosis (MS). *Br J Pharmacol* 2011;164(4):1079-1106.
- (24) Payne NL, Sun G, McDonald C, Layton D, Moussa L, Emerson-Webber A, et al. Distinct immunomodulatory and migratory mechanisms underpin the therapeutic potential of human mesenchymal stem cells in autoimmune demyelination. *Cell Transplant* 2013;22(8):1409-1425.
- (25) Wang X, Kimbrel EA, Ijichi K, Paul D, Lazorchak AS, Chu J, et al. Human ESC-derived MSCs outperform bone marrow MSCs in the treatment of an EAE model of multiple sclerosis. *Stem cell reports* 2014;3(1):115-130.
- (26) Sart S, Ma T, Li Y. Preconditioning stem cells for in vivo delivery. *BioResearch open access* 2014;3(4):137-149.
- (27) Mohyeddin Bonab M, Yazdanbakhsh S, Lotfi J, Alimoghaddom K, Talebian F, Hooshmand F, et al. Does mesenchymal stem cell therapy help multiple sclerosis patients? Report of a pilot study. *Iran J Immunol* 2007 Mar;4(1):50-57.
- (28) Sart S, Tsai A, Li Y, Ma T. Three-dimensional aggregates of mesenchymal stem cells: cellular mechanisms, biological properties, and applications. *Tissue Engineering Part B: Reviews* 2013;20(5):365-380.

- (29) Portero A, Orive G, Hernández RM, Pedraz JL. Encapsulación de células para el tratamiento de enfermedades del sistema nervioso central. *Revista de neurología* 2010;50(7):409-419.
- (30) Jurga M, Dainiak MB, Sarnowska A, Jablonska A, Tripathi A, Plieva FM, et al. The performance of laminin-containing cryogel scaffolds in neural tissue regeneration. *Biomaterials* 2011;32(13):3423-3434.
- (31) Cabane P, Alvo A, Neira-Carrillo A, CAVIEDES P, Gac P. Microencapsulación de células y tejido para terapia celular. *Revista chilena de cirugía* 2011;63(1):110-113.
- (32) Shi C, Li Q, Zhao Y, Chen W, Chen B, Xiao Z, et al. Stem-cell-capturing collagen scaffold promotes cardiac tissue regeneration. *Biomaterials* 2011;32(10):2508-2515.
- (33) Guan J, Zhu Z, Zhao RC, Xiao Z, Wu C, Han Q, et al. Transplantation of human mesenchymal stem cells loaded on collagen scaffolds for the treatment of traumatic brain injury in rats. *Biomaterials* 2013;34(24):5937-5946.