

Células madre y reproducción

Stem cells and reproduction

Laura de la Fuente Bitaine¹, Pedro de la Fuente Pérez²

¹Hospital 12 de Octubre. ²Clínica La Luz

RESUMEN

Objetivo: Revisión bibliográfica sobre la implicación de las células madre en reproducción.

Células madre y endometrio: La regeneración que en cada ciclo experimenta el endometrio se lleva a cabo a partir de las células madre acantonadas en la zona basal y en nidos vasculares. Estas proceden de células madre originarias acantonadas nichos perivasculares de la zona basal y posiblemente también a partir de células madre de medula ósea.

Células madre y ovario: Existen datos que abogan por la existencia de ovulogénesis en los mamíferos adultos, incluida la mujer, a expensas de células madre. En algún trabajo se admite la posibilidad de lograr descendencia a partir ovocitos logrados con cultivos de células madre.

(Rev. Iberoam. Fert Rep Hum, 2015; 32; 42-51 © Revista Iberoamericana de Fertilidad y Reproducción Humana)

Palabras clave: *Células madre y reproducción, células madre en ginecología, células madre y síndrome de As-herman, ovulogénesis en mamíferos adultos.*

SUMMARY

Objective: Literature review of stem cells implication in reproduction.

Results:

Stem cells and endometrium: Cyclic endometrium regeneration originates from stem cells quartered in basal zone and vascular nodes and possibly from bone marrow stem cells.

Aceptado: 9/5/15

Correspondencia: Pedro de la Fuente Pérez .

Zeus 15. Las Rozas. 28231. Madrid

SOLICITUD REIMPRESIÓN: Email: editorialmedica@editorialmedica.com

Stem cells and ovary: There are data advocating for the existence of ovulogenesis from stem cells in mammalian adults, including women. Some studies do even consider possibility of obtaining offspring from oocytes coming from stem cells culture.

(Rev. Iberoam. Fert Rep Hum, 2015; 32; 42-51 © Revista Iberoamericana de Fertilidad y Reproducción Humana)

Key words: *Stem cells and reproduction, stem cells in gynaecology, stem cells and Asherman syndrome, oogenesis in mammalian adults.*

INTRODUCCIÓN

Aunque el trasplante de médula ósea se realiza desde hace más de 40 años (1) no ha sido hasta esta última década cuando se han descubierto células madre en la mayoría de los tejidos del organismo, en consecuencia se ha intentado utilizarlas en múltiples patologías con resultados dispares pero casi siempre mediocres; esto ha dado origen a una nueva rama la medicina denominada “Medicina Regenerativa”. Las células madre se han utilizado en infartos de miocardio, en casos de Alzheimer (2), Parkinson (3), lesiones medulares (4) e incontinencia urinaria entre otras muchas (5). La reproducción e infertilidad no ha escapado a esta tendencia aunque su atención data de muy pocos años.

En esta revisión nos proponemos una puesta al día de las células madre en reproducción y sus teóricas posibilidades de ser utilizada de forma terapéutica.

CÉLULAS MADRE Y ENDOMETRIO

Anomalías en la función endometrial son causa de fallos de implantación, abortos de repetición y otras patologías que son causa de infertilidad. El desarrollo de terapias efectivas para la infertilidad por disfunción endometrial requiere conocer los últimos avances en biología celular endometrial así como de las células madre.

El endometrio deriva de la fusión de los conductos de Müller, consta de dos capas: una funcional (con glándulas que llegan hasta la superficie y de un estroma que las soportan) y otra basal también con glándulas, estroma, soporte vascular y agregado linfóide. Son varios los tipos de leucocitos que pueblan el estroma (linfocitos T y B, mastocitos, macrófagos y neutrófilos). El número de leucocitos es mayor en el endometrio durante la fase tardía de secreción y en las fases precoces del embarazo. Fenotípicamente son únicos, entre ellos existen un tejido linfóide específico conocido como células uterinas asesinas naturales (uNK). Estas células juegan un importante papel en el establecimiento y mantenimiento del embarazo durante las primeras fases; aun no se conoce bien su importancia para lograr un embarazo normal ni su linaje ni su origen.

El endometrio se renueva cada mes y es muy posible sea a

expensa de células madre (CM). Hay evidencia de la existencia de células madre en el útero pero se desconoce su localización y origen. La hipótesis de la regeneración periódica del endometrio a partir de CM procedentes del útero se basa en datos experimentales y clínicos. Hartman (1) ve como en monas después de hacer resección completa del endometrio este se regenera en poco tiempo y después de una ablación completa aparecen zonas de endometrio. Padykula y cols (2), usando la incorporación de timidina en monas demuestran un compartimento germinal en la parte baja de la basal cuya actividad persiste después de la ovulación y que no es inhibida por la progesterona.

Es difícil demostrar la existencia de CM adultas porque son muy pocas y por no tener marcadores de superficie específicos, sin embargo pueden demostrarse a través de sus propiedades funcionales: tales como la capacidad de formar colonias en cultivo, su potencial proliferativo y su capacidad para diferenciarse en varios tipos de célula. Chan y cols (3) demostraron que el endometrio humano contiene un número pequeño de células epiteliales (0,22%) y estromales (1,25%) capaces de formar clones en cultivo. Estos pequeños clones celulares poseen un alto potencial proliferativo que comienza por generar células de tránsito y amplificación (3, 4). En sangre menstrual se han descrito células con capacidad endometrial regenerativa que expresan CD9, CD29, CD44, CD59, CD105, Oct-4 y c-kit (5, 6); se ha demostrado que estas células pueden diferenciarse en 9 líneas celulares diferentes: cardiomiocitos, epiteliales respiratorias, neuronales, miometriales, endoteliales, pancreáticas, hepáticas, adipositas y óseas (7).

Las CM endometriales parecen estar localizadas en la capa basal como se deduce del trabajo de Padykula y cols (2) los cuales midieron la proporción de mitosis en las diferentes capas del endometrio de monas, considerando las 4 capas de endometrio descritas por Baltermez y cols (8), llegaron a la conclusión de que en la basal IV se localizan las CM, en la III las células progenitoras, en la II y I las células post-mitóticas. Resultados semejantes obtiene Cervelló y cols en ratonas usando 5-bromo-2-deoxyuridina (9). A la misma conclusión llegan más recientemente Hong y cols en endometriums humanos (10); en 3 mujeres en fase proliferativa, 12 en fase secretora y 15 postmenopáusicas; aislaron el en-

dometrio, lo disgregaron, aislaron fragmentos de glándulas y seleccionaron las células epiteliales con perlas magnéticas. Se hibridó con chip de 22 genes se escanearon y se obtuvieron los datos en el Australian Genoma. Las expresiones de 12 genes fueron diferentes en las mujeres premenopáusicas que en las postmenopáusicas, 9 de ellos tuvieron mayor expresión en postmenopáusicas. Con la inmuno-fluorescencia con Alexa Fluor 594 o Alexa Fluor 488 se observa como la tinción es mayor en la capa basal y endometrio de postmenopáusicas que en la funcional; de donde deducen que es el la basal donde están las CM. Su localización en la zona de la basal en nichos perivasculares y cuando se activan pueden proliferar y dar origen a epitelio glandular y estroma.

Si se tiene en cuenta que el endometrio se genera en cada ciclo durante los 35 a 40 años de vida reproductiva de la mujer, parece lógico pensar que el potencial proliferativo debe agotarse a lo largo de los años. El origen de las CM no está esclarecido completamente, es posible que a las CM presentes en el tejido endometrial se les sumen, de forma continua u ocasional, CM procedentes de la médula ósea.

Existe evidencia de que las células mesenquimales de la médula ósea (MSC) pueden generar células endometriales de novo. Du y Taylor (11) identifican cromosoma Y en el endometrio de ratonas a las que se le habían transplantado MSC de ratones machos a los seis meses del trasplante. similares resultados obtuvieron Mints y cols (12), transplantando médula ósea de ratones a ratonas e identificando en ellas células endometriales con cromosoma Y. Bratinsák y cols (13) crean un conejo transgénico con todas las células CD45 que coexpresan la proteína verde fluorescente y demuestran que más del 80% de células del epitelio endome-

trial derivan de las células hematopoyéticas progenitoras. Por último en el laboratorio se ha podido comprobar la capacidad de células derivadas de médula ósea para diferenciarse en células endometriales maduras.

En humanos existen también trabajos que demuestran el origen, al menos parcial, de células procedentes de médula ósea. El Taylor (14), en mujeres transplantadas con médula ósea de mujeres a las que se realizaron biopsias de endometrio, se identificaron, mediante el HLA, células de donante en el endometrio. Ikoma y cols (15), en tres mujeres a las que se les había tratado con quimio y radioterapia y trasplante de médula ósea de varones, después de haber realizado terapia hormonal sustitutiva al menos durante seis meses, utilizando hibridación in situ fluorescente, identificaron evidencias de células con cromosomas Y en el epitelio endometrial en el 0,6 %, 2,6 % y 8,4 % y células estromales en el 8-2 %, 9,2 % y 9,8 % de cada una de las tres pacientes. Cervelló y cols (16) en 5 mujeres trasplantadas también con células de médula ósea de varones y utilizando FISH en biopsias realizadas entre 42 y 210 meses después del trasplante, encuentra una proporción de células estromales con cromosoma Y entre el 1 % y el 1,83 % y de células epiteliales entre el 0,45 % y el 1,07 %; los autores llegan a la conclusión de que la contribución de las células de médula ósea como regeneradoras de CM endometriales debe de ser muy pequeña (figura nº 1). No obstante debe tenerse en cuenta que estas mujeres fueron sometidas a quimioterapia y radioterapia que deben cercenar las células transplantadas, esto explicaría los bajos porcentajes de células encontrados

Las células del estroma que se generan en cada ciclo y durante las primeras fases del embarazo experimentan cam-

FIGURA 1

El porcentaje de células con cromosoma Y es bajo pero mayor entre las estromales que en las epiteliales

MSC DE TRASPLANTES DE MEDULA OSEA DE VARON DETECCIÓN DEL CROMOSOMA Y EN CÉLULAS DEL ENDOMETRIO

Ikoma et al. *Am Obstet Gynecol* 2009; 201: 608

Trasplantada Nº	Tiempo en meses Trasplante-Legrado	C. Epiteliales XY	C. Estromales XY
1	116	2,6%	9,2%
2	33	54%	9,8%
3	54	9,6%	8,2%

Cervelló et al *PLoS one* 2012; 7: e 30260, Epub 2012 Jan 19

1	132	1,07%	1%
2	30	0,5%	1,67%
3	210	0,81%	1,42%
4	116	0,85%	1,77%
5	45	0,45%	1,83%

bios en cuanto al número y características. Las células tipo fibroblastos cuando se produce la implantación se hacen más grandes y redondeadas (decidualización). Durante la fase de secreción y de forma especial durante la implantación aumenta el número de dendritas, macrófagos, células T y de forma especial las NK.

Células NK uterinas

Las células NK son uno de los componentes clave del sistema inmune, expresan CD56 y CD16, este último (marcador cito-tóxico), tienen también NKp39, NKp44 (activadores de marcadores celulares) y L-sentine (molécula de adhesión) eliminan células infectadas por virus y células cancerosas mediante la secreción de sustancias cito-tóxicas (17). Las células NK uterinas tienen un fenotipo y función diferentes, no expresan CD16 expresan otros marcadores como HLA-DR, CD69, NKp46 y NKG2D menos cito-tóxicos pero conservan el potencial proliferativo (18).

Mientras en la sangre periférica el porcentaje de células NK oscila alrededor del 5-10 % en la decidua es mayor del 40% (19). El número de NK aumenta de forma paulatina a partir de la ovulación, periodo de implantación para alcanzar su máximo al final del primer trimestre y a partir de aquí desciende a medida que la gestación llega a término (figura nº 2). Su distribución no es uniforme en la mucosa uterina se

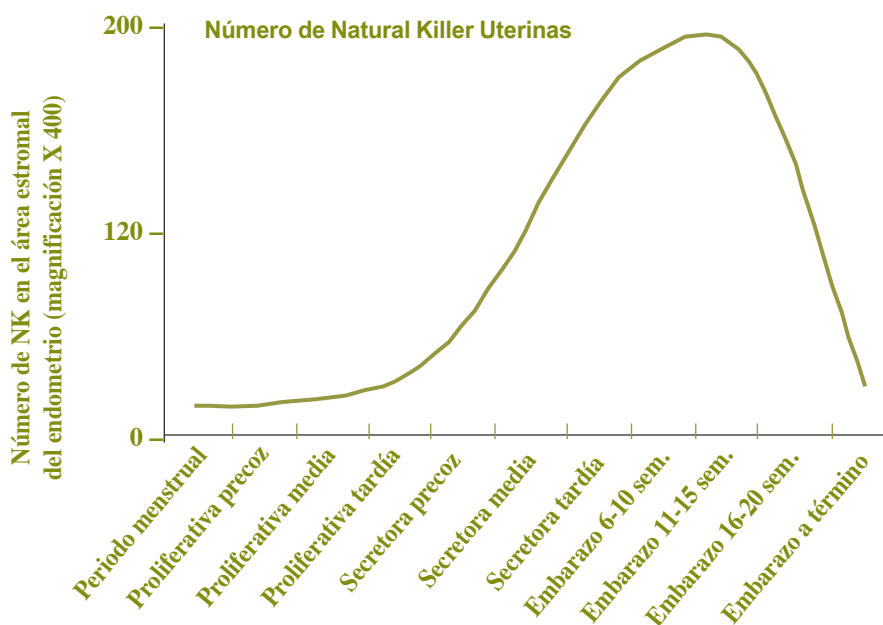
acumulan preferentemente en la zona de la interfase feto-materna.

Durante las primeras fases del embarazo la NK deciduales contribuyen a la construcción, remodelación y formación de nuevos vasos gracias a la liberación de interleuquina-8, factor vascular de crecimiento, factor-1 derivado de células del estroma e interferón gamma inductor de proteína-10. Las NK juegan un papel importante en el proceso de implantación, invasión de y remodelación de las arterias espirales, la tolerancia al alo-injerto que constituye el feto y mantenimiento del embarazo.

Cuando el blastocisto se pone en contacto con el endometrio las células endometriales segregan IL-15 que transforma las NK endometriales en NK deciduales, estas cambian haciéndose menos tóxicas y segregando citoquinas, quimiquitas y otras sustancias que son las que contribuyen a la implantación y mantenimiento del embarazo (figura nº 3). Se relaciona el déficit funcional de las NK con la preclampsia y los abortos de repetición, aunque no existe evidencias de la utilidad clínica que estos conocimientos puedan tener, existe un trabajo realizado en ratones transgénicos tglu 26, que tiene una alteración genética con una frecuencia menor del 1 % de NK uterinas y un 64 % de pérdidas fetales. Con un trasplante de médula ósea se restauró el déficit de NK en sangre circulante y en decidua; en estas ratonas se logró un

FIGURA 2

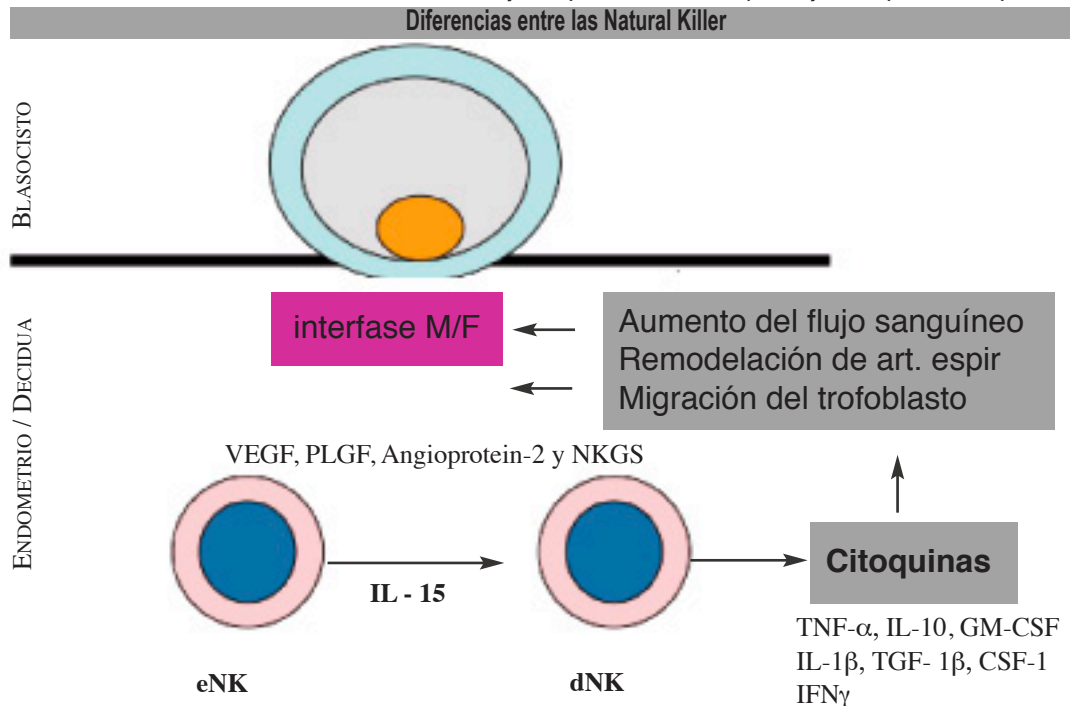
Número de células asesinas (NK) en las diferentes fases del ciclo y a lo largo de la gestación



Tomado de Lee et al Clin Exp Reprod Med 2011; 38:119-25

FIGURA 3

Al entrar en contacto el cito-trofoblasto las NK uterinas se convierten en NK deciduales y estas producen sustancias que influyen en el proceso de implantación



aumento del tamaño de sus placentas, aumento de NK deciduales, aumento de la vascularización placentaria y el porcentaje de embarazos fue similar a los de las ratonas normales en las que se logró corregir el defecto de NK (20).

Reconstrucción endometrial con células madre

Si se admite que las células madre endometriales/progenitoras son las responsables de la regeneración del endometrio su disminución puede originar una disminución de su grosor menor de 7 mm, y disfunción que le hace incapaz de soportar la implantación del embrión. En los casos de endometrios cicatriciales es lógico pensar que exista una disminución de SC y de receptores E2, un ejemplo es el síndrome de Asherman (adhesión intrauterina) en el que suele producirse una alteración de la función endometrial con trastornos menstruales y esterilidad.

Traumas del endometrio que incluyan la capa basal y las más superficiales del miometrio puede producirse por curetaje en postparto, aborto, ablación endometrial, la infección e inflamación puede inhibir la regeneración del endometrio traumatizado; se puede producir una adhesión intrauterina originando una obliteración completa de la cavidad conocida como síndrome de Asherman. Este causa

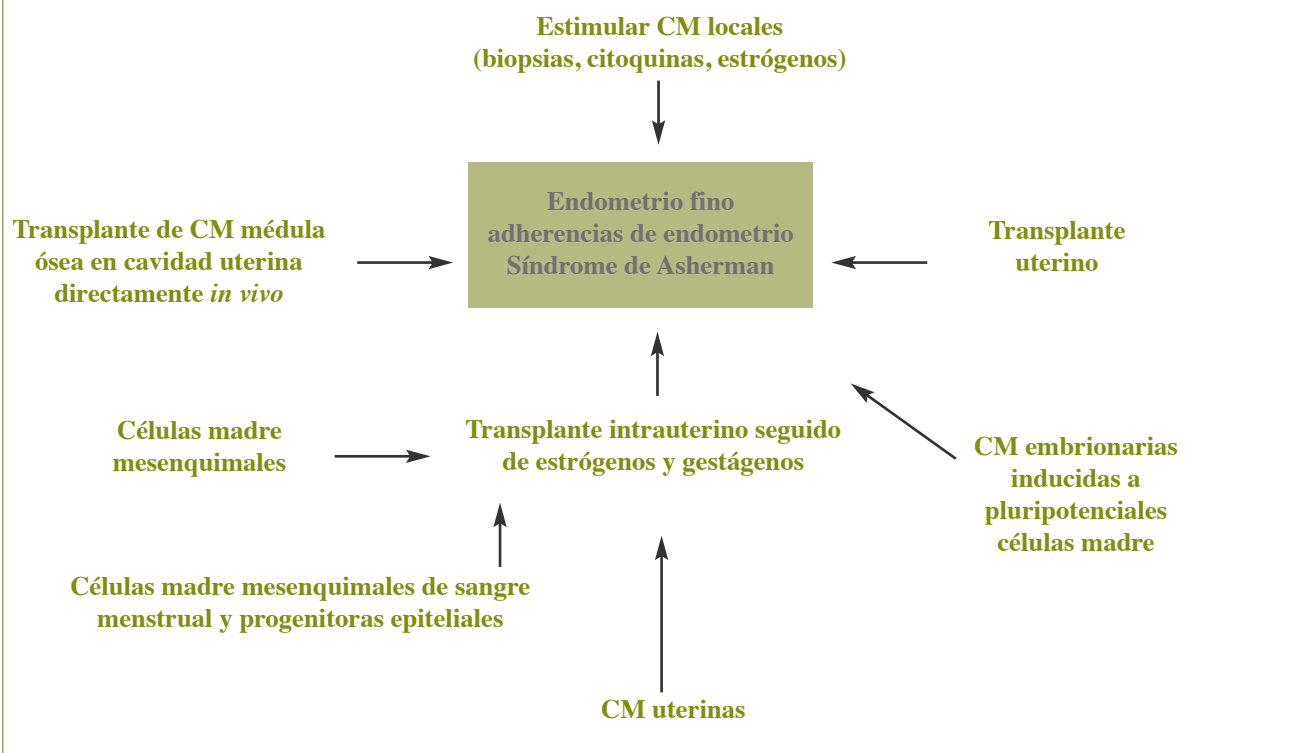
amenorrea y esterilidad, existen grados de adhesión localizados que afectan a zonas más o menos amplias del endometrio que también pueden ser causa de hipomenorrea, amenorrea, esterilidad y pérdida de embarazo. El tratamiento de esta patología consiste en deshacer las adherencias, colocar un dispositivo intrauterino y administrar estrógenos más gestágenos, de esta forma se obtiene la regeneración del endometrio, se recuperan las reglas normales y la capacidad de embarazos en un buen porcentaje de casos. El mecanismo por el cual se regenera el endometrio es doble por un lado está el estímulo que constituye el trauma endometrial, como demostraron Barash y cols. obteniendo el doble de embarazos y fetos vivos con FIV haciendo biopsias seguidas de estímulo con estrógenos y gestágenos (21); pero existe un importante porcentaje de casos que no responden a este tipo de tratamiento. Para estos casos las diferentes opciones del tratamiento con CM madre podría ser una solución (Fig. n°4).

Existen dos casos de síndrome de Asherman tratados con células madre autólogas: el de Nagori y el de Gargett. Nagori y cols (22) a una mujer con severo síndrome de Asherman tratada previamente con legrado y colocación de DIU, seguido de tratamiento hormonal durante 6 meses, el endo-

FIGURA 4

Posibilidades terapéuticas con células madre de diferentes procedencias. El trasplante de útero como el tratamiento con células madre se encuentran aún en fase experimental

Terapias posibles del Síndrome de Asherman



metrio solo alcanza un grosor de 3,5 mm.; ante el fracaso deciden como alternativa terapéutica tratarla con células madre autólogas aisladas de médula ósea, las CM endometriales angiogénicas fueron separadas mediante procedimientos inmuno magnéticos. Después de un legrado, estas células se transfirieron dentro de la cavidad uterina bajo control ecográfico y se siguió con ciclos de hormonoterapia. Se desarrollo un endometrio de 8 mm. de grosor con buena vascularización y se transfirió un embrión. En la ecografía posterior se comprueba, mediante ecografía la existencia de un embrión con latido y vesícula vitelina. Los autores concluyen: las CM angiogénicas aisladas de CM adultas autólogas pueden regenerar el endometrio dañado que no responde al tratamiento convencional del síndrome de Asherman.

El caso de Gargett y cols (23), se trata de una mujer con esterilidad primaria con fallo ovárico a la que se le había practicado una dilatación de cerviz y legrado por hipomenorrea. En la histeroscopia se encuentra unas severas adherencias que se deshacen, se coloca un DIU y se administran 6 ciclos artificiales con estrógenos y progesterona; el endometrio no

responde siendo su grosor máximo de 3,2 mm. Se decide hacer otros 6 ciclos aumentando la dosis de valerianato de estradiol llegando el endometrio a un grosor de 3,6 mm; ante el fracaso se decide tratamiento con CM adultas autólogas. Se seleccionaron células de médula ósea con tres marcadores diferentes: CD9, CD90 y CD133 en un intento de aislar células promotoras de angiogénesis. Las CD133 son células madre raras hemopoyéticas promotoras de células endoteliales, las CD90 y las CD9 se seleccionaron de CM mesenquimales y fibroblastos. Esta mezcla de fibroblastos, CM mesenquimales y CM promotoras de células angiogénicas se transfirió en la cavidad uterina después de realizar un legrado; para estimular la regeneración se administraron grandes dosis de valerianato de estradiol. Después de 4 ciclos el endometrio tiene un grosor de 6,9 mm y un aumento de la vascularización valorado con Doppler color. Se transfirieron tres embriones y se hizo un soporte con estrógenos y gestágenos; a las 8 semanas se visualiza un embrión normal.

Cabe preguntarse si la regeneración del endometrio se produjo porque la mezcla de célula transplantadas formó pequeños nichos perivasculares que después, estimulados por

las altas dosis de estrógenos, proliferaron diferenciándose en células epiteliales y del estroma; o bien, estas células proporcionaron factores tróficos tales como promotores de angiogénesis, factores que previenen la apoptosis de las células endometriales o de crecimiento que inducen la proliferación de las células madre o progenitoras locales para remplazar las células que se han perdido con el legrado ya que, como hemos visto, el trauma endometrial puede actuar como estimulante para la proliferación de las células madre y regeneración del endometrio.

OVARIO Y CÉLULAS MADRE

En 2004 Johnson y cols (24) publican que en ratones ovocitos y folículos se pueden renovar en ovarios de mamíferos después del nacimiento. Echan, así, por tierra lo que hasta ahora había sido un dogma “en los mamíferos las células germinales no se renuevan después del nacimiento”. Las mujeres al nacimiento tienen unos 400 000 folículos y a partir de ahí se van perdiendo hasta que se agotan y con ello llega la menopausia. Johnson calcula el número de folículos no atrésicos y los atrésicos de la ratona adulta y llega a la conclusión de que si no se regeneran los folículos se deberían agotar a los 40 días de vida, llega así a la conclusión de que las células germinales y los folículos se renuevan después del nacimiento.

Eggan y cols (25) en 2006 ponen en duda estos resultados haciendo circulación cruzada en ratonas una normal y otra que expresa la proteína verde fluorescente (GFP); a los 6-8 meses la quimera hematológica se ha producido y las ratonas normales no tienen ovocitos GFP positivos y las otras sí. La segunda parte del experimento consiste en a la ratona normal tratarla con ciclofosfamida/bisulfan con lo cual eliminan los folículos de sus ovarios, 7 días después hacen la circulación cruzada, 2 semanas ó 2 meses después estimulan la ovulación con gonadotropinas; los ovocitos de la rata no GFP no son fluorescente mientras que los de la GFP lo son. En este trabajo al menos se demuestra que las ratonas que reciben sangre después de haber sido tratadas con ciclof/bisul recuperan la ovulogénesis.

Los que están a favor de la ovulogénesis postnatal en mamíferos argumentan la posibilidad de generar ovocitos a partir de células madre y la existencia de células madre en el ovario. En efecto se han generado ovocitos y folículos in vitro a partir de células pluripotentes en ratonas (26), de células madre de piel de cerdo (27), de células madre de páncreas de rata (28). Los trabajos de Kerr y cols (29) también van a favor de que los folículos y los ovocitos se renuevan en las ratonas adultas; estos autores contaron el número de folículos primordiales ratonas desde los 1 hasta 100 días de

vida, para ello utilizaron un marcador de meiosis, antígeno nuclear de células germinales (GCNA) y antígeno de proliferación nuclear (PCNA), se descartaron los ovocitos GCNA que indicaban una incompleta maduración meiótica. El número de folículos primordiales entre los días 7 y 100 no fue significativamente diferente; esto indica la asistencia de una neovulogénesis que compensa el número de folículos que se atresian. Parecen definitivos los trabajos de Bukosky y cols (30). Cultivando células obtenidas por raspado de ovarios de mujeres histerectomizadas logra obtener ovocitos y folículos

Hay evidencias de que en el ovario adulto existen células madre. Johnson y cols (24) las encuentran en la superficie ovárica en ratonas VASA. Niikura y cols (31) publican la existencia de células premeióticas que se transforman en ovocitos en los ovarios de ratonas. Más recientemente Zou y cols (32) aíslan, en el ovario de ratonas VASA, línea germinal de células madre que cultivadas durante más de 15 meses al transplantarlas a ratonas tratadas con bisulfan dieron crías vivas; lo cual demuestra la oogénesis postnatal. Pacchiarotti y cols (33) han demostrado la existencia de líneas células madre en los ovarios post natales de ratonas; usando ratonas transgénicas que expresaban la proteína verde (GFP) fluorescente con el indicador de células madre OCT-4. Obtienen tres tipos de células GFP-OCT-4 positivas, una pequeña de 10-15 μm , otras medianas de 20-30 μm y un tercero de 50-60 μm ; el análisis de haploidía mediante la citometría de flujo demostró que el 70 % de las células eran ovocitos tetraploides y el 30 % células madre diploides.

Según Bhartiya y cols (34) en el ovario de los mamíferos existen dos tipos de células madre embrionarias multipotenciales las muy pequeñas (VSEL) y las progenitoras más grandes (OGSC), la síntesis de la oogénesis y constitución del folículo en mamíferos adultos se haría de la siguiente manera: a partir de las células madre embrionarias localizadas en la superficie ovárica, cuando se produce un entorno favorable producido por citoquinas y otros mediadores bioquímicos las OGSC proliferan, realizan la meiosis y células de la superficie ovárica se diferencian en mesenquimales, el conjunto se diferencian constituyendo el folículo primordial (fig nº 5).

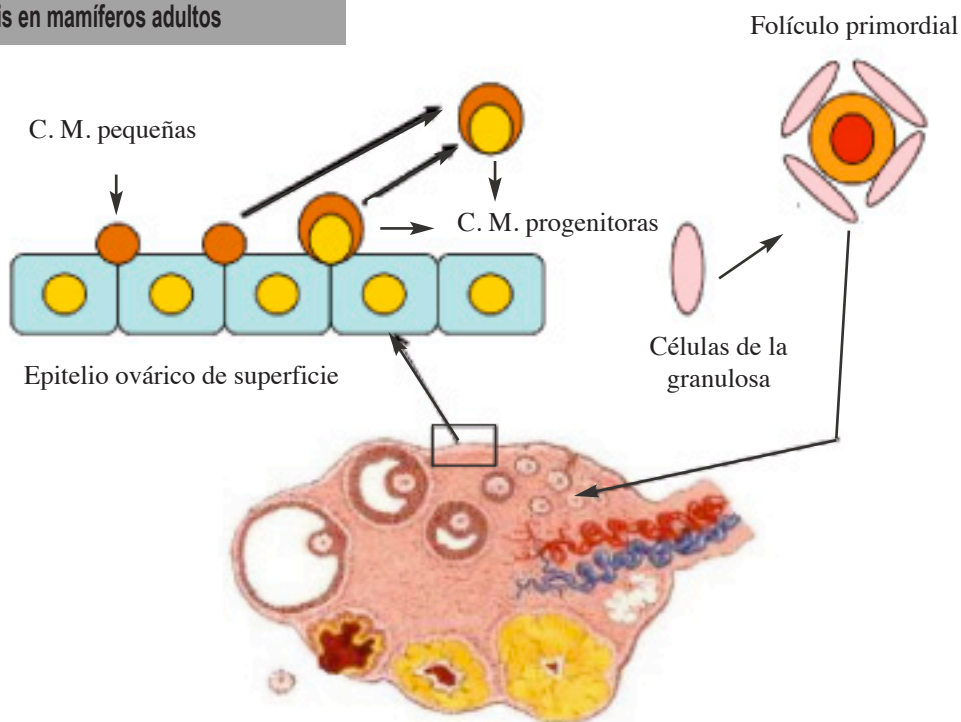
Descendencia a partir de células germinales de ovarios neonatales

Biólogos y parejas estériles están esperanzados con la posibilidad de obtener gametos a partir de células madre pluripotenciales y así poder engendrar niños sanos en el futuro, cabe preguntarse si esto es más ciencia ficción que una realidad. Existen algunos trabajos que atisban esta posibilidad, Zou y cols (32) establecieron una línea de células

FIGURA 5

Esquema teórico de la formación de folículo a partir de las células madre de las superficies del ovario

Ovogénesis en mamíferos adultos



Esquema deducido de los trabajos de: Bukovsky et al. *Reprod Biol Endoc Endocrinol* 2004; 2: 1-30. y Bhartiya y cols *Obstet Gynecol Int.* 2012; 2012: ID 921082, doi: 10.1155/2012/921082

madre germinales de ratonas adultas y las cultivaron durante 6 meses, estas células fueron infectadas con virus con proteína verde fluorescente, se transplantaron a ratonas en las que se produjo ovogénesis y descendencia que tuvieron la proteína transgénica verde fluorescente.

Lee y cols (35) en ratonas tratadas con quimioterapia recuperan su fertilidad con trasplante de médula ósea, pero se demostró que toda la descendencia tenía el origen de las ratonas tratadas y no el del trasplante de médula. Veitia y cols (36) publican el caso de una mujer joven con una anemia de Fanconi radiada y con ciclofosfamida a la que se realizó un trasplante de médula ósea. A los 6 años del trasplante tuvo su primera regla y a los 20 años nació una niña sana. El análisis demostró que la niña era genéticamente igual que la madre y no de los donadores de la médula. Resultados similares los encontraron Fu y cols (37) con la misma metodología. Más recientemente Santiquet y cols (38) en ratonas en las que produjeron inmunodeficiencia con quimioterapia y tratadas con trasplante de médula ósea, no generaron nuevos ovocitos pero sí influyó en la fi-

siología ovárica y restituyó la fertilidad. Estos resultados se pueden explicar si se considera que las VSEL autólogas que existen en varios tejidos adultos incluido el ovario como puede demostrarse fácilmente mediante raspado de la superficie ovárica (39). Estas células sobreviven a la quimioterapia y el trasplante de médula ósea aporta al ovario el microambiente que estimula su proliferación y diferenciación en ovocitos.

A pesar de los trabajos de Jhonson cols (40) y de los de Lee y cols (41) en los que llegan a la conclusión de que las células de médula ósea pueden generar ovocitos, la mayoría cree que el trasplante de médula ósea puede promover la proliferación y diferenciación de las células progenitoras de ovocitos acantonadas en el ovario, (fig. nº 6).

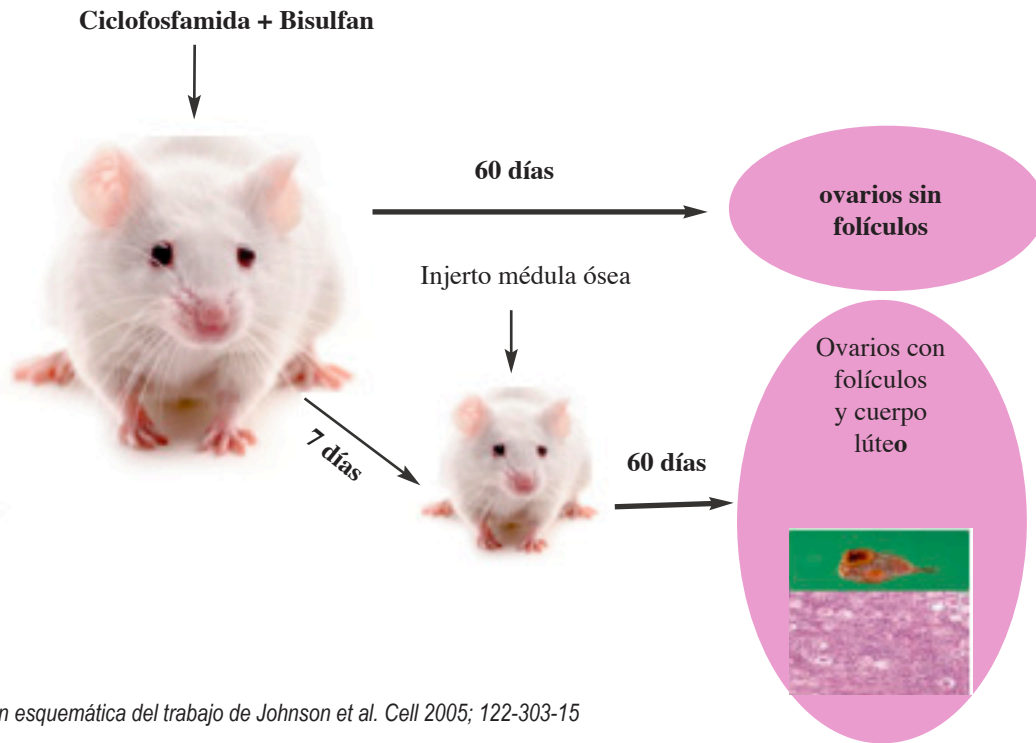
Posible tratamiento del fallo ovárico

El término de síndrome de ovario resistente se utiliza en las mujeres con amenorrea primaria o secundaria, elevación de los niveles de FSH, cariotipo 46 XX, útero y vagina normales, sin enfermedad autoinmune y con presencia de nume-

FIGURA 6

En ratones a los que se les ha provocado la destrucción folicular farmacológica se hicieron dos grupos, a uno de ellos a los 7 días se le realizó trasplante de médula ósea. Observados los ovarios de ambos grupos a los 60 días, en el tratado con trasplante de médula ósea se comprobó la existencia de folículos y cuerpo lúteo mientras que en el otro no encontraron folículos

Generación de ovocitos a partir de células de médula ósea



Representación esquemática del trabajo de Johnson et al. Cell 2005; 122-303-15

rosos folículos en la biopsia ovárica. En algunas de estas mujeres el defecto radica una anomalía en los receptores FSH que hacen insensible al ovario a la FSH; Aittomaki y cols han encontrado una mutación de C a T en el nucleótido 566 del exón 7 del gen del receptor FSH localizado en el cromosoma 2p; esta mutación disminuye la actividad del receptor FSH. Esta compleja anomalía se hereda con carácter autosómico recesivo; puede expresarse clínicamente por anomalías en la pubertad, amenorrea primaria, secundaria o esterilidad (42).

Una de las posibles aplicaciones de las células madre en reproducción podría ser en este tipo de anomalía; a ello dan pie los resultados del trabajo Ghadami y cols (43); estos autores utilizaron una variedad de ratonas portadora de una mutación del gen del receptor de FSH llamada FORKO (follicleotropin receptor knockout), estos animales tienen útero y ovarios pequeños, niveles altos de FSH y bajos de estrógenos y son estériles porque su ovulogénesis está parada en los estadios primarios. A estas ratonas les realizaron trans-

plante de médula ósea de ratonas sanas; pudieron constatar un aumento del peso del útero, un descenso de los niveles de FSH, aumento de los estrógenos, aumento del tamaño de los ovarios así como la presencia de folículos maduros y de cuerpos lúteos. Estos resultados abren la posibilidad de tratar a estas mujeres con esta variedad de fallo ovárico, pero se necesitan muchos más trabajos de investigación antes de que pueda atisbarse la posibilidad de su aplicación clínica.

BIBLIOGRAFÍA

1. Hatman CG, Regeneration of the monkey uterus after surgical removal of the endometrium and accidental endometriosis. West J Surg Obstet Gynecol 1944; 52: 696-??
2. Padycula HA, Coles LG, Okulicz WC, Rapaport SI, Mc Cracken JA, King NW et al. The basis of the primate endometrium: A bifunctional geminal compartment. Biol Reprod 1989; 40: 681-90.
3. Chan RW, Schwab KE, Gargett CE. Clonogenicity of human endometrial epithelial and stromal cells. Biol Reprod 2004; 70: 1738-50.

4. Gargett CE. Stem cells in gynaecology. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2004; 44: 380-6.
5. Meng X, Ichim TE, Rogers A, Yin Z, Jackson J, Wang H et al. Endometrial regenerative cells: a novel stem cell population. *J Transl Med* 2007; 5: 57 (doi:10.1186/1479-5876-5-57).
6. Murphy MP, Wang H, Patel NA, Kambhampati S, Chan K, Marleau AM et al. Allogeneic endometrial regenerative cells: "Off the shelf solution" for critical limb ischemia? *J Transl Med* 2008; 6: 45 (doi: 10.1186/1479-5876-6-45).
7. Allickson J, Xiang Ch. Human adult cells from menstrual blood endometrial tissue. *Biomed Biothechnol* 2012; 13: 419-20.
8. Bartelmez GW. The phases of the menstrual cycle and their interpretation in terms of the pregnancy cycle. *Am J Obstet Gynecol* 1957; 74: 931-37.
9. Cevelló J, Martínez-Conejero JA, Horcajadas JA, Pellicer A, Simon C. *Hum Reprod* 2007; 22: 45-51.
10. Nguyen HPT, Sprung CN, Gargett CE. Differential expression of Wnt Signaling Molecules between Pre- and Postmenopausal endometrial epithelial cells suggests a population of putative epithelial stem/progenitor cells reside in the basal layer. *Endocrinology* 2012; 153: 1-14.
11. Du H, Taylor HS. "Contribution of bone marrow-derived stem cells to endometrium and endometriosis. *Stem Cells* 2007; 25: 2082-6.
12. Mints M, Jansson M, Sadghi B, Wetsgren M, Uzunel M, Hassan M and Palmblad J. Endometrial endothelial cells are derived from donor stem cells in a bone marrow transplant
13. Bratincsák MJ, Brownstein R, Cassiani-Ingoni R, Pastorino S, Szalayova I, Tóth ZE. "CD45-positive blood cells give rise to uterine epithelial cells in mice". *Stem Cells* 2007; 25 :2820-6.
14. Taylor HS. Endometrial cells derived from donor stem cells in bone marrow transplant recipients. *JAMA* 2004; 292: 81-5.
15. Ikoma T, Kyo S, Maida Y, Ozaki S, Takakura M, Nakao S et al. Bone marrow-derived cells from male transplant recipients.
16. Cervelló I, Gil-Sanchis C, Mas A, Faus A, Sanz J, Moscardó F et al. Bone marrow-derived cells from male donors do not contribute to the endometrial side population of the recipient. *PLoS One* 2012; 7(1) e30260.
17. Manaster I, Mandelboim O. The properties of uterine NK cells. *Am J Reprod Immunol* 2010; 63: 434-44.
18. Lee JiY, Lee M, Lee Ski. Role of endometrial immune cells in implantation. *Clin Exp Reprod Med* 2011; 38: 119-125.
19. Hanna J, Goldman-Wohl D, Hamani Y, Avraham I, Greefield C, Natason-Yaron S et al. Decidual NK cells regulate key developmental processes at the human fetal-maternal interface. *Natural Med* 2006; 12: 1065-71.
20. Guimond MJ, Wang B, Croy BA. Engraftment of bone marrow from severe combined immunodeficient (SCID) mice reverses the reproductive deficits in natural killer cell-deficient tgw26 mice. *J Exp Med* 1998; 187: 217-23.
21. Barash A, Granot I, Fieldust S, Or YO. Successful pregnancy and delivery of healthy baby after endometrial biopsy treatment in an in vitro fertilization patient with severe Asherman syndrome. *Fertil Steril* 2009; 91:1956e1-e3.
22. Negori Ch B, Panchal SY, Patel H. Endometrial regeneration using autologous adult stem cells followed by in vitro fertilization in a patient of severe Asherman's syndrome. *J Hunan Reprod Sci* 2011; 4: 42-8.
23. Gargett CE, Healy D. Generating receptive endometrium in Asherman's syndrome. *J Human Reprod sci.* 2011; 4: 49-52.
24. Johnson J, Canning J, Kaneko T, Pru JK, Tilly JL. Germline stem cells and follicular renewal in the post natal mammalian ovary. *Nature* 2004; 428: 145-50.
25. Eggen K, Jurga S, Gosden R, Min IM, Wagers A. Ovulated oocytes in adult mice derive from non-circulating germ cells. *Nature* 2006; 44: 1109-14.
26. Hübner K, Fuhrman G, Christenson LK, Kehler J, Reinbold R, de la Fuente R et al. Derivation of oocytes from mouse embryonic stem cells. *Science* 2003; 300: 1251-56.
27. Dyce PW, Wen L, Li J. In vitro germline potential of stem cells derived from fetal porcine skin. *Nature Cell Biology* 2006; 8: 384-90.
28. Danner S, Kajahn J, Geismann E, Klink E, Kruse C. Derivation of oocyte-like cells from a clonal pancreatic stem cell line. *Molecular Human Reprod* 2007; 13: 11-20.
29. Kerr JB, Duckett R, Myers M, Britt KL, Mladenovska T, Findlay K. Quantification of healthy follicle in the neonatal and adult mouse ovary: evidence for maintenance of primordial follicle supply. *Reproduction* 2006; 132: 95-109.
30. Bukovski A, Svetlikova M, Caudle R. Oogenesis in cultures derived from adult human ovaries. *Reprod Biol Endocrinol* 2005; 3: 17 (doi:10.1186/1477-7827-3-17).
31. Niikura Y, Niikura T, Tilly JL. Aged mouse ovaries possess rare premeiotic germ cells that can generate oocytes following transplantation into a young host environment. *Aging (Albany NY)* 2009; 1: 971-8.
32. Zou K, Yuan Z, Yan Z, Luo H, Sun K, Zhou L et al. Production of offspring from a germline stem cell line derived from neonatal ovaries. *Nature Cell Biology* 2009; 11: 631-36.
33. Pacchiarotti J, Maki C, Ramos T, Marh J, Howerton K, Wong J et al. Differentiation potential of germ line stem cells derived from the postnatal mouse ovary. *Differentiation* 2010; 79: 159-70
34. Bhartiya D, Sriraman K, Parte S. Stem cell interaction with somatic niche may hold the key to fertility restoration cancer patients. *Obstet Gynecol Int* 2012; 2012, ID 921082, doi:10.1155/2012/921082
35. Lee HJ, Selesniemi K, Niikura T, Klein R, Dombkowski DM, Tilly JL. Bone marrow transplantation generates immature oocytes and rescues long-term fertility in a preclinical mouse model of chemotherapy-induced premature ovarian failure. *J Clin Oncol* 2007; 25: 3198-3204.
36. Veitia RA, Gluckman E, Fellous M, Soulier J. Recovery of female fertility after chemotherapy, irradiation, and bone marrow allograft: further evidence against massive oocyte regeneration by bone marrow-derived germline stem cell. *Stem Cell* 2007; 25: 1334-5.
37. Fu X, He Y, Xie C, Liu W. "Bone marrow mesenchymal stem cell transplantation improves ovarian function and structure in rats with chemotherapy-induced ovarian damage". *Cytotherapy* 2008; 10: 353-63.
38. Santiquet N, Vallières L, Pothier F, Sirard MA, Robert C, Richard F. Transplanted bone marrow cells do not provide new oocytes but rescue fertility in female mice following treatment with chemotherapeutic agents. *Cell Reprogram* 2012; 14: 123-9.
39. Parte S, Bhartiya D, Telang J, Daithankar V, Salvi V, Zaveri K et al. "Detection characterization and spontaneous differentiation in vitro of very small embryonic-like putative stem cell in adult mammalian ovary. *Stem Cell Develop* 2011; 20: 1453-64 Johnson J, Bagley J, Skaznik-Wikiel M et al. Oocyte Generation in Adult Mammalian Ovaries by Putative Germ Cells in Bone Marrow and Peripheral Blood. *Cell* 2005; 122: 303-15.
40. Johnson J, Bagley J, Skaznik-Wikiel M et al. Oocyte Generation in Adult Mammalian Ovaries by Putative Germ Cells in Bone Marrow and Peripheral Blood. *Cell* 2005; 122: 303-15.
41. Lee HJ, Selesniemi K, Niikura Y, Niikura T, Klein R, Dombkowski DM et al. Bone marrow transplantation generates immature oocytes and rescues long-term fertility in a preclinical mouse model of chemotherapy-induced premature ovarian failure. *J Clin Oncol.* 2007;25:3198-3204.
42. Aittomaki K, Herva R, Stenman UH. Clinical feature of primary ovarian failure caused by a point mutation in the follicle-stimulating hormone receptor gene. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 3722-26.
43. Ghabami M, El-Demerdash E, Zhang D, Salama SA, Binhazim AA, Archibong AE et al. Bone marrow transplantation restores follicular maturation and steroid hormones production in a mouse model for primary ovarian failure. *Plos ONE* 7(3): e32462. doi: 10.1371. epub 2012 Mar 7