



FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

GRADO EN MEDICINA

TRABAJO FIN DE GRADO

**Desarrollo embrionario de las células madre
de la sangre**

Embryonic development of blood stem cells

Autor: D. José García Carrasco

Director/es: Dr. Juan Antonio
García-Porrero Pérez

Santander, Junio 2015

Agradecimientos

Al doctor García-Porrero por aceptarme en la realización de este trabajo, por su paciencia, orientación y plena disponibilidad, y por abrirme un mundo mucho más apasionante de lo imaginado.

A mi familia por el apoyo incondicional recibido durante estos años de carrera y especialmente a mis padres, quienes con paciencia y buena mano me han guiado por el camino correcto.

ORIGEN EMBRIONARIO DE LAS CÉLULAS MADRE DE LA SANGRE

Índice

1. Introducción.....	1
2. La búsqueda del lugar de origen de las células madre de la sangre.....	2
2.1. Hipótesis del saco vitelino.....	2
2.2. Evidencias sobre el origen intraembrionario de las HSC.....	4
2.2.1 Modelo en embriones de aves (experimentos y observaciones)....	4
2.2.2 La búsqueda de la fuente de HSC en mamíferos.....	5
2.2.3 Modelo en embriones de mamíferos (experimentos y observaciones).....	6
3. Conexión del origen de los vasos sanguíneos y las células hematopoyéticas ...	10
4. Hipótesis del hemangioblasto	11
5. Hipótesis del endotelio hematógeno	13
6. Aplicaciones clínicas	14
7. Conclusiones	15
8. Bibliografía.....	16

Resumen.

Las células madre de la sangre representan una de las líneas celulares con mayor capacidad de renovación y diferenciación del organismo. Son generadas en fases tempranas del desarrollo embrionario y perduran durante toda la vida, dando lugar a las diferentes células que componen la sangre y que realizan funciones muy dispares. El origen exacto de estas células madre ha sido muy estudiado a lo largo de la reciente historia de la medicina moderna, tanto por la importancia de conocer el ambiente en el que aparecen, como por las posibles aplicaciones frente a enfermedades de la sangre. Aquí tratamos de abarcar y organizar las hipótesis más relevantes en cuanto al origen de las células madre hematopoyéticas, desde la hipótesis del saco vitelino hasta la búsqueda del origen intraembrionario; los experimentos más importantes que han dado lugar a dichas hipótesis así como las líneas de investigación más modernas sobre el hemangioblasto y el endotelio hematógeno así como el origen común de la sangre y los vasos sanguíneos.

Abstract.

The hematopoietic stem cells are one of the cell lines with greater capacity for renewal and differentiation of the organism. They are generated in the early stages of embryonic development and persist throughout life, giving rise to the different cells that make up blood and perform very different functions. The exact origin of these cells has been studied throughout the history of modern medicine, so the importance of knowing the environment in which they appear, such as possible applications against blood diseases. In this review, we include and organize the most relevant hypotheses regarding the origin of hematopoietic stem cells, from the yolk sac hypothesis to the search of intraembryonic origin; the most important experiments that have led to these hypotheses and the lines for current research about the hemangioblast and the hematogenous endothelium as well as the common origin of the hematopoietic stem cells and the blood vessels.

Key words: hematopoietic stem cells (HSC), yolk sac, intraembryonic origin, hemangioblast, hematogenous endothelium.

1. Introducción.

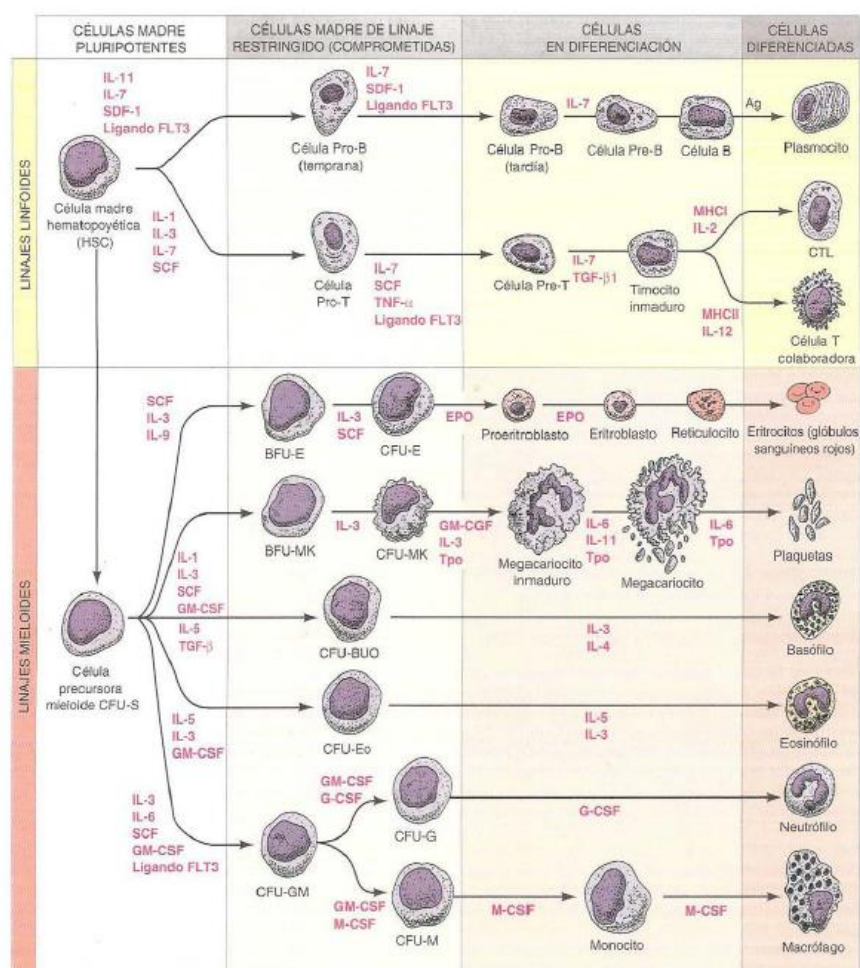
En el presente trabajo se realiza una actualización bibliográfica acerca del origen embrionario de las **células madre hematopoyéticas** cuyo objetivo es acercar al lector a esta tema ampliamente investigado. Abordaremos desde los primeros acercamientos que dieron lugar a la hipótesis del **saco vitelino**, hasta los estudios actuales sobre el **origen intraembrionario** de dichas células, desarrollados a partir del experimento de Dieterlen-Lièvre realizado en 1975. También se incluyen aquí la hipótesis del origen común de vasos sanguíneos y células de la sangre, así como los últimos estudios acerca del endotelio con capacidad hematógena.

Concepto de células madre.

Las células madre son células con capacidad de autorrenovación, es decir, son capaces de perpetuarse produciendo células similares a ellas mismas y células capaces de seguir diferentes líneas de diferenciación dando lugar a células maduras que formarán tejidos. La célula madre crítica en la hematopoyesis es la célula madre hematopoyética pluripotencial (en adelante **HSC**, del inglés, *hematopoietic stem cell*) [1].

Breve idea de los tipos de células sanguíneas originadas en médula ósea.

Las HSC dan lugar a células comprometidas que se dividen para dar lugar los diferentes componentes de la sangre. Éstas son dependientes del factor de transcripción SCL, así los ratones deficientes para esta proteína mueren por déficit de todas las líneas celulares sanguíneas. La HSC puede dividirse y dar lugar a células precursoras mieloides CFU-S, células Pro-B (temprana) y Pro-T. Las células CFU-S son también consideradas células madre ya que aún no están comprometidas y pueden dar lugar a diferentes tipos celulares (eritrocitos, plaquetas y leucocitos de la serie mieloide). La progenie inmediata de las CFU-S son células comprometidas que ya sólo pueden dar lugar a un tipo de estirpe celular, pero siguen manteniendo la capacidad de autorrenovación. De este modo, las células BFU-E, BFU-MK, CFU-BUO, CFU-Eo y CFU-GM están comprometidas a producir células de una única estirpe, pero pueden autorrenovarse y perpetuarse [1].



Pero, ¿de dónde vienen estas células madre de la sangre que colonizan la médula ósea y permanecen allí toda la vida dando origen a tan variadas estirpes de celulares? ¿En qué lugar y en qué momento del desarrollo embrionario se forman?

2. La búsqueda del lugar de origen de las células madre de la sangre.

2.1. Hipótesis del saco vitelino.

El saco vitelino procede de la masa celular interna y se origina durante el periodo de cavitación en la segunda semana del desarrollo. Cuando el embrión alcanza la morfología de disco bilaminar, se observa en la parte ventral del mismo, el hipoblasto y en la dorsal, el epiblasto [2]. Al noveno día de fecundación, las células del hipoblasto comienzan a propagarse, dando lugar al saco vitelino primario que recubre la superficie interna del citotrofoblasto. En este punto el embrión cuenta con dos cavidades: la amniótica en la región dorsal, y el saco vitelino en la ventral, formando el disco germinal bilaminar en el centro. Poco después, el saco vitelino primario sufre una constricción que da lugar al saco vitelino secundario y a un resto del primario [2].

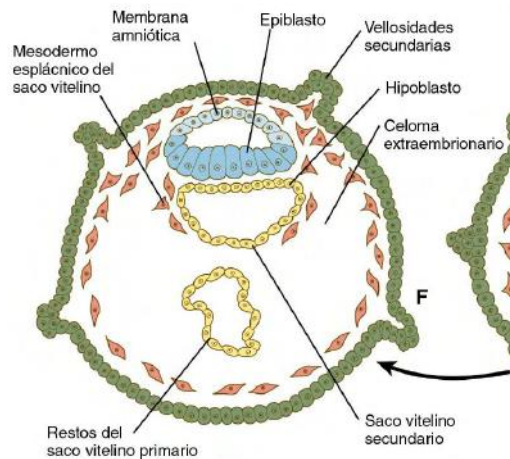


Fig 2. Formación del saco vitelino.

Extraído de [2]

La hipótesis del saco vitelino se basa en las células sanguíneas que se producen en los islotes sanguíneos del dicho saco. Las células del endodermo del saco vitelino producen la molécula *Indian hedgehog*, la cual actúa sobre las células mesodérmicas del saco vitelino activando la producción de *BMP-4* [2]. Como resultado a esta activación, aparecen pequeños islotes sanguíneos constituidos por células progenitoras llamadas **Hemangioblastos**. Estas células son bipotenciales, mientras que las de la periferia de dichos acúmulos se diferencian hacia células de características endoteliales, las centrales son las responsables de la hematopoyesis primitiva.

Los mencionados islotes van creciendo y fusionándose para constituir los canales vasculares definitivos que se extienden hacia el cuerpo del embrión. Los islotes del saco vitelino producen eritrocitos grandes y nucleados que penetran en el embrión antes de que se establezca el latido del tubo cardíaco [2]. Además de eritrocitos, en el saco vitelino también se producen progenitores mieloides, los cuales migran al SNC donde forman la línea celular correspondiente a la microglía [3]. Los macrófagos procedentes del saco vitelino contribuyen a formar el pool epidérmico que da lugar a las células de Langerhans, del mismo modo ocurre en el hígado dando las llamadas células de Kupffer [3]. Estas tres líneas celulares no siguen las vías marcadas por los progenitores HSC ya que son independientes del factor de transcripción *c-myb* [3].

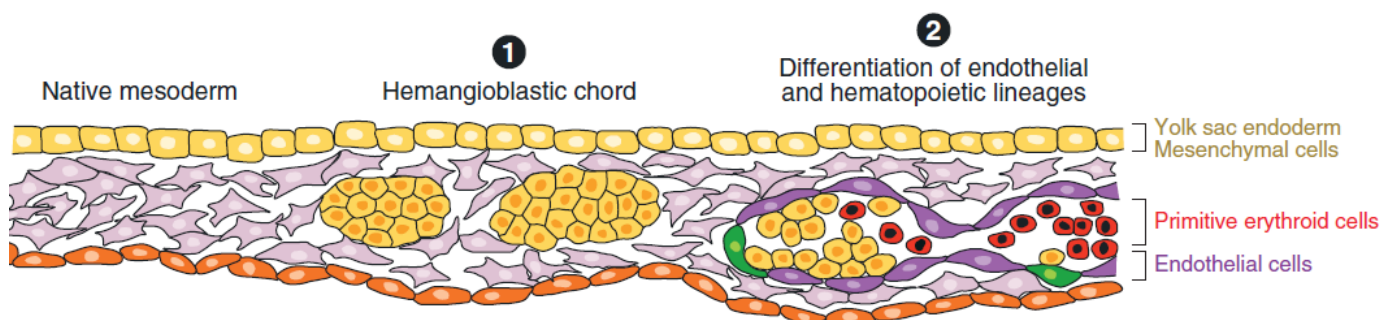


Fig 3. Islotes sanguíneos del saco vitelino. Extraído de [39]

2.2. Evidencias sobre el origen intraembrionario de las HSC.

Hasta la publicación de Dieterlen-Lièvre en 1975 [4], se aceptaba el hecho de que las células hematopoyéticas adultas provenían del saco vitelino, pero con el descubrimiento de Dieterlen-Lièvre se abrió toda una nueva línea de investigación acerca del origen intraembrionario de las HSC.

2.2.1. Modelo en embriones de aves (experimentos y observaciones).

Quimeras codorniz-pollo.

Este modelo de experimento fue usado por primera vez en 1975 por Dieterlen-Lièvre, quien usó quimeras incluyendo un embrión de codorniz dentro del área extraembrionaria de un huevo de pollo antes de la aparición de los islotes sanguíneos del saco vitelino y su conexión con el cuerpo del embrión [5]. Este tipo de quimeras se basan en que el nucléolo de las células de codorniz es fácilmente distinguible, mediante tinción, del nucléolo de las células de pollo, obteniéndose así un marcador biológico natural [5].

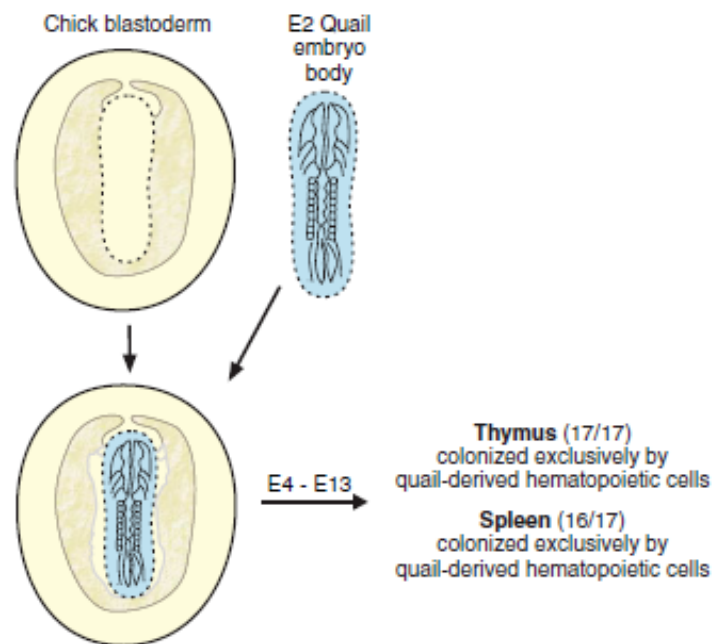


Fig 4. The avian yolk sac chimera experiment.

Extraído de [5]

En el momento en que las células hematopoyéticas alcanzaban el bazo y el timo, estos tejidos eran estudiados en busca de células de codorniz o de pollo para saber de dónde procedían las HSC (células de codorniz procedentes del cuerpo embrionario o células de pollo procedentes del saco vitelino). De las 17 quimeras estudiadas, todas contenían exclusivamente células de codorniz, excepto en un bazo, en el cual se observaban células de pollo entre las de codorniz.

Este experimento establece que la hematopoyesis llevada a cabo en el saco vitelino sólo contribuye temporalmente a la hematopoyesis fetal, siendo de origen intraembrionario la hematopoyesis definitiva [6 y 7].

¿De dónde provienen estas células hematopoyéticas intraembrionarias?

En estudios posteriores de embriones de ave podemos diferenciar a nivel morfológico dos procesos hematopoyéticos intraembrionarios sucesivos: en primer lugar aparece un agregado de células intravasculares en relación con la cara ventrolateral del endotelio aórtico durante E3-E5; en segundo lugar aparece un foco difuso en la región dorsal de la mesentérica durante E5-E8 [8].

2.2.2. La búsqueda de la fuente de HSC en mamíferos.

Concepto de esplacnopleura paraaórtica (SPa).

Esta región fue descrita como productora de células hematopoyéticas antes del estudio de Dieterlen-Lièvre, pero su estudio fue abandonado en pro de la teoría del saco vitelino [5]. Tras el trabajo sobre las quimeras codorniz-pollo, en 1975, se abrió una corriente de estudios sobre esta zona del cuerpo del embrión.

La esplacnopleura paraaórtica está compuesta de células del endodermo y del mesodermo. En esta región del cuerpo embrionario existen precursores hematopoyéticos desde E8.5-10 [8]. A principio de los años 90 diferentes investigadores demostraron esta actividad en el embrión de ratón, recibiendo la zona en cuestión dos nombres: esplacnopleura paraaórtica (SPa), en el estadio E8; y región AGM (Aorta-Gónadas-Mesonefros) en E9 [5].

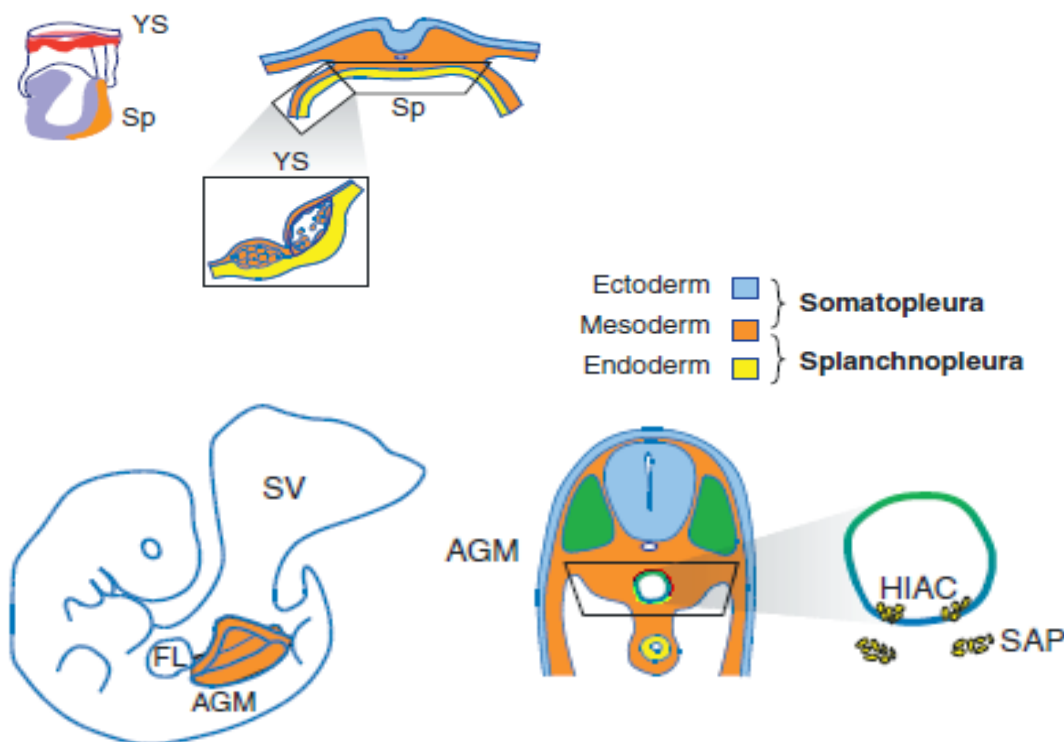


Fig 5. Esplacnopleura paraaórtica y región AGM.

YS: yolk sac; Sp: splanchnopleura; FL: fetal liver; HIAC: hematopoietic intra-aortic clusters; SAP: subaortic patches.

Extraído de [39]

Las células progenitoras pluripotentes halladas en esta región poseen la capacidad de producir una reconstitución a largo plazo de todas las líneas celulares sanguíneas en embriones recipientes previamente irradiados [5]. La esplacnopleura paraaórtica produce los primeros progenitores linfomiéloides pluripotentes antes del

establecimiento de la circulación embrionaria [9]. En torno a E10.5, la región AGM comienza a producir HSC muy similares a las que encontramos en los adultos [10].

Se han encontrado evidencias in vitro e in vivo acerca de la existencia de progenitores hematopoyéticos en la esplacnopleura paraaórtica [12 y 13]. Tras la extracción de la SPa, los embriones no dieron lugar a más progenitores, mientras que en el saco vitelino siguieron aumentando las HSC, demostrándose así la independencia de los progenitores de ambas zonas.

Por tanto, en esta región se observan HSC antes de que se establezca la circulación entre el embrión y el saco vitelino. Además, estas HSC poseen capacidad de reconstitución a largo que no observamos en las HSC que aparecen en el saco vitelino [13].

La doble fuente: sangre primitiva y definitiva.

Con el estudio de las quimeras codorniz-pollo se establece que las primeras células hematopoyéticas que aparecen, proceden de la región extraembrionaria (saco vitelino); poco después aparecen células hematopoyéticas en territorios intraembrionarios, algunas de las cuales pueden ser detectadas en el saco vitelino [5].

Los resultados sugieren dos oleadas de proliferación de HSC: una primera y transitoria procedente del saco vitelino, y una posterior en el cuerpo del embrión que será la definitiva [5]. La segunda oleada de proliferación de HSC tiene lugar en tejidos cercanos a la aorta dorsal (SPa) durante el intervalo de tiempo entre la aparición de los islotes sanguíneos en el saco vitelino y la colonización de los órganos hematopoyéticos fetales por parte de las HSC de origen extraembrionario [4 y 11].

2.2.3. Modelo de embriones en mamíferos (experimentos y observaciones).

Debido a las diferencias entre los embriones de ave y ratón, estos últimos deben ser estudiados haciendo cultivos de tejidos embriónicos individuales [5]. De este modo, tras el descubrimiento de la actividad hematopoyética en la aorta dorsal del embrión de ave, se abre una corriente de estudios sobre esa misma zona en mamíferos.

En un estudio sobre las fuentes intraembrionarias de HSC en ratones se hallaron dos grupos de células con características hemopoyéticas: uno en la luz de varias arterias en la región del tronco y otro en el mesenterio, ambos durante los días 9.5 y 11.5 tras la concepción [8]. El tamaño de estos grupos de HSC puede variar significativamente según su localización, siendo los de mayores de unas 5 capas de grosor.

HSC de la luz de las arterias:

<i>Arterias</i>	<i>Onfalomesentérica</i>	<i>Aorta dorsal</i>	<i>Umbilical</i>
<i>Tiempo</i>	E9.5-E10.5	E9.5-E11	E10-E11.5
<i>Tamaño máx.</i>	E10.25	E10.5	
<i>Localización</i>	Capa ventral del endotelio	Caras anterolateral izquierda y derecha	Adyacente a la cavidad celómica
<i>Tamaño</i>	1/5-1/2 de la luz	<1/2 luz	1/3 luz

Tabla 1. Arterias intraembrionarias con actividad hematopoyética.

En todas las agrupaciones de HSC incluidas en la tabla, la parte exterior queda limitada por células endoteliales o directamente por las propias células hemoyéticas. Todos los grupos celulares hallados son comparables y presentan varios tipos celulares, siendo el más frecuente el de células grandes y redondas [8]. Del mismo modo, el patrón de crecimiento observado es común en todas las agrupaciones. *(ver figura 6 en página siguiente)*

Del mismo modo que ocurre en las aves, los focos intraarteriales se localizan en la cara anterolateral de los vasos. Otra similitud reside en las células que rodean los agregados, que cuentan con una estructura diferente de las células endoteliales, similares a la de los vasos inmaduros, las cuales se hallan desprovistas de lámina basal [14]

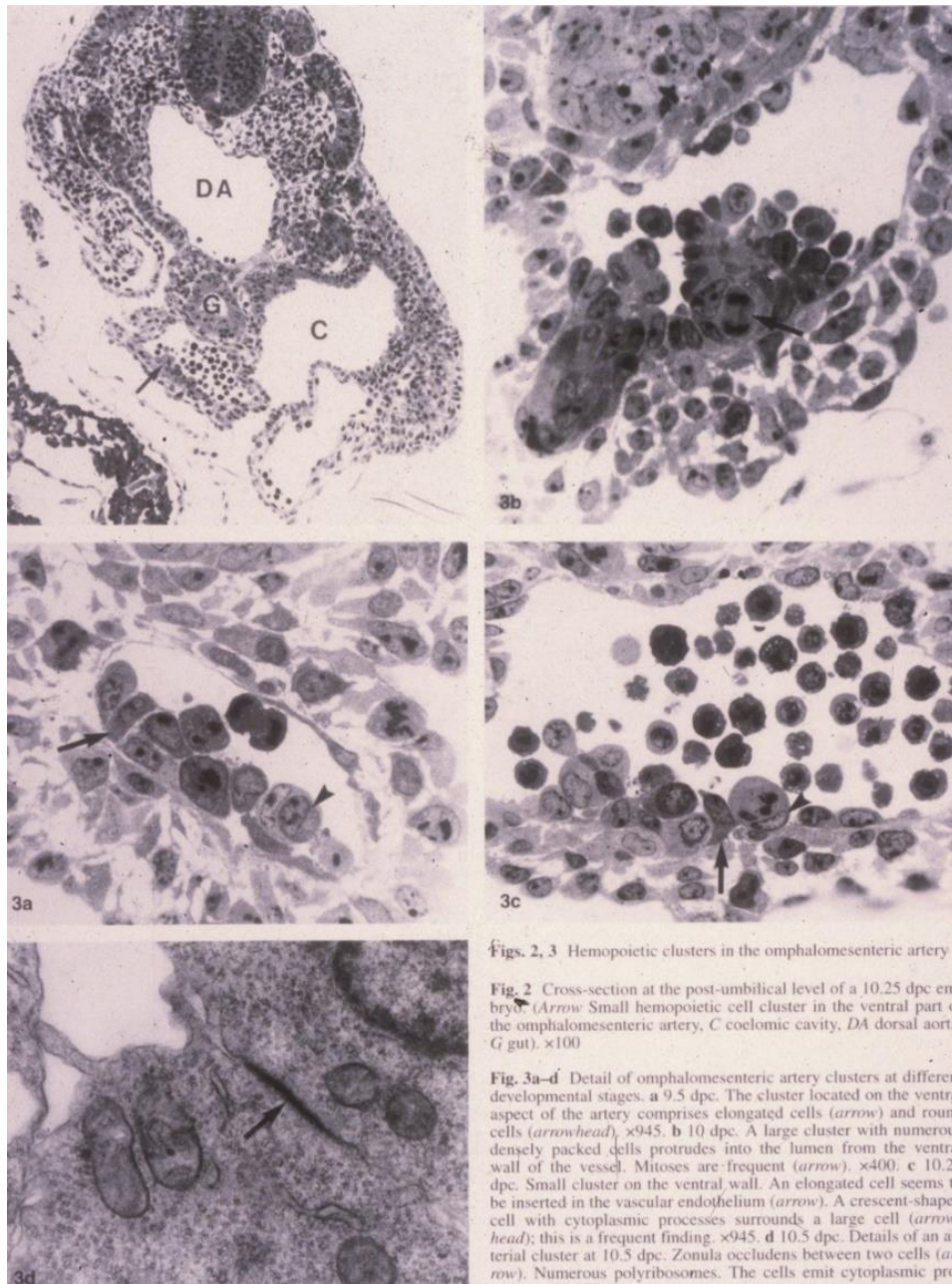


Fig 6. Acúmulos hematopoyéticos en arterias intraembrionarias.

DA: dorsal aorta; C: coelomic cavity; G: gut.

Extraído de [8]

Experimentos en embriones humanos.

En el embrión humano, se identificaron células adheridas a la cara ventral del endotelio aórtico que mostraban antígenos de superficie y expresión de genes tipificados como progenitores primitivos [15]. Estos acúmulos aparecen en el día 27 de gestación, previamente a la instauración de la hematopoyesis hepática, lo que hace pensar que estos progenitores colonizan el hígado y establecen la hematopoyesis definitiva [16].

En este estudio [17] se muestra que el saco vitelino humano produce, exclusivamente, progenitores con potencial limitado de desarrollo, mientras que las líneas procedentes del territorio aórtico dan lugar a las series mieloide y linfoide, apareciendo de forma autónoma y posteriormente en el desarrollo del embrión.

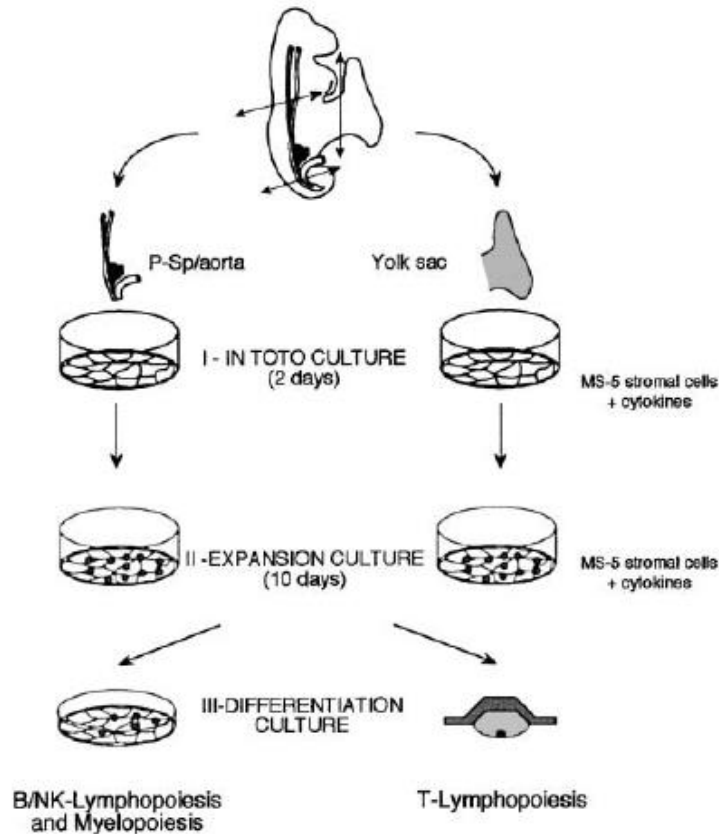


Fig 7. Cultivos en embriones humanos.

Extraído de [17]

Los cultivos de saco vitelino y de SPA dieron lugar a células NK CD56⁺ células granulocíticas CD15⁺, además, en la SPA se obtuvieron células B CD19⁺ y linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ a partir de los días 24 y 26 de desarrollo respectivamente [17]. Sin embargo, en la región AGM, tan sólo la aorta posee potencial hematopoyético, mostrando desarrollo de células B, NK y mieloides tras los cultivos [17].

La distribución temporoespacial de los progenitores hematopoyéticos CD34⁺ sugiere que éstas colonizan el hígado primitivo para dar lugar a la hematopoyesis embrionaria [16].

El saco vitelino humano puede haber experimentado una reducción extrema en la producción de sangre extraembrionaria. Por el contrario, los acúmulos intravasculares de HSC son mayores en el embrión humano que el de ratón o pollo, además, las HSC de la aorta no son llevadas hasta el saco vitelino por el torrente sanguíneo como ocurre en embriones de ratón o pollo [17].

En el mesodermo paraaórtico humano aparecen pre-HSC que son el origen de cientos de células CD34⁺ hematopoyéticas observadas en el endotelio aórtico en el día

27 de gestación [17]. Estas células quedan confinadas a la aorta y no aparecen en la región en la región AGM, al igual que en los embriones de ratón [18]. Los cultivos de disecciones de aorta después del día 40, no dieron lugar a hematopoyesis [17].

Conclusiones en mamíferos:

La relación entre las HSC y los islotes del saco vitelino de los mamíferos es bien conocida desde hace años, por el contrario, el descubrimiento del origen intraembrionario de HSC es reciente [19]. Diferentes técnicas de estudio (descriptivas, inmunohistoquímicas, etc) han demostrado la presencia de células hematopoyéticas en el interior de la aorta dorsal [8 y 15]. El endotelio de la aorta dorsal y el mesénquima adyacente poseen células con capacidades funcionales de HSC, del mismo modo, células endoteliales de las arterias umbilical y uterina también poseen capacidad de reconstitución funcional [20].

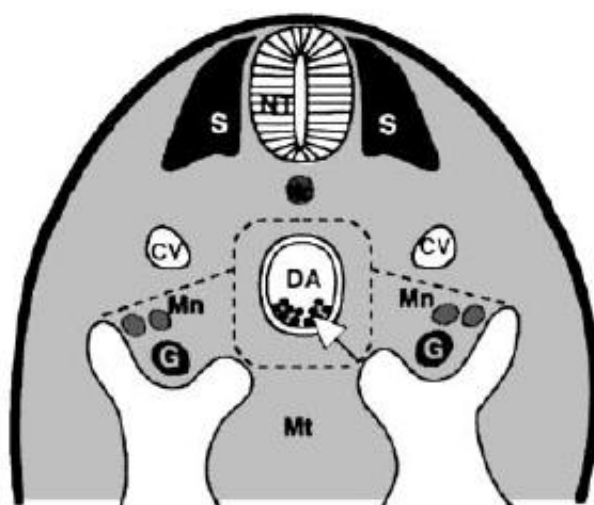


Fig 8. Región AGM.

DA: dorsal aorta; G: gonad; Mn: mesonophros; Mt: mesentery; S: somites; NT: neural tube; CV: cardinal vein; Arrow: intraarterial hematopoietic cell clusters

Extraído de [17]

3. Conexión entre el origen de los vasos sanguíneos y las células hematopoyéticas.

La aparición de las HSC está muy relacionada con el desarrollo de los vasos sanguíneos, tanto en el embrión como en el saco vitelino. Las HSC siempre son observadas en el interior de los vasos y frecuentemente en contacto directo con las células endoteliales de los vasos. Una de las hipótesis al respecto es que en los vasos sanguíneos primitivos se dé un medio propicio para el desarrollo y proliferación de las diferentes líneas celulares de las HSC [13].

HSC del mesenterio:

En esta región se han encontrado compactos grupos de células que pueden aparecer rodeados o no de una capa de células similar al endotelio, lo cual recuerda a los islotes sanguíneos del saco vitelino pero de un menor tamaño [8]. La aparición de estos grupos ocurre al mismo tiempo que lo hacen los grupos de la arteria onfalo-mesentérica (E9.5), alcanzando su tamaño máximo en E10.5-E11. Estos acúmulos desaparecen en E11.5, momento en el que se completa el desarrollo del plexo venoso vitelino que da lugar a la vena porta y por tanto a la irrigación del hígado [8].

En la organización de estos islotes mesentéricos encontramos tres tipos diferenciados: *Tipo I*: grupo compactado de células muy basófilas y electrodensas que

contrastan con las células mesenquimales del entorno. La morfología de estas células es muy variable, principalmente redonda, y están rodeadas por células planas que no son endoteliales, las cuales quedan circunscritas por una lámina basal que las separa del mesénquima. *Tipo II*: en este caso las células del interior van tomando apariencia de hemocitoblastos, mientras que las que rodean el islote sí son endoteliales. Estas células endoteliales presentan una forma muy alargada con fuertes conexiones entre ellas que también se establecen con las células del interior. *Tipo III*: se asemejan al tipo II, pero en este caso han desaparecido las uniones entre las células endoteliales y las centrales. Aquí, las células de la periferia son claramente de naturaleza endotelial y en las del interior se observan dos tipos: proeritroblastos y hemocitoblastos, entre las cuales es frecuente la aparición de uniones.

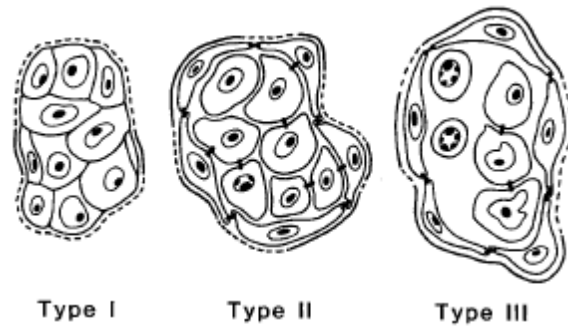


Fig 9. Classification of the mesenteric blood islands.

Extraído de [8]

En este momento del desarrollo de estos islotes, ya se distingue la luz de un vaso sanguíneo que contiene células de la sangre. Los islotes mesentéricos se encuentran en la zona caudal de los embriones de ratón, no siendo observados en los embriones de ave [8]. Sin embargo, los datos de este estudio no demuestran la generación in situ de dichos progenitores.

En el embrión humano existen células sanguíneas primordiales al menos 8 días antes de que se puedan detectar células hematopoyéticas CD34⁺ en la pared aórtica. La identidad de estas células es aún desconocida, pero podrían estar relacionadas con la línea endotelial [17]. En este estudio se observaron células endoteliales CD34⁺ CD45⁻ en la región AGM, el saco vitelino el hígado embrionario, lo que sugiere una estrecha relación entre las HSC y las células endoteliales [17].

4. Hipótesis del hemangioblasto.

Esta teoría afirma que las células endoteliales y hematopoyéticas comparten un progenitor común procedente del saco vitelino. Esta teoría se fundamenta en el desarrollo paralelo que experimentan ambas líneas celulares [23]. Del mismo modo, las HSC encontradas en la región AGM también se hallan en estrecha relación con el endotelio de la aorta dorsal del embrión [8, 15 y 16].

Dado que en el saco vitelino también se detectan islotes sanguíneos sin células productoras de sangre, parece que el endotelio pueda tener dos orígenes diferentes: hemangioblasto y angioblasto [24].

Tras el cultivo de células madre embrionarias se obtuvieron, entre otros, tejido hematopoyético y endotelial, los cuáles seguían el mismo procesos que en el saco vitelino, formando vasos sanguíneos con células madre sanguíneas en su interior [25]. En estas masas de células embrionarias se han identificado una población de células llamada BL-CFC (blast colony-forming cell). Dicha población forma colonias cuando se encuentra bajo el estímulo del factor de crecimiento endotelial (VEGF) [26 y 27]. Las células de estas colonias expresan genes comunes de las células endoteliales y hematopoyéticas como *Scl*, *CD34* y *Flk-1* [28]. Estas colonias contienen células hematopoyéticas primitivas y definitivas así como progenitores endoteliales [28].

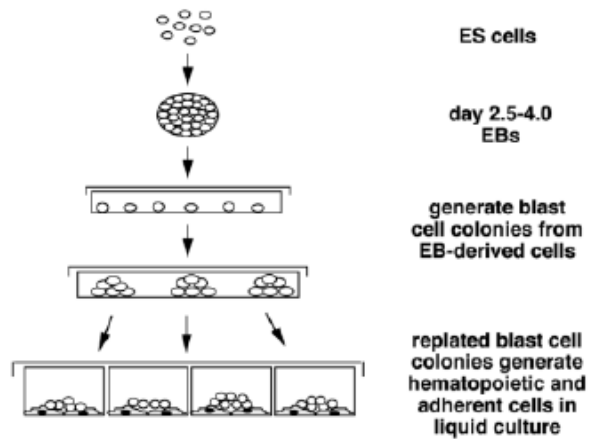


Fig 10. Cultivos de células hemangioblásticas.

Extraído de [29]

Los precursores hematopoyéticos y endoteliales proceden de una célula madre embrionaria con potencial para ambos [29], pero además, Wang et al. [30] demostró la existencia de una población de celular que expresa PECAM-1, Flk-1 y VE-cadherinn pero no CD45 (células CD45⁻PFV). Estas células son capaces de producir células hematopoyéticas o endoteliales maduras y, además, producen una subespecie capaz de dar lugar a los dos tipos anteriores, desarrollando un papel hemangioblástico [22]. Las células con actividad HSC de la región AGM y de las arterias vitelina y umbilical podrían derivar de células endoteliales que no expresen CD45⁺ [21].

Los blastos BL-CFC con capacidad para dar precursores hematopoyéticos y endoteliales aparecen pronto en el desarrollo embrionario (E3-E3.5). Conforme avanza el desarrollo van perdiendo esa bi-potencialidad y quedan restringidos a HSC [29].

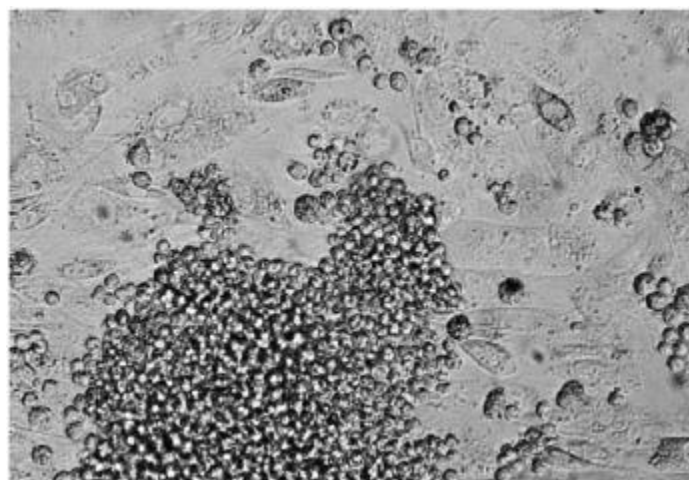


Fig 11. Acúmulos de células hematopoyéticas.

Extraído de [29]

Además de estos estudios en embriones, existen otros experimentos que permiten confirmar la existencia de células hemangioblásticas tras el nacimiento [22].

5. Hipótesis del endotelio hematológico.

El desarrollo en común del endotelio y las células hematopoyéticas sugieren un precursor endotelial común para las HSC definitivas [20]. Las HSC aparecen en el embrión tan pronto como lo hace la aorta funcionando, lo que lleva a pensar que el precursor de las HSC pueda ser una célula endotelial que mantiene plasticidad y se diferencia en este nuevo tejido [20]. Además, las células endoteliales del saco vitelino y de los focos hematopoyéticos intraembrionarios conservan la capacidad de dar origen a HSC [2].



Fig 12. Endotelio hematológico.

*Brown: aortic endothelial cells;
Red: hematopoietic clusters;
Yellow: endothelial cells of
somite origin.*

Extraído de [40]

Ambos tejidos, endotelio y hematopoyético, proceden del mesoderma del embrión y aparecen simultáneamente [30]. Es en la región AGM donde se aprecian acúmulos de células sanguíneas germinando desde la pared aórtica [15, 16, 21]. Este endotelio también fue observado en saco vitelino, placenta y arterias vitelina y umbilical. Las células que emergen de este endotelio poseen capacidad de reconstitución hematológica a largo plazo en huéspedes irradiados [10, 17, 30]. Del mismo modo, estas células expresan el factor de transcripción Runx1, crítico en las HSC definitivas, el cual es observado en células mesodérmicas, endoteliales hematopoyéticas [32]. Esto lleva a pensar que el mesoderma subendotelial es la fuente de las HSC en esta región.

Los nuevos avances en técnicas de investigación apoyan la teoría del endotelio hematopoyético en los mamíferos. Con el cultivo de aorta dorsal, placenta y saco vitelino se observa que son capaces de producir HSC entre E10 y E12.5, mientras que este fenómeno no es observado en vasos de otros lugares [33].

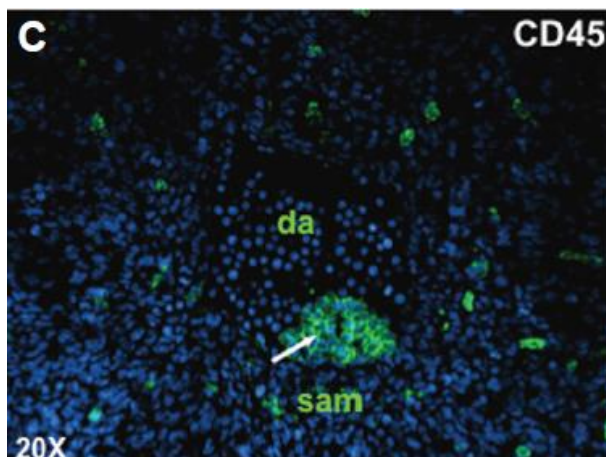


Fig 13. Expresión de CD45 en células hematopoyéticas.

*da: dorsal aorta; sam: subaortic
mesenchyme; arrow: adherent
intraaortic hematopoietic cells*

Extraído de [41]

Para la producción de HSC es crucial la expresión del gen Runx1 y Scl [34], la cual es regulada por las células del endotelio. In vitro se ha observado que las células madre embrionarias pueden transformarse en HSC tras dar lugar a células endoteliales, en dicho proceso se pueden observar tres pasos: en el primero de ellos, las células endoteliales expresan los marcadores de superficie VE-cadherin o Tie-2; tras ello se detectan células CD41⁺; y finalmente las células muestran el marcador hematopoyético específico CD45⁺ [34 y 35].

Con el estudio de ratones Ncx1^{-/-} (ratones deficientes en circulación sanguínea) se demostró la aparición de HSC en la placenta y el saco vitelino, y que en ambos el origen de éstas era el endotelio [36].

No está claro aún en qué momento aparece el endotelio hematopoyético y cuando cesa su actividad. Los islotes sanguíneos mesentéricos aparecen durante una ventana de tiempo similar a la de otros lechos vasculares, lo que dificulta el conocer si son generados de novo o si derivan de otra estructura [37].

Tan solo el mesodermo de la esplacnopleura ha demostrado capacidad de colonizar la cara ventral de la aorta dorsal (lugar en el que se producen las HSC) [38]. Una vez cesa la hematopoyesis de este tejido, el mesodermo derivado de los somites coloniza el territorio antes ocupado por las células procedentes de la SPa, dando lugar al músculo liso de la aorta [38].

6. Aplicaciones clínicas.

La importancia clínica de conocer el origen exacto de las HSC se traduce en obtener una fuente viable de dichas células para el tratamiento de enfermedades. Hoy se utilizan las HSC de forma sistemática en el trasplante de médula ósea, pero se trata de una tecnología difícil de aplicar dada la dificultad de los citoblastos para su proliferación en cultivos [42]. Por otro lado, la capacidad pluripotente de estas células no es una característica estable, sino que depende de señales procedentes del medio en el que se hallan [42].

Dada la gran capacidad de regeneración de las HSC junto con la posibilidad de alojarse en la médula ósea tras su inyección intravenosa, es posible su uso para como trasplante en determinadas enfermedades [43]. En los humanos, el trasplante de un pequeño porcentaje de la médula ósea ha demostrado la reconstitución completa del sistema hematopoyético en el donante, incluyendo las series mieloide, linfoide, así como los macrófagos específicos de órganos como piel, hígado y cerebro [43].

El trasplante de HSC se lleva a cabo frente a enfermedades no malignas como: inmunodeficiencias, anemia aplásica, hemoglobinopatías, etc; y en neoplasias malignas tales como: leucemia aguda, leucemia crónica, mielodisplasia, linfoma, mieloma, tumores sólidos y recidiva postrasplante [43].

7. Conclusiones.

A pesar los numerosos avances en la investigación sobre este campo, aún no se conoce exactamente cuál es el origen concreto de las HSC. Parece claro que la sangre del adulto procede de células madre de la región intraembrionaria, mientras que la sangre que produce el saco vitelino sólo cubre las necesidades de la vida embrionaria temprana. Las dos hipótesis que a día de hoy tienen más fuerza son: el hemangioblasto como origen común de la sangre y los vasos sanguíneos, y el endotelio hematógeno que produce células madre sanguíneas durante un periodo determinado de la vida embrionaria. Ambas hipótesis podrían coexistir pero son necesarios más estudios en esta dirección para esclarecer este tema.

8. Bibliografía:

- [1] Gilbert, Scott F (2005). *Biología del desarrollo*. Editorial Panamericana, Buenos Aires. 7ª edición. Capítulos 5 y 7.
- [2] Carlson, Bruce M (2009). *Embriología humana y biología del desarrollo*. Editorial Elsevier, Madrid. 4ª edición. Capítulos 5, 6 y 17.
- [3] Golub, R and Cumnao, A (2013). *Embryonic hematopoiesis*. Blood Cells Mol Dis. 51: 226-231.
- [4] Dieterlen-Lièvre, F (1975). *On the origin of haemopoietic stem cells in the avian embryo: an experimental approach*. J. Embryol. Exp. Morphol. 33: 607-619.
- [5] Dzierzak E and Medvinsky A (2008). *The discovery of a source of adult hematopoietic cells in the embryo*. Development 135: 2343-2346.
- [6] Dieterlen-Lièvre F, Beaupain D, Martin C (1976). *Origin of erythropoietic stem cells in avian development: shift from the yolk sac to an intraembryonic site*. Ann. Immunol. (Paris) 127: 857-863.
- [7] Lassila O, Eskola J, Toivanen P, Martin C, Dieterlen-Lièvre F (1978). *The origin of lymphoid stem cells studied in chick yolk sac-embryo chimaeras*. Nature 272: 353-354.
- [8] García-Porrero JA, Godin IE, Dieterlen-Lièvre F (1995). *Potential intraembryonic hemogenic sites at pre-liver stages in the mouse*. Anat. Embryol. 192: 425-435.
- [9] Cumano A, Dieterlen-Lièvre F and Godin I (1996). *Lymphoid potential, probed before circulation in mouse, is restricted to caudal intraembryonic splanchnopleura*. Cell 86: 907-916.
- [10] Medvisnsky A and Dzierzak E (1996). *Definitive hematopoiesis is autonomously initiated by the AGM region*. Cell 86: 897-906.
- [11] Bechtold TE, Smith PB, Turpen JB (1992). *Differential stem cell contribution to thymocyte succession during development of Xenopus laevis*. J Immunol 148: 2975-2982.
- [12] Godin I, Dieterlen-Lièvre F, Cumano A (1995). *Emergence of multipotent hematopoietic cells in the yolk sac and in the para-aortic splanchnopleura in mouse embryos, beginning at 8.5 dpc*. Proc Natl Acad Sci USA 92: 773-777.
- [13] Godin I, García-Porrero JA, Coutinho A, Dieterlen-Lièvre F, Marcos MAR (1993). *Para-aortic splanchnopleura from early mouse embryos contains B1a cell progenitors*. Nature 364: 67-69.
- [14] Muller AM, Medvinsky AL, Strouboulis J, Grosveld F, Dzierzak EA (1994). *Development of hematopoietic stem cell activity in the mouse embryo*. Immunity 1: 291-301.

- [15] Tavian M, Coulombel L, Luton D, Clemente HS, Dieterlen-Lièvre F, Péault B (1996). *Aorta-associated CD34⁺ hematopoietic cells in the early human embryo*. Blood 87: 67-72.
- [16] Tavian M, Hallais MF, Péault B (1999). *Emergence of intraembryonic hematopoietic precursors in the pre-liver human embryo*. Development 126: 793-803.
- [17] Tavian M, Robin C, Coulombel L, Péault B (2001). *The human embryo, but not its yolk sac, generates lympho-mieloid stem cells: mapping multipotent hematopoietic cell fate in intraembryonic mesoderm*. Immunity 15: 487-495.
- [18] Godin I, García-Porrero JA, Dieterlen-Lièvre F, Cumano A (1999). *Stem cell emergence and hemopoietic activity are incompatible in mouse intraembryonic sites*. J. Exp Hematol 22: 43-52.
- [19] Dzierzak E, Medvinsky A (1995). *Mouse embryonic hematopoiesis*. Trends Genet 11: 359-366.
- [20] De Bruijn MF, Speck NA, Peeters MC, Dzierzak E (2000). *Definitive hematopoietic stem cells first develop within the major arterial regions of the mouse*. EMBO J 19: 2465-2474.
- [21] North TE, de Bruijn MF, Stacy T (2002). *Runx1 expression marks long-term repopulating hematopoietic stem cells in the midgestation mouse embryo*. Immunity 16: 761-772.
- [22] Park Ch, Ma YD, Choi K (2005). *Evidence of the hemangioblast*. Experimental hematology 33: 965-970.
- [23] Sabin FR (1920). *Studies on the origin of blood vesssels and of red corpuscles as seen in the blastoderm of chick during the second day of incubation*. Contributions of Embryology 9: 213-262.
- [24] Ueno H, Weissman IL (2006). *Clonal anlysis of mouse development reveals a polyclonal origin for yolf sac blood islands*. Dev. Cell 11: 519-533.
- [25] Doetschman TC, Eistetter H, Katz M, Schmidt W, Kemler R (1985). *The in vitro development of blastocyst-derived embryonic stem cell lines: formation of visceral yolk sac, blood islands and myocardium*. J Embryol Exp Morphol. 87: 27-45.
- [26] Matthews W, Jordan CT, Gavin M, Jenkins NA, Copeland NG, Lemischka IR (1991). *A receptor tyrosine kinase cDNA isolated from a population of enriched primitive hematopoietic cells and exhibiting close genetic linkage to c-kit*. Proc Natl Acad Sci USA 88: 9026-9030.
- [27] Millauer B, Wизigmann-Voos S, Schnurch H (1993). *High affinity VEGF binding and developmental expression suggest Flk-1 as a major regulation of vasculogenesis and angiogenesis*. Cell 21: 31-41.

- [28] Kennedy M, Firpo M, Choi K (1997). *A common precursor for primitive erythropoiesis and definitive hematopoiesis*. Nature 386: 488-493.
- [29] Choi K, Kennedy M, Kazarov A, Papadimitriou JC, Keller G (1998). *A common precursor for hematopoietic and endothelial cells*. Development 125: 725-732.
- [30] Moore MA, Metcalf D (1970). *Ontogeny of haemopoietic system: yolk sac origin of in vivo and in vitro colony forming cells in the developing mouse embryo*. Br J Haematology 18: 279-296.
- [31] Cumano A, Dieterlen-Lièvre F, Godin I (2000). *The splanchnopleura/AGM region is the prime site for the generation of multipotent hematopoietic precursors, in the mouse embryo*. Vaccine 18: 1621-1623.
- [32] Bertrand JY, Giroux S, Golub R, Klaine M, Jalil A, Boucontet L (2005). *Characterization of purified intraembryonic hematopoietic stem cells as a tool to define their site of origin*. Proc Natl Acad Sci USA 102: 134-139.
- [33] Zovein AC, Hofmann JJ, Lynch M, French WJ, Turlo KA, Yang Y (2008). *Fate tracing reveals the haemogenic endothelial origin of hematopoietic stem cells*. Cell Stem Cell 3: 625-636.
- [34] Lancrin C, Sroczynska P, Stephenson C, Allen T, Lacaud G (2009). *The haemangioblast generates haematopoietic cells through a haemogenic endothelium stage*. Nature 457: 892-895.
- [35] Bertrand YJ, Chi NC, Santoso B, Teng S, Stainier DY, Traver D (2010). *Haematopoietic stem cells derive directly from aortic endothelium during development*. Nature 464: 108-111.
- [36] Rhodes KE, Gekas C, Wang Y, Lux CT, Francis CS, Chan DN (2008). *The emergence of hematopoietic stem cells is initiated in the placental vasculature in the absence of circulation*. Cell Stem cell 2: 252-263.
- [37] Zape JP, Zovein AC (2011). *Hemogenic endothelium: Origin, regulation and implications for vascular biology*. Seminars in Cell & Developmental Biology 22: 1036-1047.
- [38] Pouget C, Gautier R, Teillet MA, Jaffredo T (2006). *Somite-derived cells replace ventral aortic hemangioblasts and provide aortic smooth muscle cells of the trunk*. Development 133: 1013-1022.
- [39] Cumano A and Godin I (2007). *Ontogeny of the Hematopoietic System*. Annu. Rev. Immunol. 25: 745-785.
- [40] Bollerot K, Pouget C, Jaffredo T (2005). *The embryonic origins of the hematopoietic stem cells: a tale of hemangioblast and endothelium*. APMIS 113: 790-803.

[41] Oberlin E, El Hafny B, Petit-Cocault L, Souyri M (2010). *Definitive human and mouse hematopoiesis originates from the embryonic endothelium: a new class of HSCs based on VE-cadherin expression*. Int. J. Dev. Biol. 54: 1165-1173.

[42] Bodine D, Jameson JL, McKay R (2005). *Citoblastos y transferencia de genes en medicina clínica*. En: Harrison, editor. Principios de Medicina Interna. 16ª ed, McGrawHill interamericana 439-445.

[43] Appelbaum FR (2005). *Trasplante de células hematopoyéticas*. En: Harrison, editor. Principios de Medicina Interna. 16ª ed, McGrawHill interamericana 748-754.