



# Células Madre Hematopoyéticas: origen, diferenciación y función

Marilú Domínguez Pantoja<sup>1</sup>,  
Héctor Romero-Ramírez<sup>2</sup>,  
Juan Carlos Rodríguez Alba<sup>1,3</sup>.

Recibido: 30-11-2014    Aceptado: 07-04-2015

## RESUMEN

El tejido hematopoyético proviene del mesodermo y está conformado por células que se encargan del buen funcionamiento del organismo a través de la oxigenación, eliminación de desechos biológicos, transporte de células y componentes del sistema inmunológico. La sobrevivencia en este tejido depende de cada población y varía desde 100-120 días en el eritrocito, hasta probablemente toda la vida en una célula de memoria del sistema inmune. Ante la muerte celular, se requiere una producción periódica de células de los diversos linajes hematopoyéticos, tal pérdida es compensada por células inmaduras conocidas como Células Madre Hematopoyéticas (CMH) encargadas del proceso de hematopoyesis. Esta población se activa en el inicio de la vida fetal y genera cerca de  $2 \times 10^{11}$  eritrocitos y  $10^{10}$  células blancas cada día. Poseen capacidades de auto-renovación y diferenciación a múltiples linajes, aunque esta capacidad disminuye hacia las etapas maduras del organismo. Las CMH se producen en distintos nichos, poseen proteínas membranales y expresan factores de transcripción que permiten identificarlas. En conjunto, la expresión o activación de estos factores y proteínas específicas para la diferenciación de cada linaje nos permiten entender los procesos celulares que rigen los mecanismos de auto-renovación, diferenciación y proliferación de las CMH. Esta revisión agrupa el conocimiento actual del origen, funcionamiento y factores que regulan el desarrollo y diferenciación de las células madre hematopoyéticas, pretende proporcionar una perspectiva que incluya las interacciones celulares durante su desarrollo, programación de linajes y reprogramación por factores de transcripción y las diferencias de cada etapa de la hematopoyesis.

Palabras clave: Célula Madre Hematopoyética, factores de transcripción, autorenovación, CD.

<sup>1</sup>Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud, Universidad Veracruzana.

<sup>2</sup>Departamento de Biomedicina Molecular, Centro de Investigación y Estudios Avanzados del I.P.N., Apartado postal 14-740, C.P. 07360, México D.F., México.

<sup>3</sup>Departamento de Biomedicina, Instituto de Ciencias de la Salud, Universidad Veracruzana., Av. Dr. Luis Castelazo Ayala S/N, C.P. 91190, Xalapa Veracruz., México.

### Correspondencia:

Juan Carlos Rodríguez Alba  
Phone: +52 228 8 418900  
ext 13757

Fax: +52 228 8418926

e-mail address: carlorodriguez@uv.mx, jcra19@yahoo.com

## INTRODUCCIÓN

A lo largo de su vida, los seres humanos requieren una renovación constante de los tipos celulares que conforman al organismo, de tal forma, las células encargadas de esta renovación son denominadas “Células madre” y son caracterizadas por su alta capacidad de autorenovación <sup>(1)</sup>, además, tienen la característica de responder a señales y/o estímulos generados en el ambiente donde se encuentren, de esta forma, dichas señales comprometen o guían a la célula a su diferenciación hacia diferentes tipos celulares con características y funciones especializadas de cada órgano <sup>(2)</sup>. Las células madre pueden ser clasificadas de la siguiente forma: I) De acuerdo al tejido de origen: **Células madres embrionarias o adultas**. II) Según su potencial de diferenciación: **Células totipotenciales, pluripotenciales, multipotenciales o unipotenciales**. De acuerdo a esta clasificación, las células totipotenciales son capaces de dar origen desde un tejido extraembrionario hasta un organismo completo; las células madre pluripotentes originan células que se derivan de cualquier capa embrionaria: **ectodermo, endodermo o mesodermo**; estas mismas células son capaces de generar todos los tipos celulares que derivan de una sola capa embrionaria <sup>(3)</sup>. Así, en este tipo celular podemos identificar a las **células madre neuronales, mesenquimales y hematopoyéticas**. Finalmente, las células madre que poseen una menor capacidad para diferenciarse se denominan unipotenciales como es el caso de las **células madre epidérmicas** <sup>(4)</sup>. En esta revisión se abordan los aspectos más relevantes que se han estudiado a la fecha con respecto a las células madre hematopoyéticas (CMH), su clasificación, su origen, su función, las estrategias para identificarlas molecularmente, los mecanismos implicados en sus procesos de auto-renovación y finalmente su diferenciación a los distintos linajes celulares hematopoyéticos.

## CELULAS MADRE HEMATOPOYETICAS Y SU CLASIFICACIÓN

El sistema hematopoyético tiene como función eliminar de la circulación las células defectuosas o aquellas que han cumplido con su ciclo de vida y reemplazarlas por células nuevas del mismo tipo. Este sistema está integrado por células de diferentes regiones en el organismo como son: **la médula ósea, la sangre y el sistema linfóide**, de tal forma, a partir de una CMH se pueden originar todos los linajes sanguíneos. Las CMH presentan funciones determinadas que las hacen diferentes a cualquier otra células como son: i) son multipotentes, es decir, poseen la capacidad de generar a los linajes sanguíneos divididos en tres grandes grupos: **La línea blanca** que produce *células linfoides*: linfocitos B y T, y *células mieloides*: basófilos, eosinófilos, neutrófilos, mastocitos, monocitos y macrófagos, **la línea roja** que produce a los eritrocitos y finalmente, **la línea trombocítica** que da origen a megacariocitos y plaquetas. ii) Poseen un

potencial proliferativo elevado, debido a que son capaces de dividirse y dar origen a un gran número de células maduras a lo largo de la vida. iii) Presenta la capacidad de generar células madre nuevas idénticas a sus predecesoras, manteniendo así simetría en sus procesos de división, es precisamente por esta última capacidad que se dice que la CMH es auto-renovable. En conjunto, estas cualidades hacen que las CMH sean muy importantes en el adecuado funcionamiento del sistema hematopoyético <sup>(5,6)</sup>.

Las CMH son heterogéneas en sus capacidades para ser células auto-renovables, de tal forma, existen diversas clasificaciones que nos permiten elucidar entre un tipo y otro, así, existen células madre hematopoyéticas de largo plazo (CMH-LP) y células madre hematopoyéticas de corto plazo (CMH-CP) <sup>(6)</sup>. Por un lado, las CMH-LP originan a todos los tipos celulares maduros en circulación, por otro lado producen células progenitoras que son capaces de reconstituir el sistema hematopoyético por completo tras un trasplante con estas poblaciones. La proporción de CMH-LP es mucho menor a la de otros tipos celulares en médula ósea y apenas alcanza el 0.1-0.2 % de la población total de CMH <sup>(7)</sup>. Por otro lado, Las CMH-CP producen células progenitoras comprometidas con linaje linfóide y mielóide <sup>(7)</sup>. Al mismo tiempo, se ha sugerido que existe un compromiso de estas células para dar lugar a progenitores multipotentes (PMP) tras diversas etapas de diferenciación con cambios funcionales irreversibles en su maduración celular <sup>(8,9)</sup>. En este sentido, se ha propuesto que en función de la maduración de las CMH, estas se comportan mitóticamente más activas, sin embargo, pierden su capacidad de auto-renovación, es decir, poseen una actividad mitótica más elevada que en los compartimentos de células progenitoras pero con una menor capacidad de auto-renovación <sup>(5,10)</sup>. Hoy en día, se han incrementado substancialmente los estudios realizados sobre CMH, debido a que poseen la capacidad de mantener su características originales en modelos “*in vitro*”, manteniendo sus habilidades para proliferar y diferenciarse hacia todos los linajes hematopoyéticos. Es precisamente por esta razón que su uso se ha expandido con éxito en el tratamiento de pacientes con riesgo de enfermedades hematológicas, problemas metabólicos, trastornos a nivel de médula ósea y casos de inmunodeficiencia. Las CMH pueden ser recuperadas de la médula ósea y la sangre de cordón umbilical, desafortunadamente, la cantidad de CMH es muy limitada, por tal motivo, se realizan cada vez más ensayos para poder expandirlas en cultivos “*in vitro*” y tener números adecuados para su uso terapéutico y en trasplantes. Es importante mencionar que el éxito de los cultivos celulares depende en gran medida de la investigación biomédica a través del conocimiento en modelos animales o de líneas celulares y cultivos primarios que permitan entender a detalle

los procesos de proliferación, diferenciación y apoptosis que rigen el desarrollo de las CMH y por lo tanto, obtener un mejor rendimiento de CMH, al mismo tiempo de entender la capacidad de estas células para desarrollar a los diferentes tipos celulares hematopoyéticos para su uso con fines preventivos y/o terapéuticos y con esto mejorar la calidad y expectativa de vida de los seres humanos <sup>(10)</sup>.

### CÉLULAS MADRE HEMATOPOYÉTICAS Y SU ORIGEN

Los nichos de las CMH se encuentran presentes en diversos tejidos a lo largo del desarrollo del individuo, de tal forma, la diferenciación de las células hematopoyéticas inicia en la fase embrionaria y deriva del mesénquima primitivo en el saco vitelino y de la región aorta-gonadal-mesonefros (AGM) seguido por la placenta, hígado fetal, médula ósea y bazo <sup>(11)</sup>. En la fase posnatal, es la médula ósea el sitio primario del mantenimiento de la hematopoyesis, sin embargo, ante una respuesta de estrés hematopoyético, se pueden formar nichos en sitios extra-medulares <sup>(11)</sup>. La médula ósea es un tejido graso y suave que se encuentra en el interior del hueso trabecular, éste en conjunto con la trabécula y el medio estroma de la médula ósea dan sostén física y fisiológicamente al tejido hematopoyético <sup>(12)</sup>. En los primeros años de vida, la médula ósea denominada médula roja se localiza en todo el organismo a nivel de los huesos y conforme se prolonga la vida del organismo es gradualmente reemplazada por tejido medular que va perdiendo actividad denominado médula amarilla o grasa <sup>(13)</sup>. El tejido hematopoyético en la médula ósea contiene células estromales que provienen de células mesenquimales como: los fibroblastos, los adipocitos, las células endoteliales y los osteoblastos, al mismo tiempo existe tejido hematopoyético de origen no-mesenquimal como es el caso las células dendríticas o de los macrófagos. En conjunto estos tipos celulares estromales son los responsables de dar mantenimiento a las células hematopoyéticas produciendo citocinas, factores de crecimiento y diferenciación en la matriz extracelular <sup>(13)</sup>, en conjunto, la producción diferencial de estos factores, activa diversos genes que determinan el linaje hematopoyético de cada tipo celular, de tal forma, la comunicación e interacción constante entre las células del estroma y células progenitoras es vital para que se pueda realizar un desarrollo hematopoyético óptimo <sup>(14)</sup>. En este sentido, el control de la auto-renovación y diferenciación de las CMH es regulado por mecanismos reguladores extrínsecos e intrínsecos en los nichos hematopoyéticos y se establecen a través de interacciones entre células <sup>(15)</sup>.

Existen zonas claramente marcadas en los nichos hematopoyéticos que facilitan su estudio y se conocen como **zona osteoblástica** rica en osteoblastos cuya función principal es ser formadores de hueso induciendo la diferenciación de las

CMHs en osteocitos, **zona vascular** de donde emergen las células maduras a la circulación y **zona medular** donde se encuentran las CMHs proliferantes y quiescentes <sup>(16)</sup>. Al mismo tiempo, en estas zonas las células de los distintos linajes poseen diversas moléculas de adhesión celular que favorecen la interacción celular con las CMHs, un ejemplo es la *N-caderina* expresada por osteoblastos y CMHs quiescentes, la  *$\beta$ -1 integrina* que une fibronectina y ayuda a la adhesión celular en el estroma <sup>(16)</sup>. Un segundo tipo de nicho celular constituido de células progenitoras hematopoyéticas es conocido como **nicho o zona medular**, estas células producen factores que inhiben la proliferación de las células madre adyacentes, sin embargo, ante la necesidad de la periferia por células hematopoyéticas, estas células pueden iniciar procesos proliferativos, de maduración y diferenciación para la producción de CMHs quiescentes según lo requiera el organismo <sup>(16)</sup>.

### CÉLULAS MADRE HEMATOPOYÉTICAS Y SU FUNCIÓN

Los primeros estudios formales y publicados acerca de la función de las CMH fueron realizados a inicios de la segunda mitad del siglo pasado, siendo James Till y Ernest McCulloch en 1961 los primeros investigadores en reportar en un elegante diseño experimental que tras la irradiación no letal (30 rads) de ratones que posteriormente recibieron un trasplante autólogo por vía intravenosa de CMHs de un ratón sano, los ratones irradiados eran capaces de formar células hematopoyéticas en el bazo y torrente sanguíneo. Además, las CMH de estos ratones era capaces de repoblar células hematopoyéticas en nuevos ratones irradiados <sup>(17)</sup>. En conjunto, estos ensayos demostraron de manera contundente la capacidad de reproducción de estas nuevas poblaciones celulares que fueron denominadas **unidades formadoras de colonia de bazo (UFC-B)** y permitieron el inicio de toda una nueva línea de investigación en búsqueda de los factores que determinan linaje. Posteriormente, otros estudios determinaron que para poder considerar a una célula como una CMH, ésta debe poseer la capacidad de generar y mantener durante periodos superiores a 6 meses, el correcto funcionamiento del sistema linfo-hematopoyético después de su trasplante en un receptor irradiado <sup>(18)</sup>.

Por otra parte, otros investigadores iniciaron el estudio de las CMHs "in vitro" en la década de los 70's del siglo pasado, mostrando que estas células podían ser crecidas en un cultivo celular <sup>(19)</sup>. En este sentido, las células del estroma forman una capa alimentadora en la cual tanto las CMHs como las células progenitoras proliferan o se diferencian por largos periodos que pueden alcanzar varias semanas e incluso meses en ausencia de factores exógenos <sup>(20)</sup>. Hoy en día se sabe que menos del 0.1% de las CMH de la médula ósea tienen la capacidad de proliferar por periodos largos, incluso esos mismos números tienen la capacidad

de auto-renovarse <sup>(18, 21)</sup>.

### CÉLULAS MADRE HEMATOPOYÉTICAS Y SU IDENTIFICACIÓN

Durante el proceso de maduración las CMH expresan genes que codifican para la producción de distintas proteínas ancladas a la membrana celular y son denominados receptores celulares que cumplen con una función específica en las vías de señalización intracelular tras el encuentro con la molécula que liga o activa dicho receptor, estas funciones son la activación celular, la proliferación, la diferenciación, la adhesión, la migración o la apoptosis celular. La expresión de estas moléculas en la superficie ha sido una herramienta muy útil en la biología celular, pues estos receptores pueden ser usados como blancos en diversos linajes celulares, así, tras la producción de anticuerpos monoclonales que reconocen específicamente cada blanco, podemos identificar y caracterizar cada tipo celular <sup>(22)</sup>. En este sentido, estos receptores celulares son conocidos como “marcadores” y se han formado grupos de diferenciación o CD (acrónimo del inglés Cluster of differentiation). Las células hematopoyéticas primitivas no expresan marcadores de linaje (lin) específicos, no obstante, es precisamente esta ausencia la permite distinguir las células inmaduras del resto de células diferenciadas <sup>(22)</sup>. Dependiendo del linaje celular, podemos observar diferentes combinaciones de CD's que permiten aislar selectivamente una población o enriquecerla según las necesidades <sup>(22)</sup>.

Para identificar, aislar y cuantificar la población de CMH el marcador de elección es CD34, que posee un papel importante tanto en la adhesión intercelular como en la comunicación con la matriz extracelular, induciendo la polimerización de actina <sup>(23)</sup>. Así mismo, se ha demostrado que la regulación de la expresión del antígeno CD34 está implicada en el mantenimiento de la actividad hematopoyética normal, gracias a la inhibición de la proliferación de células progenitoras mediada por contacto y agregación celular <sup>(23)</sup>. La expresión del CD34 es elevada en células progenitoras tempranas y disminuye progresivamente en función de la maduración de la célula hasta que desaparece en etapas diferenciadas a un linaje determinado <sup>(24, 25)</sup> finalmente, estas poblaciones purificadas presentan un alto potencial de implantación en trasplantes autólogos y alogénicos <sup>(26-28)</sup>.

CD38 es otro marcador importante en la caracterización de las células hematopoyéticas, las células CD34<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup> son más abundantes que las CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup>, pero se ha comprobado que estas últimas pueden reconstituir y mantener la hematopoyesis multilinaje en ratones inmunodeficientes después de realizar el trasplante haciéndolas más efectivas <sup>(29)</sup>. Las células con fenotipo CD34<sup>-</sup> también se caracterizan por la ausencia de CD38, de marcadores específicos de linaje y de CD133 <sup>(22, 30-33)</sup>, sin embargo, las células CD34<sup>-</sup> son incapaces de alcanzar la médula ósea después de haber sido trasplantadas por vía intravenosa en

comparación con células CD34<sup>+</sup> <sup>(34, 35)</sup>.

CD133 es conocido también como AC133 <sup>(36, 37)</sup> y se ha sugerido que es un marcador de CMHs progenitoras de monocitos/granulocitos y eritroides <sup>(22)</sup>. Su función se ha relacionado con el mantenimiento de los estados primitivos de diferenciación <sup>(38, 39)</sup>. A pesar que el CD133 representa una molécula importante para la identificación de CMHs y células progenitoras humanas, el uso del CD34 es más usado debido a que no existen aún pruebas que demuestren la mayor eficacia de CD133 para el aislamiento o la expansión celular de las CMHs y las células progenitoras hematopoyéticas <sup>(40, 41)</sup>.

Finalmente, otros marcadores de linaje como el C-KIT (conocido también como CD117), el cual promueve la proliferación y diferenciación de células progenitoras primitivas hematopoyéticas a células progenitoras comprometidas <sup>(42)</sup>, se expresa en las dos terceras partes de las células CD34<sup>+</sup>, incluyendo las células progenitoras más comprometidas con linaje, desaparece en las células sanguíneas maduras circulantes. Este marcador se usa con gran frecuencia en técnicas de aislamiento de células hematopoyéticas <sup>(22)</sup>. Por último el marcador CD133, es una proteína descrita recientemente y sus patrones de expresión son semejantes a los de CD133 <sup>(43)</sup>, de tal forma, al igual que el CD34 y el CD133, el CD133 es importante en la purificación de CMHs y células progenitoras provenientes de muestras de médula ósea y cordón umbilical, aunque no puede separar a estos tipos celulares entre sí <sup>(22)</sup>. La Figura 1 resume los CD's mencionados en este apartado, durante las etapas tempranas de la hematopoyesis.

### CÉLULAS MADRE HEMATOPOYÉTICAS Y SU AUTORENOVACIÓN

Las CMH tienen la capacidad y atributo de generar todos los tipos celulares sanguíneos a lo largo de la vida del organismo, es por ello que la multipotencialidad y capacidad de auto-renovación de estas células ha sido ampliamente estudiado. Se ha sugerido que las CMH poseen un mecanismo de sucesión clonal, en el cual solo algunas clonas se diferencian y generan células sanguíneas maduras solamente cuando son requeridas, por otro lado, una gran cantidad de CMH permanecen en estado de quiescencia (sin contribuir a la hematopoyesis), hasta que desaparece la capacidad proliferativa de las células que se han activado <sup>(44)</sup>. Así, las células madre hematopoyéticas presentan una proporción de recambio baja, en comparación con las células progenitoras en el sistema hematopoyético, donde estas últimas proliferan con mayor proporción ante el estímulo de diversos factores del estroma mencionados anteriormente, produciendo cada día billones de células sanguíneas, manteniendo así la homeostasis hematopoyética en cada organismo <sup>(45, 46)</sup>. En este sentido, esta homeostasis es regulada por el proceso de auto-renovación que es crucial para que las células madre persistan a lo largo de la

vida del organismo. Este proceso se produce de un progenitor único en cada división celular y la obtención de células con características funcionales y morfológicas idénticas dependerá de su eficiencia en la diferenciación.

Como se mencionó anteriormente, a lo largo de la maduración de los diferentes tipos celulares sanguíneos, se expresan diversos genes que determinan los receptores deben expresarse en la superficie celular, si bien es cierto que en el cultivo celular estos receptores son “aprovechados” como marcadores celulares, la razón biológica de la célula es que estos receptores activen las vías de señalización o transducción de señales para inducir diferentes respuestas celulares con diversas funciones, en este sentido, se han descrito diversos mecanismos moleculares de señalización que participan como reguladores de la proliferación, diferenciación y auto-renovación de las CMH. De manera general, las vías de señalización más estudiadas a la fecha incluyen proteínas de señalización, andamiaje y segundos mensajeros que constituyen las vías de señalización de Notch, Hedgehog (Hh) y Wntless (Wnt).

#### CÉLULAS MADRE HEMATOPOYÉTICAS Y SU DIFERENCIACIÓN A DISTINTOS LINAJES

La hematopoyesis es representada como una jerarquía, en la cual las CMH originan a los progenitores y posteriormente a las células que serán precursores de múltiples linajes hematopoyéticos. Como se mencionó en capítulos anteriores, la identificación de los diversos tipos celulares se realiza de acuerdo a la expresión de marcadores de superficie. En este sentido, se ha caracterizado la expresión de diversos factores de transcripción que regulan el desarrollo y función de las CMH, así como la diferenciación de un linaje específico<sup>(47)</sup>. Algunos de los factores de transcripción que se han descrito recientemente son: El factor **SCL/tal-1**, que es clave en la programación del mesodermo hacia un destino hematopoyético, este factor y sus proteínas asociadas son esenciales para el desarrollo de la hematopoyesis primitiva (saco vitelino) y definitiva (en el adulto), debido a que en su ausencia, no se generan células sanguíneas<sup>(48)</sup>. El factor de unión central **Runx1** y su cofactor de unión **CBF-β**, también son necesarios para la hematopoyesis definitiva, en este caso, ensayos con modelos transgénicos que carecen de la función, han demostrado que **Runx1** es necesario para la transición de las CMH, pues en su ausencia, no existe hematopoyesis<sup>(49,50)</sup>. Por otro lado, se ha demostrado recientemente una interacción del dominio C-terminal del factor **Mll1** relacionado a Trithorax (una histona H3 lisina 3 -H3K4- metiltransferasa), con el dominio Runt de **Runx1**, el cual recluta a Mll1 originando una superposición funcional de ambos reguladores transcripcionales, sugiriendo que su interacción es necesaria para la hematopoyesis<sup>(51)</sup>. Otro factor esencial es **GATA2**, el cual se expresa antes de la aparición

de la CMH y se ha propuesto como un marcador específico de células hematopoyéticas, además, su disminución afecta el compromiso de la CMH hacia los distintos linajes sanguíneos<sup>(52,53)</sup>. Se ha sugerido que el factor **GATA2** interactúa con el **Runx1** durante la hematopoyesis, debido a que los ratones deficientes en la expresión de **GATA2**<sup>+/-</sup> y **Runx1**<sup>+/-</sup> no son viables y muestran daño severo en el proceso hematopoyético durante la gestación<sup>(54)</sup>.

La familia de factores de transcripción pertenecientes a **Notch**, son los componentes principales de una vía de señalización altamente conservada, su dominio Notch-IC se trasloca al núcleo donde participa en la formación de complejos de unión a Ácido Desoxirribonucleico (ADN) y regula la transcripción de diversos genes<sup>(55)</sup>. El Factor **Notch1** es necesario para la generación de la hematopoyesis, ya que embriones deficientes de esta proteína son capaces de producir progenitores hematopoyéticos pero no CMH de largo plazo. Otro factor importante es **Meis1**, esta es una proteína cofactor que modula la unión y afinidad al ADN, se ha demostrado que embriones deficientes en **Meis1**, mueren por hemorragia e hipoplasia de hígado debido a la incompleta hematopoyesis durante el desarrollo<sup>(56,57)</sup>.

La expansión de las CMH tempranas es crítica para mantener una gran población durante la hematopoyesis necesaria para la vida del organismo, y la programación de esta expansión en diferentes etapas de la vida está relacionada con la expresión de diversas moléculas<sup>(47)</sup>. **Sox17**, es un factor de transcripción de alta movilidad relacionado a **Sry** expresado en CMH fetales y neonatales pero no en adultas, su deficiencia perjudica la hematopoyesis fetal y las CMH neonatales pierden su capacidad de reconstitución y la generación de CMH definitivas<sup>(58)</sup>. Por otra parte, los factores de transcripción necesarios para la especificación y formación de las CMH pueden no ser necesarios continuamente durante la supervivencia posterior o auto-renovación de las CMH. En este sentido, aunque **SCL/tal1** es un factor crucial para la especificación del destino hematopoyético durante el desarrollo, su inactivación en CMH adultas, no afecta el mantenimiento y auto-renovación<sup>(59)</sup>.

Los procesos intrínsecos celulares, en particular los factores de transcripción son esenciales para definir el linaje de cada CMH. Por ejemplo **GATA1** promueve la diferenciación hacia un linaje megacariocítico/eritroide y **PU.1** induce diferenciación mieloide<sup>(60)</sup>, estas proteínas interactúan de tal forma que cada uno inhibe la transcripción del otro y este antagonismo favorece la elección del linaje de la CMH<sup>(61,62)</sup>. Por otra parte, asociaciones entre **GATA** y el cofactor **FOG** (Friend of **GATA**), han demostrado ser importantes para el desarrollo del linaje megacariocítico y eritroide<sup>(48)</sup>. La elección del linaje mieloide y eritroide, también es controlada por un antagonismo entre **c-MafB**, un factor altamente expresado en monocitos y **Ets1**. La asociación de estos

factores a través de sus respectivos dominios de unión a DNA inhiben la transactivación mediada por Ets1 y en consecuencia, se bloquea la maduración eritroide <sup>(63)</sup>.

La proteína alfa de unión al potenciador CCAAT (**C/EBPα**), es requerida para el desarrollo de granulocitos, pero también promueve la diferenciación de CMH. Células Madres Hematopoyéticas deficientes de C/EBPα, tienen un incremento en la habilidad de repoblación y auto renovación lo cual bloquea la diferenciación hacia el linaje mieloides <sup>(64, 65)</sup>. **C/EBP y FOG** participan en la diferenciación hacia eosinófilos y la interacción Gfi1/PU.1 favorece la diferenciación hacia neutrófilos y monocitos, ya que en ausencia de Gfi1 los precursores de neutrófilos no maduran y se silencia la expresión de genes de monocitos/macrófagos <sup>(66-68)</sup>.

En el caso del linaje linfoide, un factor fundamental en el desarrollo del linfocito B es **Pax5**, ya que en su ausencia las células progenitoras linfoides se diferencian en otros linajes hematopoyéticos como son: los linfocitos T, células asesinas naturales o las células dendríticas <sup>(69, 70)</sup>. Así, el compromiso del linfocito B es dirigido por Pax5 y su supresión implica la elección alternativa del linaje. En este sentido, Pax5 compromete los progenitores a un destino de linfocito B, mientras que otros factores de transcripción como E2A y EBP activan el programa de genes específicos de linfocitos B <sup>(71)</sup>. Por otra parte, se ha descrito que la elevada expresión de PU.1 bloquea el desarrollo del linfocito B, esto se debe a que PU.1 y Pax5 interactúan físicamente y esto tiene un efecto negativo sobre la expresión de Pax5 <sup>(72)</sup>.

En cuanto al desarrollo de los linfocitos T, la señalización de **Notch 1** funciona como un factor de compromiso, además, se ha demostrado que **GATA3**, un factor de transcripción específico de células T, solo funciona bajo la señalización de Notch <sup>(73)</sup>. GATA3 es necesario para la producción de células TH2, y puede cambiar el fenotipo TH1 a TH2 <sup>(74)</sup>. De manera contraria, la activación del factor

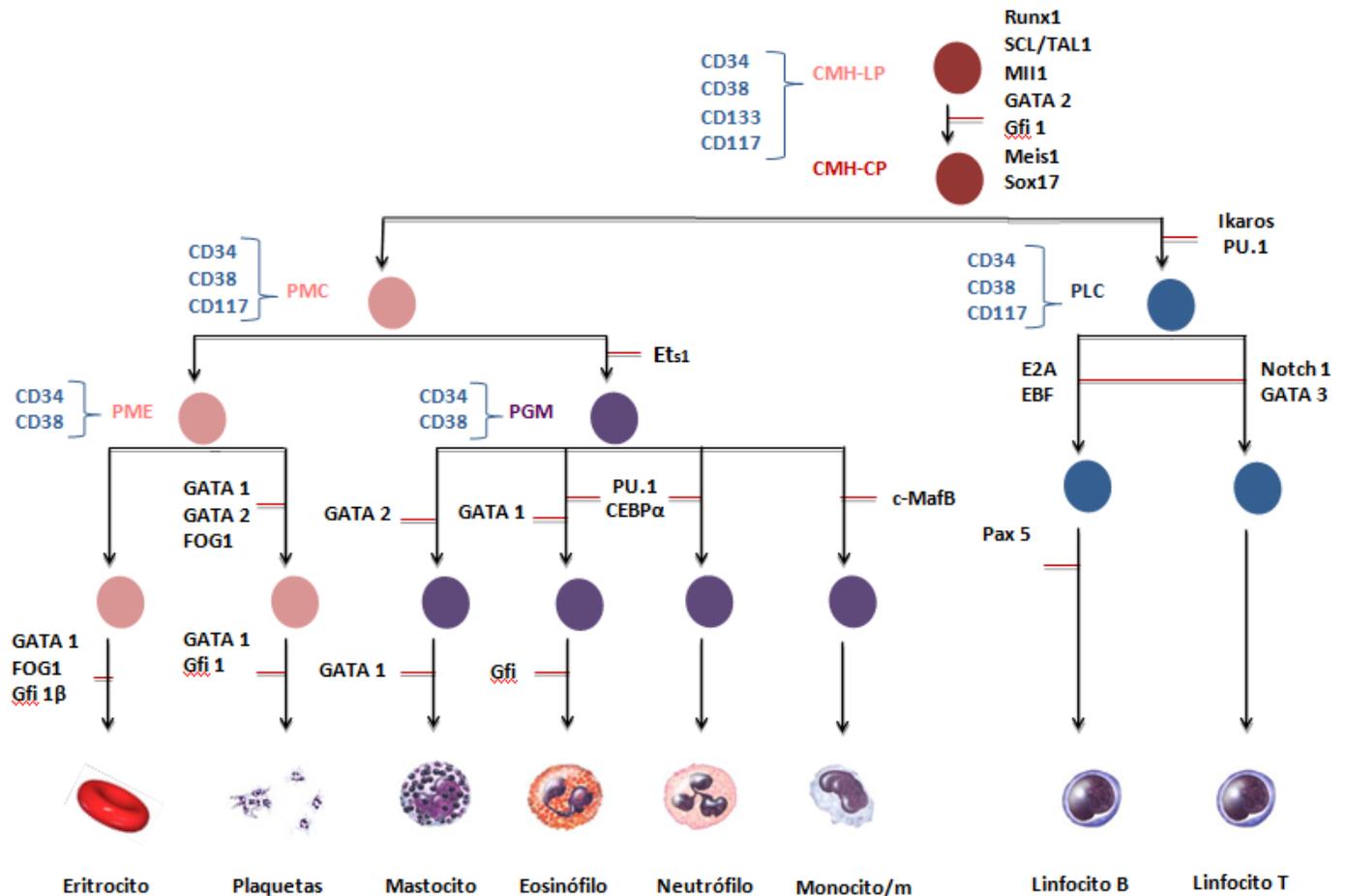
de transcripción **T-bet**, normalmente expresado en células TH1, puede inducir diferenciación de células TH2 en TH1 <sup>(75)</sup>. Otro regulador importante en el desarrollo de los linfocitos es **Ikaros**, una proteína de dedos de zinc con sitios de unión a DNA y su eliminación elimina a los linfocitos B y T fetales. En este sentido, ratones deficientes de Ikaros desarrollan linfocitos T después del nacimiento, mientras que los linfocitos B permanecen ausentes durante toda la vida <sup>(76, 77)</sup>. En la Tabla 1 se agrupan las principales características de los factores de transcripción anteriormente descritos, mientras que la Figura 1 señala etapas claves de la expresión de estos factores durante la hematopoyesis.

### DISCUSION

Esta revisión ha agrupado el conocimiento actual, relativo al origen, funcionamiento y factores que regulan el desarrollo y diferenciación de las células madre hematopoyéticas, ha pretendido proporcionar una perspectiva que incluya las interacciones celulares durante el desarrollo, la programación del linaje y reprogramación por factores de transcripción, así como las diferencias de cada etapa de la hematopoyesis. Como se ha mencionado, Las CMH se producen en distintos nichos y poseen proteínas en la superficie celular que nos permiten identificarlas. De la misma forma, las CMH expresan diferentes factores de transcripción necesarios para su maduración, por

FACTOR	TIPO	CÉLULAS QUE LO EXPRESAN	EFFECTO DE LA SOBREEXPRESIÓN	EFFECTO DE LA AUSENCIA	REFERENCIAS
<b>GATA 1</b>	Dedos de Zn	Progenitores Eritroide Megacariocitos Mastocitos Eosinófilos	Eritroide Megacariocitos Eosinófilos Mieloides	Bloqueo eritroide y megacariocitos	48, 60, 62
<b>GATA 2</b>	Dedos de Zn	Progenitores MegacariocitosMastocitos	Maduración de eritrocitos	Progenitores	52-54
<b>GATA 3</b>	Dedos de Zn	Progenitores Células T, Th2	Th2 Th1	No células T	73-74
<b>PU.1</b>	Ets	Progenitores Mieloides Células B	Mieloides	No células B, T y mieloides	60-61, 68, 72
<b>C/EBPα</b>	B-zipper	Mieloides, eosinófilos	Eosinófilos	No neutrófilos Eosinófilos	64-66
<b>FOG-1</b>	Multi-type-Zn fingers	MegacariocitosMastocitos, Eritroide	Eosinófilos	Bloqueo eritroide, no megacariocitos	48, 66
<b>MafB</b>	B-zipper	Monocitos	Monocitos		63
<b>Runx1</b>	Runt	Hematopoyético		No hematopoyesis definitiva	50-51, 54
<b>T-bet</b>	T-box	Células Th1	Th1 Th2		75
<b>Pax 5</b>	Paired box	Células B	Otros linajes	No células B	69-71
<b>Ikaros</b>	Dedos de Zinc	Progenitores Células T		No células linfoides	76-77

**Tabla 1.** Descripción de los principales factores de transcripción mencionados en esta revisión. Las flechas (↑↓) indican aumento o disminución de los diferentes linajes hematopoyéticos. Además se menciona el fenotipo celular desarrollado durante la sobreexpresión o ausencia de los diferentes factores de transcripción.



**Figura 1. Factores de transcripción y CD's expresados durante la hematopoyesis.** La figura indica las etapas clave en la diferenciación de las CMH, señalando los principales factores de transcripción expresados durante cada etapa de maduración, así como los principales marcadores de superficie (CD's) aprovechados para la identificación de los precursores hematopoyéticos. Abreviaturas: CMH-LP, células madre hematopoyética de largo plazo; CMH-CP, célula madre hematopoyética de corto plazo; PMC, precursor mielóide común; PLC, precursor linfocítico común; PME, precursor megacariocítico/eritroide; PGM, precursor granulocítico/macrófagos.

tal motivo, al conocer los perfiles de expresión de cada factor, podemos determinar en qué etapa de desarrollo se encuentra cada tipo celular, además, en conjunto, la expresión o activación de estos factores de transcripción y vías de señalización específicas para la diferenciación de cada linaje nos permiten entender los procesos celulares que rigen los mecanismos de auto-renovación, diferenciación y proliferación de las CMH.

Finalmente, aunque en los últimos años, los factores de transcripción han sido identificados como los principales reguladores de las etapas de la hematopoyesis, es claro que estos factores no son los únicos responsables de la diferenciación de estas células, pues es evidente que requieren de otros factores epigenéticos o en las vías de señalización que controlan la elección y diferenciación de cada linaje, en ese sentido, el reto científico conduce a realizar estudios más amplios que identifiquen otros factores involucrados en la programación celular <sup>(78)</sup>.

**Bibliografía**

1. Bellantuono I. Haemopoietic stem cells. The international journal of biochemistry & cell biology. 2004;36(4):607-20.
2. Horwitz EM. Stem cell plasticity: the growing potential of cellular therapy. Archives of medical research. 2003;34(6):600-6.
3. Marone M, De Ritis D, Bonanno G, Mozzetti S, Rutella S, Scambia G, et al. Cell cycle regulation in human hematopoietic stem cells: from isolation to activation. Leukemia & lymphoma. 2002;43(3):493-501.
4. Niesler CU. Old dogmas and new hearts: a role for adult stem cells in cardiac repair? Cardiovascular journal of South Africa : official journal for Southern Africa Cardiac Society [and] South African Society of Cardiac Practitioners. 2004;15(4):184-9; discussion 9.
5. Hoffman R BE, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ, Silberstein LE. Stem cell model of hematopoiesis. En: Hematology: Basic principles and practice. Philadelphia, EE.UU.: Churchill Livingstone2000. 126-38 p.
6. Ivanova NB, Dimos JT, Schaniel C, Hackney JA, Moore KA, Lemischka IR. A stem cell molecular signature. Science. 2002;298(5593):601-4.
7. Mayani H, Alvarado-Moreno JA, Flores-Guzman P. Biology of human hematopoietic stem and progenitor cells present in circulation. Archives of medical research. 2003;34(6):476-88.
8. Weissman IL. Stem cells: units of development, units of regeneration, and units in evolution. Cell. 2000;100(1):157-68.

9. Morrison SJ, Wandycz AM, Hemmati HD, Wright DE, Weissman IL. Identification of a lineage of multipotent hematopoietic progenitors. *Development*. 1997;124(10):1929-39.
10. Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature*. 2001;414(6859):105-11.
11. Mikkola HK, Orkin SH. The journey of developing hematopoietic stem cells. *Development*. 2006;133(19):3733-44.
12. Panoskaltzis N, Mantalaris A, Wu JH. Engineering a mimicry of bone marrow tissue ex vivo. *Journal of bioscience and bioengineering*. 2005;100(1):28-35.
13. Quesenberry PJ, Crittenden RB, Lowry P, Kittler EW, Rao S, Peters S, et al. In vitro and in vivo studies of stromal niches. *Blood cells*. 1994;20(1):97-104.
14. Hoffman R BE, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ, Silberstein LE, McGlave P. Anatomy and physiology of hematopoiesis, En *Hematology: Basic principles and practice*. Churchill Livingstone. Philadelphia, EE.UU.2000. 139-54. p.
15. Hoffman R. Benz EJ SS, Furie B, Cohen HJ, Silberstein LE, McGlave P. Chronic Myelogenous Leukemia. En: *Hematology: Basic principles and practice*. Philadelphia, EE.UU.: Churchill Livingstone2000. 1155-71 p.
16. Suda T, Arai F, Hirao A. Hematopoietic stem cells and their niche. *Trends in immunology*. 2005;26(8):426-33.
17. Till JE, McCulloch EA. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells. *Radiation research*. 1961;14:213-22.
18. Szilvassy SJ. The biology of hematopoietic stem cells. *Archives of medical research*. 2003;34(6):446-60.
19. Dexter TM, Allen TD, Lajtha LG. Conditions controlling the proliferation of haemopoietic stem cells in vitro. *Journal of cellular physiology*. 1977;91(3):335-44.
20. Coulombel L, Eaves AC, Eaves CJ. Enzymatic treatment of long-term human marrow cultures reveals the preferential location of primitive hemopoietic progenitors in the adherent layer. *Blood*. 1983;62(2):291-7.
21. Benboubker L, Binet C, Cartron G, Bernard MC, Clement N, Delain M, et al. Frequency and differentiation capacity of circulating LTC-IC mobilized by G-CSF or GM-CSF following chemotherapy: a comparison with steady-state bone marrow and peripheral blood. *Experimental hematology*. 2002;30(1):74-81.
22. Wognum AW, Eaves AC, Thomas TE. Identification and isolation of hematopoietic stem cells. *Archives of medical research*. 2003;34(6):461-75.
23. Lanza F, Healy L, Sutherland DR. Structural and functional features of the CD34 antigen: an update. *Journal of biological regulators and homeostatic agents*. 2001;15(1):1-13.
24. Sutherland DR, Keating A. The CD34 antigen: structure, biology, and potential clinical applications. *Journal of hematotherapy*. 1992;1(2):115-29. Epub 1992/01/01.
25. Young PE, Baumhueter S, Lasky LA. The sialomucin CD34 is expressed on hematopoietic cells and blood vessels during murine development. *Blood*. 1995;85(1):96-105.
26. Larochelle A, Vormoor J, Hanenberg H, Wang JC, Bhatia M, Lapidot T, et al. Identification of primitive human hematopoietic cells capable of repopulating NOD/SCID mouse bone marrow: implications for gene therapy. *Nature medicine*. 1996;2(12):1329-37.
27. Civin CI, Trischmann T, Kadan NS, Davis J, Noga S, Cohen K, et al. Highly purified CD34-positive cells reconstitute hematopoiesis. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 1996;14(8):2224-33.
28. Vogel W, Scheduling S, Kanz L, Brugger W. Clinical applications of CD34 (+) peripheral blood progenitor cells (PBPC). *Stem Cells*. 2000;18(2):87-92.
29. Verstegen MM, van Hennik PB, Terpstra W, van den Bos C, Wielenga JJ, van Rooijen N, et al. Transplantation of human umbilical cord blood cells in macrophage-depleted SCID mice: evidence for accessory cell involvement in expansion of immature CD34+CD38- cells. *Blood*. 1998;91(6):1966-76.
30. Bhatia M, Bonnet D, Murdoch B, Gan OI, Dick JE. A newly discovered class of human hematopoietic cells with SCID-repopulating activity. *Nature medicine*. 1998;4(9):1038-45.
31. Zanjani ED, Almeida-Porada G, Livingston AG, Flake AW, Ogawa M. Human bone marrow CD34- cells engraft in vivo and undergo multilineage expression that includes giving rise to CD34+ cells. *Experimental hematology*. 1998;26(4):353-60.
32. Nakamura Y, Ando K, Chargui J, Kawada H, Sato T, Tsuji T, et al. Ex vivo generation of CD34(+) cells from CD34(-) hematopoietic cells. *Blood*. 1999;94(12):4053-9.
33. Zanjani ED, Almeida-Porada G, Livingston AG, Zeng H, Ogawa M. Reversible expression of CD34 by adult human bone marrow long-term engrafting hematopoietic stem cells. *Experimental hematology*. 2003;31(5):406-12.
34. Gallacher L, Murdoch B, Wu DM, Karanu FN, Keeney M, Bhatia M. Isolation and characterization of human CD34(-)Lin(-) and CD34(+) Lin(-) hematopoietic stem cells using cell surface markers AC133 and CD7. *Blood*. 2000;95(9):2813-20.
35. Wang J, Kimura T, Asada R, Harada S, Yokota S, Kawamoto Y, et al. SCID-repopulating cell activity of human cord blood-derived CD34- cells assured by intra-bone marrow injection. *Blood*. 2003;101(8):2924-31.
36. Yin AH, Miraglia S, Zanjani ED, Almeida-Porada G, Ogawa M, Leary AG, et al. AC133, a novel marker for human hematopoietic stem and progenitor cells. *Blood*. 1997;90(12):5002-12.
37. Miraglia S, Godfrey W, Yin AH, Atkins K, Warnke R, Holden JT, et al. A novel five-transmembrane hematopoietic stem cell antigen: isolation, characterization, and molecular cloning. *Blood*. 1997;90(12):5013-21.
38. Pasino M, Lanza T, Marotta F, Scarso L, De Biasio P, Amato S, et al. Flow cytometric and functional characterization of AC133+ cells from human umbilical cord blood. *British journal of haematology*. 2000;108(4):793-800.
39. Matsumoto K, Yasui K, Yamashita N, Horie Y, Yamada T, Tani Y, et al. In vitro proliferation potential of AC133 positive cells in peripheral blood. *Stem Cells*. 2000;18(3):196-203.
40. Hess DA, Levac KD, Karanu FN, Rosu-Myles M, White MJ, Gallacher L, et al. Functional analysis of human hematopoietic repopulating cells mobilized with granulocyte colony-stimulating factor alone versus granulocyte colony-stimulating factor in combination with stem cell factor. *Blood*. 2002;100(3):869-78.
41. Bhatia M. AC133 expression in human stem cells. *Leukemia*. 2001;15(11):1685-8.
42. Hoffman R BE, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ, Silberstein LE, McGlave P. G, Livingstone C. Growth factors, Cytokines, and the Control of Hematopoiesis. En: *Hematology: Basic principles and practice* Philadelphia, EE.UU.2000. 139-54 p.
43. Conze T, Lammers R, Kuci S, Scherl-Mostageer M, Schweifer N, Kanz L, et al. CDCP1 is a novel marker for hematopoietic stem cells. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2003;996:222-6.
44. Bell DR, Van Zant G. Stem cells, aging, and cancer: inevitabilities and outcomes. *Oncogene*. 2004;23(43):7290-6.
45. Attar EC, Scadden DT. Regulation of hematopoietic stem cell growth. *Leukemia*. 2004;18(11):1760-8.
46. Ezoe S, Matsumura I, Satoh Y, Tanaka H, Kanakura Y. Cell cycle regulation in hematopoietic stem/progenitor cells. *Cell Cycle*. 2004;3(3):314-8.
47. Orkin SH. Diversification of haematopoietic stem cells to specific lineages. *Nature reviews Genetics*. 2000;1(1):57-64.
48. Kim SI, Bresnick EH. Transcriptional control of erythropoiesis:

- emerging mechanisms and principles. *Oncogene*. 2007;26(47):6777-94.
49. Sasaki K, Yagi H, Bronson RT, Tominaga K, Matsunashi T, Deguchi K, et al. Absence of fetal liver hematopoiesis in mice deficient in transcriptional coactivator core binding factor beta. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1996;93(22):12359-63.
  50. Chen MJ, Yokomizo T, Zeigler BM, Dzierzak E, Speck NA. Runx1 is required for the endothelial to haematopoietic cell transition but not thereafter. *Nature*. 2009;457(7231):887-91.
  51. Huang G, Zhao X, Wang L, Elf S, Xu H, Sashida G, et al. The ability of MLL to bind RUNX1 and methylate H3K4 at PU.1 regulatory regions is impaired by MDS/AML-associated RUNX1/AML1 mutations. *Blood*. 2011;118(25):6544-52.
  52. Minegishi N, Ohta J, Yamagiwa H, Suzuki N, Kawauchi S, Zhou Y, et al. The mouse GATA-2 gene is expressed in the para-aortic splanchnopleura and aorta-gonads and mesonephros region. *Blood*. 1999;93(12):4196-207.
  53. Minegishi N, Suzuki N, Yokomizo T, Pan X, Fujimoto T, Takahashi S, et al. Expression and domain-specific function of GATA-2 during differentiation of the hematopoietic precursor cells in midgestation mouse embryos. *Blood*. 2003;102(3):896-905.
  54. Wilson NK, Foster SD, Wang X, Knezevic K, Schutte J, Kaimakis P, et al. Combinatorial transcriptional control in blood stem/progenitor cells: genome-wide analysis of ten major transcriptional regulators. *Cell stem cell*. 2010;7(4):532-44.
  55. Pajcini KV, Speck NA, Pear WS. Notch signaling in mammalian hematopoietic stem cells. *Leukemia*. 2011;25(10):1525-32.
  56. Azcoitia V, Aracil M, Martinez AC, Torres M. The homeodomain protein Meis1 is essential for definitive hematopoiesis and vascular patterning in the mouse embryo. *Developmental biology*. 2005;280(2):307-20.
  57. Hisa T, Spence SE, Rachel RA, Fujita M, Nakamura T, Ward JM, et al. Hematopoietic, angiogenic and eye defects in Meis1 mutant animals. *The EMBO journal*. 2004;23(2):450-9.
  58. Kim I, Saunders TL, Morrison SJ. Sox17 dependence distinguishes the transcriptional regulation of fetal from adult hematopoietic stem cells. *Cell*. 2007;130(3):470-83.
  59. Mikkola HK, Klintman J, Yang H, Hock H, Schlaeger TM, Fujiwara Y, et al. Haematopoietic stem cells retain long-term repopulating activity and multipotency in the absence of stem-cell leukaemia SCL/tal-1 gene. *Nature*. 2003;421(6922):547-51.
  60. Kulesa H, Frampton J, Graf T. GATA-1 reprograms avian myelomonocytic cell lines into eosinophils, thromboplasts, and erythroblasts. *Genes & development*. 1995;9(10):1250-62.
  61. Nerlov C, Graf T. PU.1 induces myeloid lineage commitment in multipotent hematopoietic progenitors. *Genes & development*. 1998;12(15):2403-12.
  62. Shivdasani RA, Fujiwara Y, McDevitt MA, Orkin SH. A lineage-selective knockout establishes the critical role of transcription factor GATA-1 in megakaryocyte growth and platelet development. *The EMBO journal*. 1997;16(13):3965-73.
  63. Sieweke MH, Tekotte H, Frampton J, Graf T. MafB is an interaction partner and repressor of Ets-1 that inhibits erythroid differentiation. *Cell*. 1996;85(1):49-60.
  64. Friedman AD, Keefer JR, Kummalue T, Liu H, Wang QF, Cleaves R. Regulation of granulocyte and monocyte differentiation by CCAAT/enhancer binding protein alpha. *Blood cells, molecules & diseases*. 2003;31(3):338-41.
  65. Zhang P, Iwasaki-Arai J, Iwasaki H, Fenyus ML, Dayaram T, Owens BM, et al. Enhancement of hematopoietic stem cell repopulating capacity and self-renewal in the absence of the transcription factor C/EBP alpha. *Immunity*. 2004;21(6):853-63.
  66. Querfurth E, Schuster M, Kulesa H, Crispino JD, Döderlein G, Orkin SH, et al. Antagonism between C/EBPbeta and FOG in eosinophil lineage commitment of multipotent hematopoietic progenitors. *Genes & development*. 2000;14(19):2515-25.
  67. Hock H, Hamblen MJ, Rooke HM, Traver D, Bronson RT, Cameron S, et al. Intrinsic requirement for zinc finger transcription factor Gfi-1 in neutrophil differentiation. *Immunity*. 2003;18(1):109-20.
  68. Dahl R, Iyer SR, Owens KS, Cuylear DD, Simon MC. The transcriptional repressor GFI-1 antagonizes PU.1 activity through protein-protein interaction. *The Journal of biological chemistry*. 2007;282(9):6473-83.
  69. Nutt SL, Heavey B, Rolink AG, Busslinger M. Commitment to the B-lymphoid lineage depends on the transcription factor Pax5. *Nature*. 1999;401(6753):556-62.
  70. Rolink AG, Nutt SL, Melchers F, Busslinger M. Long-term in vivo reconstitution of T-cell development by Pax5-deficient B-cell progenitors. *Nature*. 1999;401(6753):603-6.
  71. Busslinger M, Nutt SL, Rolink AG. Lineage commitment in lymphopoiesis. *Current opinion in immunology*. 2000;12(2):151-8.
  72. DeKoter RP, Singh H. Regulation of B lymphocyte and macrophage development by graded expression of PU.1. *Science*. 2000;288(5470):1439-41.
  73. Rothenberg EV. Negotiation of the T lineage fate decision by transcription-factor interplay and microenvironmental signals. *Immunity*. 2007;26(6):690-702.
  74. Zheng W, Flavell RA. The transcription factor GATA-3 is necessary and sufficient for Th2 cytokine gene expression in CD4 T cells. *Cell*. 1997;89(4):587-96.
  75. Szabo SJ, Kim ST, Costa GL, Zhang X, Fathman CG, Glimcher LH. A novel transcription factor, T-bet, directs Th1 lineage commitment. *Cell*. 2000;100(6):655-69.
  76. Merckenschlager M. Ikaros in immune receptor signaling, lymphocyte differentiation, and function. *FEBS letters*. 2010;584(24):4910-4.
  77. Wang JH, Nichogiannopoulou A, Wu L, Sun L, Sharpe AH, Bigby M, et al. Selective defects in the development of the fetal and adult lymphoid system in mice with an Ikaros null mutation. *Immunity*. 1996;5(6):537-49.
  78. Rossant J. Stem cells: the magic brew. *Nature*. 2007;448(7151):260-2.