

UNIVERSIDAD
CIENTÍFICA
DEL SUR



Mejoras tú. Mejora el mundo.

CÉLULAS MADRE: LIMITACIONES Y OPORTUNIDADES EN EL PERÚ

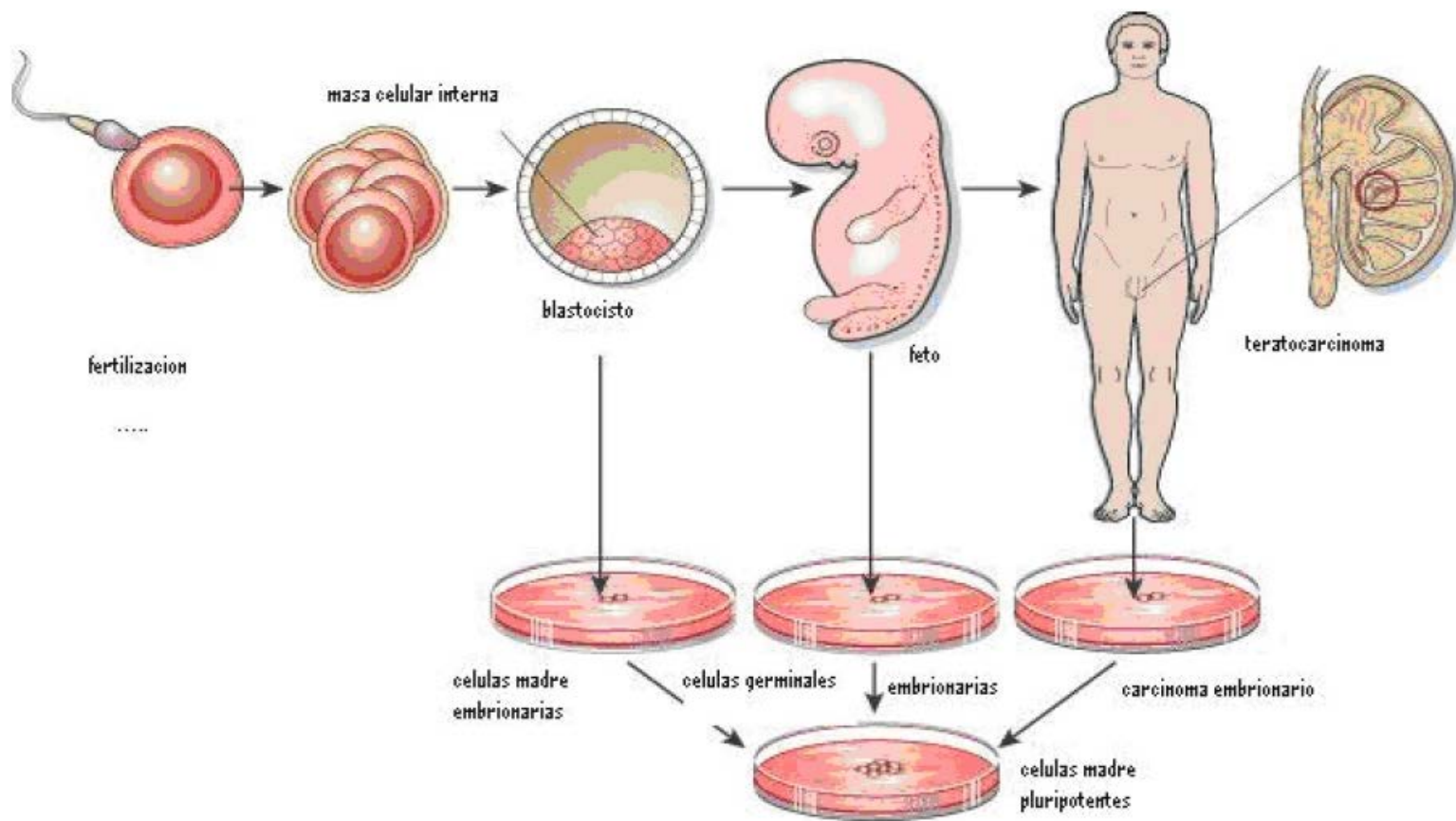


Fig. 1.- Origen de las células madre pluripotentes humanas. En el esquema observamos las fuentes naturales de las células madre pluripotentes: a) células madre embrionarias, originarias del blastocisto, b) células germinales embrionarias, originarias del feto, y células de carcinoma embrional, originarias de los teratocarcinomas. (Tomado de Nature, Vol. 414, pág. 93, 2001. Traducido por David Amiel).

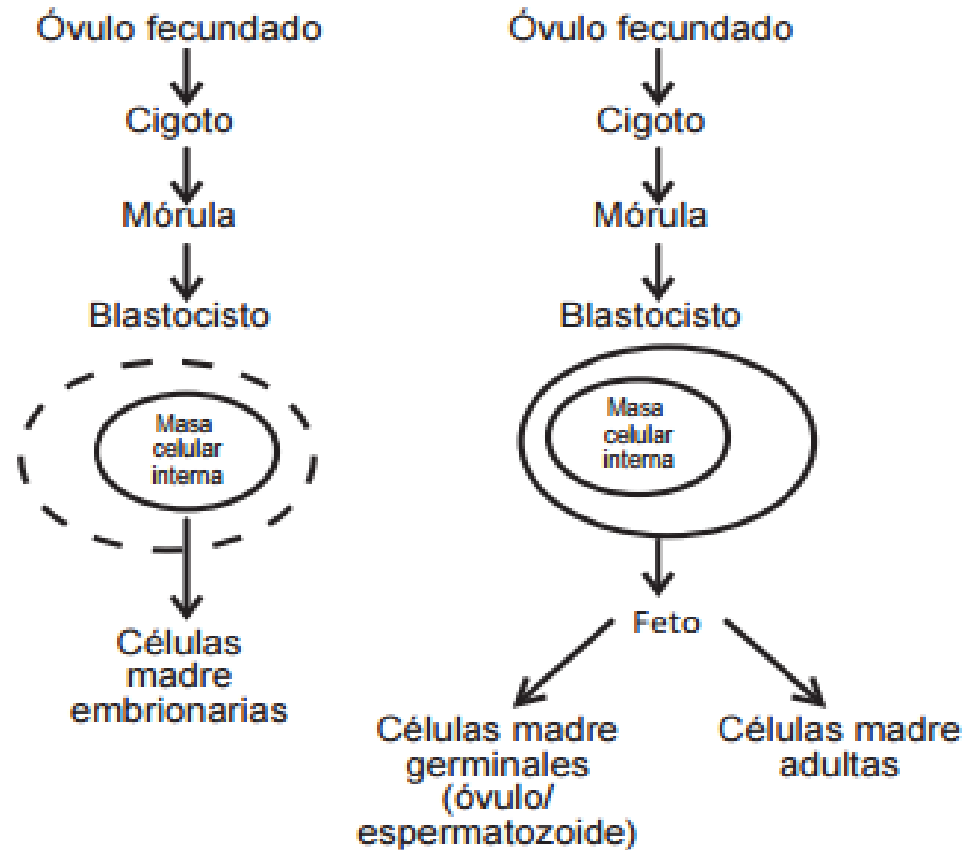


Figura 1. Tipos de células madre derivadas de las células pluripotentes del blastocisto

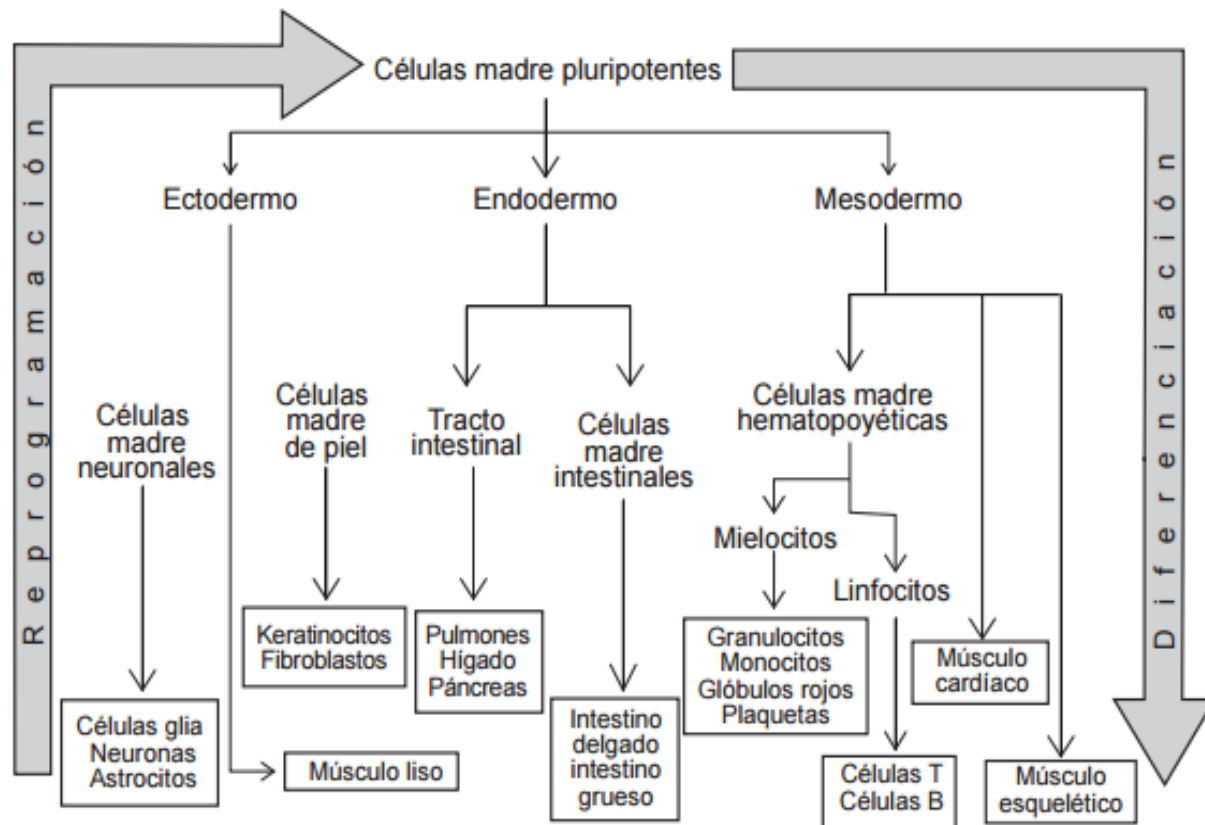


Figura 2. Algunos ejemplos de células terminalmente diferenciadas por capa embrionaria a partir de las células pluripotentes del blastocisto

Tabla 1. Características de las distintas células madre con aplicaciones en medicina regenerativa

Características	Células madre embrionarias (CME)	Células madre adultas (CMA)	Células pluripotentes inducidas (iPS)
Potencial regenerativo	Pluripotentes	Multipotentes	Pluripotentes
Fuentes	Blastocisto	Cordón umbilical Tejido adiposo Médula ósea Sangre de pacientes tratados con agentes de movilización	Fibroblastos Células hematopoyéticas empobrecidas de células con linaje
Aplicaciones	Tamizaje para encontrar nuevas estrategias terapéuticas Estudios del desarrollo embrionario	Tamizaje para encontrar nuevas estrategias terapéuticas Estudios de los linajes celulares de diferentes órganos, tejidos y sistemas Terapias de reemplazo celular en forma alogénica o autóloga (de mayor interés) Terapias para la regeneración con factores de células madre	Tamizaje para encontrar nuevas estrategias terapéuticas Estudios de enfermedades donde es difícil conseguir tejido primario Terapias de reemplazo celular autólogo
Posibles modos de acción en aplicaciones clínica	Actividad angiogénica Estimulantes de la proliferación	Reemplazo celular Actividad angiogénica Quimiotaxis Inmunomodulación Estimulantes de la proliferación	Reemplazo celular Actividad angiogénica Quimiotaxis Inmunomodulación Estimulantes de la proliferación
Limitaciones	Éticas Legales Riesgo de teratomas Rechazo inmunológico	Cantidad Calidad	Cantidad Calidad Riesgo de teratomas Riesgo de mutagénesis con ciertas tecnologías disponibles

Tabla 2. Condición de los pacientes donantes en los cuáles ha sido posible convertir células somáticas mediante diversos métodos de generación de células pluripotentes inducidas (iPS)

Condición de los pacientes donantes	Fuente de células	Referencias
Anemia de células falciformes	Fibroblastos	37
Anemia de Fanconi	Fibroblastos	38
Talasemia	Fibroblastos	39
Síndrome de X frágil	Fibroblastos	40
Diabetes	Fibroblastos	41
Varias enfermedades metabólicas	Fibroblastos	41
Parkinson	Fibroblastos	41
Trisomía 21	Fibroblastos	41
Tratamiento con agentes de movilización hematopoyética	Células hematopoyéticas empobrecidas de células con linaje	43
Leucemia mieloide aguda	Fibroblastos	43
Saludables	Células insulares beta del páncreas	44

CÉLULAS MADRE CARCINOGENICAS

Las primeras experiencias exitosas realizadas por Shinya Yamanaka y colaboradores en la Universidad de Kyoto (Japón) en 2006, para obtener células madre pluripotentes inducidas, mostraban un alto porcentaje de células cancerosas (12%). Experiencias posteriores para disminuir o impedir este indeseable resultado corrigieron de modo muy importante el problema, al reemplazar los retrovirus transportadores de los genes requeridos por adenovirus, primero, y luego suprimiéndolos totalmente. Paralelamente, los cuatro genes codificadores de factores de transcripción Oct4, Sox2, c-Myc y Klf4 utilizados se redujeron a solo dos: Oct4 y Sox2.

Pero la idea de la posible existencia de células madre carcinogénicas no por ello desapareció, aunque subsistía sin evidencias concluyentes. Los trabajos de Nathaly Enciso y colaboradores, efectuados en los laboratorios de la Universidad Científica del Sur, determinaron la presencia del factor de transcripción Oct4, propio de células con potencial pluripotente, y del factor de transcripción nuclear NF-kB, que se expresa particularmente cuando se trata de tumores inflamatorios. En aquella experiencia publicada en esta misma revista (Vol. 9, enero-abril 2012) y realizada con tumores mamarios caninos, se observó expresión de Oct4 en las células alveolares del tumor indicando la presencia de potenciales células pluripotentes, en tanto que la expresión de NF-kB en los compartimentos anatómicos del tumor mamario implica que este factor participa en la tumorigénesis de este tipo de neoplasia.

Arnout G. Shepers, del Hubrecht Institute de Holanda, lidera un grupo de investigadores que también ha verificado la participación de células madre en la generación de adenomas en el intestino, trabajo que fue publicado el 10 de agosto de 2012 en la revista *Science*.

Jian Chen y colaboradores, del equipo de Luis Parada, comunicaron en *Nature*, el 23 de agosto del 2012, haber identificado células madre en tumores cerebrales, glioblastomas.

Gregory Driessens y colaboradores, del equipo de C. Blanpain en la Universidad de Bruselas, en Bélgica, observaron un subgrupo de células madre que estimulaban el crecimiento de tumores y que después de la quimioterapia el tumor volvía a reproducirse, suponiéndose que esto se debía a células madre que habían sido resistentes al tratamiento. La experiencia fue publicada en *Nature*, el 23 de agosto de 2012.

Los trabajos de Nathaly Enciso y los otros tres después mencionados, concurren en mostrar una clara evidencia de la existencia de células madre carcinogénicas.

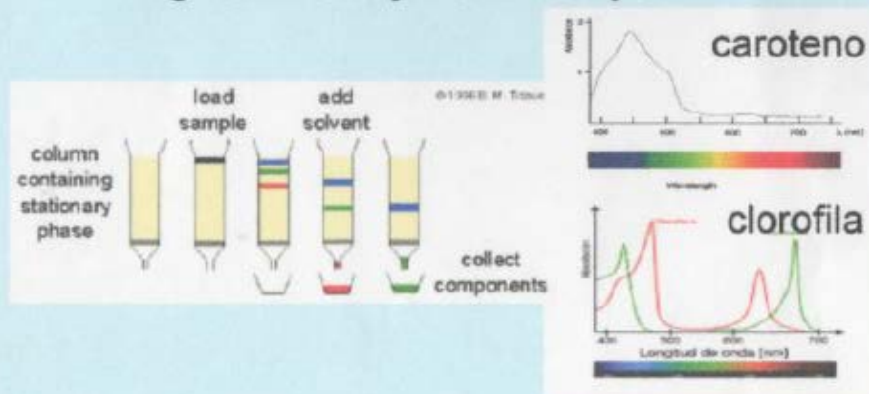
Recientemente, en el número de la revista *Científica* que corresponde a mayo-agosto de 2012, Javier Enciso publica el artículo original "Identificación inmunohistoquímica de células inmunoreactivadas al marcador de indiferenciación Oct4 en neoplasia inducida por 7,12-dimetilbenz (a) antraceno (DMBA) en ratones"; en el que muestra, una vez más, la calidad de indiferenciación y autorrenovación de células neoplásicas reguladas por el factor de transcripción Oct4, esta vez en ratones, experiencia que confirma la presunción de la existencia de células madre carcinogénicas.

Estos resultados deben ser confirmados, profundizados y ampliados a diferentes tipos de procesos cancerosos, con la casuística suficiente para que a estos resultados puedan aplicárseles las pruebas estadísticas que garanticen la idoneidad y extensión del trabajo experimental diseñado y, sobre todo, justifiquen los esfuerzos a realizar en la búsqueda de nuevos quimioterápicos que hagan posible destruir estas células madre, sin los efectos secundarios que ahora acompañan a los tratamientos contra el cáncer. Es una tarea que debe continuar.

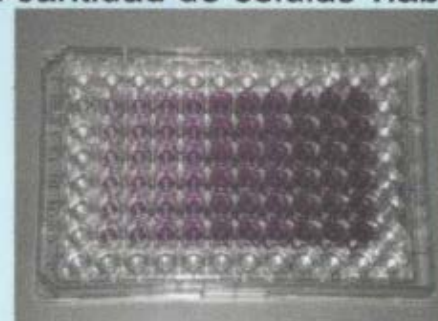
IMPORTANCIA DEL PROYECTO (PROBLEMA CENTRAL A RESOLVER)

El estudio de la utilización de extractos de plantas medicinales para promover la expansión de células madre adultas en cultivo emplea la técnica de tinción XTT. Sin embargo, la presencia de β -caroteno y clorofila en los extractos vegetales interfiere con esta técnica.

La separación cromatográfica de extractos vegetales incluye caroteno y clorofila



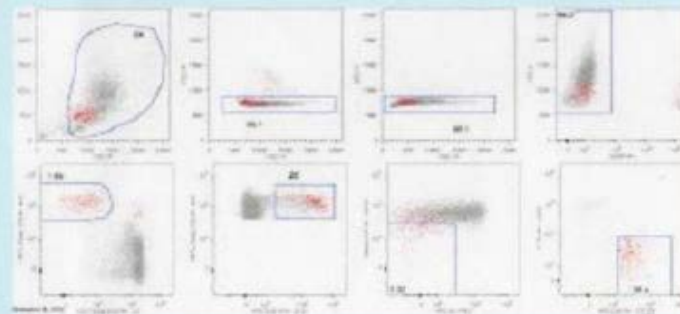
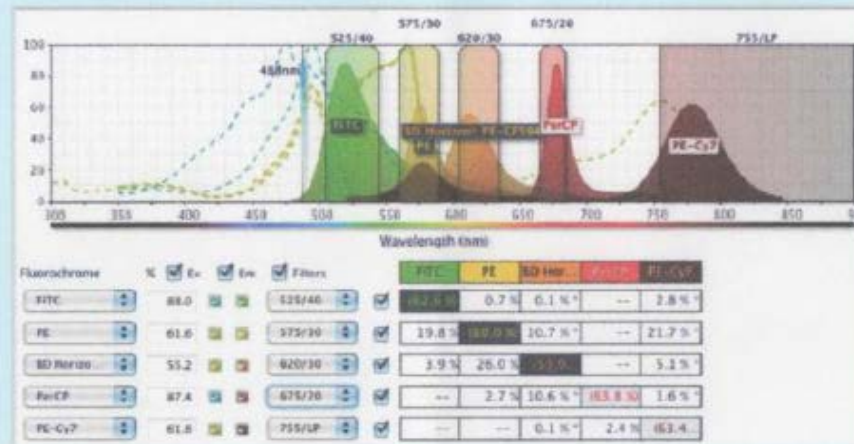
La tinción XTT relaciona la densidad óptica a 560 nm con la cantidad de células viables



5

HIPÓTESIS DEL PROYECTO

Es posible contar y caracterizar células madre para el tamizaje de extractos vegetales empleando citometría de flujo.



6

Risk factors in the development of stem cell therapy

Carla A Herberts^{1*}, Marcel SG Kwa², Harm PH Hermesen¹

Abstract

Stem cell therapy holds the promise to treat degenerative diseases, cancer and repair of damaged tissues for which there are currently no or limited therapeutic options. The potential of stem cell therapies has long been recognised and the creation of induced pluripotent stem cells (iPSC) has boosted the stem cell field leading to increasing development and scientific knowledge. Despite the clinical potential of stem cell based medicinal products there are also potential and unanticipated risks. These risks deserve a thorough discussion within the perspective of current scientific knowledge and experience. Evaluation of potential risks should be a prerequisite step before clinical use of stem cell based medicinal products.

The risk profile of stem cell based medicinal products depends on many risk factors, which include the type of stem cells, their differentiation status and proliferation capacity, the route of administration, the intended location, *in vitro* culture and/or other manipulation steps, irreversibility of treatment, need/possibility for concurrent tissue regeneration in case of irreversible tissue loss, and long-term survival of engrafted cells. Together these factors determine the risk profile associated with a stem cell based medicinal product. The identified risks (*i.e.* risks identified in clinical experience) or potential/theoretical risks (*i.e.* risks observed in animal studies) include tumour formation, unwanted immune responses and the transmission of adventitious agents.

Currently, there is no clinical experience with pluripotent stem cells (*i.e.* embryonal stem cells and iPSC). Based on their characteristics of unlimited self-renewal and high proliferation rate the risks associated with a product containing these cells (*e.g.* risk on tumour formation) are considered high, if not perceived to be unacceptable. In contrast, the vast majority of small-sized clinical trials conducted with mesenchymal stem/stromal cells (MSC) in regenerative medicine applications has not reported major health concerns, suggesting that MSC therapies could be relatively safe. However, in some clinical trials serious adverse events have been reported, which emphasizes the need for additional knowledge, particularly with regard to biological mechanisms and long term safety.

A fines del año 2014, la prestigiosa revista Science hizo una encuesta entre los científicos; después de varios tamices reunió a los cinco estudios más votados, que puso a consideración de sus lectores y entre ellos el referido al tratamiento de diabetes con células madre. En el conteo final se ubicó a este último en cuarto puesto. Se comenta que se ha avanzado bastante en este tema, pero particularmente en la obtención de células beta de los islotes de Langerhans del páncreas a partir de CME. Dadas las similitudes antes mencionadas es muy posible que también puedan lograrse con iPS. En Lima, en el Seminario Internacional “Avances en la Biología de las células madre y terapia celular” (48), el Dr. Bernat Soria, experto español en células madres y diabetes, fue muy cauto al respecto, pero cabe aclarar que en aquel entonces todavía no se habían obtenido estos logros que se publicaron en setiembre, Kieffer/ Equipo BetaLogics del 2014 y en octubre del 2014, el laboratorio de Douglas Melton demostró que a partir de células pluripotentes se pueden originar células capaces de producir insulina y que responden a los niveles sistémicos de glucosa *in vivo* (49). Si bien este logro es significativo después de más de 10 años de trabajo, queda pendiente resolver la ruta de administración o la manera en que estas células serían transplantadas en humanos dado que necesitan cubrir una superficie mayor que en animales de experimentación para ser efectivas, además de burlar el sistema inmune. Aún no hay información fehaciente de ensayos clínicos efectuados al respecto.