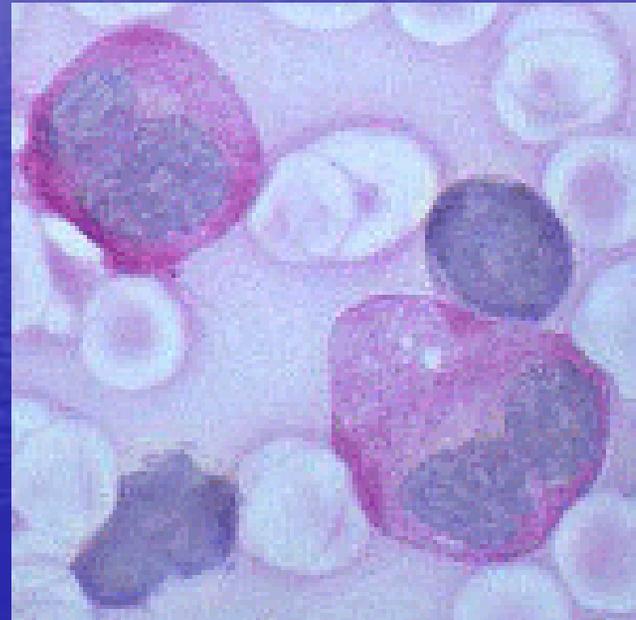


El Secreto de las Células Madre



Jacobo Trébol López
Facultad de Medicina UAM - H.U. La Paz.
Tutor: Damián García-Olmo

A microscopic image showing numerous cells with prominent blue nuclei and green cytoplasm, set against a light grey background. The cells are scattered across the field of view, with some appearing in small clusters. The overall appearance is that of a cell culture or a biological specimen under a microscope.

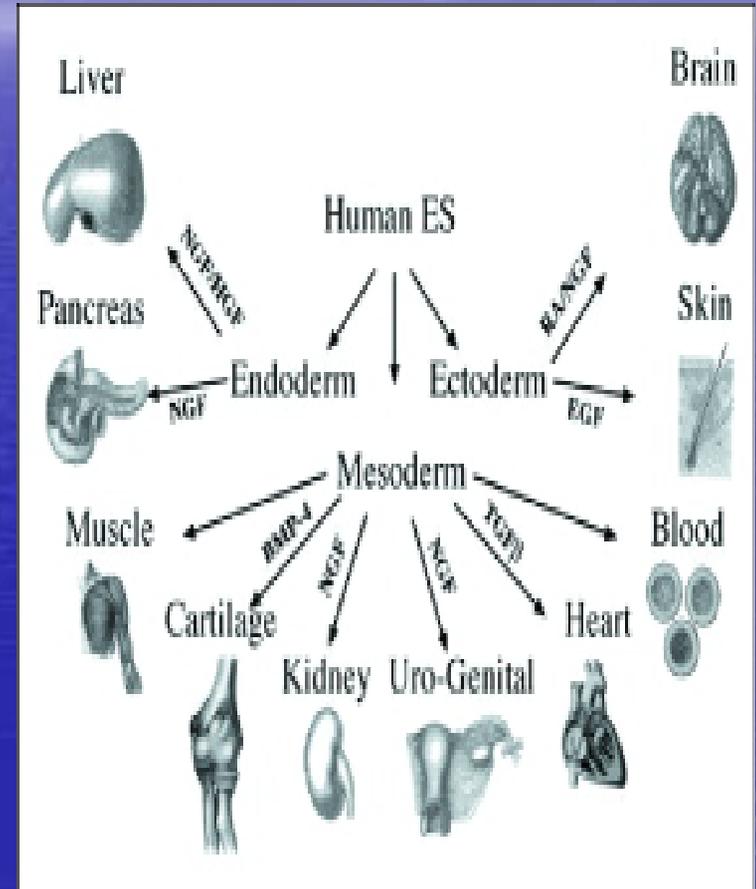
Introducción:

Objetivos:

- Aclarar los conceptos básicos acerca de las células madre.
- Conocer las características de los distintos tipos de células madre para poder compararlas.
- Conocer los aspectos más destacados de la legislación vigente.
- Elegir la mejor célula madre para su uso terapéutico.

Conceptos básicos 1:

- Definición de célula madre (SC):
- Dos capacidades:
 - Autorrenovación
 - Originar células hijas que se diferencian en rutas diferentes según señales específicas.

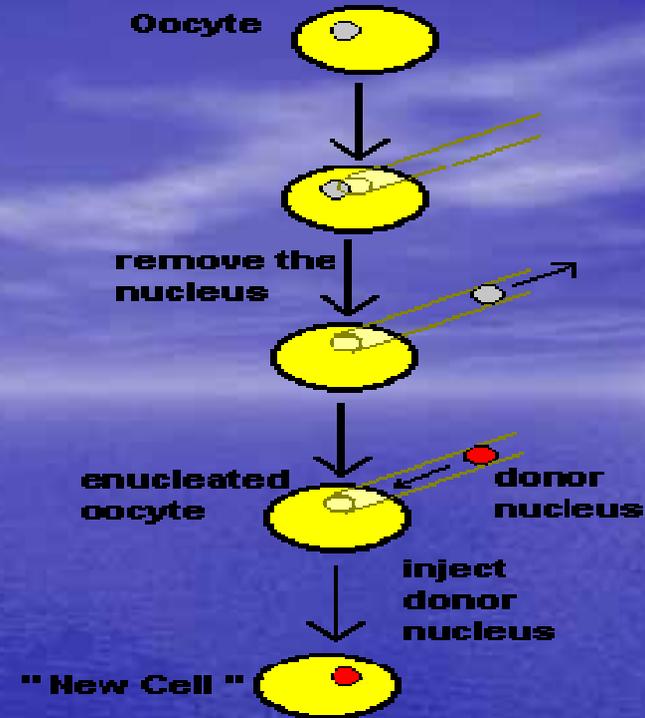


Conceptos básicos 2:

- Tipos de SC por potencialidad:
 - totipotencial: genera cualquier célula extra e intraembrionaria.
 - pluripotenciales: solo intraembrionarias.
 - multipotencial: solo derivados de una lámina embrionaria.
- Clasificación por localización:
 - Adultas
 - Embrionarias

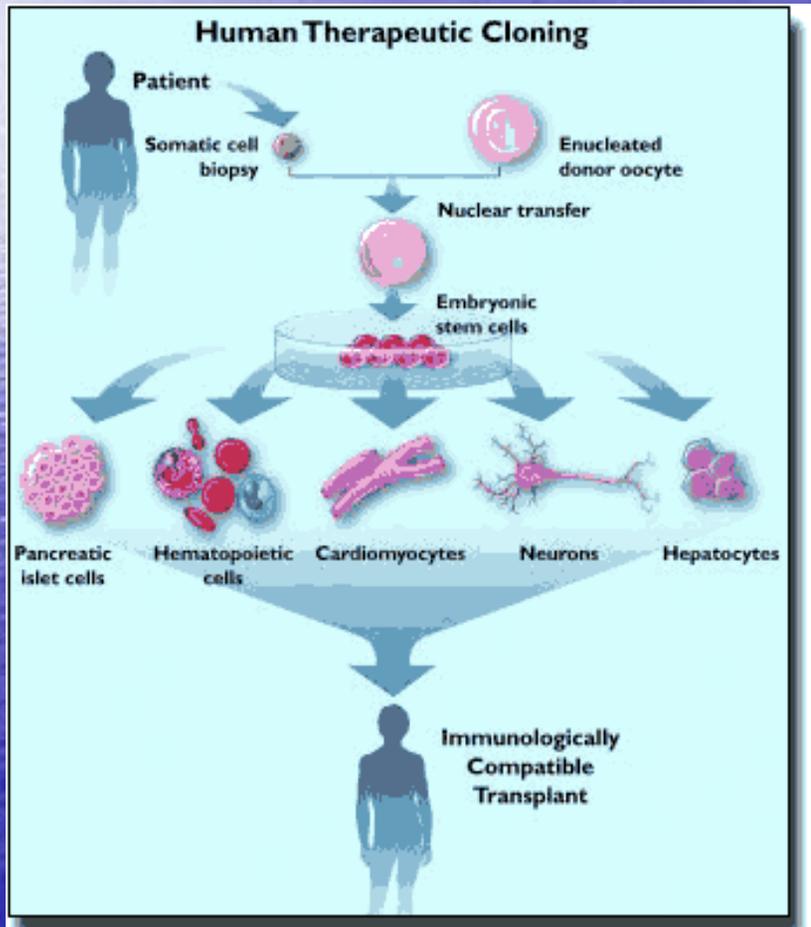
Conceptos básicos 3:

- **Transferencia nuclear:** sustituir núcleo ovocito por uno somático. Se reprograma a SC.
- **Clonación terapéutica:** crear embriones para obtener copias de nuestras células. No aceptada legalmente en todos los países.
- **Clonación reproductiva:** obtener un individuo a partir de una célula de otro. Rechazo ético generalizado.



Ejemplo de clonación terapéutica:

- Primer caso con humanos Science 13-II-04.
- Equipo U Nac Seúl (Shin Yong Moon), otras Corea del Sur y Uni Michigan (José Cibelli).



Pobreza resultados:

242 óvulos de 16 mujeres



Fusión por pulso eléctrico



Solo 30 blastocistos



Solo 1 línea celular cultivo exitoso

Ejemplo de clonación reproductiva:

- Dolly, Nature 27-II-1997 (Wilmut et al).
- 277 intentos!!!
- Humanos?



Biología básica células madre 1:

- Regulación actividad por dos tipos de sistemas de control:

-Externos:

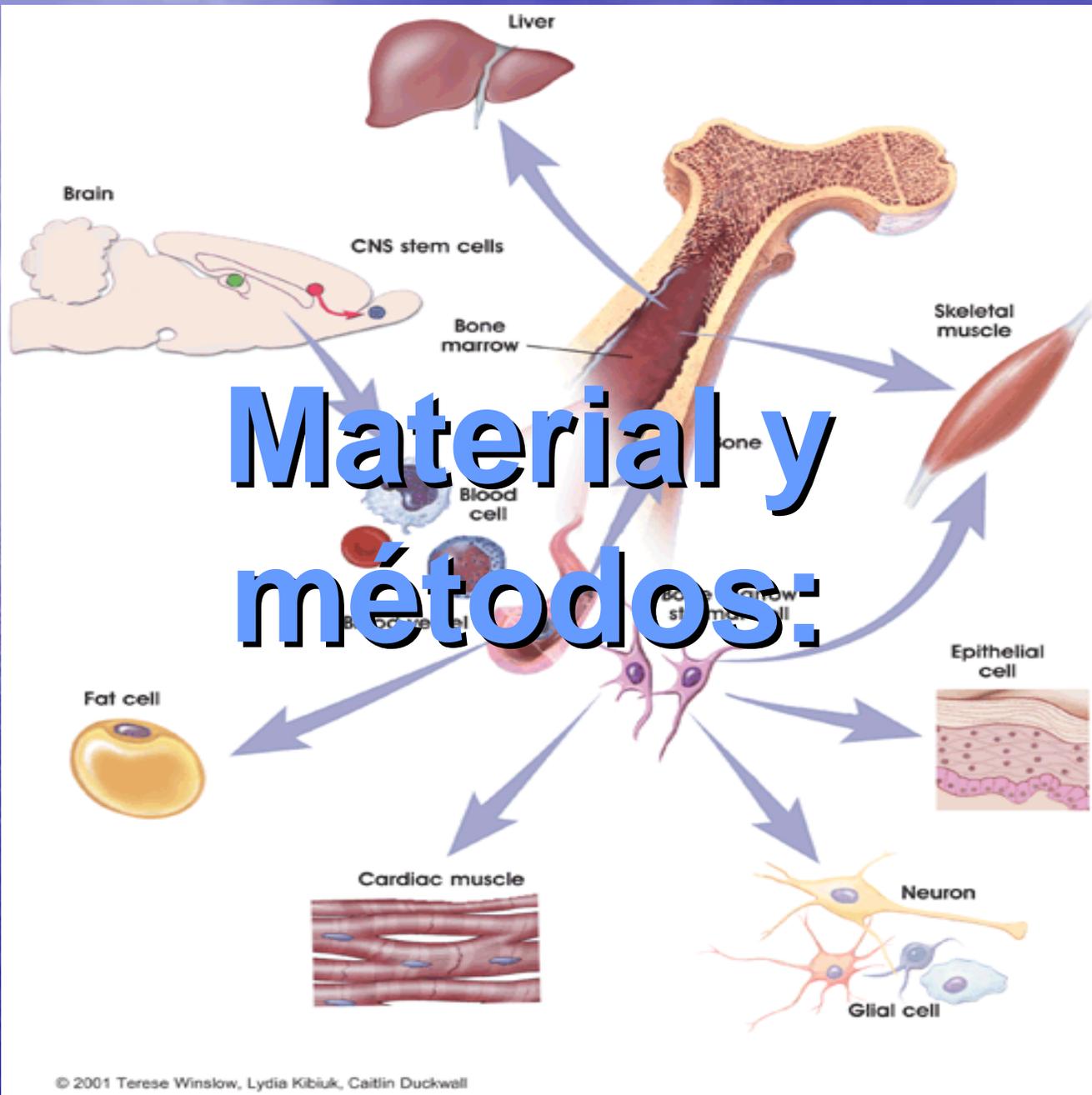


-Fact secretados: auto, para, endocr.

-Interacciones célula-célula⇒
inhibición por contacto (adultas).

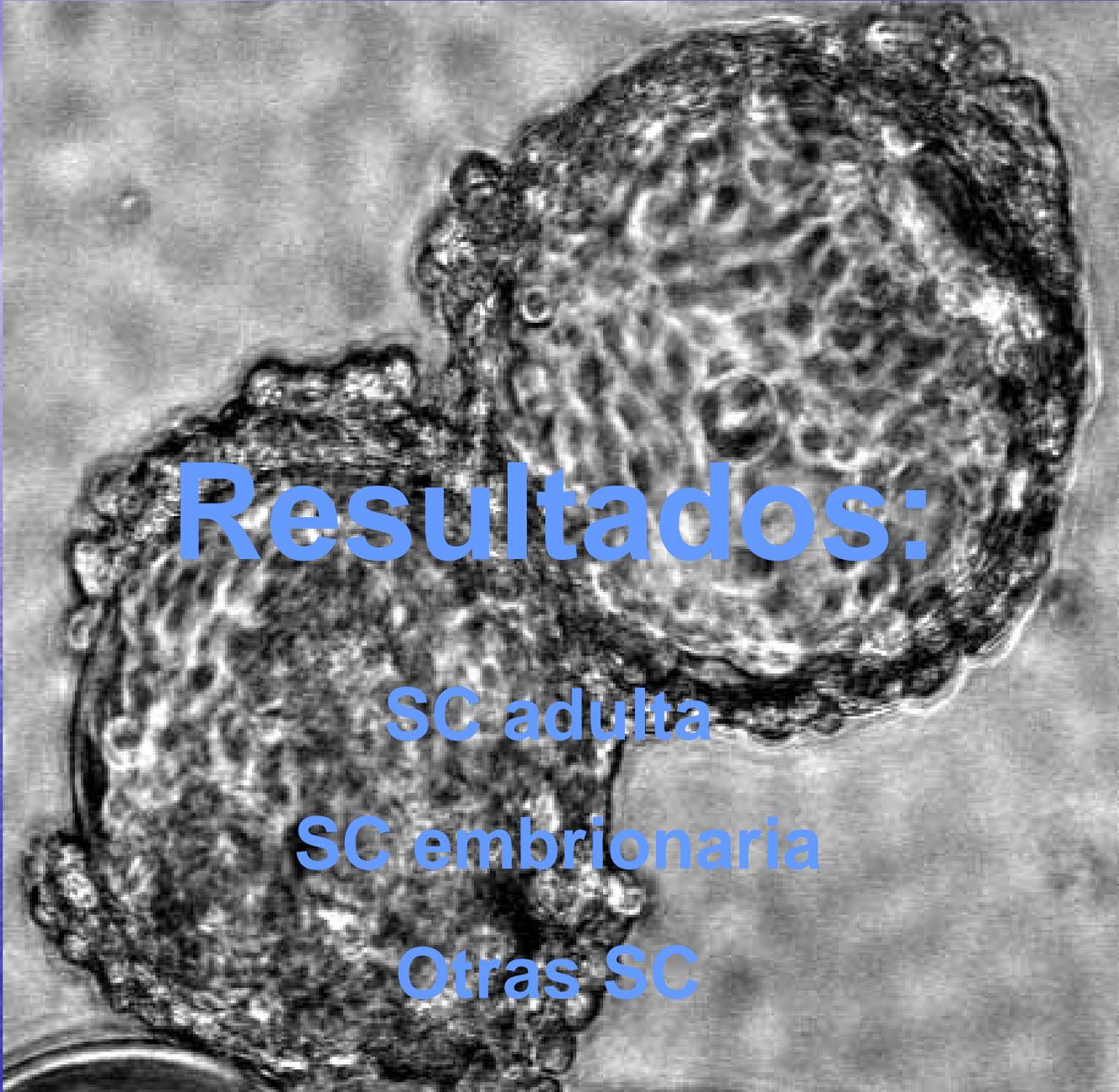
-Interacciones célula-MEC

-Intrínsecos: -Proteínas promotoras e
inhibidoras del ciclo celular
-Act. Telomerasa constitutiva



Material y métodos:

- Revisión bibliográfica fundamentalmente en Internet:
 - Buscadores especializados: PubMed, Medscape. Palabras clave: "stem cells", "embryonic stem cells", "tissue engineering", "cloning"; las mismas con "laws" y "ethics" (y en castellano)
 - Buscadores generales: Google y Yahoo. Palabras clave: las mismas. También "legislación células madre" y "reforma 35/1988"
 - [www.elmundo.es/el mundosalud](http://www.elmundo.es/el_mundosalud): "células madre", "legislación células madre".
 - Páginas institucionales: ministerios, universidades

A grayscale micrograph showing two large, dense clusters of cells. The cells are highly textured and appear to be interconnected, forming a complex network. The background is a light, grainy surface.

Resultados:

SC adulta

SC embrionaria

Otras SC

Células madre adultas:

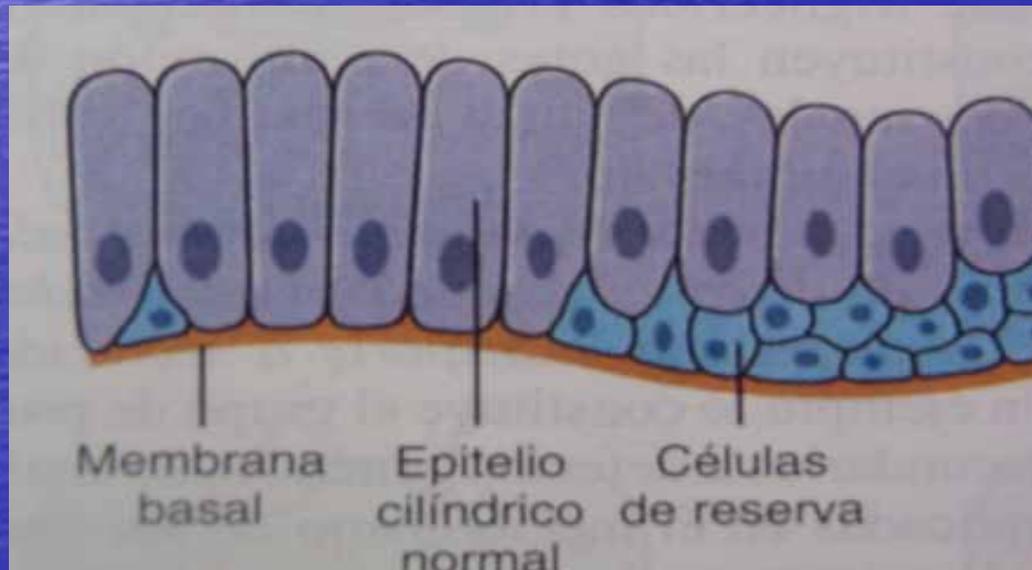


Células madre adultas 1:

- "Célula no especializada en un tejido especializado con la capacidad de originar células diferenciadas de ese tejido" (Proc Natl Acad Sci 89: 8591, 1992; Science 255: 1717, 1992; Proc Natl Acad Sci 94: 14832, 1997).

Papel de SC adultas:

- Renovación tisular: ante procesos:
 - Fisiológicos: Descamación,...
 - Patológicos: Procesos de curación por reparación:
 - Regeneración: sustituye células dañadas por otras =.
 - Cicatrización: sustitución por tejido conectivo.
- Hay tjs sin capacidad de regeneración porque carecen de SC (ej miocardio ⇒ solo cicatriz)



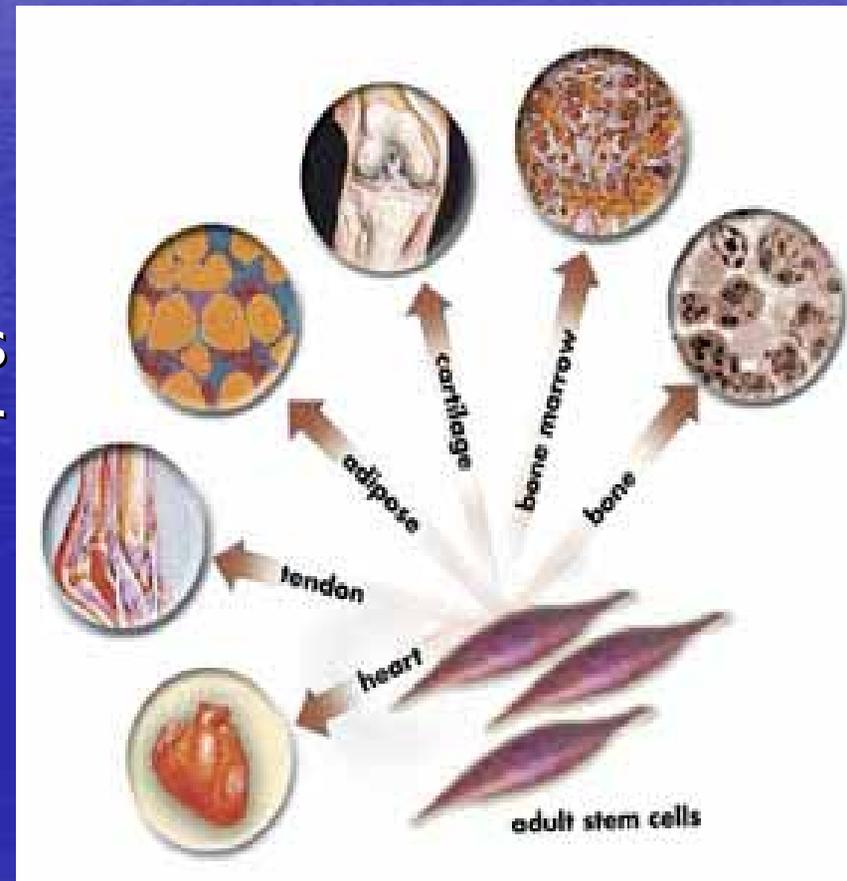
Células Madre Adultas 2:

- Definición incorrecta?: Capacidad Transdiferenciación (plasticidad)

Ejs experimentales:

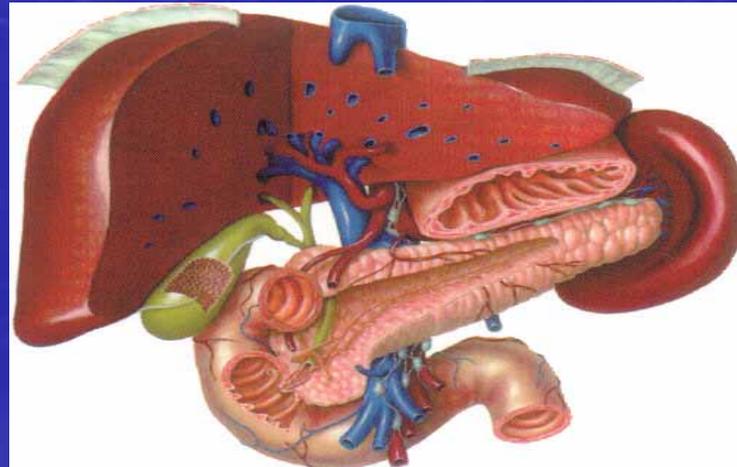
- SC neurales → sanguíneas y músculo esquelético
- SC de liposucción ⇒ Casi todas las céls adultas (Cf. Molecular biology of the cell. December 2002;13:4279-4295).

- Moderación conclusiones:
 - Efecto Cultivo?



Localización célula madre adulta:

- Médula ósea
- Sangre
- Córnea y Retina
- Cerebro
- Músculo
- Tejido adiposo.
- Hígado y Páncreas
- Tracto gastrointestinal.
- Pulpa dental.
- Piel.

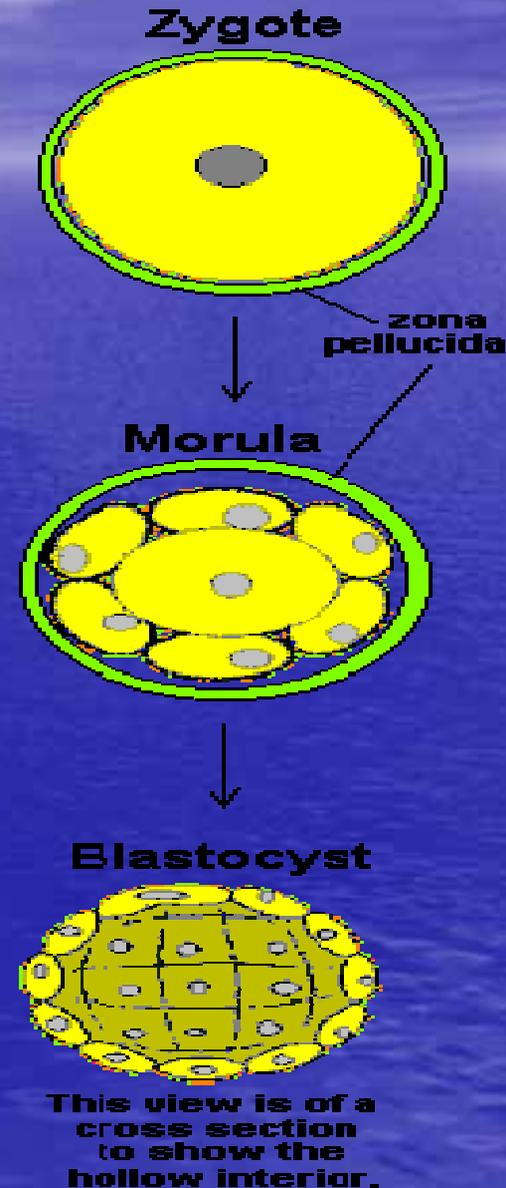




**Células madre
embrionarias (ES):**

Células madre embrionarias 1:

- Zigoto totipotente.
- Divisiones ⇒ **mórula** ⇒ totipotentes
- A los pocos días **blastocisto**:
 - capa superficial ⇒ dará **trofoblasto**
 - cavidad en la que está la **masa celular interna** (m.c.i.) ⇒ **pluritotentes** ⇒ obtención ES ⇒ requiere destrucción embrión.



Células madre embrionarias 2:

- Fuentes embriones:
 - Sobrantes de FIV congelados
 - Creados in vitro de donantes de gametos.
 - Clonación terapéutica: hoy realidad.

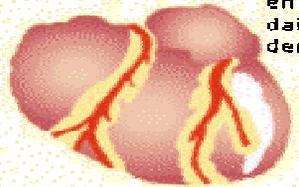


Otras fuentes de SC

- Cordón umbilical
- Placenta
- **Abortos** (ovarios de fetos desarrollados)



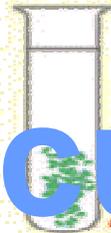
REPARACIÓN DE UN ATAQUE CARDÍACO CON CÉLULAS MADRE ADULTAS



1) Se indujo un ataque cardíaco en un ratón hembra, causándole daño (zona blanca) en el ventrículo derecho del corazón



2) Se cogieron células madre de un ratón transgénico macho



3) Las células madre, que contenían la proteína marcada verde, fueron introducidas de las células de la médula ósea

Discusión:

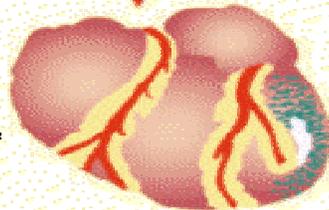
Legislación ESC.

Elección SC ideal.



4) Estas células madre fueron inyectadas en el corazón dañado del ratón hembra entre 3 y 7 horas después de su ataque cardíaco

5) Una o dos semanas después, las células habían contribuido a regenerar gran parte del corazón dañado. La presencia de proteína verde fluorescente y de un cromosoma Y permitió identificar las células del donante masculino



Legislación uso ES:

Patricio González Pizarro
Jacobó Trébol López.



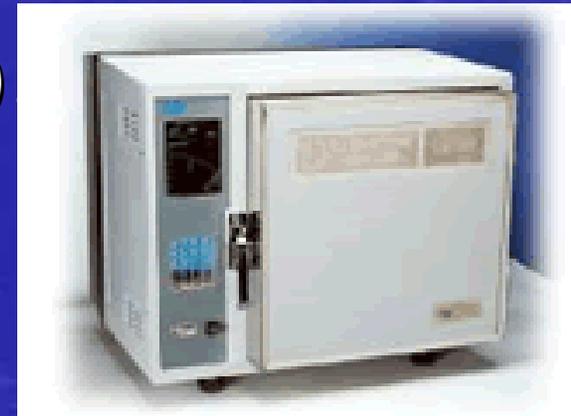
Bancos ES disponibles:

- 2 públicos ⇒ UK y Suecia
- 2 privados ⇒ EEUU y Singapur. Los funcionales pero gran restricción.
- España:
 - Futuro CNTMR (ley Julio 2003)
 - Junta Andalucía (Granada)



Legislación en España

- 25-7-2003⇒ gobierno reforma ley reproducción asistida de 1988.
 - 1) Permite implantar máximo 3 preembriones por ciclo de FIV
 - 2) Se crea el Centro Nacional de Transplantes y Medicina Regenerativa (CNTMR). Contará con banco (Rafael Matesanz
 - 3-III-2004-: Funcionará fin año)



Legislación España:

- 3) Clarifica destino preembriones criopreservados (decisión de la madre):
 1. Criopreservación para posterior implantación
 2. Donación sin ánimo de lucro para lista espera FIV. Criopreservación máx 5 años
 3. Investigación: CNTMR



Legislación Junta de Andalucía:

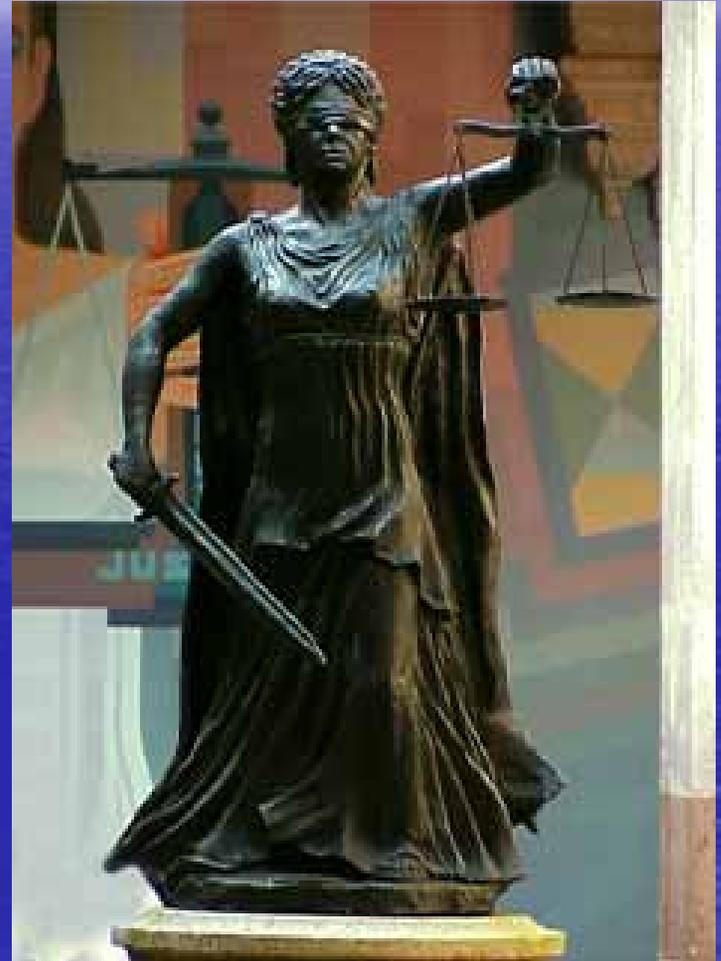
- “Ley de Investigación con Preembriones Humanos” (2003).
- Demandada por inconstitucional por MSC.
- Banco de Líneas Celulares en Granada. Proyecto inicio act 2005.
- Centros implicados: HU Virgen del Rocío (Sevilla), HU Carlos Haya (Málaga), HU Virgen de las Nieves (Granada).
- Cataluña “detrás”?

Legislación en otros países de la UE: Alemania

- el uso de embriones en la **investigación** médica es ilegal (enero de 1991 Ley de Protección del Embrión)
- sí permiten **importar** células madre de otros países para proyectos de investigación especiales

Legislación en otros países de la UE: Francia (ley 2003):

- Se permite padres donar embriones sobrantes congelados para **investigación**.
- Prohíbe **concepción embriones humanos** para investigación.
- No está prohibido **importar** células

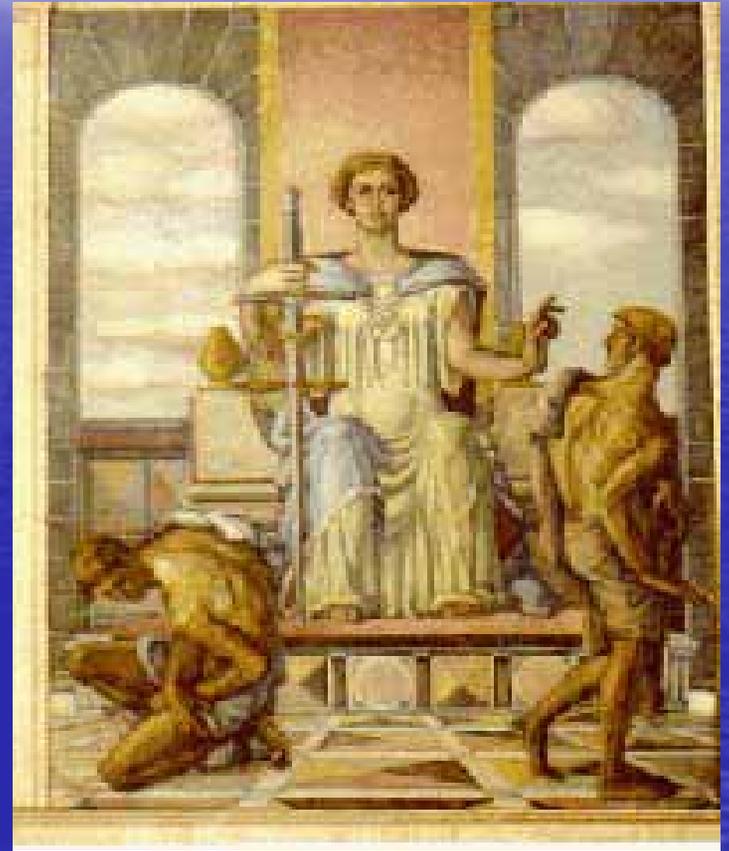


Legislación en otros países de la UE: Dinamarca

- no es legal utilizar embriones humanos para obtener ES
- Pueden usarse embriones en **investigación** siempre que objetivo = perfeccionar técnicas fecundación artificial y la investigación genética.
- prohíbe la **clonación reproductiva**.

Legislación en otros países de la UE: Finlandia

- Prohibido crear **embriones** para investigación.
- Restos FIV pueden ser utilizados para la **investigación** siempre que consentimiento informado firmado.



Legislación en otros países de la UE: Portugal

- no hay legislación sobre la procreación clínicamente asistida.
- (1997) se prohíbe “la **creación** o **utilización** de embriones para fines de investigación o experimentación científica”, sólo se acepta cuando **beneficia** al embrión.

Legislación en otros países de la UE: Reino Unido(2001)

- Permite uso y creación (⇒clon terap bajo cons inform) embriones para **investigación**; deben ser destruidos en el plazo de **14 días** después de la fecundación.

- Inicio **sistema nervioso**.
- Difícil implante posterior.



- Se prohíbe la **clonación reproductiva**.
- En septiembre 2002 creo el primer banco de ES

Legislación en otros países: EE.UU.

- Prohibida la **creación** de embriones humanos para fuente de SC.
- Se permitirá que continúen las **investigaciones** con SC **que ya existen**.
- (SÓLO para instituciones públicas o proyectos con fondos federales).

Países asiáticos: mucho más laxas.



Resumen	Invest con Embr	Invest con ES	Donar Embr invest	Crear Embr para invest	Clonac terapé	Clonac reprod
España	✓	✓	✓	✗	✗	✗
Aleman	✗	✓		✗		✗
Francia	✓	✓	✓	✗		✗
Dinamarca	!!		✗	✗		✗
Finland	✓	✓	✓	✗		
Portugal	!!		✗	✗		
UK	✓	✓	✓	✓	✓	✗
EE.UU.		✓		✗		



**Elección de la SC ideal
para terapia:**

Elección: Célula madre ideal:

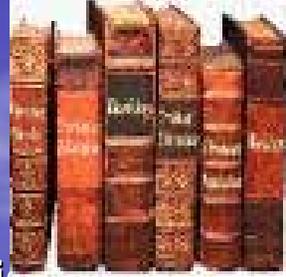
- Pluripotente.
- Inmortal.
- Fenotipo estable caracterizado molecularmente.
- No potencial tumorigénico
- Susceptible de manipulación genética.



Elección: Adulta VS embrionaria.

	 ADULTA 	EMBRIONARIA
POTENCIALIDAD	Pluripotencial??	Pluripotencial
REPLICACIÓN	< Capacidad?	> Capacidad
POT. TUMORIGÉN	No conocido	Si: teratomas
OBTENCIÓN	>nº, <precio, >nº fuentes	<nº, >precio, <nº fuentes
RECHAZO	No existe	Si salvo clon terapéutica
MODIFICACIÓN GENÉTICA	Posible	Posible
LEGISLACIÓN	Inexistente (cons informado)	Rígida y variable

Bibliografía:



- Iañez Pareja E. Células madre y clonación terapéutica. Web Universidad de Granada.
- Prósper F. Células madre adultas.
- Verfaillie C. Nature 2002 Jul 4;418(6893):41-49).
- Molecular biology of the cell. December 2002;13:4279-4295).
- Simposio "Uso clínico células madre adultas". H.U. La Paz, 18-III-2003.
- Weissman, I.L., Anderson, D.J., Gage, F. (2001). Stem and progenitor cells: origins, phenotypes, lineages, commitments and transdifferentiations. Annu Rev Cell Dev Biol 17, 387-403.
- Diario Médico: 12-2-2002, 19-3-2003, 22-5-2003, 13-2-2004, 11-12-2003
- Lindvall O. Hagell P. Role of cell therapy in Parkinson Disease. Neurosurg Focus 13(5), 2002.
- Nat Med 9 (6): 702-712, 2003.
- Ramiya VK, Maraist M, Arfors KE, Schatz DA, Peck AB, Cornelius JG. Reversal of insulin-dependent diabetes using islets generated in vitro from pancreatic stem cells. Nat Med. 2000;6:278-282.
- Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. Science. 1999;284:143-147.
- Int J Colorectal Dis. 2003 18:451-459

Agradecimientos:

- Dr García-Olmo por su afán por enseñar, su calidad humana y profesional y dirigirme trabajo.
- Servicio de Cirugía General C del H.U. La Paz.
- A mi familia por todo el apoyo en mi carrera.
- A Jesús por el “gusanillo” de la investigación.
- A mis amigos por estar siempre donde deben.
- A Mari Carmen Pizarro y Patricio González.
- Organización del congreso.

