



**LA MÉDULA ÓSEA COMO FUENTE DE
NUEVOS MEDICAMENTOS: SU
UTILIZACIÓN EN TERAPIA CELULAR.**

PREÁMBULO Y AGRADECIMIENTOS

Excmo. Sr. Presidente

Excmas. E Ilmas autoridades

Muy Ilmos Sra y Sres Académicos

Queridos compañeros y amigos

Es hábito en este acto comenzar el discurso de entrada en la Real Academia de Medicina de Salamanca con unas palabras de preámbulo y agradecimientos. Esta es una tarea que me abruma. He tenido la gran suerte en esta vida de contar con un gran número de personas que me han ayudado a ser lo que soy y por lo tanto a los que debo mi gratitud.

He de reconocer que cuando fui distinguida con la propuesta de formar parte de esta Real Academia de Medicina de Salamanca me sentí halagada. Por mucho que intentemos hurtarnos a estos sentimientos sucumbimos con frecuencia a ellos. Más tarde, recapacitando, comprendí que realmente yo era el resultado del trabajo, el afecto y el esfuerzo, invertido en mi persona, de todos aquellos que me han ayudado y apoyado a lo largo de mi carrera. Por lo tanto, quiero agradecer a los Ilmos Sres. Académicos mi propuesta, fundamentalmente a los Dres. Cruz Hernández, González Sarmiento y Lozano Sánchez, sabiendo que los merecimientos por los que se ha producido son parte de un trabajo compartido con otras muchas personas.

Pertenezco a una familia de médicos y desde muy niña estuve inmersa en un ambiente en el que se hablaba constantemente de la Medicina y se nos transmitía la idea del orgullo que podía suponer formar parte de ella. También se ponía en valor la necesidad de un comportamiento de excelencia. Los médicos de mi familia fueron mis primeros maestros.

Mi abuelo, D. Agustín del Cañizo García, fue catedrático de Medicina Interna de esta Universidad. Cuando yo llegué a estudiar en ella todavía algunos de sus discípulos le recordaban con afecto y le consideraban un gran médico, un gran maestro y sobre todo un hombre bueno. De sus muchas enseñanzas, transmitidas de forma resumida a sus alumnos cuando se jubiló, me gustaría destacar lo siguiente que he intentado seguir durante mi vida profesional: “no debéis envaneceros nunca de vuestros triunfos, ni os desalentéis tampoco de vuestros fracasos; de fracasos y éxitos está empedrado el camino de nuestra profesión y el buen temple del médico se acredita en su modo de reaccionar y comportarse ante unos y otros”.

Mi padre, también médico, otorrinolaringólogo en Segovia fue mi segundo maestro, antes incluso de empezar mi carrera. Como glosó mi hermano José Carlos “nos educó siempre en un recto sentido del trabajo bien hecho, del estudio como mejor método de conseguir nuestras metas y en el placer de la lectura.” Pero, si hay algo que me transmitió y ha marcado mi actitud es estar convencida que debemos actuar siempre siguiendo nuestros principios y criterios éticos, sin esperar la aquiescencia de quienes nos rodean ni el premio que creemos merecer.

Realicé mis estudios de Medicina en esta Universidad y en ella he permanecido, con intervalos cortos de ausencia, pero deseando estar siempre en el ambiente universitario, cuyo objetivo final es promover el estudio y la búsqueda de la verdad.

Inicié mi formación como especialista en el Hospital Clínico y allí encontré una serie de profesionales liderados por el Prof. Agustín Ríos con los que comencé a dar mis primeros pasos por la Hematología. Ellos eran ejemplo de personas dedicadas al trabajo bien hecho sin esperar recompensa a cambio del mismo.

Poco después ganó la cátedra de Hematología el Prof. López Borrasca. Él me transmitió, sin lugar a dudas, lo importante que es mantener el entusiasmo por aprender y trabajar pese a las desilusiones que conlleva muchas veces nuestro quehacer diario. Gracias a él tuve la suerte de realizar estancias en centros fuera de

España lo que alimentó mis ganas de ver cosas nuevas, comparar y valorar lo bueno y lo malo que aquí teníamos. Seguí, durante los siguientes años en el Servicio de Hematología intentando llevar a cabo mi trabajo asistencial de forma competente, intentando realizar proyectos de investigación clínica y traslacional. A este respecto no puedo dejar de nombrar al Prof. San Miguel que sustituyó al Prof. López Borrasca en la Jefatura del Servicio. ¿Qué puedo decir de él? Pueden estar seguros de que la inmensa mayoría de lo que hoy soy se lo debo a él directamente y el que haya aceptado contestar a este discurso hace que me sienta agradecida y permítanme, también orgullosa.

Finalmente quiero agradecer la ayuda y el apoyo que he recibido de mis compañeros del Servicio de Hematología, tanto facultativos, como personal de enfermería, como personal auxiliar y un agradecimiento muy especial a los compañeros de la Unidad de Terapia Celular por trabajar sin horario, por ilusionarse por el proyecto que estamos realizando, por apoyarme en todo momento, incluso cuando al principio el proyecto podría haberse convertido en un camión sin frenos en manos de una inexperta conductora de coches.

Pero hay muchas personas que también me han ayudado, no a mí de forma particular, sino por su relevancia intelectual y mediante sus escritos . Quiero poner como ejemplo y utilizar el pensamiento de Rita Levi Montalchini, mujer, premio Nobel de medicina, que dice al principio de su libro Elogio de la Imperfección...: “El hecho de que la actividad que he desarrollado de un modo tan imperfecto haya sido para mí fuente inagotable de placer, me induce a pensar que la imperfección en el desarrollo de la tarea que nos hemos fijado, quizá sea más acorde con la naturaleza humana, imperfecta como es, que la perfección”.

Este pensamiento anima a personas como yo imperfectas a buscar continuamente, no ya la perfección que es imposible, sino al menos intentar aproximarse a ella.

Pero la formación de una persona no transcurre toda en el ámbito profesional. Yo soy de Segovia y allí tuve la fortuna de iniciar la enseñanza primaria con Dña. Matilde y luego realizar el bachillerato en un instituto con profesores que nos enseñaron a pensar y decidir, a ser críticos, a intentar conocer la verdad: desde el profesor de religión al de matemáticas, desde el de física al de filosofía. A todos ellos les debo algo en mi formación personal.

Y por supuesto mi familia; si alguien hubiera estado feliz de estar aquí en este momento sería mi madre, quien sin tener formación universitaria quiso, junto con mi padre que sus hijas tuvieran la mejor preparación que se les pudiera ofrecer. Gracias a ellos y a mis hermanos, que además han sido mis amigos, a mis amigos que casi han sido mis hermanos, los que están aquí y los que ya no están.

Finalmente quiero referirme a mis hijas ¡cuántas horas de mamá les he hurtado durante sus años de infancia y adolescencia! Nunca se han quejado. Espero devolverles esto a fuerza de cariño, como también ahora a la Pitusina.

Y por supuesto a Juan, mi director de marketing, mi amigo, mi compañero, mi apoyo, el padre de mis hijas.

A todos los que he nombrado y posiblemente a otros que sin querer he olvidado, gracias. Soy lo que soy gracias a vosotros.

La Médula Ósea como fuente de nuevos medicamentos: su uso en Terapia Celular

Durante las últimas décadas del pasado siglo y las del presente la Terapia Celular ha experimentado una serie de avances que no se habrían sospechado hace unos años.

1. RECUERDO HISTÓRICO Y JUSTIFICACIÓN

Pero ¿qué es realmente la terapia celular? Pues atendiendo al propio nombre es el uso de células en el tratamiento de enfermedades. Por lo tanto, siendo estrictos con este concepto, la terapia celular comienza en el momento que alguien piensa que un paciente puede ser tratado con células. Esto sucedería ya en el siglo XIX, específicamente en 1818 cuando el obstetra inglés James Blundell realizó la primera transfusión de sangre humana a un paciente con éxito. A partir de ese momento la utilización de la sangre como tratamiento fue aumentando de forma exponencial, sobre todo a partir de comienzos del siglo XX cuando Karl Landsteiner describió la existencia de diferentes grupos sanguíneos estableciendo el sistema ABO al que posteriormente se fueron añadiendo otros. En 1940 Landsteiner, Wiener, Levine y Stetson descubren el factor RH.

También fue durante el siglo XIX cuando el patólogo alemán Franz Neumann concluyó que la médula ósea era el sitio donde se producían los diferentes tipos celulares sanguíneos y con capacidad visionaria propuso que todas las células de la sangre procedían de un progenitor común, lo cual fue también sugerido por su coetáneo el científico ruso Alexander Maximov. Por lo tanto, en esta época ya se introduce el concepto de célula madre (célula “stem” en la terminología anglosajona).

Este concepto se olvidó durante muchos años hasta que en 1961 Ernest McCulloch y James Till ofrecieron evidencias científicas de su existencia: trasplantaron células de médula ósea de un ratón en otro letalmente irradiado y fueron capaces de reconstituir la hematopoyesis. Sus experimentos, según mi criterio poco reconocidos, son la base del trasplante hematopoyético. En esa misma época Donnall Thomas realizó el primer trasplante en humanos. Estos experimentos seguidos por los realizados en los siguientes años analizando el

papel de la histocompatibilidad en el trasplante de órganos le supusieron el Premio Nobel de Medicina y Fisiología en 1990. Como todos ustedes saben bien, este procedimiento ha permitido salvar innumerables vidas de pacientes; pero no ahondaré más en este tema que excede el propósito de hoy.

Volviendo al objeto de esta exposición y gracias a los estudios llevados a cabo por estos pioneros y seguidos por los de otros investigadores, actualmente se acepta por toda la comunidad científica que en la médula ósea existen las denominadas células “madre”.

El término célula “madre” se ha adoptado y se utiliza de forma habitual entre los investigadores sin duda por la presión de los medios de comunicación. La denominación anglosajona célula “stem” conlleva otras propiedades que la definen y que no se incluyen en el concepto que en castellano tenemos de “madre”. La característica más importante que incluye el término “stem” es la capacidad de autorrenovación. Este hecho se basa en la existencia de mitosis asimétricas: las células madre cuando se dividen, a diferencia de otras células del organismo que dan lugar a dos células hijas idénticas entre sí, producen también dos células, pero mientras una de ellas se diferenciará hacia célula madura de un tejido, la otra célula hija sería idéntica a la célula madre y conservará también la capacidad de autorrenovación. Este mecanismo permitirá que el sistema no se agote y se perpetúe durante toda la vida de un individuo. Además, las células “madre” tienen capacidad para diferenciarse hacia distintas líneas celulares. Por el contrario, otras células no poseen esta capacidad de autorrenovación y van restringiendo, de forma progresiva, su capacidad para diferenciarse haciéndolo al final hacia una sola línea.

Como hemos comentado previamente, esta potencialidad se demostró hace ya tiempo en el sistema hematopoyético. Gracias a la accesibilidad del mismo y su fácil obtención han sido las células “madre” mejor estudiadas en el adulto y las que han facilitado la comprensión del funcionamiento de estos sistemas.

En 1988 Spangrude y cols aíslan la 1ª célula madre hematopoyética del ratón. A lo largo de los siguientes años se fue profundizando en el conocimiento de la biología de la célula madre, su potencial de desarrollo y su versatilidad, es decir su capacidad de producir diferentes tipos celulares. Este conocimiento permitió establecer dos conceptos importantes:

1. Las características de la célula madre no se restringen a células residentes en la médula ósea, sino que existen en la mayoría de los tejidos y órganos.
2. Los mecanismos implicados en la regulación de la proliferación, diferenciación y actividad funcional de estas células son extremadamente complejos.

El mejor conocimiento de estas células permitió comprender que estaban implicadas en el mantenimiento de la homeostasis tisular y en el reemplazamiento de las células que por diferentes agresiones podrían perderse o dañarse.

Como comentábamos previamente todos estos hallazgos sentaron las bases del uso de las células madre procedentes de la médula en el trasplante hematopoyético. Pero, además, el que pudieran ser utilizadas en otros contextos abrió un campo mucho más amplio de posibles aplicaciones y se generó un gran debate a nivel mundial con gran repercusión mediática al plantearse el uso de células madre para tratar algunas enfermedades incurables.

2. ¿QUÉ PRODUJO EL GRAN CAMBIO?

Estudios *in vitro* habían sugerido que las células madre adultas podían diferenciarse hacia células procedentes de distintas capas embrionarias. Volviendo a la médula ósea, estaba claro que en su interior había células madre que eran útiles en el contexto del trasplante hematopoyético al reconstituir todas las células de la sangre y del sistema inmune.

Durante los últimos años del siglo XX y primeros del siglo actual varios grupos de investigadores comunicaron que las células de médula ósea en cultivo podían ser inducidas a diferenciarse hacia células no hematopoyéticas como neuronas, hepatocitos, músculo esquelético etc. Muchas de estas conclusiones, cuestionadas por otros grupos durante los años siguientes, abrieron la puerta al desarrollo de los programas de terapia celular y medicina regenerativa.

Sin duda alguna, una de las publicaciones que alcanzó mayor repercusión en ese momento fue la de Orlic realizada en *Nature* (2001). Este autor junto a un equipo de investigadores de Maryland y Nueva York desarrollaron un modelo murino de infarto de miocardio. Inyectaron células madre hematopoyéticas marcadas con proteína verde fluorescente y comprobaron que, tras administrar

estas células en el miocardio de los ratones infartados, estas adquirirían marcadores cardiacos y mejoraban la función ventricular de los ratones así tratados.

A partir de estos experimentos pioneros se inició el gran debate sobre la posibilidad de que las células madre no fueran órgano-específicas. Había que profundizar a partir de este momento en los posibles mecanismos implicados en estos procesos y evaluar si realmente estas células “madre” podían transformarse en células de otros tejidos y órganos.

Esta propiedad denominada en inglés “plasticity” podría traducirse a nuestro idioma por versatilidad. Varios son los mecanismos que se han barajado para explicar este comportamiento:

- La transdiferenciación: consistiría en que en una célula determinada ya a diferenciarse hacia una línea y con un programa de diferenciación ya desactivado nuevamente lo activaría.
- La des-diferenciación: una célula en vías de diferenciarse volvería a un estadio más inmaduro.
- Existencia en todos los tejidos de una pequeña cantidad de células pluripotentes capaces de diferenciarse hacia las distintas capas embrionarias.
- Finalmente, la fusión celular, fusión entre las células “madre” y células del tejido. Este mecanismo realmente se produce, pero solamente se observa entre el 0.1 al 1% de las células infundidas, lo que no justifica el efecto reparador que puede obtenerse.

En conclusión, varios son los mecanismos que pueden estar implicados en la pluripotencialidad observada en estas células y que como veremos han abierto las puertas a nuevas vías de investigación en este campo.

3. DESDE LA EXPERIMENTACIÓN EN EL LABORATORIO AL USO CLÍNICO.

3a. En la médula ósea hay más de una célula “madre”: la célula mesenquimal.

Un concepto fundamental que se ha producido en las últimas décadas es que en la médula ósea hay más de un tipo de célula “madre”. Probablemente la que más se ha estudiado es la denominada célula “stem”, célula “madre mesenquimal” o célula “mesenquimal del estroma medular”. Son células que no son de origen

hematopoyético y que pueden encontrarse en muchos órganos y tejidos además de en la médula ósea.

La existencia de las células mesenquimales del estroma de médula ósea se sospechó tras de la observación realizada por Tavassoli y Crosby en 1968. Al trasplantar médula ósea sin hueso en sitios heterotópicos comprobaron que se formaba hueso. Esto sugeriría que la propia médula ósea tenía células capaces de diferenciarse a tejido óseo. En los años siguientes Friedenstein demostró, en varias publicaciones relevantes, que este potencial osteogénico se debía a una serie de células no hematopoyéticas, con capacidad clonogénica, y gran capacidad proliferativa que se propusieron en 1990 como la segunda población de células madre residentes en la médula ósea. A partir de estos momentos se asumió la multipotencialidad de estas células y su capacidad de adquirir diferentes fenotipos, capacidad que está sólidamente demostrada por la experimentación científica. De hecho, la Sociedad Internacional de Terapia Celular exige que, para confirmar que las células con las que estamos trabajando son células mesenquimales deben reunir una serie de criterios: adherencia al plástico, ausencia de antígenos de línea hematopoyética, positividad para algunos antígenos y capacidad de diferenciarse al menos a tres líneas celulares, hueso, cartílago, y tejido adiposo.

Algunos autores han sugerido, y se sigue investigando en este campo, que las células mesenquimales son capaces de diferenciarse hacia otros órganos y tejidos como pueden ser hepatocitos, neuronas, células productoras de insulina, etc. pero estas últimas capacidades son cuestionadas por otros investigadores.

Además de su potencialidad de diferenciación, las células mesenquimales son verdaderas fábricas de moléculas bioactivas como factores angiogénicos, antiapoptóticos, mitogénicos, factores tróficos, quimiocinas etc.

3b. ¿Células inmunoprivilegiadas o células inmunomoduladoras?

Una de las características que despertó mayores expectativas con estas células fue la ausencia de Ags de histocompatibilidad clase II y de moléculas coestimuladoras lo que las hacía escasamente inmunogénicas. Puesto que en algunas situaciones podría ser problemático el uso de MSCs en el contexto del trasplante autólogo se planteó el uso alogénico. Los resultados en este contexto, utilizando las células en receptores inmunocompetentes son todavía preliminares

y con resultados discordantes. Posiblemente su capacidad inmunogénica varíe dependiendo del “status” inmune del receptor.

Otra cuestión distinta y probablemente con mejores expectativas para su uso terapéutico es su capacidad de inmunomodulación. De hecho, estudios “in vitro” han demostrado su capacidad de inmunosupresión de células T, de reducir la citotoxicidad de las células NK inhibir la maduración hacia células dendríticas e inducir la secreción por parte de estas células de moléculas antiinflamatorias.

Por lo tanto, las células mesenquimales tienen dos áreas potenciales de uso clínico: la medicina regenerativa por su capacidad trófica y de diferenciación tisular y el tratamiento de enfermedades en las que existe una exacerbación de la respuesta inmune.

3c. ¿Cómo actúan las células mesenquimales?

Probablemente pueden actuar de forma diferente dependiendo de varios condicionamientos: enfermedad a tratar, vía de administración, forma de administración, etc. No es lo mismo intentar regenerar hueso que tratar una enfermedad autoinmune. Vamos a intentar esclarecer alguno de estos mecanismos, aunque quedan todavía innumerables cuestiones por resolver.

Las células mesenquimales, sin lugar a duda tienen la capacidad de diferenciarse hacia células de origen mesenquimal, fundamentalmente hueso y cartílago por lo que su utilización en medicina regenerativa osteoarticular está bien demostrada. Por lo tanto, un mecanismo de acción puede ser su transformación en células del tejido que se pretende regenerar.

Sin embargo, desde hace largo tiempo se constató que en muchos de los modelos que se utilizaban y al hacer el análisis para verificar la presencia de las células administradas para el tratamiento, estas se encontraban en un número muy escaso. Sin embargo, se observaban claros efectos beneficiosos. Esto llevó a la idea de que las MSCs podían también ejercer su acción a través de la secreción de factores tróficos paracrinos.

Estos efectos paracrinos en la actualidad claramente demostrados pueden ejercerse por la secreción de factores con diferentes mecanismos de acción.

- Efectos proliferativos y regenerativos. Las células mesenquimales son grandes productoras de factores de crecimiento tales como el factor de crecimiento fibroblástico (FGF), el factor de crecimiento del endotelio vascular

(VEGF), factor de crecimiento del hepatocito (HGF), angiopoyetina 1, factor de crecimiento de los keratinocitos (KGF), etc. Mediante la secreción de estos factores las células mesenquimales estimulan el crecimiento y proliferación de células residentes en los tejidos e incrementan la formación de vasos favoreciendo de esa manera la regeneración del tejido dañado.

- Efectos antiapoptóticos: diferentes equipos han demostrado dichos efectos y es un área de activa investigación. Las células mesenquimales pueden ejercer dicho efecto a través de varios mecanismos: ligados a la vía de AKT, modulando el nivel de caspasas e incluso disminuyendo el stress oxidativo al aumentar la actividad de antioxidantes y normalizando la función mitocondrial.

- Efecto anti-inflamatorio: una de las citocinas proinflamatorias más importantes es el factor de necrosis tumoral- α (TNF α). Pues bien, se ha demostrado que tanto "in vitro" como en modelos animales la administración de células mesenquimales produce una disminución del TNF- α así como de la interleucina 6 (IL-6) o interferón gamma (IFN- γ), aunque estos resultados no se confirman en todos los trabajos. Sin embargo, cada vez son más numerosas las publicaciones que recogen la capacidad antiinflamatoria de estas células demostrando que pueden responder de forma dinámica a los cambios encontrados en el micromedioambiente.

Por lo tanto, en la actualidad se acepta que, dependiendo del tejido, órgano o enfermedad a tratar, las células mesenquimales pueden ejercer su efecto terapéutico por diferentes mecanismos.

3d. Los modelos animales en medicina regenerativa.

Los primeros experimentos se llevaron a cabo con animales pequeños fundamentalmente ratones. Pese a las limitaciones que estos animales pueden tener comparados con los humanos nos permitieron comprobar distintos hechos que han permitido mejorar la manipulación celular en la medicina regenerativa:

- La vía de administración: esta debería facilitar el injerto de las células mesenquimales en el sitio deseado. Cuando la inyección se hace por vía intravenosa la gran mayoría de las células quedan atrapadas en el lecho vascular pulmonar. Por lo tanto y siempre que sea posible, la administración debe ser local.

- Los modelos con daño tisular han demostrado que el tejido dañado libera quimioquinas que atraen a las células mesenquimales a la zona dañada.

- Los mecanismos de “anidamiento” o “homing”: fundamentalmente las células mesenquimales utilizan los mismos mecanismos de migración y homing que otras células. En un primer momento interaccionando con las células endoteliales permiten su migración trans-endotelial mediante el papel ejercido por integrinas y selectinas y posteriormente el anidamiento se va a producir mediante la expresión de diferentes receptores y moléculas de adhesión entre los cuales el más importante y mejor conocido parece ser el eje SDF1/ CXCR4.

Pero el animal pequeño no puede equipararse a la especie humana por lo que han de buscarse modelos de animales más grandes que nos permitan estudiar otras características inherentes a los diferentes órganos o tejidos del hombre.

Si tomamos como ejemplo la regeneración ósea, posiblemente una de las más avanzadas en medicina regenerativa y utilizando células mesenquimales, debemos considerar el efecto de muchos factores pueden estar implicados en su eficacia: la capacidad y los mecanismos de diferenciación hacia células osteoblásticas, los factores y fuerzas mecánicas que van a influir en la formación del hueso, y de que manera podrán obtenerse estructuras tridimensionales que permitan la reparación de pérdidas grandes de tejido óseo.

Todos estos hechos han inducido a los investigadores a la utilización de animales que permitan dar respuesta a estas necesidades. Actualmente la oveja, la cabra, el cerdo y ocasionalmente el perro son los animales más utilizados para estos objetivos. Volviendo al hueso como ejemplo, cuando se analizan las propiedades biomecánicas de varias especies y el hombre, parece que la oveja y la cabra reproducen bastante bien tanto el hueso cortical como el trabecular.

Como comentábamos hace un momento la reparación de grandes estructuras puso de manifiesto la necesidad de utilizar vehículos que permitieran fijar las células y mantenerlas en el sitio de la lesión.

3e. El concepto de ingeniería de tejidos.

Por lo tanto, se han creado nuevas necesidades en cuanto a la medicina regenerativa. La ingeniería de tejidos se basará en el diseño de estructuras compuestas por un andamiaje (scaffold en la terminología anglosajona) que permita el soporte de las células, una fuente celular adecuada que contribuya a la regeneración tisular y una serie de estímulos biológicos, físicos, etc, que permitan el crecimiento y diferenciación de las células dentro del andamiaje.

Es fácilmente entendible que es un campo activo de investigación multidisciplinar y que excede a cualquier científico individual. Ya no solo basta el conocimiento de la biología celular sino que son necesarios otros profesionales expertos en biomateriales, mecánica, electrónica, fisiólogos y diferentes especialistas en distintas áreas de la biomedicina para poder atender a las necesidades que la investigación en diferentes aplicaciones de la medicina regenerativa está generando: terapia regenerativa osteoarticular, terapia regenerativa en la cicatrización de heridas, cardiovascular, pulmonar, renal etc. etc. Y será muy diferente probablemente una estructura bi-dimensional para regenerar piel que una que busque por ejemplo regenerar el hígado en toda su complejidad.

4. LA TERAPIA CELULAR, ¿MITO O REALIDAD?

4a. Las células mesenquimales en el tratamiento de distintas enfermedades.

La realización de ensayos clínicos en el ámbito de la terapia celular tiene detractores y acérrimos defensores. Los primeros aducen que todavía no se conocen los mecanismos intrínsecos que utilizan las células para la regeneración tisular. Los segundos abogan por su uso puesto que, tras el número ingente de ensayos animales, el uso de las células se ha mostrado seguro y los efectos adversos, en los pocos casos que se han registrado han sido totalmente asumibles y fácilmente controlables. De hecho, cuando se han utilizado células madre adultas no se ha observado el desarrollo de tumores que ha sido y sigue siendo uno de los grandes problemas que siempre se aducen cuando se aboga en contra de su uso. Sin embargo, las autoridades sanitarias europeas y por lo tanto las españolas son tremendamente estrictas a la hora de conceder permisos para la realización de ensayos clínicos de terapia celular.

Una vez pasada la época de los grandes titulares en los medios de comunicación la utilización de las células está realizándose de forma científica con el fin de alcanzar conclusiones sobre su utilidad.

A fecha de febrero del presente año y sólo considerando las células mesenquimales, están registrados en ClinicalTrials.gov 433 ensayos clínicos, de los cuales 78 son ya ensayos en fase 3. Estos datos ponen de manifiesto el gran impulso que está adquiriendo la investigación clínica en terapia celular a nivel

mundial y la gran complejidad que ha alcanzado la medicina regenerativa con terapia celular.

Como comentaba previamente, en estos momentos las células estromales mesenquimales están utilizándose en un amplio abanico de programas de medicina regenerativa: muscular, osteo-articular, cardiovascular, hepática, renal, regeneración traqueal, enfermedades regenerativas neurológicas, regeneración tendinosa, cicatrización de heridas y úlceras complicadas, enfermedades urológicas como incontinencia urinaria o problemas eréctiles, y otras muchas aplicaciones.

Pero no hay que olvidar su potencial inmunoregulador. Esto ha originado que se estén realizando también numerosos ensayos clínicos en el contexto de enfermedades de base inmunológica. Entre estas el tratamiento de la enfermedad injerto contra hospedador mediante la utilización de células mesenquimales obtenidas de un donante alogénico en el contexto del trasplante hematopoyético ejerció gran impacto en los círculos hematológicos probablemente por la gravedad del cuadro que se intentaba tratar. En este contexto los resultados obtenidos hasta la fecha son esperanzadores. Pero también se ha propuesto su utilización en procesos inmunes como puede ser la artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico o púrpura trombopénica idiopática.

4b. Problemas de los ensayos clínicos en terapia celular.

Toda esta actividad también tiene problemas que debemos afrontar de manera lo más rápida posible para poder avanzar en el conocimiento. Estos problemas pueden estar relacionados con diferentes realidades que pueden afectar a un ensayo clínico en cuestión y que debemos considerar en el momento de diseñarlo.

- a. Las características del paciente que ha de ser tratado y la enfermedad a tratar; por ejemplo, muchas enfermedades teóricamente susceptibles de ser tratadas con células mesenquimales se producen en pacientes de edad avanzada y en este contexto algunas de las propiedades funcionales de estas células están alteradas por lo que el uso de células autólogas puede que no sea tan eficaz como se pretende.
- b. Los resultados obtenidos hasta la fecha por diferentes ensayos no han sido, muchas veces, superponibles, tratando teóricamente a los mismos pacientes. Esto se debe a la gran variabilidad de la forma de producción

de las células (tiempo de expansión, y medios de cultivo utilizados) vía y secuencia de administración, criterios de inclusión en los ensayos clínicos, valoración de los resultados etc. La mayoría de los ensayos realizados hasta la fecha son fase 1-2 diseñados para mostrar seguridad, pero no eficacia la cual se trata como un objetivo secundario.

En un meta-análisis reciente sobre ensayos clínicos con células mesenquimales y publicado en Plos One en 2012 los autores, centrando su atención en los 36 estudios en los que se utilizaron las células mesenquimales por vía intravenosa comprobaron que en ningún caso se describió una transformación maligna, ni incremento en el riesgo de infecciones, ni efectos adversos graves. Pero si tras tantos ensayos en fase 1-2 no se ha visto que tengan estas células problemas de seguridad ¿ por qué no nos movemos ya hacia ensayos en fase 3?

Las razones, sin duda alguna, son varias. La primera de todas es la dificultad de financiación de ensayos clínicos de terapia celular. Dado que no existen o son muy pocas las empresas de biotecnología interesadas en estos programas son los propios investigadores los que promueven su realización, a menudo escasamente financiados por las administraciones públicas.

Por otro lado, la producción celular la llevan a cabo los investigadores en salas pequeñas que hacen inviable la producción a gran escala de células para ensayos que incluyan gran número de pacientes.

Para llevarlos a cabo es necesario que las distintas Unidades de Producción se pongan de acuerdo para unificar protocolos de obtención y expansión de las células, forma y secuencia de administración, criterios de inclusión de los pacientes. Esta tarea no es fácil y las autoridades sanitarias deberían implicarse en promover estos ensayos multicéntricos en lugar de financiar innumerables ensayos en fase 2 que aportarán mucha menos información y conocimiento.

El intentar unificar criterios por parte de los investigadores para realizar ensayos multicéntricos apoyados y financiados por las estructuras estatales de investigación es el único mecanismo que, según mi entender, hará avanzar los programas de investigación clínica en terapia celular.

4c. Las células mesenquimales consideradas como medicamentos.

En Europa, y por lo tanto en España, las células mesenquimales son productos terapéuticos considerados como productos medicinales de terapia avanzada

(ATMPs) y están bajo regulación europea nº 1394/2007. Esta regulación contiene las normas de requerimientos técnicos, supervisión y autorización para la preparación de estos productos por instituciones académicas, siguiendo métodos similares a los utilizados por la industria farmacéutica. Esto significa que la producción y la distribución de las células mesenquimales deben realizarse siguiendo las normas GMP (good manufacturing practice) establecidas por la Comisión Europea.

Dicha producción debe llevarse a cabo siguiendo estrictas normas que implican el control de todos los procedimientos que se utilicen para su obtención, que se lleve a cabo por personal debidamente preparado y con experiencia en trabajar en salas GMP y un entorno adecuado que permita realizar los procedimientos con la seguridad requerida.

Por lo tanto deben aplicarse mecanismos de control a:

- Donante: Actualmente debe valorarse su situación con relación a infecciones víricas, requiriéndose los controles que habitualmente se hacen para cualquier tipo de donación.

- Obtención de las células y cultivo para obtener un número adecuado que permita llevar a cabo el tratamiento deseado. Puesto que el cultivo puede afectar la potencialidad de las células se aconseja no realizar más de 20 pases. Lo habitual es realizar el tratamiento tras 3-4 pases.

- Los medios de cultivo a utilizar deben ser medios que tengan reconocida la calidad clínica, así como todos los aditivos que se utilicen en la expansión, evitando si es posible los productos animales. Actualmente se utilizan con frecuencia productos de origen humano que hayan sido testados para confirmar su seguridad.

- Control del ambiente en que se realiza la manipulación de las células: son salas en las que ha de controlarse la calidad del ambiente mediante el uso de filtros que garanticen un número adecuado de partículas en el aire que eviten la contaminación del producto que se está manipulando.

- Control del producto, es decir de las células para tener información adecuada sobre su seguridad y eficacia: ausencia de contaminación bacteriana, ausencia de endotoxinas, ausencia de riesgo de transformación maligna mediante

realización de controles genómicos que permitan diagnosticar la presencia de inestabilidad genética etc.

- Controles de eficacia basados fundamentalmente en estudios preclínicos en modelos animales.

Pero además de todas estas medidas que se han de adoptar en el momento en que se decide realizar un ensayo clínico de terapia celular, desde un punto de vista administrativo, para poder realizarlo es necesario solicitar a la Agencia Española del Medicamento y productos sanitarios lo que se denomina un PEI (producto en investigación). Para obtenerlo se debe poner a disposición de la agencia documentación sobre los estudios realizados “in vitro” con las células que se quieren utilizar y ensayos animales diseñados para la enfermedad o lesión específica que se quiere tratar, demostrando la seguridad y eficacia de las células que vamos a utilizar.

- Para cada nueva indicación que se intente, aunque el proceso de producción de las células a utilizar sea el mismo debe de solicitarse un nuevo PEI a la Agencia.

En estos momentos, en la Unidad de Producción del Hospital Universitario de Salamanca se han producido e se están produciendo células para distintas enfermedades y en colaboración con diferentes Servicios del Hospital:

1. Tratamiento de enfermedad injerto contra hospedador en el contexto del trasplante hematopoyético.
2. Tratamiento de citopenias post-trasplante hematopoyético
3. Tratamiento de isquemia arterial periférica en pacientes no diabéticos
4. Tratamiento de isquemia arterial periférica en pacientes diabéticos
5. Tratamiento de necrosis avascular de cabeza de fémur.
6. Artrosis de rodilla
7. Fusión espinal en la degeneración de disco intervertebral
8. Fibrosis pulmonar
9. Fuga aérea post-cirugía pulmonar
10. Tratamiento de fístulas perianales complejas

Si nos paramos a pensar en el tiempo transcurrido desde que Till y McCulloch publicaron sus hallazgos confirmando la existencia de células madre hematopoyéticas en la médula ósea (1961) hasta la actualidad, el tiempo transcurrido es insignificante. Los avances realizados en el campo de la terapia celular han sido realmente sorprendentes en tan corto periodo de tiempo. Lo que parecía imposible y era cuestionado por muchos tan sólo hace 10-12 años es ahora una realidad.

Es cierto que quedan muchas cuestiones por contestar, muchos problemas por resolver y es cierto que, probablemente, las expectativas despertadas hace unos años no se vean totalmente satisfechas. Esto es habitual que suceda con los grandes descubrimientos médicos: todo se serenará y encontrará sus aplicaciones reales, mientras otras expectativas no satisfechas tendrán que esperar a nuevos avances en el conocimiento para ser colmadas. Pero no hemos llegado al final de la historia e importantes hallazgos están poniendo de manifiesto nuevas posibilidades en la terapia celular.

5. PERSPECTIVAS DE FUTURO

Pese a los avances realizados durante los últimos años se precisa todavía responder a múltiples cuestiones que siguen planteadas y que es difícil resumir en el contexto de esta presentación por la gran variedad de aplicaciones que tienen estas células. Cuestiones por ejemplo como la dosis óptima a administrar, secuencia de administración, vía de administración. Todas estas preguntas probablemente se responderán en los próximos años.

Otros aspectos que previsiblemente experimentarán cambios están relacionados con las mejoras en los procesos de producción y manipulación in vitro de las células.

- Búsqueda de mejores medios de cultivo para la expansión celular. Se está investigando la utilización de medios de cultivo desprovistos de productos de origen animal y humano, solo con productos sintéticos.

- Se están poniendo a punto bioreactores que utilizan sistemas cerrados que permitan obtener en tiempo más corto un número suficiente de células para su aplicación clínica.

- Se están diseñando nuevos andamiajes con nuevos materiales: hidrogeles, metales, cerámicas, etc que permitan el diseño más fácil de estructuras tridimensionales así como un mantenimiento “in situ” más eficaz de las células mediante la utilización de moléculas bioactivas.

- Se están modificando las células “in vitro” antes de su administración, por ejemplo, fucosilándolas para mejorar su capacidad de adhesión a los sitios de daño tisular o por ejemplo tratándolas “in vitro” con IFN γ para modificar su capacidad inmunomoduladora.

Pero sin duda hay dos campos importantes en los que la investigación es tremendamente activa para obtener productos útiles para la terapia celular: uno es la generación de IPS, otro aprovechar lo que hemos descrito como efectos paracrinos de las células y su importancia en el efecto terapéutico: se ha demostrado que uno de los mecanismos que utilizan las células mesenquimales para ejercer su efecto es la secreción de microvesículas y exosomas que participan en los mecanismos de contacto intercelular. Vamos a ver con mayor detenimiento estos aspectos que, sin duda alguna, en un futuro próximo serán utilizados en programas de terapia celular.

5a. Las IPS: Induced Pluripotent Stem Cells.

Las células embrionarias son células madre pluripotentes obtenidas de la masa interna del blastocito embrionario. Además de las limitaciones importantes de seguridad que tiene su uso clínico plantean importantes problemas éticos. Estas dos limitaciones han condicionado una activa investigación con el fin de obtener células pluripotentes con capacidad de autorenovación similares a las embrionarias y obtenidas a partir de células somáticas del adulto.

Esta línea de investigación se inició con los experimentos de transferencia nuclear. Esta consistía en introducir el núcleo de una célula madura en un oocito enucleado. Estas células así modificadas podían dar lugar a un embrión demostrando que toda la información genética necesaria para el total desarrollo permanecía en el DNA de las células maduras.

A partir de este momento se planteó la posibilidad de manipular la expresión génica con la finalidad de obtener a partir de células somáticas adultas, células más inmaduras y con mayor potencialidad.

En el año 2006 Takahashi y Yamanaka seleccionaron 24 genes implicados en importantes vías de transcripción y oncogenes que parecían estar implicados en reprogramación.

Utilizando diferentes combinaciones de genes, el número fue disminuyendo hasta quedar en cuatro: Oct/4, Sox2, Klf4 y c-Myc. Tras la introducción mediante retrovirus de estos genes en fibroblastos de ratón obtuvieron células similares a las células madre embrionarias a las que denominaron IPS: células stem pluripotentes inducidas.

En el año 2007, Takahashi y Yu, de forma independiente obtuvieron IPS a partir de células somáticas humanas. Ambos demostraron que estas células eran similares a las embrionarias humanas en morfología, proliferación, marcadores de pluripotencia, expresión génica y capacidad de diferenciación. Estos descubrimientos acabaron con los problemas que puede plantear el uso de las células embrionarias, al permitir reprogramar células adultas.

Desde que Yamanaka describió en 2006 estas células se han realizado esfuerzos muy importantes para incrementar la seguridad y eficiencia de la reprogramación.

La importancia de los hallazgos previamente descritos que llevaron al descubrimiento de los llamados “genes Yamanaka” y toda la investigación posterior en este campo hicieron que Yamanaka obtuviese el Premio Nobel de Medicina y Fisiología en 2008.

Una de las grandes ventajas del uso de estas células es la posibilidad de modificar las del propio paciente lo que además de solventar los problemas éticos, reduce los problemas de aloinmunización y rechazo.

Tras la verificación de que los fibroblastos podían ser utilizados para la generación de IPS se ha explorado la utilización de otros muchos tipos de células para su obtención: hepatocitos, epiteliales, pancreáticas, mesenquimales, linfocitos, progenitores hematopoyéticos, etc.

Tres son los campos en los que las células IPS están mostrando mayor potencial de aplicabilidad: estudios de mecanismos de enfermedad, descubrimiento y aplicación de nuevos medicamentos y medicina regenerativa.

- Las células IPS como modelo de enfermedad:

Varios estudios han puesto a punto la derivación y diferenciación de IPS humanas específicas de enfermedades hereditarias, cardíacas, neurodegenerativas. Este modelo permite analizar los mecanismos moleculares implicados en una enfermedad específica. Dado que soy hematóloga y miembro de la Red Española de Terapia Celular (TERCEL) pondré como ejemplo las investigaciones llevadas a cabo por el Dr. Ángel Raya del Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona que junto con investigadores del CIEMAT de Madrid liderados por el Dr. Juan Bueren publicaron en 2009 en Nature la posibilidad de derivar IPS a partir de fibroblastos de pacientes con anemia de Fanconi, de modificarlas y obtener progenitores mieloides y eritroides sin evidencia de la enfermedad demostrando así la posibilidad de obtener células propias del paciente, sin la alteración y que podrían utilizarse en programas de terapia celular.

- Descubrir y aplicar nuevos medicamentos:

Antes de utilizar nuevos compuestos para el tratamiento de distintas enfermedades, es imprescindible obtener datos sobre su seguridad y la producción de efectos secundarios durante su uso clínico. Estos datos se obtienen gracias a modelos animales. Lo que se plantea ahora es analizar los medicamentos utilizando modelos obtenidos a partir de IPS de los propios pacientes. Este modelo se ha aplicado ya para testar tratamientos en diversas enfermedades como la atrofia muscular espinal o el síndrome de LEOPARD.

- Las IPS en medicina regenerativa:

Una de las grandes ventajas de las IPS es que al proceder del paciente que va a ser tratado poseen identidad HLA.

Varios estudios han demostrado la posibilidad de inducir diferenciación o partir de células IPS in vitro y obtener efectos terapéuticos en varios modelos animales de enfermedad. Por ejemplo, se han realizado estudios que demuestran in vitro e in vivo la posibilidad de diferenciar IPS a cardiomiocitos, células endoteliales y de músculo liso, células β pancreáticas productoras de insulina,

células de la glía y neuronas, con el fin de utilizarlas en terapia regenerativa cardiaca.

Dos son los grandes problemas que se han planteado en cuanto a la seguridad del uso de IPS en terapia regenerativa. La primera sería el peligro de desarrollar neoplasias por el riesgo de producirse una mutagénesis insercional que pueda dar lugar a la transformación maligna. Otro peligro potencial es el desarrollo de teratomas para su utilización in vivo siempre se plantea el uso de células ya prediferenciadas.

Para obviar ambos problemas se están llevando a cabo programas de investigación.

En resumen, las IPS representan una poderosa y atractiva herramienta de futuro que sin duda permitirá estudiar mecanismos de enfermedad y diseño de nuevos medicamentos. Así mismo, en lo que atañe a su utilización en programas de terapia celular los resultados preclínicos son prometedores, pero aún falta resolver problemas de eficacia y seguridad que permitan utilizarlas de forma inmediata en programas clínicos.

5b. Microvesículas/exosomas como vehículos de nuevos tratamientos.

Como hemos comentado en los epígrafes previos las células mesenquimales tienen un efecto beneficioso para reparar tejidos dañados. Gran parte de este efecto, como también hemos comentado previamente se realizará gracias a mecanismos paracrinos. Recientemente se ha planteado la posibilidad de que este efecto se produzca mediante la liberación de microvesículas extracelulares y exosomas.

La microvesiculación es un mecanismo que utilizan la gran mayoría de las células. Se producen por un mecanismo de exocitosis o simplemente por la liberación de vesículas formadas directamente de la membrana citoplasmática. Las funciones de estas microvesículas son muy variadas. Estas microvesículas se liberan al espacio extracelular.

Dentro de las denominadas microvesículas existen dos grandes subtipos: los denominados exosomas y las vesículas extracelulares. Se diferencian fundamentalmente por el mecanismo que da lugar a su formación.

Además de proteínas, las microvesículas transportan RNA mensajero y micro-RNAs y se ha comprobado, que estas moléculas son biológicamente activas

pudiendo transmitir información genética y epigenética de una célula a otra. De hecho, nosotros hemos podido demostrar que las células mesenquimales de la médula ósea producen microvesículas que se unen a las células progenitoras hematopoyéticas y pueden modificar el comportamiento de estas últimas.

Los mecanismos por los cuales las microvesículas liberan su contenido a las células diana pueden ser varios, y campo de activa investigación. En lo que la mayoría de los autores coinciden es que las microvesículas son, sin duda, un nuevo mecanismo de comunicación intercelular y que las moléculas que transportan no se encuentran en ellas al azar, sino que son seleccionadas dependiendo del tipo de célula del que proceden y de las condiciones de secreción de las microvesículas.

En resumen, estos datos abogan a favor de que las microvesículas puedan estar implicadas en la regulación celular mediante la transferencia de información genética y epigenética de una célula a otra.

Estas microvesículas parecen estar implicadas en diferentes procesos fisiológicos como la respuesta inmune o la reparación de tejidos dañados.

Pero no solamente esta comunicación intercelular se realizaría entre células cercanas. Se ha demostrado que en la sangre y el plasma, la gran mayoría de los micro-RNAs circulantes se encuentran dentro de las microvesículas que les protegerían de la degradación pudiendo así actuar a distancia. Por supuesto, si estas microvesículas tienen un papel en la fisiología también pueden y parecen tenerlo en múltiples enfermedades. Esto está condicionando que se estén llevando a cabo numerosos estudios analizando su papel por ejemplo en la progresión de las neoplasias y las metástasis a distancia, en el desarrollo de la arterioesclerosis, etc. Debido a esto, muchos investigadores están valorando su análisis desde un punto de vista diagnóstico y evolutivo de diferentes enfermedades.

Las células mesenquimales parece ser que producen mayor cantidad de microvesículas que otros tipos celulares. Estudios proteómicos de las microvesículas procedentes de las células mesenquimales han demostrado la existencia de un número importante de proteínas en su interior y de acuerdo con las funciones de estas se ha considerado que estas microvesículas pueden modificar muchos procesos biológicos. Lo mismo sucede con los microRNAs que se han encontrado dentro de estas estructuras.

¿Qué papel tendrían las microvesículas de células mesenquimales en la terapia celular?

Dada la eficacia que han demostrado las células mesenquimales de médula ósea en diversos programas de terapia celular y dado que se reconoce que gran parte de este efecto se realiza gracias a mecanismos paracrin, diversos autores se han planteado la posibilidad de utilizar las microvesículas como posible herramienta para, y permítanme el contrasentido, llevar a cabo “terapia celular sin células”.

Estudios *in vitro* han demostrado que microvesículas procedentes de células mesenquimales y endoteliales ejercían efectos proliferativos y antiapoptóticos en células del túbulo renal y endoteliales. Este efecto no se observaba con las microvesículas procedentes de fibroblastos. Y este efecto se ejercía a través del RNA. Posteriores experimentos “*in vitro*” e “*in vivo*” ha demostrado que las microvesículas pueden utilizarse para reparar tejidos dañados y ha abierto un campo de investigación muy activo. Si realmente esto fuera útil tendría varias ventajas.

- Podrían utilizarse microvesículas de células mesenquimales inmortalizadas sin las consideraciones de seguridad que, como hemos comentado previamente, surgen cuando se utilizan células ante el peligro de su transformación maligna. Al no existir células en la infusión ejerceríamos el efecto paracrino de las células sin células.

- Las células mesenquimales podrían ser manipuladas genéticamente de forma que las microvesículas que produjesen fuesen transportadoras de las proteínas, RNA-mensajero o micro-RNAs que considerásemos apropiados para el tratamiento de cada enfermedad.

- Las células mesenquimales tratadas con medicamentos podrían endocitarlos y liberarlos dentro de microvesículas dirigidas a tipos específicos celulares transfiriendo estos medicamentos exclusivamente a las células diana.

- Estos experimentos hoy parecen casi de ciencia ficción, se están llevando a cabo mediante estudios “*in vitro*” y en modelos animales para verificar su factibilidad.

EPÍLOGO

La utilización de células madre procedentes de médula ósea ha permitido durante muchos años que, pacientes afectados de enfermedades que tenían como consecuencia el fallo del proceso hematopoyético, neoplasias tóxicas, metabólicas etc. pudiesen curarse gracias a trasplantar una hematopoyesis sana que sustituyese a la hematopoyesis enferma.

Durante las últimas décadas hemos asistido al desarrollo de nuevas aplicaciones de las células madre procedentes de la médula ósea. Esto se ha debido, fundamentalmente al descubrimiento de que en la médula, además de las células madre hematopoyéticas existían otros tipos de células madre capaces de diferenciarse hacia distintos tejidos y que tenían efectos regenerativos, antiinflamatorios e inmunomoduladores, son las células mesénquimas del estroma medular.

Estos descubrimientos han abierto nuevas posibilidades de uso terapéutico de estas células. Su capacidad regenerativa está haciendo que se estén llevando a cabo numerosos ensayos clínicos en las más variadas indicaciones. El efecto, admitido actualmente por la mayoría de los investigadores, puede realizarse por dos mecanismos: capacidad de transformarse en células de tejido dañado y a través de la liberación de factores tróficos que actuarían sobre las células residentes en el tejido.

La utilización de estas células mesenquimales para la reconstrucción de los tejidos ha abierto otro gran campo en amplio desarrollo: La ingeniería tisular que intenta desarrollar conjuntamente el uso de células con nuevos biomateriales que permita una reconstrucción de los órganos y tejidos que se acerquen mucho más a los fisiológicos.

Por otro lado las características inmunomoduladoras especiales de estas células las han convertido en herramientas útiles en el tratamiento de enfermedades de base inmune.

La terapia Celular, que hace algunos años nos parecía lejana es hoy una clara realidad. Probablemente no responde a todas las expectativas generadas. No será la píldora mágica que todo cura, pero permitirá el tratamiento de muchas enfermedades y una regeneración de tejidos más fisiológica.

Pero la historia no acaba aquí. Ante nosotros se abre un campo apasionante de investigación preclínica y clínica, con nuevas aproximaciones que, es de prever, los jóvenes que nos sucederán serán capaces de desarrollar y ofrecer nuevos tratamientos a nuestros pacientes en un periodo no muy largo de tiempo.

He dicho.

CONTESTACIÓN PROF JESUS SAN MIGUEL
ACADÉMICO DE NÚMERO
REAL ACADEMIA DE MEDCINA DE SALAMANCA

Hoy recibimos en esta Academia de Medicina de Salamanca a la Dra. Consuelo del Cañizo, Profesora Titular de Hematología y Hemoterapia que, durante más de 30 años, ha realizado su labor docente, asistencial e investigadora en la Facultad de Medicina y en el Hospital Universitario de esta casa.

Nace en Segovia en 1950 en el seno de una familia de Médicos: su abuelo fue profesor de Patología Médica de esta Universidad y todos sus hijos siguieron el camino de la Medicina. En ciudad segoviana realiza sus estudios de Bachillerato y en 1967 se traslada a Salamanca para iniciar sus estudios de medicina que finaliza en 1973.

Comienza entonces la Residencia en el entonces Hospital Provincial y Clínico bajo la Dirección del Prof. Agustín Ríos y la finalizó ya bajo la dirección del Prof. Antonio López Borrasca en el actual Hospital Universitario, obteniendo en 1977 el título de especialista en Hematología y Hemoterapia. A partir de esa fecha se incorpora como Médico Adjunto al Servicio de Hematología del Hospital Universitario de Salamanca.

De forma paralela, y habiendo obtenido una beca del Ministerio de Educación para la formación de Personal Investigador, realiza su tesis doctoral sobre "Estudio citoquímico de células hematopoyéticas" realizado bajo la dirección del Prof. Ríos y que defenderá con la máxima calificación en 1978.

En el curso 1982-1983 se traslada a Francia para realizar una estancia postdoctoral en París, repartiendo durante ese año su tiempo en dos centros: el Hospital Saint Antoine bajo la dirección del Prof Duhamel y el Hospital Henri Mondor bajo la dirección de la Dra Breton-Gorius. A su vuelta pone en marcha en el Servicio de Hematología la Unidad de Hematopoyesis y Cultivos Celulares.

Posteriormente realiza otras dos estancias en el extranjero para incrementar y completar su formación en esta disciplina: en 1988 nuevamente en el Hospital Henri Mondor pero ahora bajo la dirección del Dr. W. Vainchenker y en 1993 en el Patterson Institute for Cancer Research en Manchester bajo la dirección de la Dra. Nidia Testa.

En 1989 inicia su carrera docente primero como profesora asociada del Departamento de Medicina Interna y a partir de 2001 como Prof. Titular de Hematología y Hemoterapia de la Facultad de Medicina de esta Universidad.

Es miembro de distintas sociedades de Hematología y de Terapia Celular tanto nacionales e internacionales y su equipo forma parte de la Red de Terapia Celular del Instituto de Salud Carlos III. Merece destacarse por su labor de servicio a nuestra región, su labor como coordinadora científica para la puesta en marcha del Centro en Red de Terapia Celular y Medicina Regenerativa de Castilla y León , siendo actualmente coordinadora de uno de los nodos que lo componen.

Ha desarrollado más de 20 proyectos de Investigación subvencionados por organismos y entidades oficiales, así como numerosos ensayos clínicos tanto en el ámbito de las hemopatías malignas como en el ~~ámbito~~ de la Terapia Celular. En este último campo ha sido coordinadora de la Unidad de Terapia Celular del Servicio de Hematología y encargada de la puesta en marcha de la Unidad de Producción (Sala GMP) de dicho Servicio que fue acreditada por la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios en 2009 y reacreditada en 2012. Debe resaltarse que esta labor investigadora tiene un alto impacto en la innovación asistencial pues en dicha sala se han producido, y se están produciendo, células para 9 ensayos clínicos en fase I-II y están ya en marcha dos ensayos en fase III, todos ellos gracias a subvenciones del Ministerio de Sanidad y del Instituto de Salud Carlos III.

La profesora del Cañizo ha dirigido 20 tesis doctorales, algunas de ellas merecedoras del Premio Extraordinario del Doctorado.

Sus líneas de investigación han estado marcadas por la coherencia científica y así desde la inicial sobre Hematopoyesis normal y Patológica, evoluciona al estudio de las células mesenquimales y micromedioambiente medular en el contexto del trasplante hematopoyético para llegar a la terapia celular y regenerativa. En todas ellas siempre está la doble vertiente básico-clínica y quizás uno de los mejores ejemplos de ese modelo de trabajo es el estudio de los síndromes mielodisplásicos donde aborda desde el conocimiento de la hematopoyesis y sus células madre, hasta ensayos terapéuticos, sin olvidar la creación de un registro nacional.

Ha publicado 15 capítulos de libros pero quizás en este campo convenga destacar su compromiso con la divulgación de la ciencia española en los foros internacionales con más de 100 artículos peer review en las mejores revistas internacionales de la especialidad. Pero si la labor científica de la Dra. Del Cañizo

no deja lugar a dudas sobre la idoneidad de la candidata a ocupar un puesto en la Real Academia, me parece más importante todavía la solidez de su trabajo: es difícil encontrar un hematólogo que sea capaz de moverse con igual soltura en el campo de la hematopoyesis y la célula mesenquimal como en el de la terapéutica de un paciente con síndrome mielodisplásico; moverse en el laboratorio y en la cama del enfermo, moverse en la generación in vitro de células mesenquimales y en su administración al paciente con cardiopatía isquémica o úlceras vasculares, moverse en la creación del grupo español de síndromes mielodisplásicos o en la de la red de terapia celular de Castilla-León o en acreditar una sala blanca (segunda en España) para producción de células en medicina regenerativa. En definitiva, asomarse al microscopio viendo la cara del enfermo y sentarse en su cama preguntándose por qué esas células que causan citopenias, no responde al tratamiento. Profesora del Cañizo, Chelo, no me extraña que hace unos años muchos hematólogos pensáramos que eras la persona idónea para presidir la Sociedad Nacional de la Especialidad y que tú nos respondieras que creías que era mejor seguir sirviendo desde donde lo estabas haciendo: “el laboratorio y la cama del enfermo”, “el hospital y la facultad”, “el centro regional de terapia celular” y el Instituto Biosanitario de Salamanca.

Si centramos ahora nuestra atención en el discurso que acabamos de escuchar pone de relieve los grandes avances que ha experimentado el campo al que la Dra. Cañizo ha dedicado gran parte de su tiempo y esfuerzo en los últimos años.

Con su formación hematológica, en dicho discurso, ella ha destacado la importancia que ha tenido esta rama de la Medicina en el desarrollo del conocimiento de las células “stem” o cómo se dice más popularmente las células madre. Claramente con sus palabras ha mostrado que ha sido gracias a los trabajos orientados a estudiar la célula madre hematopoyética en el contexto del trasplante hematopoyético lo que ha permitido conocer las características que definen a la célula madre: sus capacidades de auto-renovación y pluripotencialidad, que la hacen tremendamente atractiva para su uso clínico.

De gran relevancia en el avance de la Terapia Celular fue el descubrimiento, dentro de la médula ósea, de otro tipo de células madre, las denominadas células mesenquimales del estroma medular. Estas células como ha comentado previamente la Dra. Del Cañizo están demostrando ser tremendamente útiles para los programas de terapia celular por sus características especiales: son escasamente inmunogénicas y tienen capacidad inmunomoduladora y regenerativa. Estas características han propiciado su amplio uso en dos grandes áreas de la Terapia Celular:

- Como agentes inmunomoduladores en el tratamiento de enfermedades de base inmune, entre las cuales cabe destacar el tratamiento de la enfermedad del injerto contra hospedador, complicación que mas morbilidad y mortalidad produce en el trasplante hematopoyético.

- Y en segundo lugar, su utilización en un amplio espectro de programas de Medicina regenerativa que van desde la medicina regenerativa osteoarticular hasta su uso en el tratamiento de enfermedades neuro-degenerativas, pasando por tratamiento de enfermedades cardiovasculares, renales, pulmonares, etc. Este gran abanico de aplicaciones queda claramente demostrado por el elevado número de ensayos clínicos que se están realizando con estas células tal y como figuran en el momento actual en el registro ClinicalTrials.gov.

Considero también especialmente interesantes los avances que se han realizado sobre los mecanismos que emplean las células mesenquimales para ejercer su efecto sobre órganos y tejidos dañados. Por un lado hemos aprendido que son capaces de diferenciarse hacia distintas líneas celulares, sobre todo las de origen mesenquimal. Y además ya sabemos que favorecen la regeneración tisular mediante la secreción de factores tróficos y moléculas anti-inflamatorias que incrementaran la vascularización y regenerarán los tejidos.

Pero nos queda por demostrar fehacientemente su capacidad de diferenciarse hacia células procedentes de otras capas embrionarias, aspecto debatido, defendido por unos autores y denostado por otros.

El ~~ingente~~ trabajo realizado por numerosos grupos de investigadores a través de los estudios preclínicos realizados tanto en modelos “in vitro” como en ensayos animales de experimentación, primero en animales pequeños y posteriormente en animales más próximos a la especie humana ha sido una tarea

ingente. En esta investigación traslacional se han invertido grandes cantidades de recursos humanos y económicos que ahora precisan respuesta por parte de las autoridades para poderlos trasladar a la clínica de la forma más eficaz, segura y científica posible.

Los resultados esperanzadores obtenidos con las células madre y la ausencia de efectos adversos relevantes tras su uso, ha propiciado el desarrollo de un campo muy interesante que tiene como finalidad mejorar el uso de las células para incrementar su eficacia: se trata del campo de la Ingeniería Tisular.

Para poder asegurar que las células permanecen en el lugar en el que se administran, y con el fin de asegurar una correcta reconstitución tridimensional, se están desarrollando nuevos constructos a base de biomateriales, células, modificadas ó no y moléculas bioactivas. Con ello se persigue la reconstrucción de órganos y tejidos de la forma mas fisiológica posible. Pero para alcanzar estos objetivos no basta con conocer las características de las células y producirlas en salas GMP. Se precisa una colaboración estrecha entre diferentes profesionales interesados en el desarrollo de estas disciplinas así como estructuras que favorezcan el contacto entre dichos profesionales; personas implicadas en el diseño de nuevos biomateriales, expertos en biomecánica, fisiólogos, biólogos celulares, etc, que tengan como objetivo común el diseño de constructos que puedan sustituir de manera fisiológica los tejidos y órganos dañados.

Creo que es muy importante destacar lo que comentábamos hace un momento: todos los estudios realizados hasta la fecha han demostrado la seguridad de estas células: efectos adversos muy escasos y fácilmente controlables y ausencia de aparición de neoplasias secundarias a corto o largo plazo que era una de las grandes amenazas que se barajaban cuando se iniciaron estos estudios.

Sin embargo todos estos resultados esperanzadores se ven ensombrecidos por las dificultades que los investigadores encuentran a la hora de llevar a cabo ensayos clínicos en este ámbito. Como se ha reseñado en el discurso, el gran reto en el momento actual es la realización de ensayos en fase 3 que permitan finalmente evaluar la eficacia de estos “medicamentos” celulares.

Para llevar a cabo dichos ensayos serían necesarios dos cosas fundamentales:

- Apoyo institucional y de las autoridades sanitarias que fomenten la realización de ensayos multicéntricos facilitando la gestión de estos desde un punto de vista administrativo y voluntad de los Investigadores para realizar ensayos multicéntricos olvidando protagonismos y buscando colaboraciones para poder sacar conclusiones sólidas y definir claramente las aplicaciones de la Terapia Celular.

Las autoridades sanitarias europeas, y por lo tanto las españolas, consideran a las células que van a utilizarse en programas de terapia celular como “medicamentos de terapias avanzadas”. Esto significa que su producción, y buscando la seguridad de los pacientes, debe de realizarse siguiendo unas estrictas normas que atañen tanto al personal que está implicado en dicha producción, a los métodos que se han de seguir, y a los espacios donde se han de realizar, las denominadas salas blancas.

El gasto que ha supuesto el desarrollo de estos programas ha sido muy importante por lo que es fundamental un aprovechamiento óptimo del personal y de las infraestructuras que se han puesto a punto.

Probablemente, la sala blanca del Servicio de Hematología del Hospital Universitario de Salamanca es una de las más productivas a nivel nacional. Como se ha comentado en el discurso de la Dra. Cañizo, se han realizado o se están realizando diversos ensayos clínicos en aplicaciones muy variadas y espero que aún lo sean más en el futuro inmediato. Es verdad que en estos momentos el llevarlos a cabo no es fácil y se requiere el entusiasmo de los investigadores y médicos implicados en estos procesos, pero esto es algo con lo que, afortunadamente creo que contamos de antemano.

Finalmente, quiero llamar la atención sobre las apasionantes perspectivas de futuro que tenemos ante nosotros en este campo, me estoy refiriendo a dos nuevos campos que ha abierto la Profesora del Cañizo en su discurso:

En primer lugar las IPS. Estas células, cuyas características biológicas son muy similares a las células madre embrionarias, han supuesto dos importantes avances: por un lado finalizar con los problemas éticos que suponía la manipulación de células embrionarias. Por otro lado poder obtenerlas a partir de células del propio paciente lo que permitirá su manipulación y utilización en programas de terapia celular sin barreras de histocompatibilidad.

En segundo lugar las microvesículas extracelulares. Estas estructuras implicadas en el contacto intercelular, suponen un interesante mecanismo que podría utilizarse en el contexto de la medicina regenerativa. Las microvesículas son capaces de transmitir información genética y epigenética de una célula a otra modificando el comportamiento de la célula receptora. Aprovechando estos efectos se están llevando a cabo con estudios preclínicos que han mostrado la posible utilización de microvesículas en la regeneración de tejidos. Varios grupos de investigadores han incluido el de la Dra. Del Cañizo planteando ya la posibilidad de su utilización en programas clínicos.

Termino; para algunos de los médicos más mayores, que no viejos, que hoy nos acompañan, seguro que esta es una historia de “cuasi ciencia ficción”, sobre todo si volvemos la vista atrás y vemos que no hace más de 50 años aún estaban dando sus primeros pasos las transfusiones sanguíneas como evidencia princeps del valor de la terapia celular

Hoy hemos asistido a una historia de fe y sumar esfuerzos en una ciudad pequeña del oeste de España. Porque esta no es la historia de la Dra. Del Cañizo sola, sino también la de Fermín, Sandra, Nacho, Belén, Eva, Olga, Teresa entre otros. La historia de un pequeño grupo al que quiere sumar y hacer partícipe a todo su servicio de Hematología, a su hospital, a su Universidad y desde hoy a su Real Academia. La historia que cuenta que sólo las personas con ideales grandes pueden dar el salto desde sus sueños a la realidad que soñaron alcanzar; la historia de las personas que sueñan con que en nuestro país la medicina no sea solo consumidora de conocimientos sino también generadora de los mismos; la historia que llevó a decir a uno de los padres de la Medicina, y especialmente de la Hematología, Wintrobe: “los requisitos para progresar en investigación y como consecuencia en conocimientos médicos son la curiosidad, la determinación y el deseo de hacerlo mejor”. Esto es lo que vosotros habéis hecho Profesora del Cañizo, por y para los enfermos. Por eso esta es tu historia y la de los tuyos. He dicho.

Bibliografia:

- Aejaz HM, Aleem AK, Parveen N, et al.
Stem Cell Therapy—Present Status
Transplantation Proceedings, 39: 694–699, 2007
- Anthony DF, Shiels PG
Exploiting Paracrine Mechanisms Of Tissue Regeneration To Repair Damaged Organs
Transplantation Research 2:10, 2013
- Baglio SR, Pegtel DM, Baldini N
Mesenchymal Stem Cell Secreted Vesicles Provide Novel Opportunities In (Stem) Cell-Free Therapy
Frontiers In Physiology, 3: 1-11, 2012
- Banga C, Thuma T
Exosomes: New Players In Cell–Cell Communication
The International Journal Of Biochemistry & Cell Biology 44 :2060– 2064, 2012
- Baron F, Storb R .
Mesenchymal Stromal Cells: A New Tool Against Graft-Versus-Host Disease?
Biol Blood Marrow Transplant. 18(6): 822–840, 2012
- Bianco P, Cao X, Frenette Ps, et al.
The Meaning, The Sense And The Significance: Translating The Science Of Mesenchymal Stem Cells Into Medicine.
Nat Med. 19(1):35-42, 2013
- Collino F, Deregibus MC, Bruno S, et al.
Microvesicles Derived From Adult Human Bone Marrow And Tissue Specific Mesenchymal Stem Cells Shuttle Selected Pattern Of Mirnas
PlosOne July 5 (7), E11803:2010
- Daar AS.
The Future Of Replacement And Restorative Therapies: From Organ Transplantation To Regenerative Medicine
Transplantation Proceedings 45:3450e3452, 2013
- Drela K, Siedlecka P, Sarnowska A, et al.
Human Mesenchymal Stem Cells In The Treatment Of Neurological Diseases
Acta Neurobiol Exp 73: 38–56, 2013
- Flory E, Reinhardt J
European Regulatory Tools For Advanced Therapy Medicinal Products
Transfus Med Hemother 40:409–412, 2013

- García-Gómez I, Elvira G, Zapata AG, et al.
Mesenchymal Stem Cells: Biological Properties And Clinical Applications
Expert Opin. Biol. Ther. 10(10):1453-1468, 2010
- Gordeladze JO, Reseland JE, Duroux-Richard I, et al.
From Stem Cells To Bone: Phenotype Acquisition, Stabilization, And Tissue Engineering In Animal Models
Ilar Journal, 51 (1): 43- 61, 2010
- Griffin MD, Elliman AS, Cahill BE, et al.
Concise Review: Adult Mesenchymal Stromal Cell Therapy For Inflammatory Diseases: How Well Are We Joining The Dots?
Stem Cells 31:2033–2041, 2013
- György B, Szabó TG, Pásztói M et al
Membrane Vesicles, Current State-Of-The-Art: Emerging Role Of Extracellular Vesicles
Cell. Mol. Life Sci. 68 (16):2667–2688, 2011
- Khubutiya MS, Vagabov AV, Temnov AA, et al.
Paracrine Mechanisms Of Proliferative, Anti-Apoptotic And Anti-Inflammatory Effects Of Mesenchymal Stromal Cells In Models Of Acute Organ Injury
Cytotherapy, 0: 1e7, 2013
- Lalu MM, Mcintyre L, Pugliese C, et al. For The Canadian Critical Care Trials Group
Safety Of Cell Therapy With Mesenchymal Stromal Cells (Safecell): A Systematic Review And Meta-Analysis Of Clinical Trials
Plos One. 7 (10), E47559
- Massai D, Cerino G, Gallo D, et al.
Bioreactors As Engineering Support To Treat Cardiac Muscle And Vascular Disease.
Journal Of Healthcare Engineering 4 (3): 329–370, 2013
- Murphy CM, O'brien FJ, Little DG, et al.
Cell-scaffold interactions in the bone tissue engineering triad.
Eur Cell Mater. 20(26):120-32, 2013
- Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al
Bone Marrow Cells Regenerate Infarcted myocardium
Nature 410: 701-705, 2001
- Phinney DG, Sense L.
Mesenchymal Stromal Cells: Misconceptions And Evolving Concepts
Cytotherapy 15: 140e145, 2013
- Raposo G , Stoorvogel W
Extracellular Vesicles: Exosomes, Microvesicles, And Friends
J. Cell Biol. 200 (4), 373–383, 2013.

-Raya A, Rodríguez-Pizà I, Guenechea G, et al.
Disease-Corrected Haematopoietic Progenitors From Fanconi Anaemia Induced Pluripotent Stem Cells
Nature. 460: 53–59, 2009

-Romano G, Morales F, Marino IR, et al.
A Commentary On Ips Cells: Potential Applications In Autologous Transplantation, Study Of Illnesses And Drug Screening
J. Cell. Physiol. 229: 148–152, 2014.

-Sensebé L, Gadelorge M, Fleury-Cappellesso S.
Production Of Mesenchymal Stromal/Stem Cells According To Good Manufacturing Practices: A Review
Stem Cell Research & Therapy 4:66, 2013

-Sykova E, Forostyak S
Stem Cells In Regenerative Medicine
Laser Therapy 22.2: 87-92

-Taylor DD, Gercel-Taylor C
The Origin, Function, And Diagnostic Potential Of RNA Within Extracellular Vesicles Present In Human Biological Fluids
Frontiers In Genetics 4: 1-12, 2013

-Wang S, Qu X
Clinical Applications Of Mesenchymal Stem Cells
Journal Of Hematology & Oncology 5:19, 2012.

-Wang T, Warren ST, Jin P
Toward Pluripotency By Reprogramming: Mechanisms And Application
Protein Cell 4(11): 820–832, 2013

-Wang X, Wang Y, Gou W et al.
Role Of Mesenchymal Stem Cells In Bone Regeneration And Fracture Repair: A Review
International Orthopaedics (Sicot) 37:2491–2498, 2013

-Yamanaka, S.
Elite And Stochastic Models For Induced Pluripotent Stem Cell Generation
Nature 460: 49–52, 2009

-Yamanaka S.
Induced Pluripotent Stem Cells: Past, Present, And Future
Cell Stem Cell 10: 678-684, 2012

