

# CÉLULAS STEM



Dra Alicia Lorenti

**Células stem**

**Células troncales**

**Células  
progenitoras**



**Células madre**

**Células transitorias**

# QUÉ SON LAS CÉLULAS STEM

SE DEFINEN POR SUS  
CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES

- ✓ Indiferenciación
- ✓ Automantenimiento
- ✓ Proliferación
- ✓ Producción de progenies indiferenciadas
- ✓ Regeneración de tejidos pos-injuria

# INDIFERENCIACIÓN

- ✓ Son células no especializadas
- ✓ No tienen marcadores de diferenciación
- ✓ No son funcionales

DIFERENCIACIÓN



MADURACIÓN

Activación de genes,  
cambios cualitativos  
en el fenotipo

Cambios cuantitativos  
en el fenotipo

# ESTÍMULO DE DIFERENCIACIÓN DE LAS CÉLULAS STEM

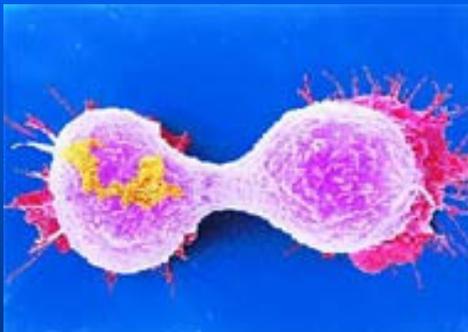
Qué controla la condición de célula stem

De dónde vienen las señales de diferenciación

- ✓ Oct-4 (Asociado a totipotencialidad)
- ✓ Wnt/ $\beta$ -catenina (Activa la proliferación)
- ✓ Notch
- ✓ BMP (bone morphogenic protein)
- ✓ miRNA (regulan G1  $\rightarrow$  S)

# CAPACIDAD PROLIFERATIVA

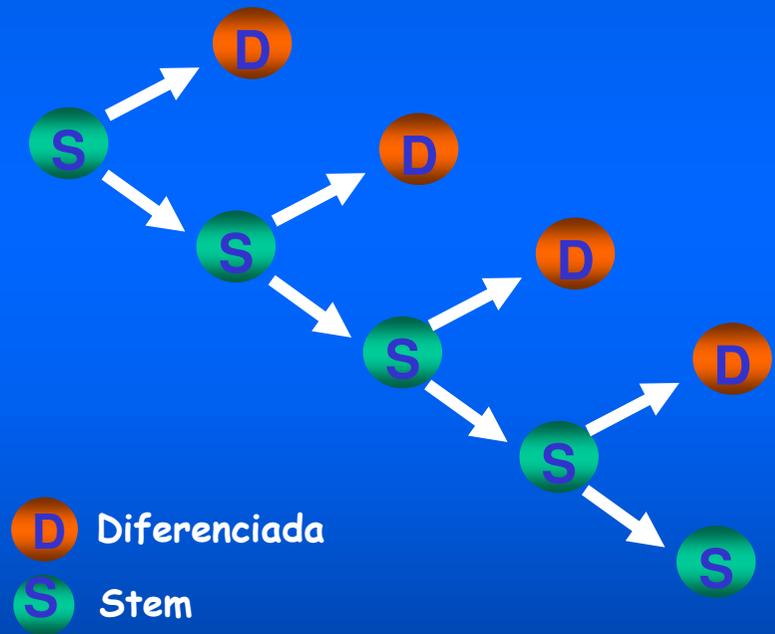
- ✓ Que **tienen la capacidad** de realizar ciclos de división celular por largos períodos de tiempo
- ✓ Las células stem no están en proliferación permanente.



- ✓ **Son quiescentes, y se activan en situaciones especiales**

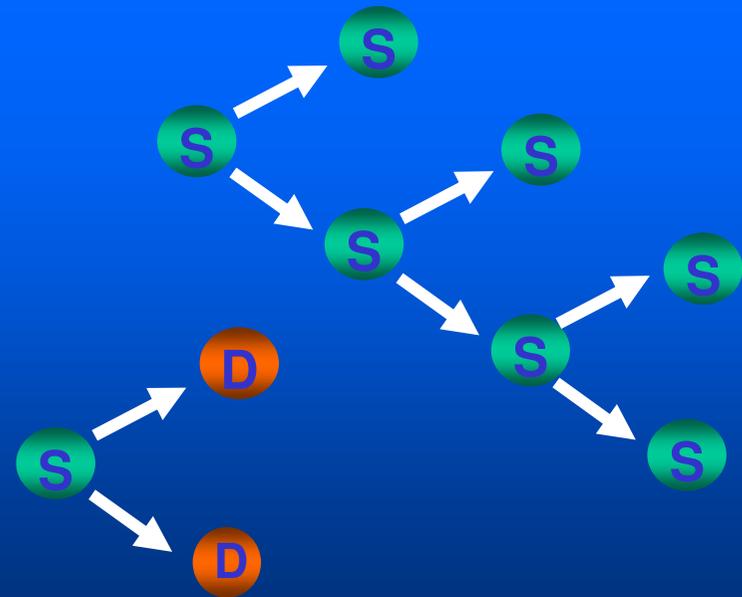
# AUTOMANTENIMIENTO

Capacidad de mantener el número de células stem relativamente estable



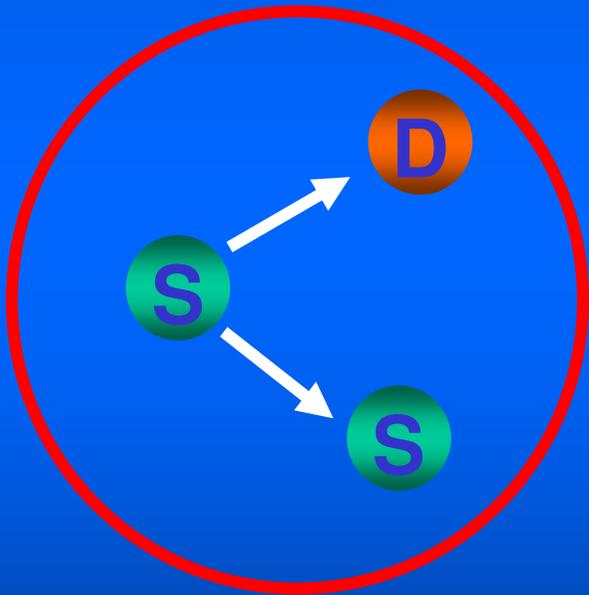
División asimétrica

División simétrica

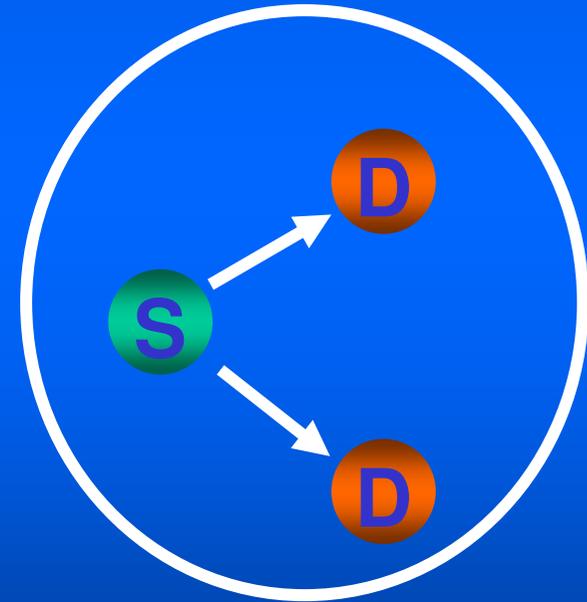


# AUTOMANTENIMIENTO DE CÉLULAS STEM

Población estable



Disminución de la  
población

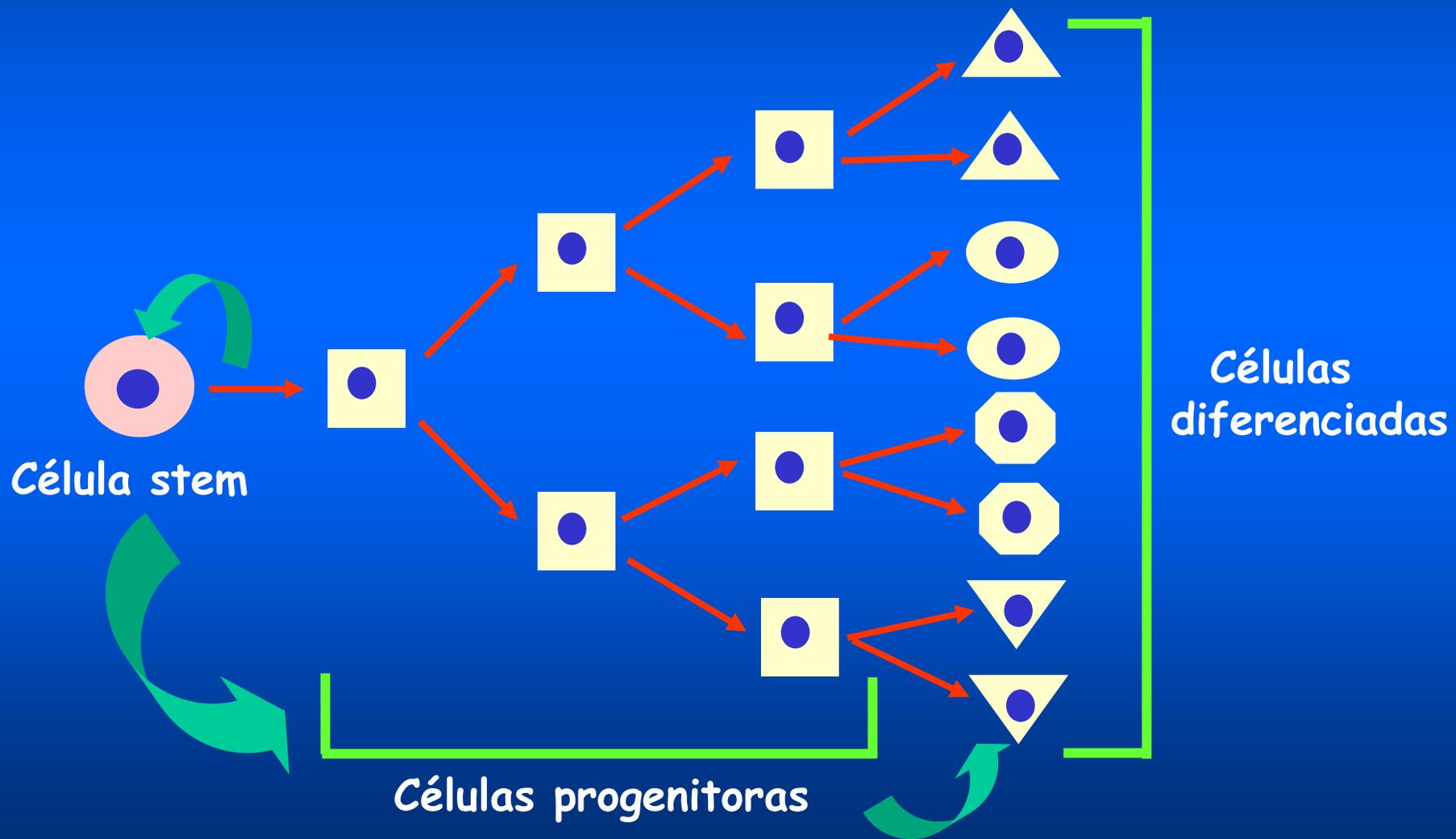


Aumento de la  
población



Morrison S. Asymmetric and symmetric stem cell divisions in development and cancer. Nature 2006; 441: 1068-74

# PRODUCCIÓN DE PROGENIES



<b>Criterio</b>	<b>CS</b>	<b>Progenitoras</b>	<b>Maduras</b>
<b>Diferenciación</b>	<b>No</b>	<b>Aparece</b>	<b>Si</b>
<b>Proliferación</b>	<b>Si</b>	<b>Si</b>	<b>No</b>
<b>Automantenim.</b>	<b>Si</b>	<b>No</b>	<b>No</b>
<b>Progenies numerosas</b>	<b>Si</b>	<b>Limitadas</b>	<b>No</b>
<b>Regeneración pos-injuria</b>	<b>Si</b>	<b>Temporaria</b>	<b>No</b>

# PARTICIPACIÓN EN LA REGENERACIÓN



- ✓ Regeneración fisiológica (homeostasis)
- ✓ Regeneración pos-injuria

**Aplicación en medicina regenerativa**

# CLASIFICACIÓN DE LAS CÉLULAS STEM

## Origen

- ✓ Embrionarias
- ✓ Embrionarias germinales
- ✓ Adultas



## Potencialidad

- ✓ Totipotenciales
- ✓ Pluripotenciales
- ✓ Multipotenciales
- ✓ Potencialidad restringida

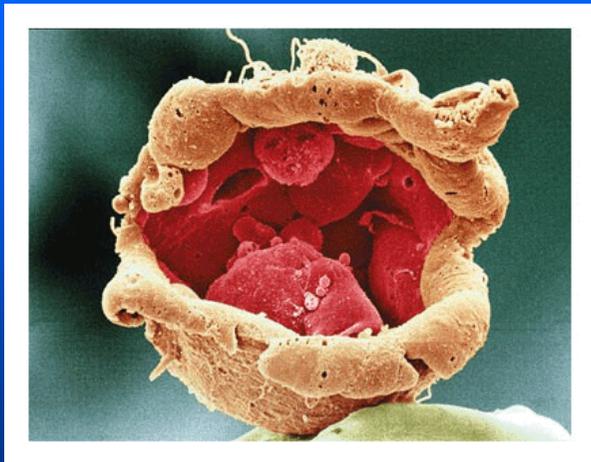
## CÉLULAS STEM EMBRIONARIAS



En la masa celular interna  
del blastocito (4-5 días)

## CÉLULAS STEM EMBRIONARIAS GERMINALES

En la cresta gonadal fetal.  
Desarrollan en gametas maduras



## CÉLULAS STEM ADULTAS

En tejidos/órganos adultos  
Producen las células  
funcionales

Células stem totipotentes

Células stem embrionarias pluripotentes

Células stem multipotentes

Células stem oligopotentes

Progenies de células progenitoras

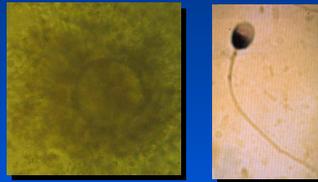
Células diferenciadas

Células terminalmente diferenciadas

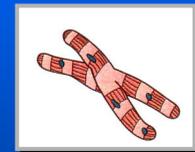
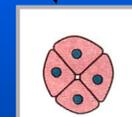
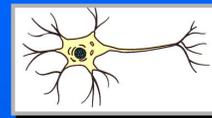
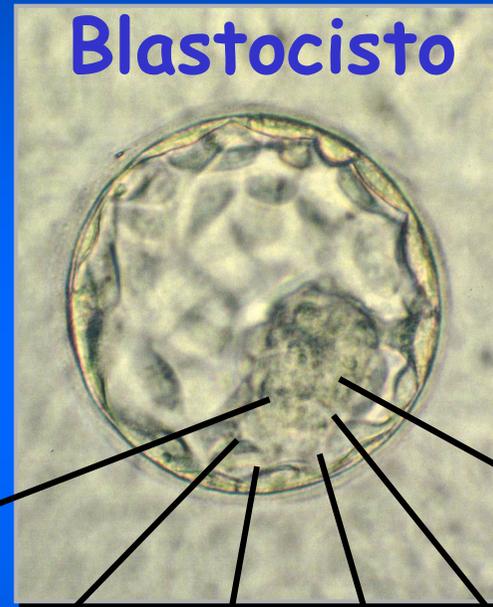
Diferenciación

Potencialidad

# Totipotencialidad

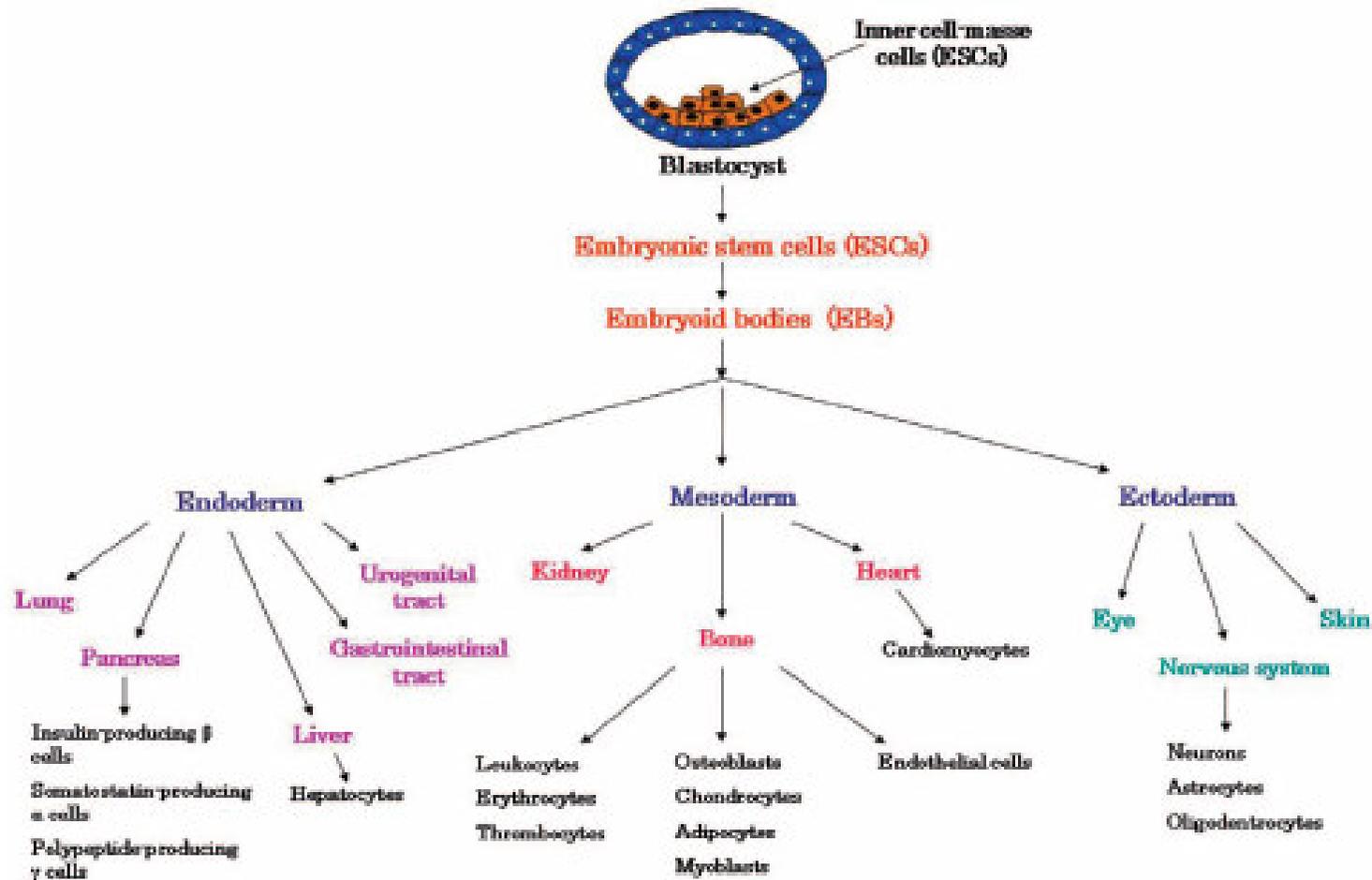


# Pluripotencialidad



# Diferenciación de stem cells embrionarias

## DIFFERENTIATION PATHWAYS OF EMBRYONIC STEM CELLS



# CÉLULAS STEM EMBRIONARIAS

Células que pueden ser cultivadas indefinidamente in vitro, como población autorrenovable, pluripotente

- ✓ Cuáles son las condiciones de cultivo para mantener esas características por períodos prolongados (feeder-layer, factores de crecimiento, factores de transcripción, etc)
- ✓ El cultivo puede inducir alteraciones epigenéticas que afecten el potencial de desarrollo

Ohtsuka S. *Gene Therapy*, 2007 Nov 8  
Pannetier M. *Trends Biotechnol* 2007, Nov 3

# Células stem según su potencialidad

Totipotentes  
(Cigoto)

Pluripotentes  
(Blastocisto)

Multipotentes

Oligopotentes

Monopotentes

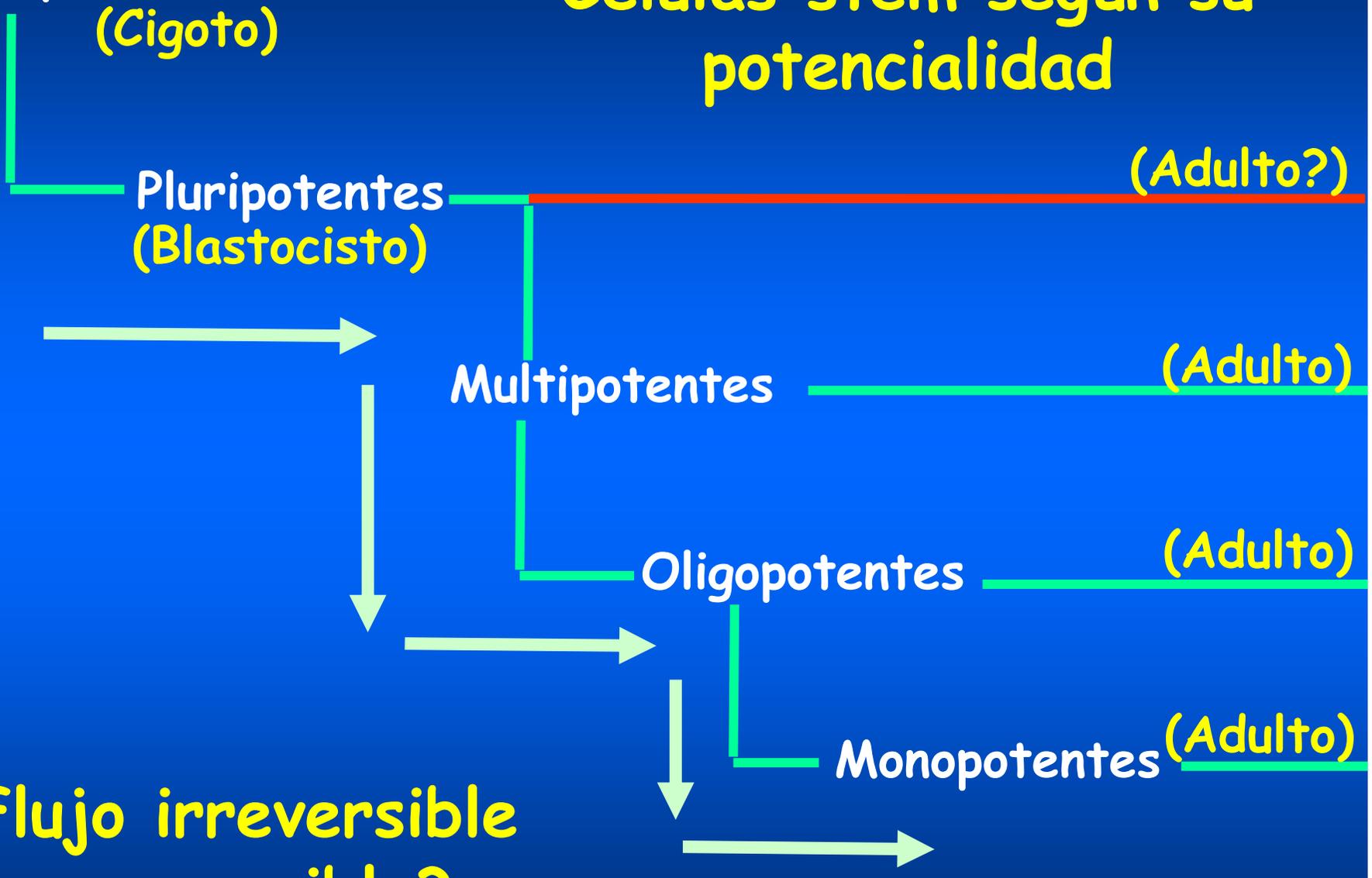
(Adulto?)

(Adulto)

(Adulto)

(Adulto)

Flujo irreversible  
o reversible?



# CUÁL ES EL ORIGEN DE LAS CÉLULAS STEM ADULTAS/SOMÁTICAS?

Derivan de las células stem  
embrionarias y se alojan en nichos  
específicos

Derivan de las células stem  
embrionarias **ya determinadas** en las  
láminas germinales

CÉLULAS  
EMBRIONARIAS



CÉLULAS  
ADULTAS

Son genéticamente  
equivalentes

La expresión diferencial de genes es el  
resultado de cambios epigenéticos  
**REVERSIBLES** impuestos sobre el genoma  
durante el desarrollo

# Células stem somáticas: PLASTICIDAD

Es la capacidad de una célula stem de transformarse en otra diferente, saltando incluso barreras de linaje y lámina germinal

Las células pueden entrar a un estadio de célula stem en forma reversible

## MECANISMOS

- ✓ **Transdiferenciación:** Reprogramación y cambio en la determinación celular, originando tipos celulares de diferente linaje
- ✓ **Fusión de genomas:** Formación de genomas poliploides
- ✓ **Estructuras de transferencia:** Nanotubos entre redes de células y transferencia de material entre ellas

# Participación de las células stem en homeostasis y reparación

Alto recambio celular  
Alto potencial regeneración



Bajo recambio celular  
Alto potencial regeneración



Bajo recambio celular  
Bajo potencial regeneración



Contribución de células stem a  
homeostasis y reparación

Sangre

Epidermis

Epitelio intestinal

Epitelio mamario

Endotelio vascular

Hígado

Músculo esquelético

Pequeña vasculatura

Corteza adrenal

Páncreas

Parénquima pulmonar

Cerebro

Retina

Corazón

Riñón

Hochedlinger K. Nature, 2006; 441: 1061-7

¿¿Las células stem somáticas son específicas de un tejido y por lo tanto tienen un espectro de diferenciación restringido??

Stem hemopoyéticas → Células sanguíneas

Stem hepáticas → Hepatocitos/Ductales

Stem del epitelio → Células epiteliales

Multipotent progenitor cells can be isolated from postnatal murine bone marrow, muscle, and brain. Ogawa M. Exp Hematol 2002;30:7-10

Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. Jiang Y. Nature 2002;418:41-9

# CÉLULAS STEM SOMÁTICAS

## PLASTICIDAD

Las células stem somáticas tendrían un grado de plasticidad que les permitiría cruzar las barreras de linaje, tejido y lámina germinal

Pueden existir células pluripotentes en el individuo adulto, no sólo en el embrión

Las células pueden entrar a un estadio de célula stem en forma reversible

Zipori D. The stem state; plasticity is essential, whereas self-renewal and hierarchy are optional. *Stem Cells* 2005; 23: 719-26

# CÉLULAS STEM SOMÁTICAS

- ✓ Las otras propiedades, incluso la auto-renovación, no serían determinantes
- ✓ Pueden existir células pluripotentes en el individuo adulto, no sólo en el embrión
- ✓ Las células pueden entrar a un estadio de célula stem en forma reversible
- ✓ La condición de célula stem es un estado más que una entidad celular

The stem state: plasticity is essential, whereas self-renewal and hierarchy are optional. Zipori D. Stem Cells 2005; 23: 719-26

# ¿CÓMO UNA CÉLULA SE TRANSFORMA EN OTRA DIFERENTE?

## Mecanismos

- ✓ Transdiferenciación
- ✓ Fusión de genomas
- ✓ Estructuras de transferencia

# TRANSDIFERENCIACIÓN

Células que cambian su determinación y dan origen a tipos celulares de diferente linaje

El microambiente estimularía a las células a integrarse, diferenciarse y funcionar como célula del nuevo tejido

Ocurre en condiciones fisiológicas, o sólo después de un daño?

Son factores locales provenientes de las células dañadas o factores sistémicos?

Hepatocytes from non-hepatic adult stem cells. Alison M. Nature 2000;406:257

Turning brain into blood: a hematopoietic fate adopted by adult neural stem cells in vivo. Bjornson C. Science 1999; 283: 534-7

Stem cell plasticity: from transdifferentiation to macrophage fusion. Camargo F. Cell Prolif 2004; 37: 55-5

Cardiomyocytes induce endothelial cells to trans-differentiate into cardiac muscle: implications for myocardium regeneration. Condorelli G. Proc Natl Acad Sci 2001; 98: 10733-8

Generalized potential of adult neural stem cells. Clarke D. Science 2000; 288:1660-63

Turning blood into brain cells bearing neuronal antigens generated in vivo from bone marrow. Mezey E. Science 2000; 290: 1779-82

Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. Orlic D. Nature 2001; 410: 701-5

Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo. Lagasse E. Nature Medicine 2000; 6: 1229-34

# MULTIPOTENCIALIDAD

Células  
mesenquimales  
de médula ósea

Células  
mesodérmicas  
(hueso, cartílago,  
músculo, grasa)

# TRANSDIFERENCIACIÓN

Células  
endodérmicas  
(hepatocitos)

Células  
ectodérmicas  
(neuronas)



# Puede demostrarse con certeza la transdiferenciación?

Muchos de los estudios de transdiferenciación se basaron en microscopía confocal con fluorescencia

- ✓ Los tejidos musculares estriados tienen autofluorescencia
- ✓ Los tejidos necróticos tienen aumentada esa autofluorescencia (acumulación de lipofuscina, pigmentos derivados de la sangre, flavinas)
- ✓ Leucocitos derivados de MO pueden ser confundidos con células stem

# FUSIÓN CELULAR

Formación de genomas poliploides  
entre células implantadas y células  
huésped

La fusión produciría células  
altamente inestables

**Fusion of bone-marrow-derived cells with Purkinje neurons, cardiomyocytes and hepatocytes.** Alvarez-Dolado M. *Nature*, 2003; 425: 968-73

Haematopoietic stem cells do not transdifferentiate into cardiac myocytes in myocardial infarcts. Murry C. *Nature*, 2004; 428: 664-8

**Cell fusion is the principal source of bone-marrow-derived hepatocytes.** Wang X. *Nature* 2003; 422:897-901

Haematopoietic stem cells adopt mature hematopoietic fates in ischaemic myocardium.

Balsam L. *Nature* 2004; 428: 668-73

**No hubo evidencias de transdiferenciación**

# ESTRUCTURAS DE TRANSFERENCIA

Conexiones intercelulares transitorias a través de nanotubos (50-800nm diám; 5-120 $\mu$ m largo)

Intercambio transmembrana de proteínas, organelas, factores de transcripción

Proceso transitorio entre células contiguas y redes de células

Koyanagi M. Cell-to-cell connection of endothelial progenitor cells with cardiac myocytes by nanotubes. A novel mechanism for cell fate changes. *Circulation Research* 2005; 96: 1039-41

# MECANISMO QUE CAMBIA EL DESTINO DE UNA CÉLULA?

Células humanas  
progenitoras endoteliales

Miocitos cardíacos  
de rata



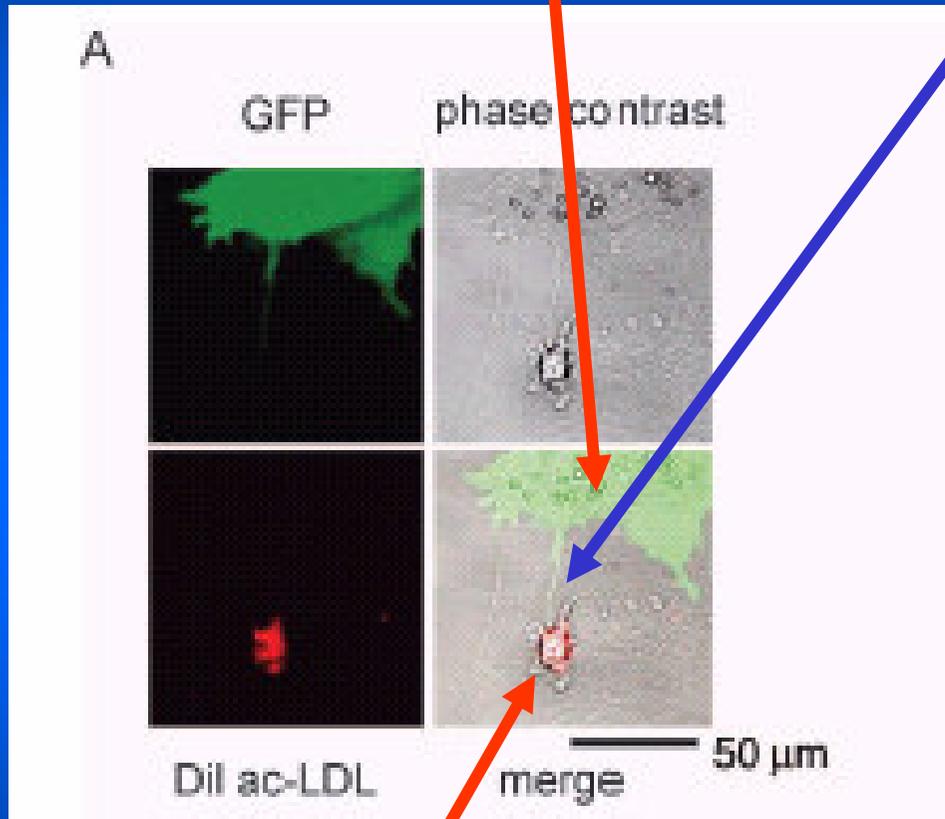
Conexiones intercelulares transitorias (50-800nm diám; 5-120 $\mu$ m)

Células mononucleadas con marcadores de ambas células

Trasporte de mitocondrias (cardiomiocitos a endoteliales)

# Conexiones

Miocitos cardíacos de rata (verdes)



Células humanas progenitoras endoteliales (rojas)

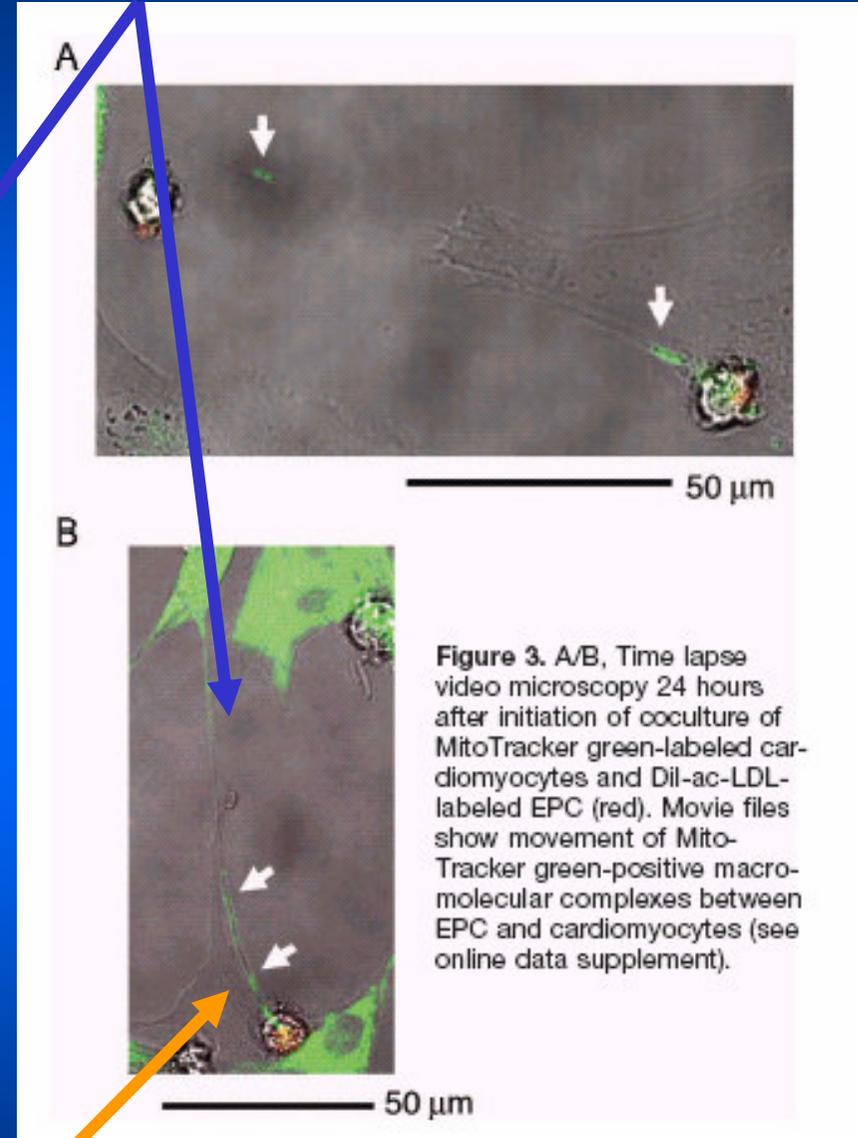


Figure 3. A/B, Time lapse video microscopy 24 hours after initiation of coculture of MitoTracker green-labeled cardiomyocytes and Dil-ac-LDL-labeled EPC (red). Movie files show movement of MitoTracker green-positive macromolecular complexes between EPC and cardiomyocytes (see online data supplement).

Trasporte de mitocondrias  
Circulation Research 2005



TRANSDIFERENCIACIÓN?

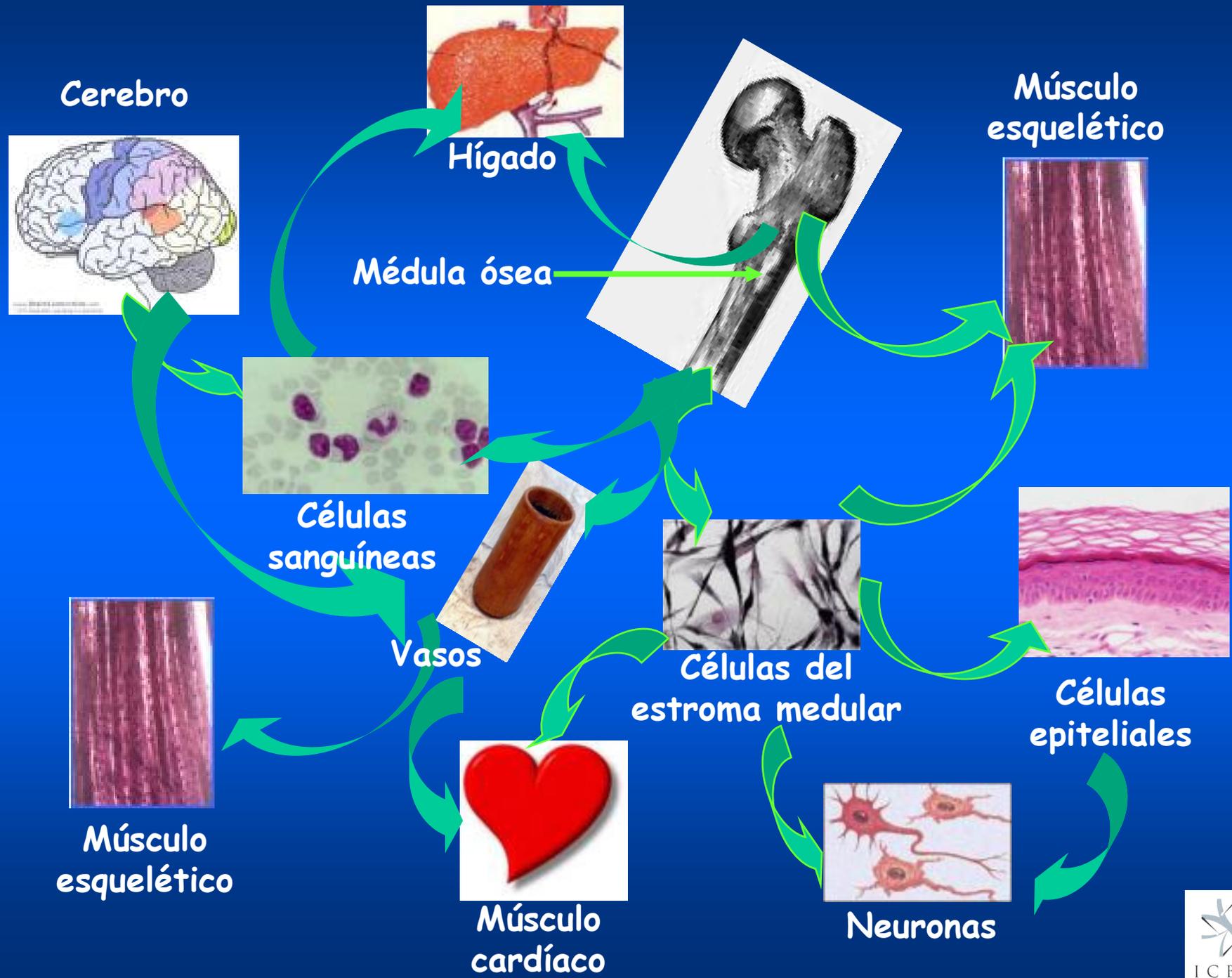


FUSIÓN CELULAR?



OTROS  
MECANISMOS?

Quizás coexistan  
varios mecanismos



# QUÉ TEJIDOS ADULTOS TIENEN CÉLULAS STEM



# DÓNDE SE UBICAN LAS CÉLULAS STEM SOMÁTICAS?

Muchas de las células stem somáticas se alojan en nichos específicos, característicos de cada tejido

El microambiente del nicho controla el mantenimiento y comportamiento de las células stem adultas



**Interacciones  
cél.-cél**  
**Interacciones  
célula-ME**  
**GF, citoquinas**

**Señales de  
diferenciación**

**Señales que controlan la  
condición de stem**

Spradling A. Stem cells find their niche.  
Nature 2001; 414: 98-104

Watt F. Out of eden: stem cells and their niches.  
Science 2000: 1427-30

Scadden D. The stem-cell niche as an entity of action.  
Nature 2006; 441: 1075-9

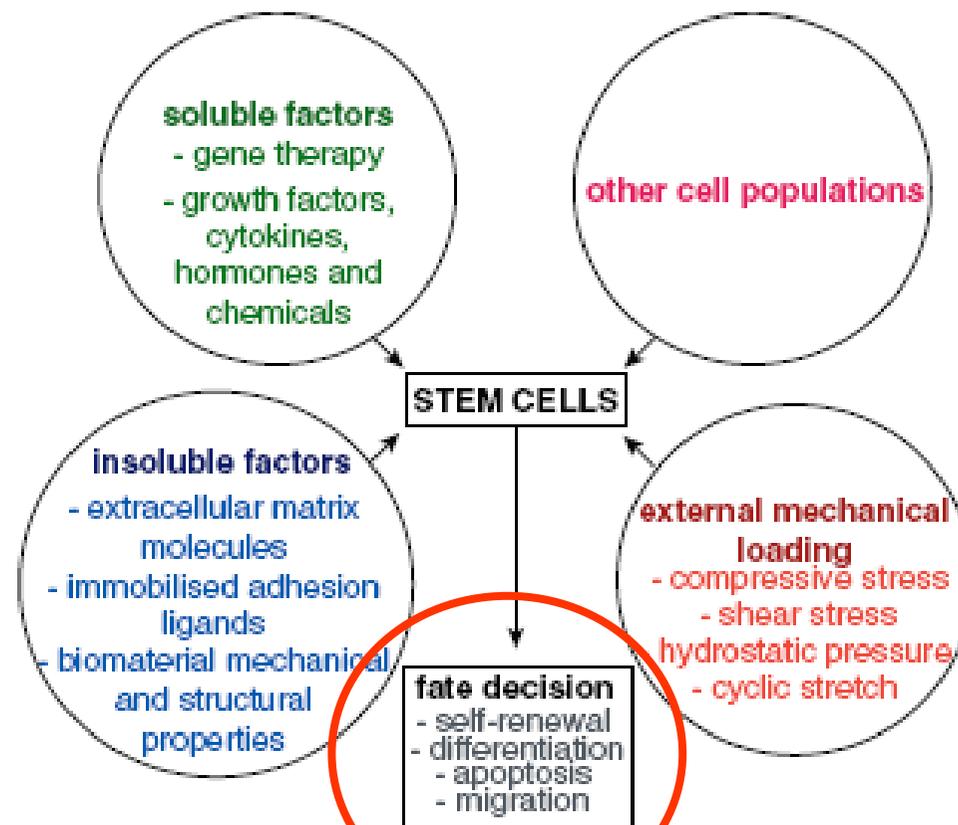
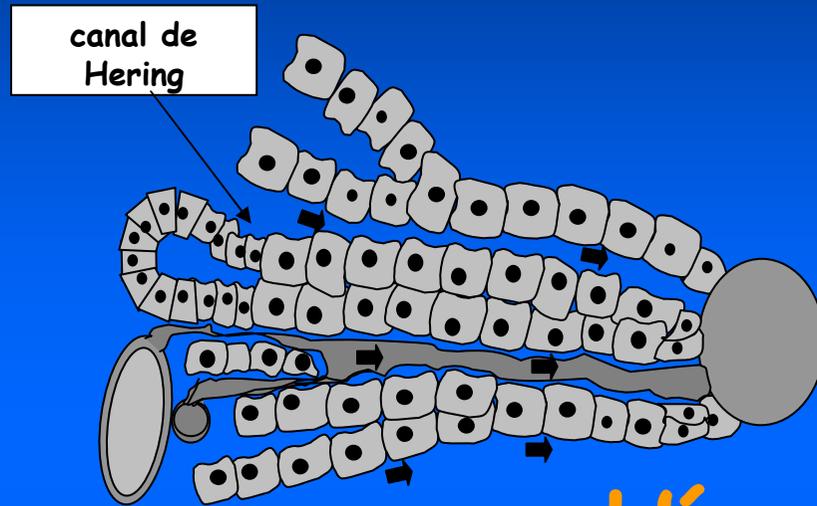
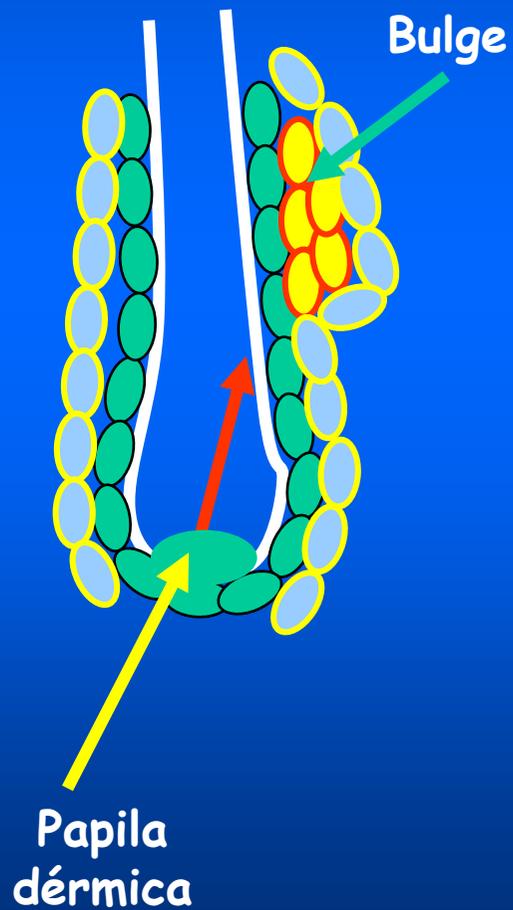


Figure 1. Multiple signals in the local microenvironment influence stem cell fate decision.

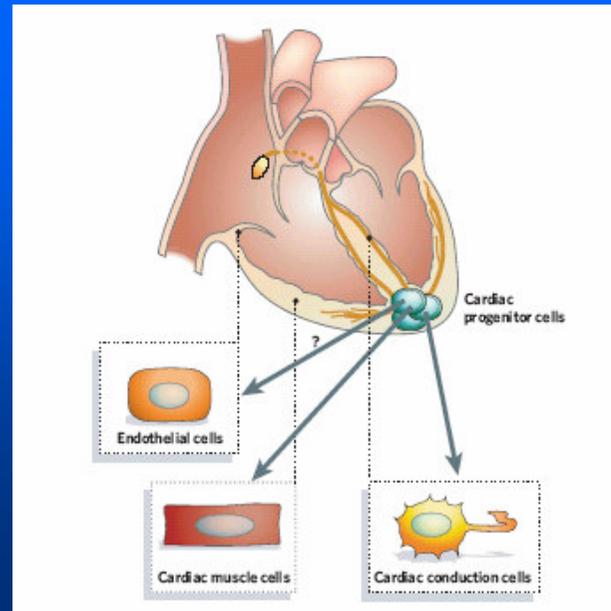
Alsberg E. Expert Opin Biol Ther. 2006;6:847-66  
Kasper G. Stem Cells 2007; 25: 1985-94

# NICHOS DE CÉLULAS STEM

Piel

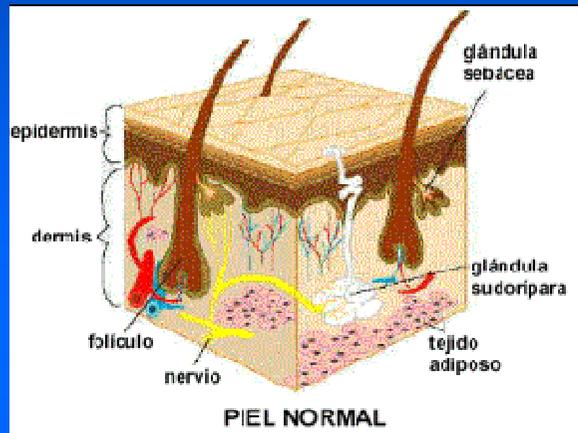


Hígado



Corazón

# CÉLULAS STEM EN LA EPIDERMIS: cómo se comportan en la homeostasis/regeneración

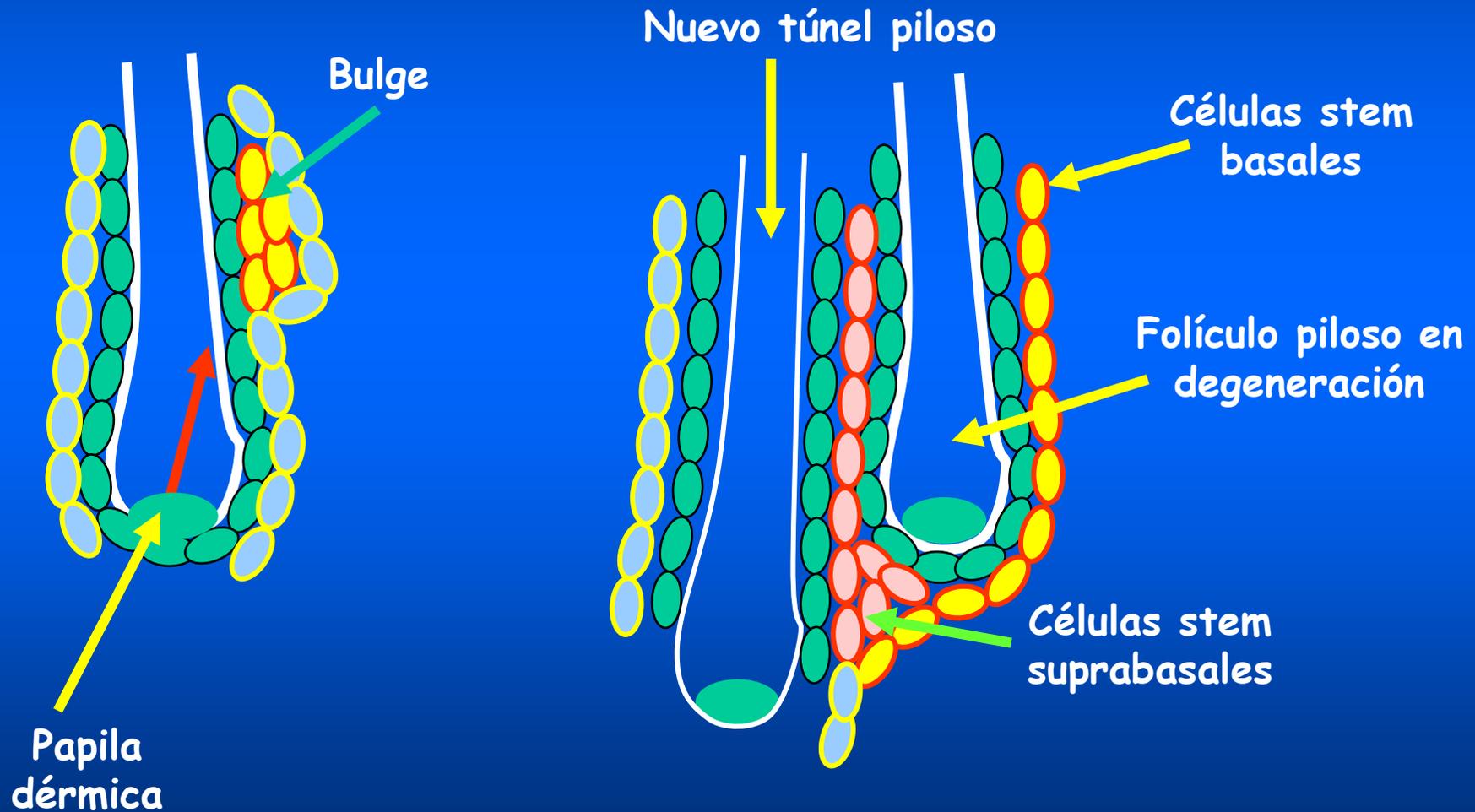


Cada folículo piloso contiene un reservorio de células stem (bulge) normalmente quiescentes **in vivo**

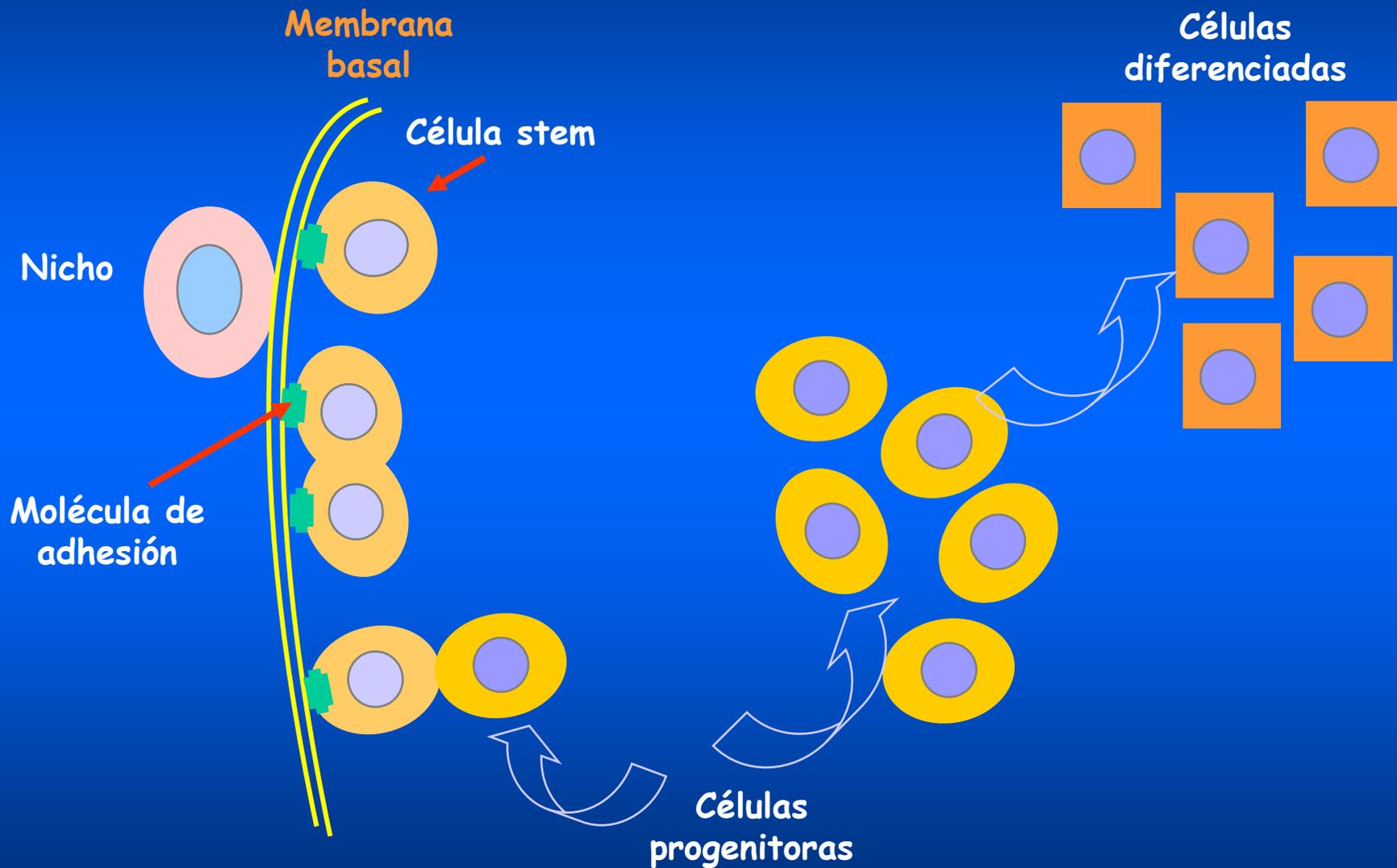
En cada ciclo piloso estas células regeneran un nuevo folículo

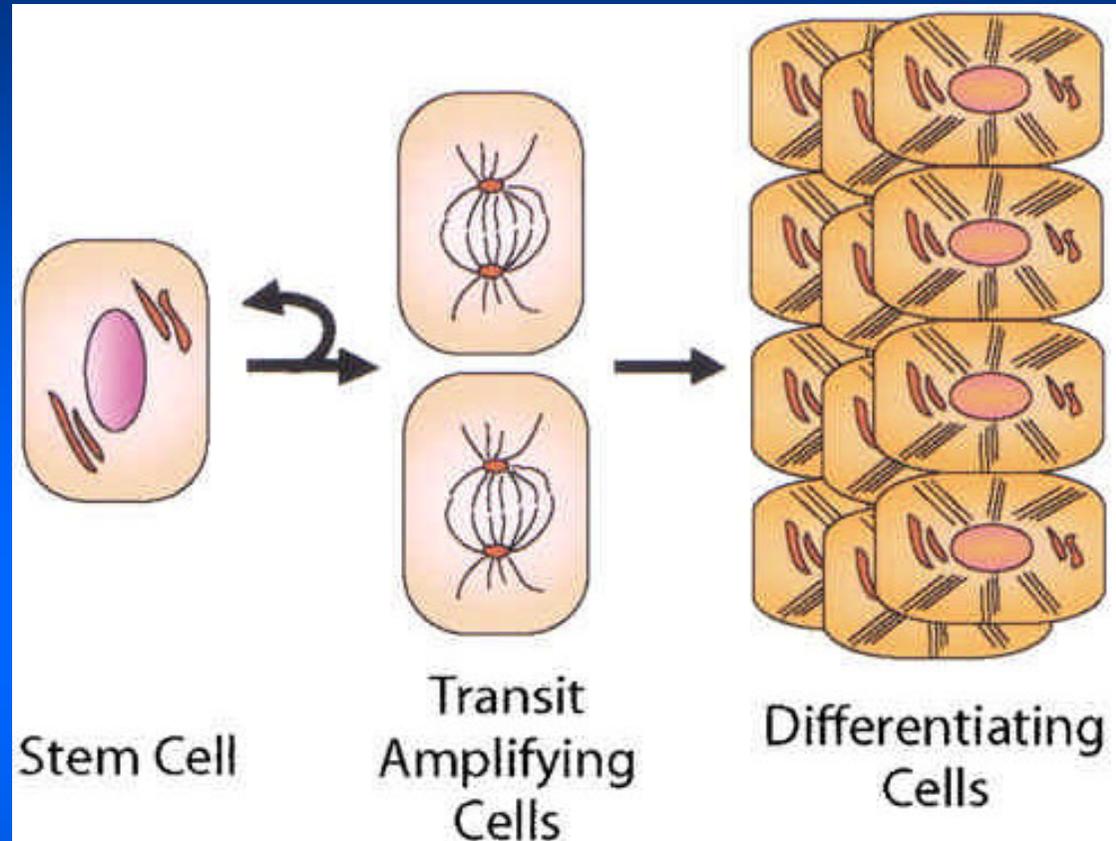
Como respuesta a un daño, las mismas células reepitelizan la epidermis durante la cicatrización

# ACTIVACIÓN DE LAS CÉLULAS STEM: Folículo piloso o epidermis



# REGENERACIÓN DE EPIDERMIS





**Holoclon**

**Meroclon**

**Paraclon**

Vel. división:

lenta

rápida

no prolif.

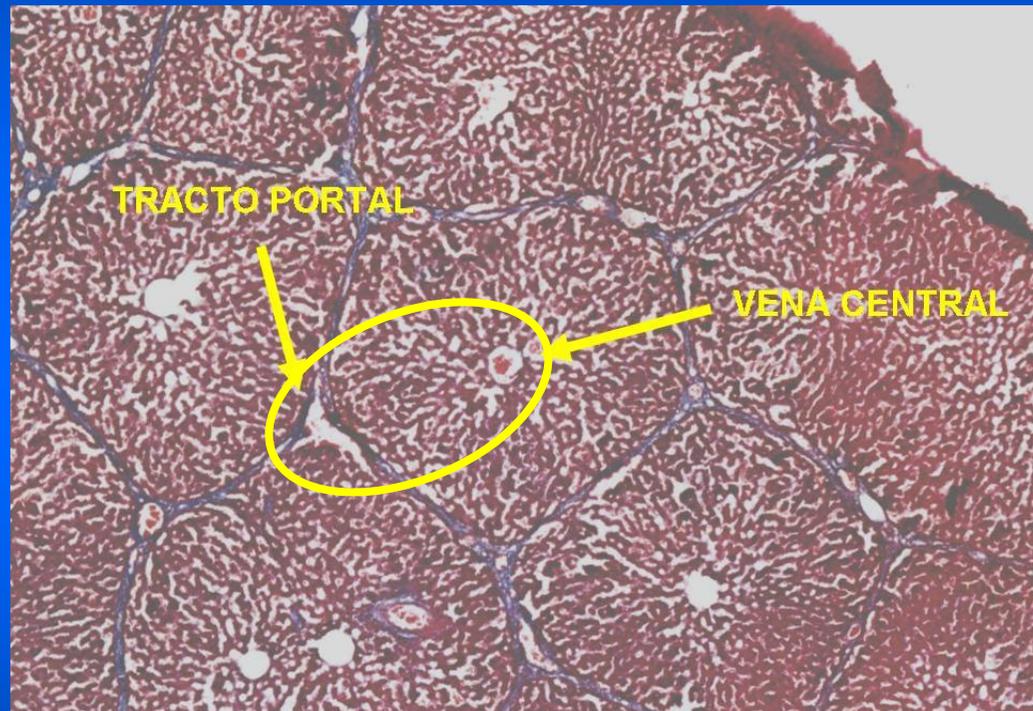
Potencial prolif.:

máximo

limitado

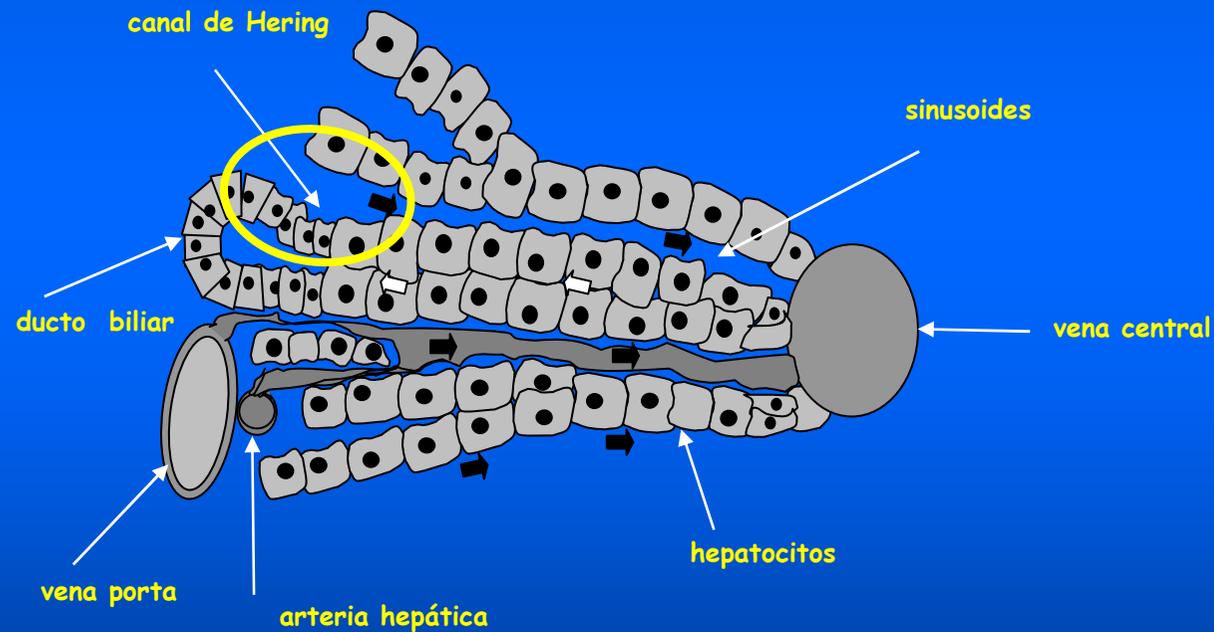
nulo

# ESTRUCTURA HEPÁTICA

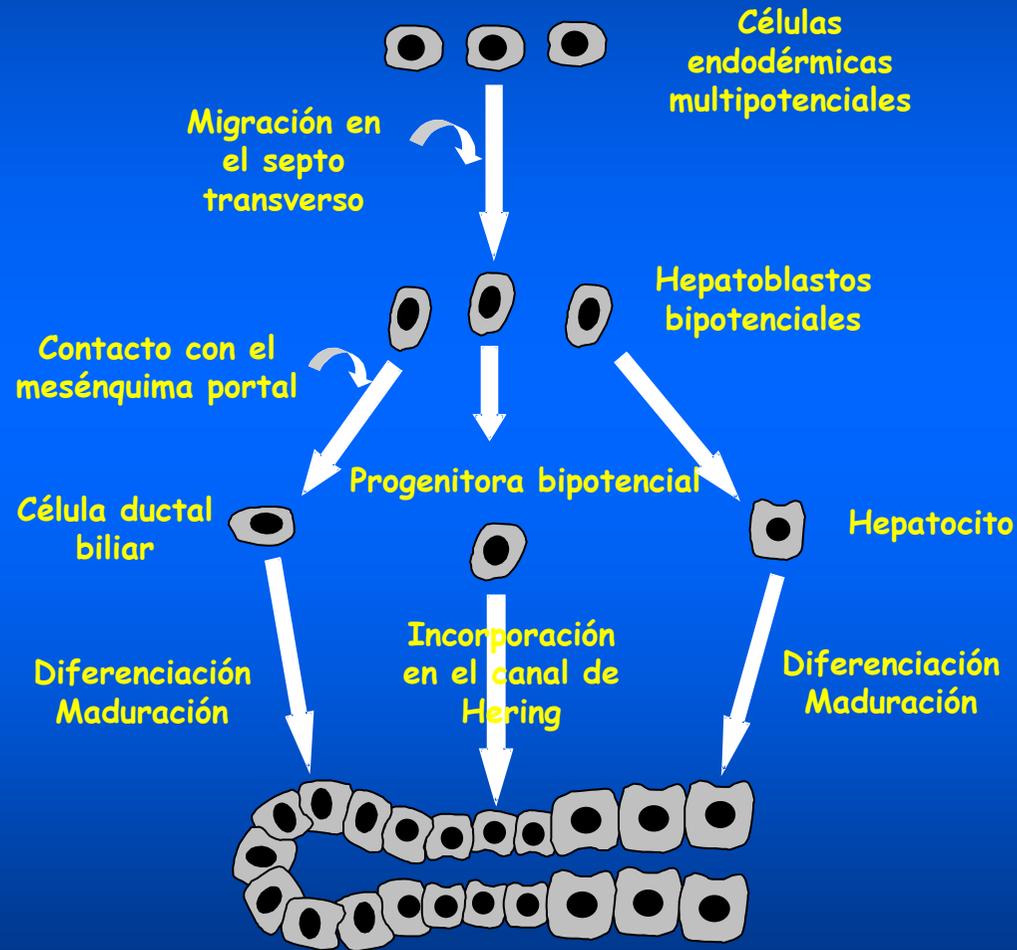


Hígado porcino

# NICHO DE CÉLULAS STEM EN EL HÍGADO ADULTO



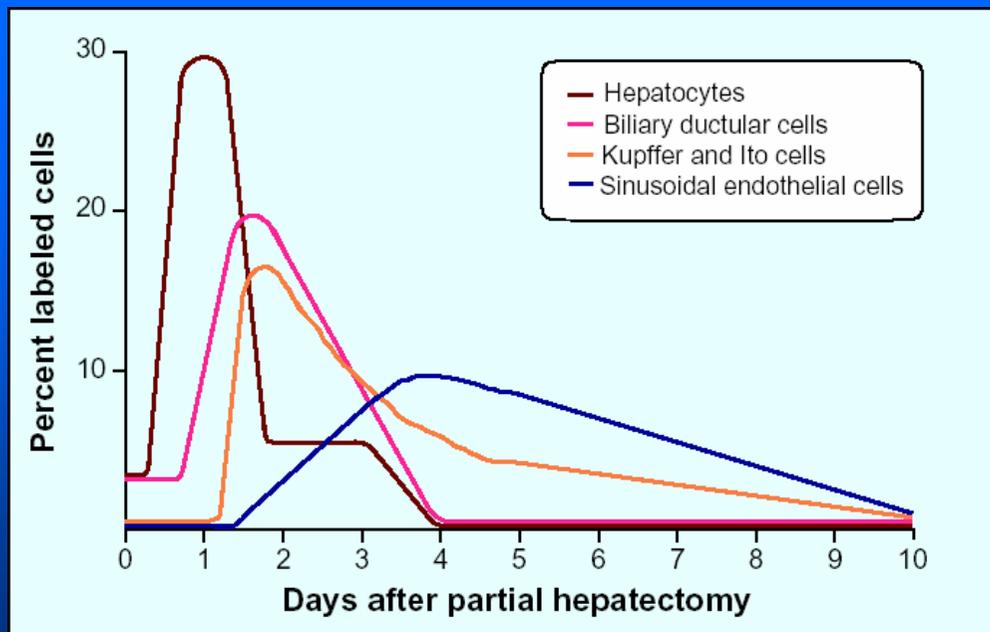
# DESARROLLO EMBRIONAL Y POSNATAL DEL HÍGADO



# REGENERACIÓN HEPÁTICA

## Daños leves o moderados

Células diferenciadas que reingresan en el ciclo celular y regeneran el tejido dañado

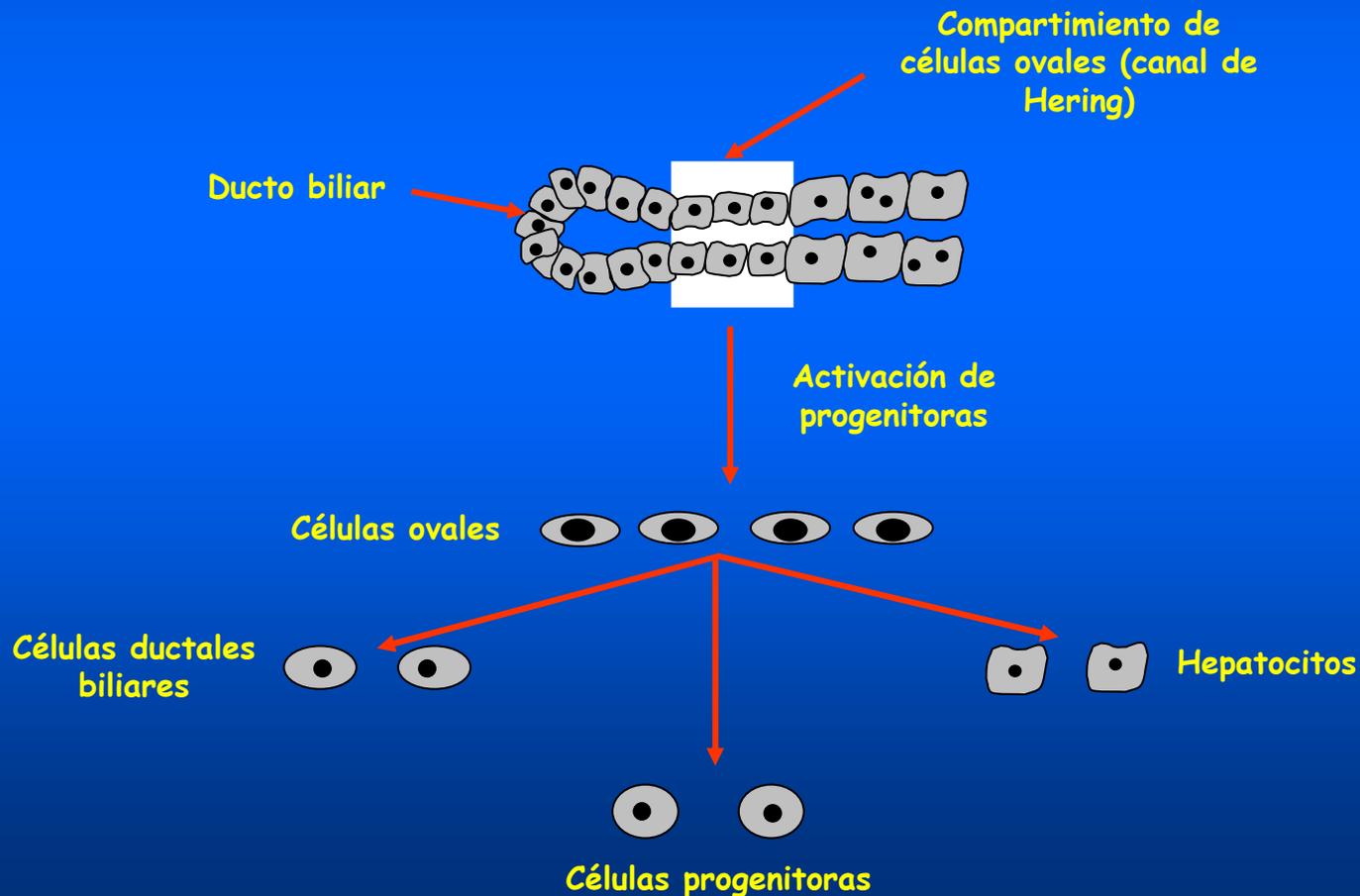


Todos los tipos celulares hepáticos se dividen

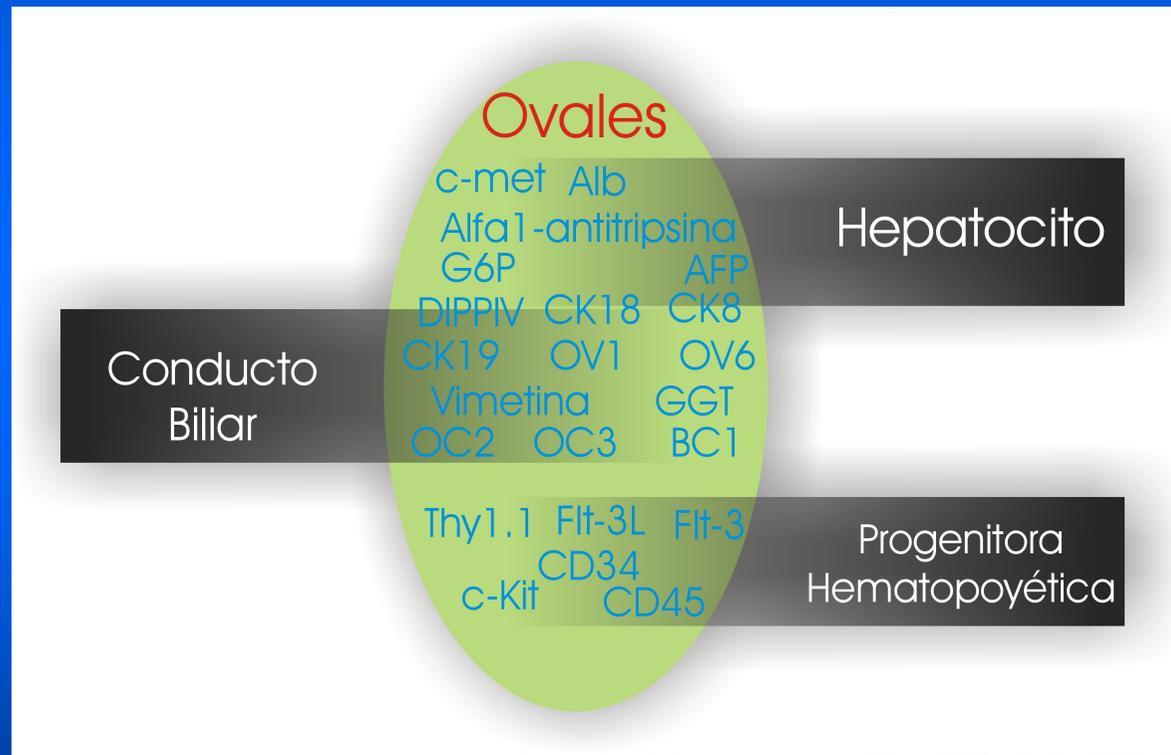
# REGENERACIÓN HEPÁTICA

## Daños masivos

### Activación de las células stem hepáticas



# CARACTERÍSTICAS DE LAS CÉLULAS OVALES



# CÉLULAS STEM CARDÍACAS?

Una fracción de los cardiomiocitos podría reingresar en el ciclo de división celular

Después de una injuria, existiría reclutamiento de células stem residentes y/o circulantes

El corazón tendría un nicho de células stem que pueden reemplazar la lenta pérdida de células que se produce a lo largo de la vida por apoptosis

Las células stem residentes no podrían sostener la pérdida masiva por daño isquémico/no isquémico

Estos mecanismos endógenos de reparación podrían ser imitados para aplicación terapéutica: Trasplante celular

# NICHO DE CÉLULAS STEM EN EL CORAZÓN ADULTO



Una población de células Isl-1+ serían las células stem cardíacas endógenas

Estarían ubicadas en acúmulos (aurículas) o células aisladas (ventrículos)

## Cómo se comportarían?

Proliferación

Angiogénesis

Transdiferenciación

Reclutamiento de células stem itinerantes?

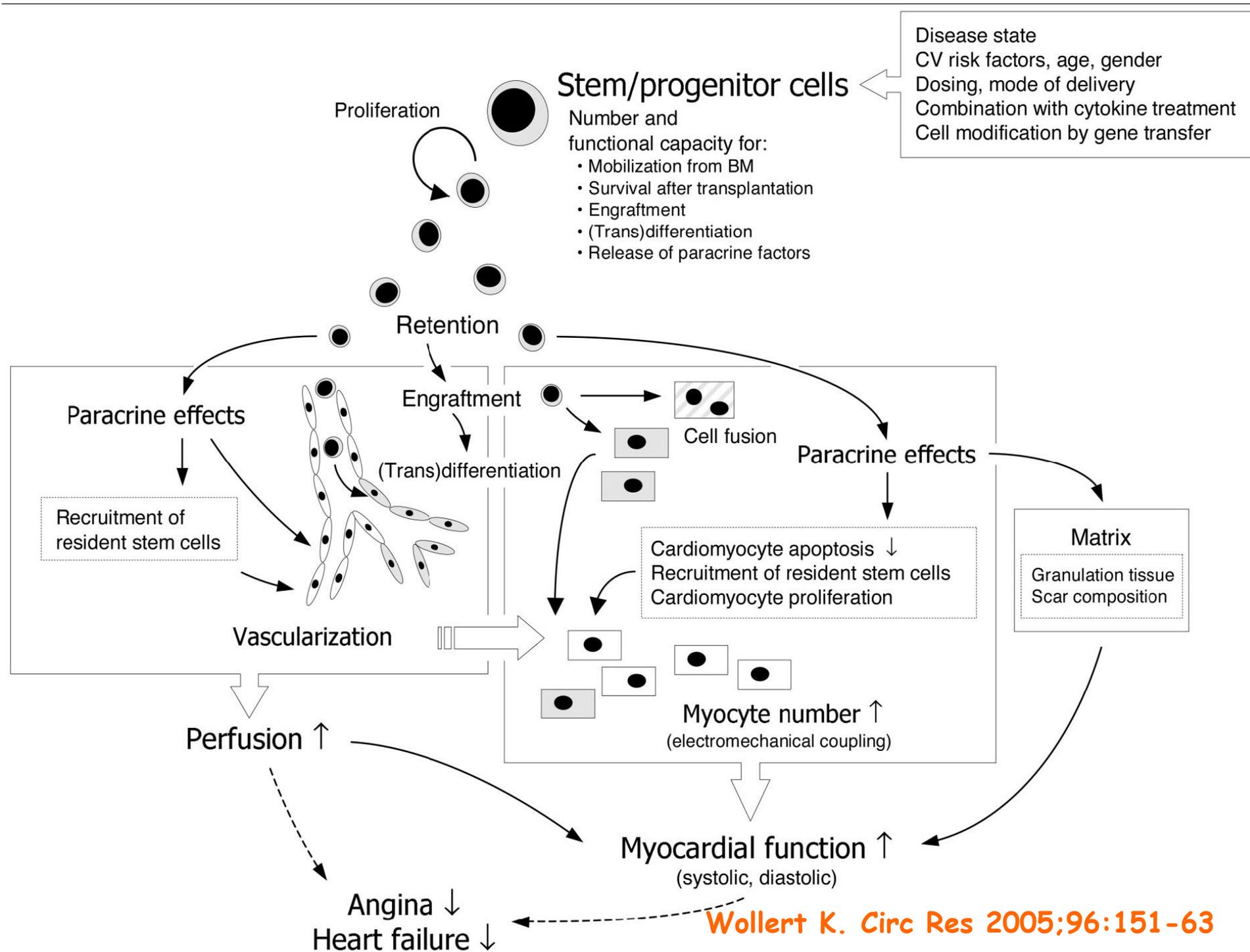
Liberación de factores parácrinos

Laugwitz K. Nature 2005; 433: 647-53  
Wollert K. Circ Res 2005

# MECANISMOS PROBABLES

- ✓ Fusión de células trasplantadas con cardiomiocitos residentes
- ✓ Protección de la muerte por apoptosis
- ✓ Reclutamiento de células stem residentes/exógenas
- ✓ Liberación de ligandos angiogénicos
- ✓ Inducción de proliferación de cardiomiocitos endógenos
- ✓ Transdiferenciación

Potencial de mejorar la perfusión y la función contráctil del corazón dañado?



# QUÉ CÉLULAS STEM SE ESTÁN USANDO

- ✓ Células stem de músculo esquelético: satélite
- ✓ Células stem cardíacas residentes
- ✓ Células stem de médula ósea/tejido adiposo

Cardiac cell therapy--mixed results from mixed cells

Rosenzweig A. NEJM 2006;355:110-2  
Segers V. Nature 2008; 451: 937-42

## OTRA ALTERNATIVA

Movilización de células con factores de crecimiento  
(SCF, G-CSF)

Estimulación de miogénesis y angiogénesis?  
(Células progenitoras endoteliales)

# CÉLULAS STEM PARA REPARACIÓN DE CARTÍLAGO ARTICULAR

- Osteoarthritis is a human condition. All homo sapiens who live long enough have or will develop osteoarthritis

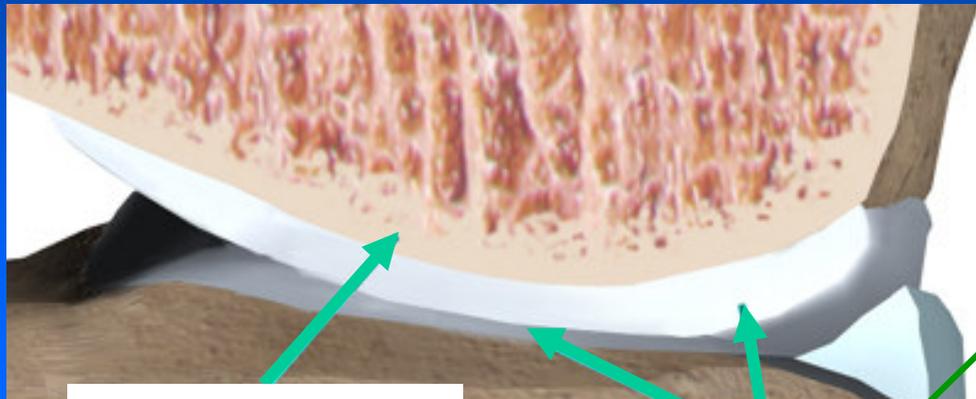
Clin Orthop, 2004

¿Qué soluciones existirían para evitar una degeneración que se considera inevitable?

**NO BIOLÓGICAS** Prótesis articulares

**BIOLÓGICAS** Ingeniería tisular  
Trasplantes celulares

# CARTÍLAGO ARTICULAR



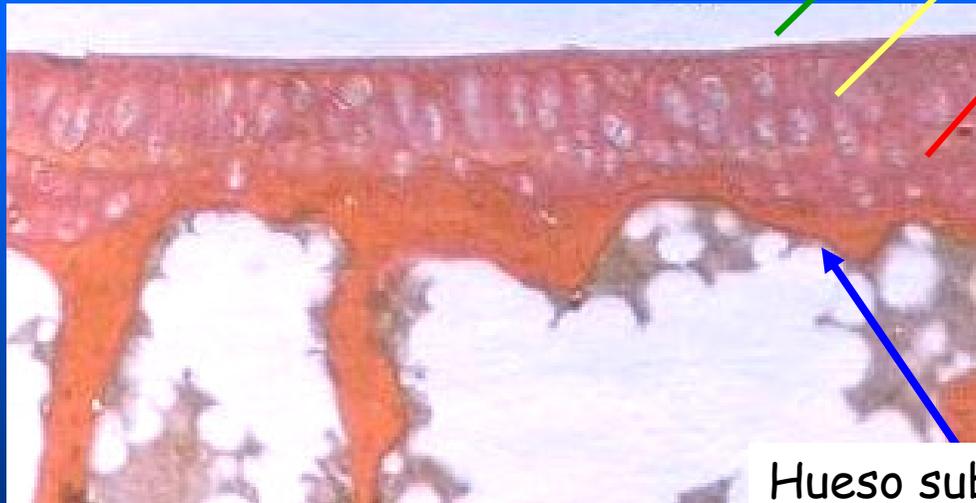
Hueso Subcondral

Cartílago

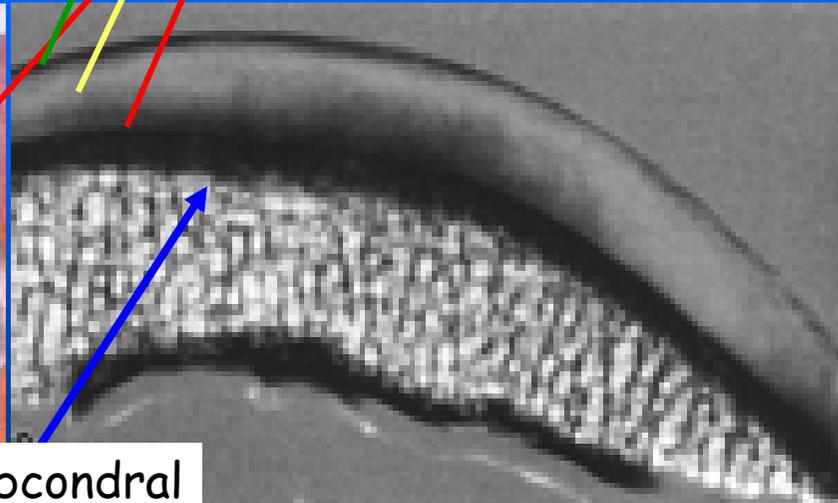
Zona Superficial

Zona Media

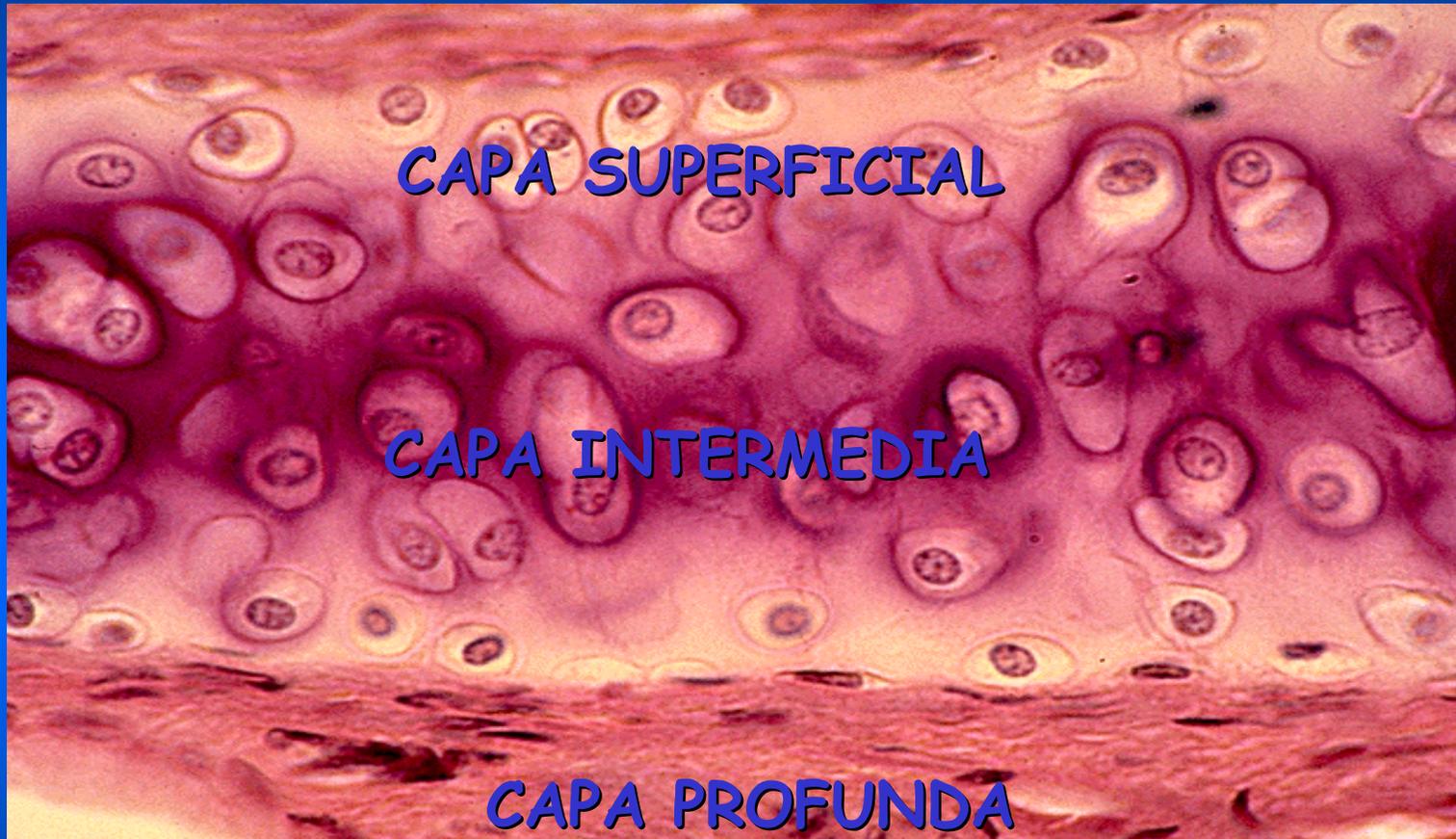
Zona Profunda



Hueso subcondral



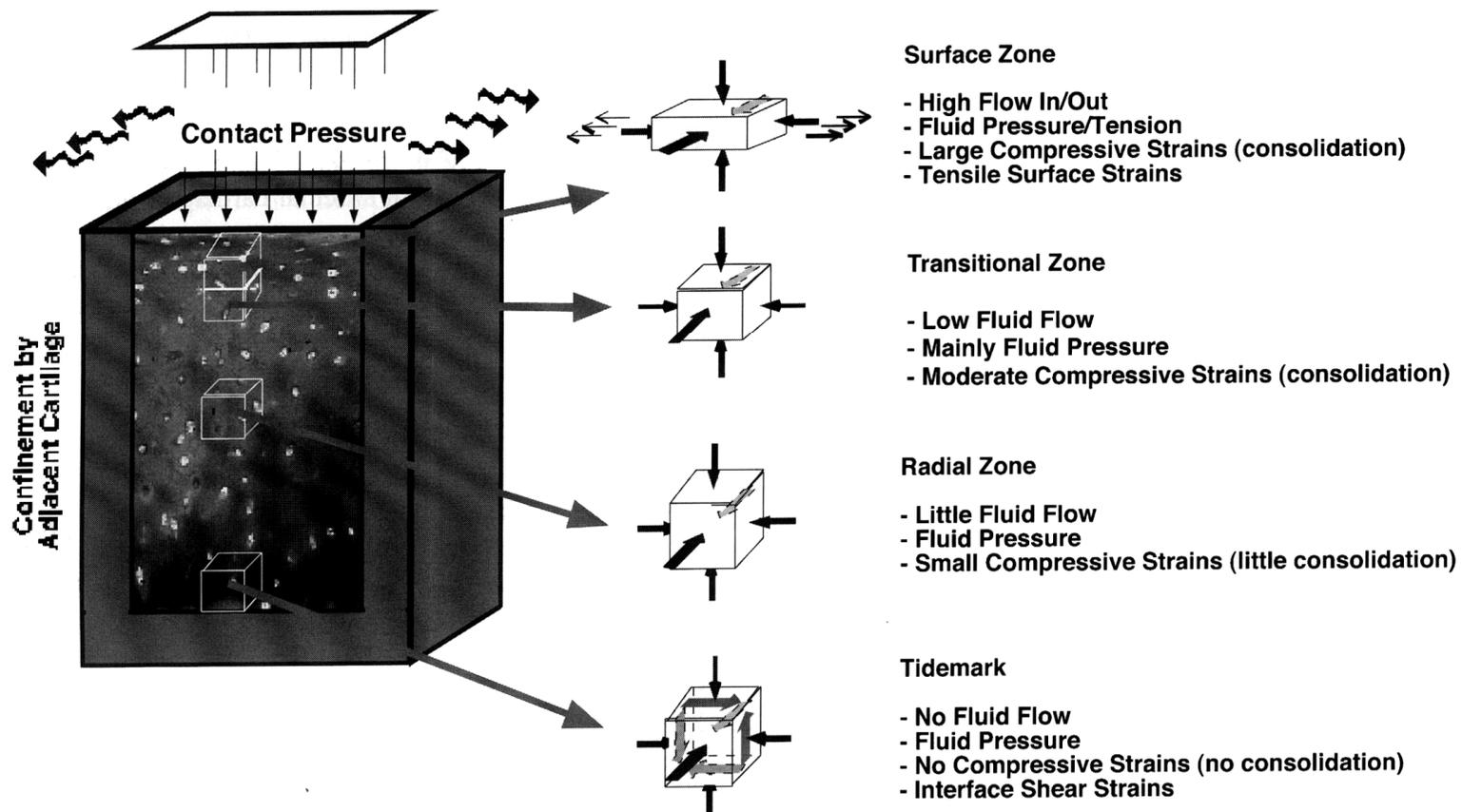
# CARTÍLAGO ARTICULAR



ESTRUCTURA COMPLEJA QUE NO PRESENTA  
CAPACIDAD DE REGENERACIÓN

# BIOMECÁNICA

## In Vivo Mechanical Behavior

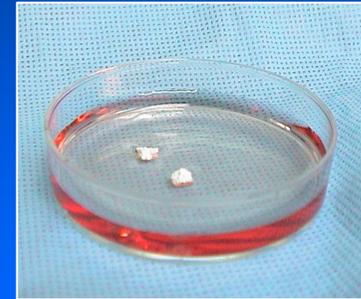


LI, K, Williamson A, Wang, A, Sah, L. "Growth response of cartilage to static and dynamic compression". Clin Orthop, 391S, pp; 534-48. 2001

# INGENIERÍA DE TEJIDOS APLICADA A REPARACIÓN DE CARTÍLAGO

- COMPONENTES CELULARES

- **Condrocitos**
- **Células stem**



- MATRICES TRIDIMENSIONALES

- **Acido Hialurónico** - **Colágeno**

- FACTORES DE CRECIMIENTO

# USO DE CÉLULAS STEM DE MÉDULA ÓSEA

Mesenchymal cell based repair of large full thickness defects of articular cartilage

Wakitani S. J Bone Joint Surg 1994; 76

- Evaluación histológica, macroscópica, mecánica
- Regeneración del cartílago y hueso subcondral

Ventajas de las células stem

- ✓ Disponibilidad
- ✓ Regeneración de cartílago y hueso subcondral
- ✓ Un solo tiempo quirúrgico

# Reparación de los defectos del cartílago articular con células stem e injerto de condrocitos autólogos. Estudio experimental en conejos

- 10 Conejos (New Zealand) (8 Meses edad)
  - Rodilla derecha: 1) Condrocitos Autólogos  
2) Stem Cells
  - Rodilla Izquierda: Control (Defecto sin Tratamiento)
  - Evaluación RMN
  - Evaluación Histológica



- 1) Se produce la regeneración del cartílago articular?
- 2) Las células stem presentan mejor capacidad de regeneración?

# EVALUACIÓN

- RMN con densidad para cartílago
  - 8 meses pos-operatorio
  
- HISTOLÓGICO
  - Hematoxilina-eosina
  - Safranina
  - Inmunohistoquímica

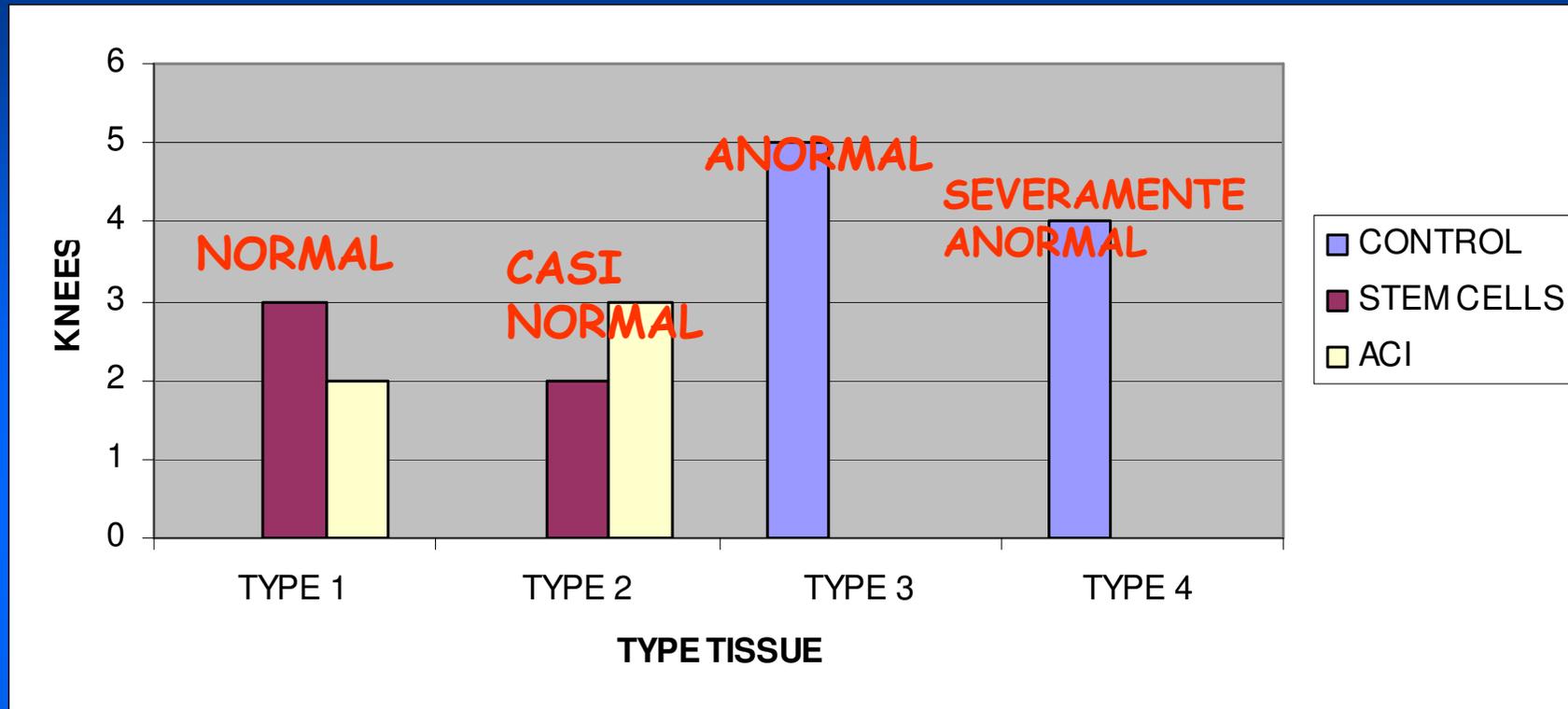
## CARTILAGE REPAIR ASSESSMENT

Criteria	Points	
<b>Degree of Defect Repair I Protocol A <sup>(1)</sup></b>	* In level with surrounding cartilage	4
	* 75% repair of defect depth	3
	* 50% repair of defect depth	2
	* 25% repair of defect depth	1
	* 0% repair of defect depth	0
<b>I Protocol B <sup>(2)</sup></b>	* 100% survival of initially grafted surface	4
	* 75% survival of initially grafted surface	3
	* 50% survival of initially grafted surface	2
	* 25% survival of initially grafted surface	1
	* 0% (plugs are lost or broken)	0
<b>II Integration to Border zone</b>	* Complete integration with surrounding cartilage	4
	* Demarcating border < 1mm	3
	* 3/4 of graft integrated, 1/4 with a notable border > 1mm width	2
	* 1/2 of graft integrated with surrounding cartilage, 1/2 with a notable border > 1mm	1
	* From no contact to 1/4 of graft integrated with surrounding cartilage	0
<b>III Macroscopic Appearance</b>	* Intact smooth surface	4
	* Fibrillated surface	3
	* Small, scattered fissures or cracs	2
	* Several, small or few but large fissures	1
	* Total degeneration of grafted area	0
<b>Overall Repair Assessment</b>	<b>Grade I</b> normal	<b>12 P</b>
	<b>Grade II</b> nearly normal	<b>11-8 P</b>
	<b>Grade III</b> abnormal	<b>7-4 P</b>
	<b>Grade IV</b> severely abnormal	<b>3-1 P</b>

Cartilage Biopsy

Location \_\_\_\_\_

(1) Protocol A:	(2) Protocol B:
autologous chondrocyte implantation (ACI); periosteal or perichondrial transplantation; subchondral drilling; microfracturing; carbon fibre implants; others:	Mosaicplasty; OAT; osteochondral allografts; others:



- Terapias celulares regeneran cartílago articular
- Células stem mejor regeneración del hueso subcondral
- Injerto de condrocitos no regenera capas superficiales

# ALGUNOS EJEMPLOS DE APLICACIONES DE CÉLULAS STEM EMBRIONARIAS

- ✓ Líneas celulares embrionarias humanas: potencial para aplicaciones en investigación y/o aplicación clínica.
- ✓ Transfección de células stem embrionarias humanas, durante su pluripotencialidad, y su propagación in vitro.
- ✓ Inducción de diferenciación dopaminérgica en células stem embrionarias produciendo células con propiedades de neuronas dopaminérgicas

# ALGUNOS EJEMPLOS DE APLICACIONES DE CÉLULAS STEM EMBRIONARIAS

- ✓ Producción de tubos microvasculares a partir de células stem embrionarias: aplicación en angiogénesis terapéutica
- ✓ Diferenciación neuronal in vitro de células stem embrionarias: obtención de fenotipos neuronales con perspectivas terapéuticas
- ✓ Inducción de diferenciación de células stem embrionarias en condrocitos: uso en patologías degenerativas de cartílago

**"Early embryos can yield stem cells.....and survive"**

En estadio embrionario de 8-10 células, en casos de diagnóstico preimplantatorio:

Una célula es tomada y puesta en cultivo. Se desarrollaron líneas celulares (8 meses) y formaron diferentes tipos de tejidos

**Pearson H. Nature 2006; 442: 858**

# PROBLEMAS CON LAS CÉLULAS STEM EMBRIONARIAS

- ✓ Problemas éticos: Origen de células
- ✓ Problemas de bioseguridad: teratomas?
- ✓ Problemas legales: Desarrollo de patentes



# CUÁL ES EL FUTURO?

- ✓ Todos los tejidos adultos parecerían tener células stem, aunque éstas son escasas y difíciles de identificar
- ✓ No todas las células stem somáticas tienen la misma potencialidad
- ✓ No están claros los mecanismos de obtención de tipos celulares diversos
- ✓ Existen células stem itinerantes? Responden a un daño tisular? Cuáles son los estímulos que reciben?

# CUÁL ES EL FUTURO?

- ✓ Cuántas células stem hacen falta para restaurar la funcionalidad de un tejido/órgano dañado?
- ✓Cuál es el riesgo de alteraciones genéticas o epigenéticas, tumores, etc?
- ✓Cómo se traducen esas alteraciones a nivel clínico?
- ✓Cómo pueden ser identificadas in vivo/in vitro?  
(RMN, Quantum dots o nanopartículas fluorescentes)

# CUÁL ES EL FUTURO?

- ✓ Cuántas células stem hacen falta para restaurar la funcionalidad de un tejido/órgano dañado?
- ✓ Es posible manipularlas in vitro para tener un número suficiente para trasplantarlas?
- ✓ Qué artefactos se pueden producir in vitro?  
(Stress celular en respuesta a la movilización de las células de sus nichos, y cambios fenotípicos)

# Selling the stem cell dream

**Gran número de empresas  
comerciales prometen terapias  
celulares como los tratamientos  
del futuro, sin rigurosos ensayos  
clínicos**

Enserink M. Science 2006; 313: 160-3

## Selected Companies and Clinics Offering Stem Cell Therapies

Company	Location	Conditions	Patients treated	Cost (\$)	Remarks
<b>PATIENTS' OWN CELLS</b>					
Cells4Health	Leuvenheim, the Netherlands	Myocardial infarction, vascular disease, spinal cord injury, stroke	NA	+25,000	Treatment takes place at clinics in Turkey and Azerbaijan
NeuraVita	Moscow, Russia	Neurological diseases and injuries	NA	~20,000	
<b>FETAL CELLS</b>					
EmCell	Kiev, Ukraine	More than 50, including neurological disorders, aging, impotence, diabetes, cancer, HIV	Almost 2000 in 13 years	+15,000	
Medra	Malibu, U.S.A.	More than 20, including neurological disorders, depression, autism, sickle cell anemia	More than 1000	NA	Procedures performed in Dominican Republic
Beijing Xishan Institute for Neuroregeneration and Functional Recovery	Beijing, China	Spinal cord injury, ALS, and other neurological conditions	More than 1000 since 2001	20,000	Thousands more on waiting list
Institute for Regenerative Medicine	St. John, Barbados	More than 40	More than 50 since 2004	25,000	Treatment based on research in the former Soviet Union
<b>UMBILICAL CORD BLOOD CELLS</b>					
Biomark	Atlanta, U.S.A.	ALS, Parkinson's, muscular dystrophy, and others	At least 23 in 2003	10,000 to 32,000	No longer operative; founders wanted by FBI
Advanced Cell Therapeutics	Zurich, Switzerland	More than 80	More than 600 in 4 years	25,000	Treatments performed at 12 collaborating clinics worldwide
Preventive Medicine Center	Rotterdam, the Netherlands	More than 50, including neurological, digestive, and psychological disorders and aging	More than 200 in 2 years	23,000	Also treats patients referred by Advanced Cell Therapeutics

SOURCE: COMPANY AND CLINIC WEB SITES, INFORMATION PACKAGES, INTERVIEWS, ALSTOE, BIOMARK CRIMINAL INDICTMENT. NA=INFORMATION NOT AVAILABLE.

# El largo camino desde las células stem hasta los productos médicos

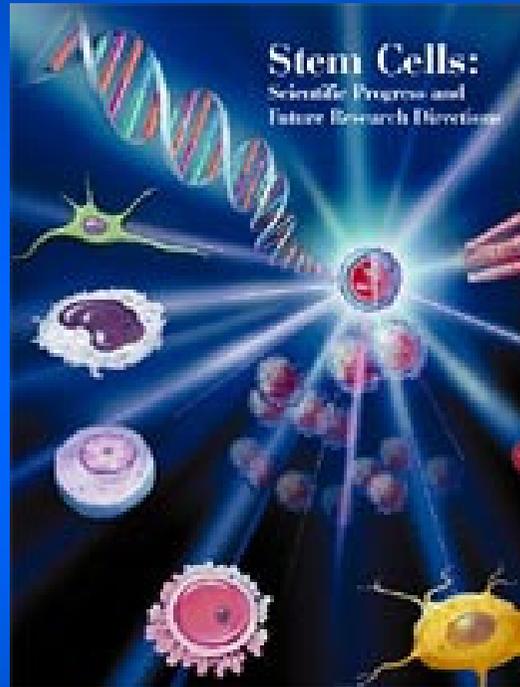
## The Long Journey from Stem Cells to Medical Product

There is much interest in developing stem cells and the cells derived from them as therapies for treating human disease and injury, but many biological, technological and regulatory hurdles have to be overcome before these cell therapies can be brought to commercial fruition.

Parson A. *Cell* 2006; 125: 9-11

Homeostasis y  
regeneración

Cáncer y terapias  
anticancerosas



Embriogénesis

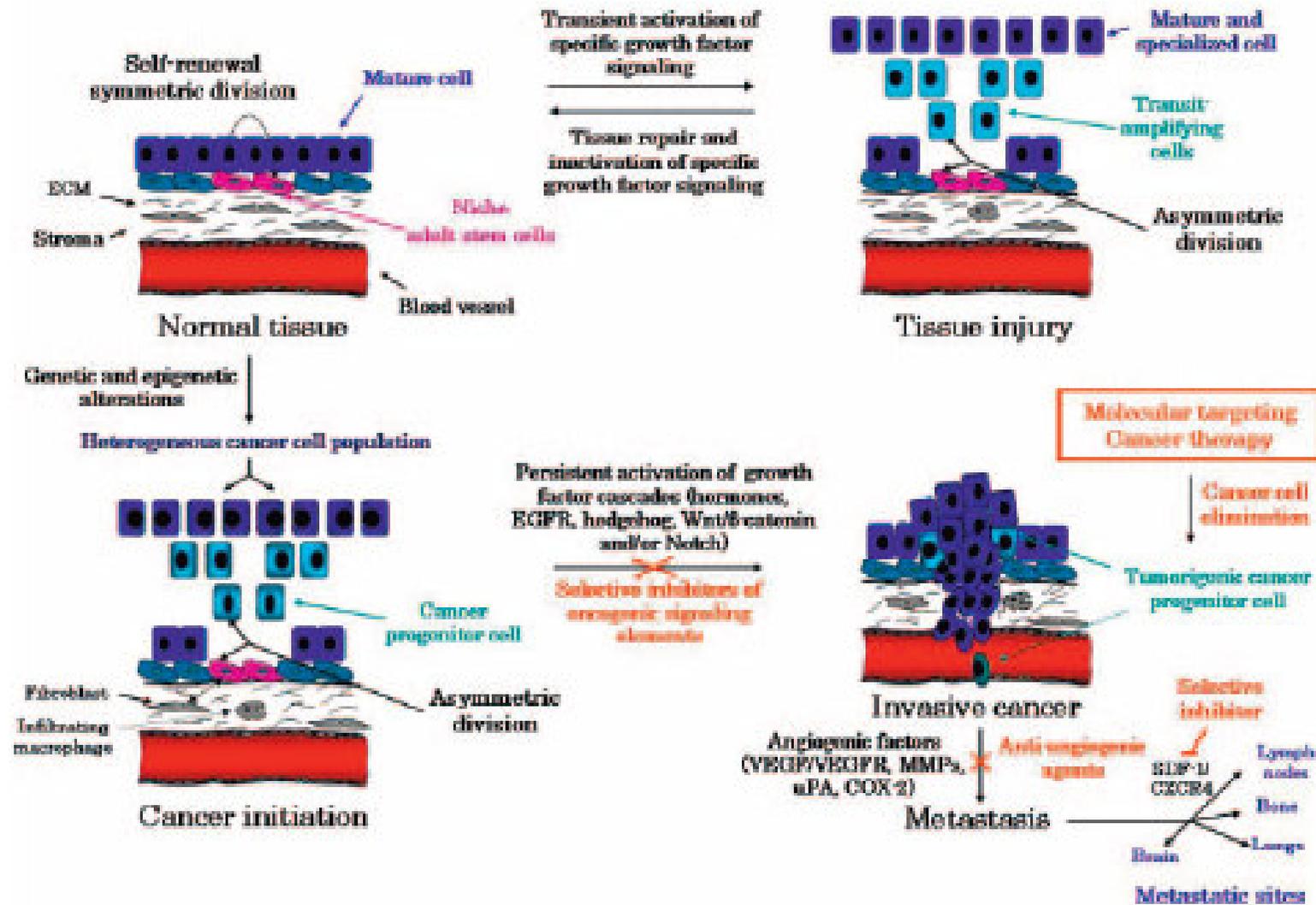
Terapias  
celulares

CÉLULAS STEM

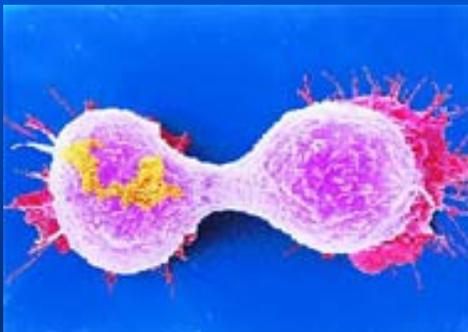
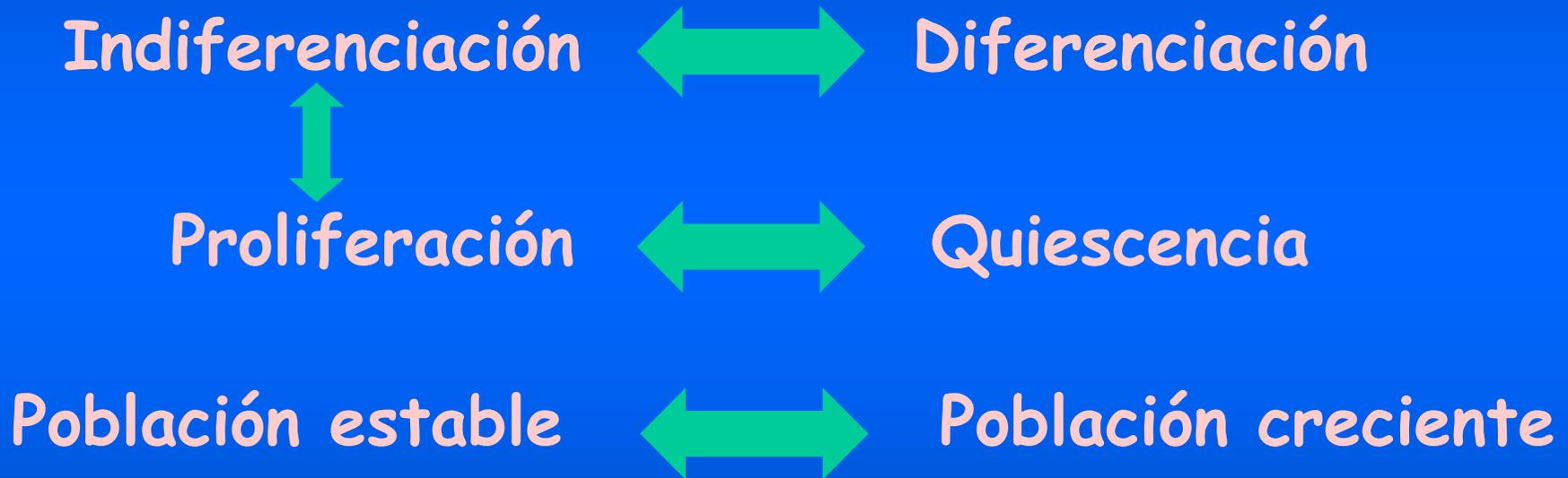
# CUÁL ES LA RELACIÓN ENTRE CÉLULAS STEM Y CÁNCER

Es un concepto aceptado que el cáncer es una enfermedad relacionada con las células stem. El entendimiento de las señales que controlan el mantenimiento de la condición de célula stem conducirá a un conocimiento más profundo de los mecanismos involucrados en el cáncer, y probablemente a nuevas terapias

# TISSUE REGENERATION AND CANCER PROGRESSION THROUGH ADULT STEM CELL PROGENITORS



# Qué características de las células stem están relacionadas con el cáncer



Nicho celular

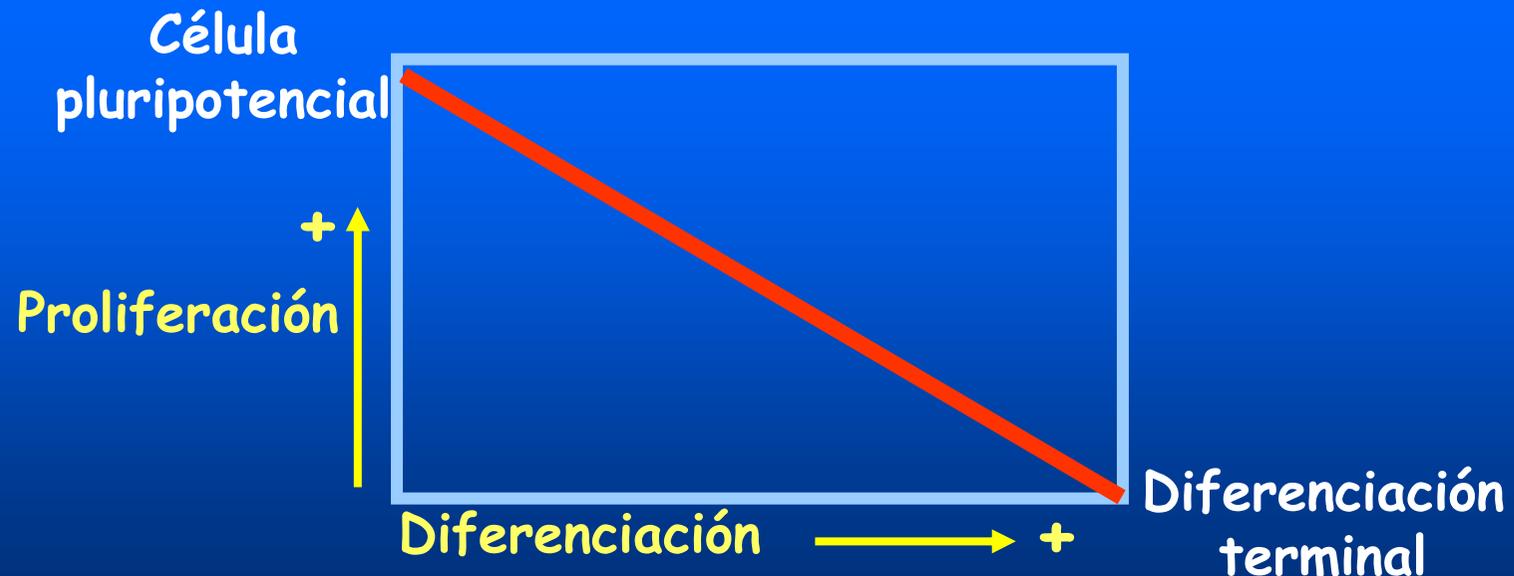
Plasticidad

# Diferenciación



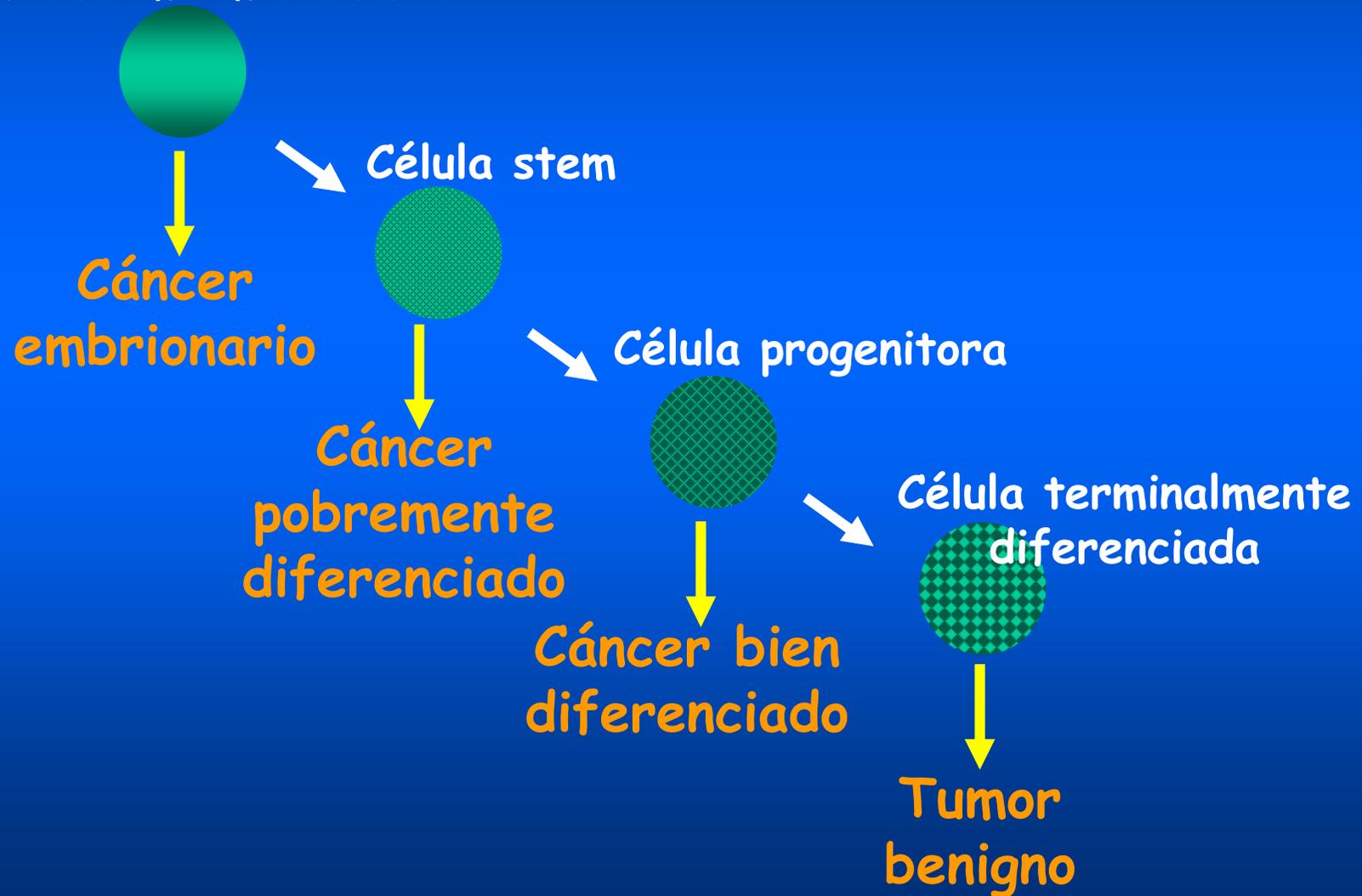
# Proliferación

## No son mutuamente excluyentes



# CÁNCER Y ESTADÍOS DE DIFERENCIACIÓN

Célula stem embrionaria

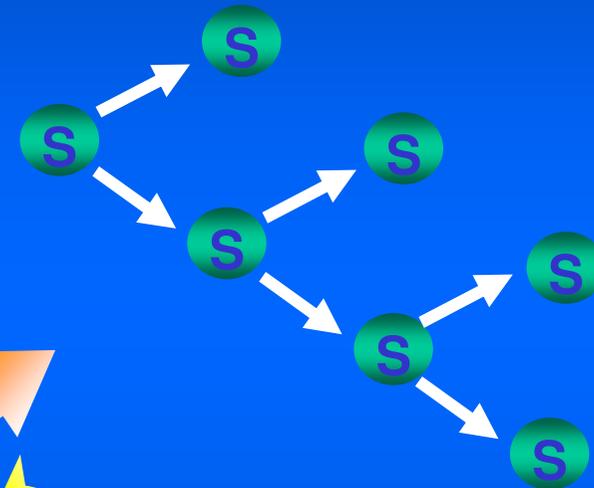
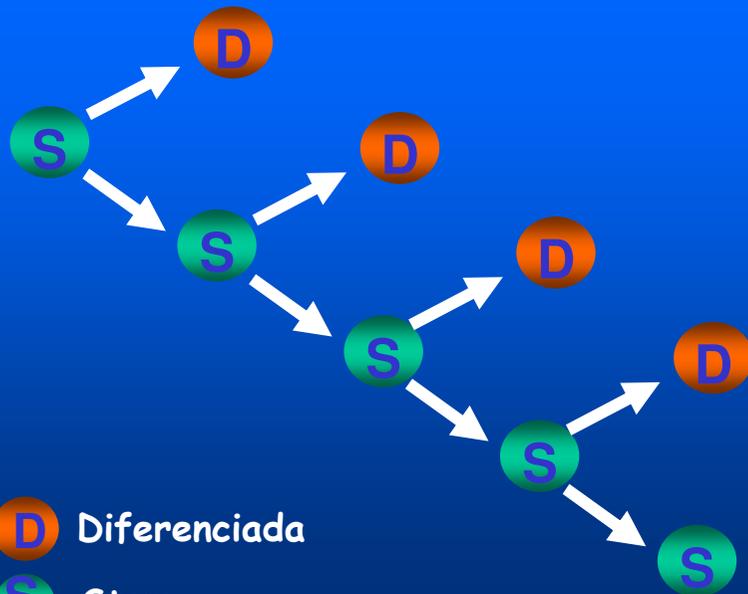


# CÓMO SE CONTROLA LA DIVISIÓN DE LAS CÉLULAS STEM

División simétrica

Señales de desarrollo

División asimétrica



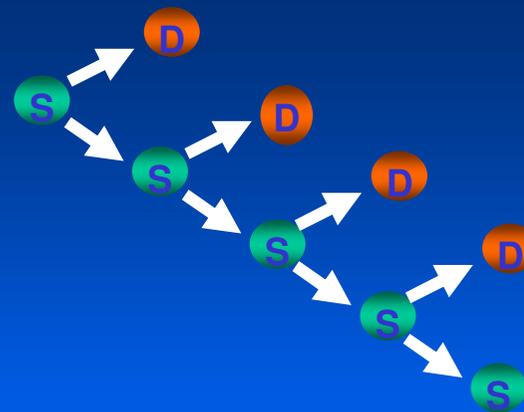
Señales ambientales

**D** Diferenciada  
**S** Stem

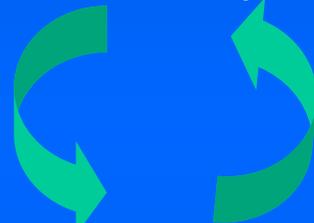
Condiciones estacionarias

Quiescencia

Homeostasis



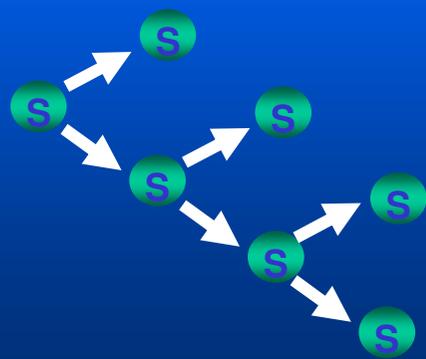
División asimétrica



Adulto

División simétrica

Embrión



CÁNCER

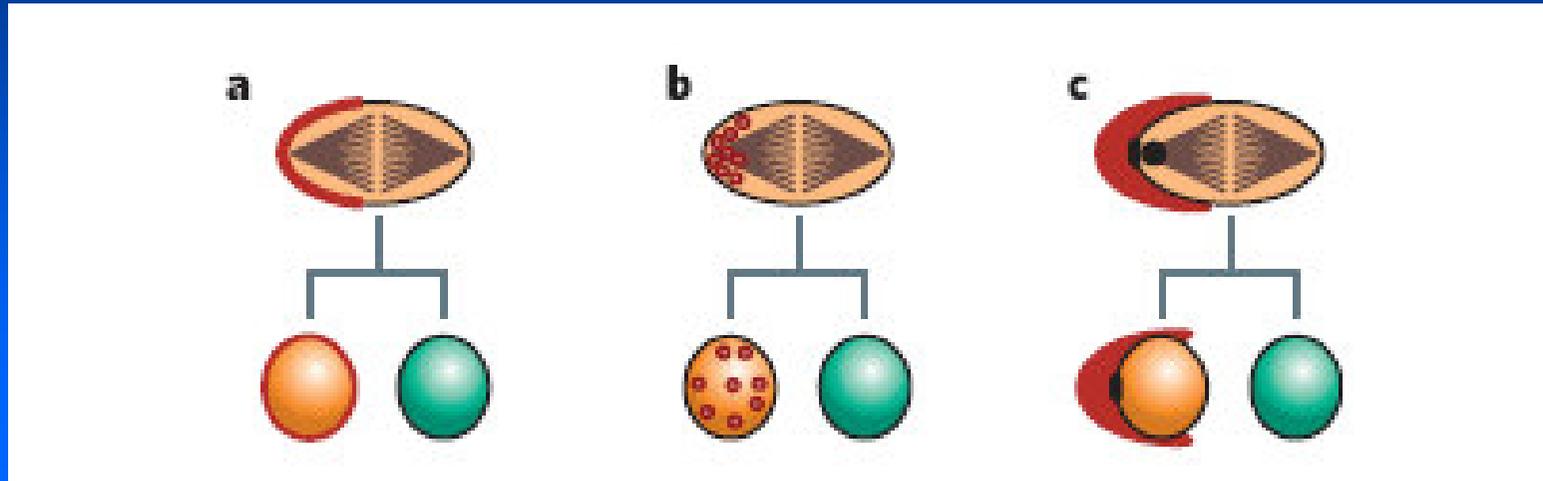
Injuria/enfermedad

Reparación

Alteraciones genéticas/epigenéticas



# CONTROL DE LA DIVISIÓN ASIMÉTRICA



A- Localización asimétrica de reguladores de la polaridad celular

B- Determinantes de la diferenciación segregados a una célula hija

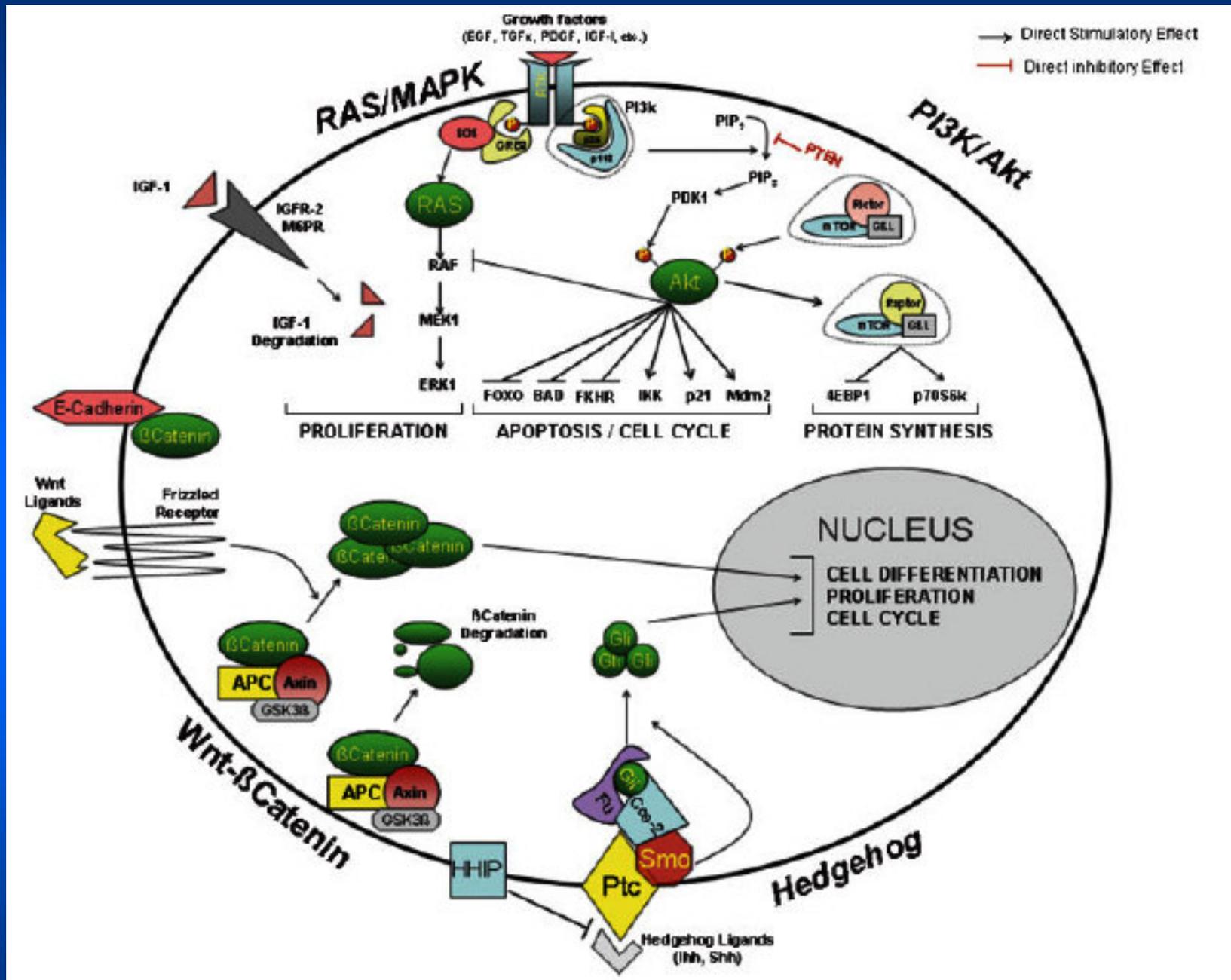
C- Sólo una célula hija recibe señal del nicho de célula stem

La maquinaria que promueve la división celular asimétrica tiene un rol importante en la supresión de tumores

# Cuál célula hija permanece como stem y cuál diferencia

Las señales de diferenciación/mantenimiento de la condición de stem está mediado por varios caminos de señalización

- ✓ Oct-4
- ✓ BMP
- ✓ HedgeHog
- ✓ Wnt/ $\beta$ -cateninas
- ✓ Notch
- ✓ Familia Janus
- ✓ miRNA (regulan G1→S)



# Cómo actúan estos factores

Los mismos factores que mantienen la condición de célula stem pueden actuar como oncogenes.

**Oct-4:** mantiene la totipotencialidad y la división simétrica. La pérdida de su expresión se asocia a diferenciación

**Wnt/ $\beta$ -catenina:** afecta la orientación de los cromosomas durante la mitosis. Mantiene el estado proliferativo en estadios tempranos de la diferenciación. Inhibe la apoptosis

Estos factores están activados en varios tipos de cáncer

# Cómo actúan estos factores

**BMP:** proteínas de la superfamilia de TGF- $\beta$ . Participan en la regulación de diferenciación, proliferación y apoptosis. Su disregulación está relacionada con la tumorigénesis. Su ausencia incrementa la progresión neoplásica (cáncer de colon y mama), su sobreexpresión confiere fenotipo invasivo en la progresión del cáncer

**HedgeHog:** está involucrado en la formación de hiperplasia y su progresión hacia la transformación neoplásica. Este camino de señalización podría ser un potencial target quemoprolifáctico para la carcinogénesis gástrica

Cell Signal 2007; ahead of print

Ann Surg Oncol 2007; ahead of print

Exp Cell Res 2007; 313: 1033

Biochem Biophys Res Comm 2007;357:1084

Br J Cancer 2007; ahead of print

Int J Cancer 2007; ahead of print

# Cómo actúan estos factores

**miRNA:** pequeñas moléculas de RNA, evolutivamente conservadas, que participan en la diferenciación, proliferación, apoptosis y mantenimiento de la condición de stem. Regulan negativamente la expresión génica a nivel post-transcripcional. Pueden actuar como oncogenes o genes supresores. Podrían ser útiles como marcadores diagnósticos

Eur J Cancer 2007; ahead of print  
J Cell Sci 2007; 120: 1833

# Hipoxia

Una disponibilidad disminuida de O<sub>2</sub> es una característica del desarrollo embrionario y también de tumores malignos

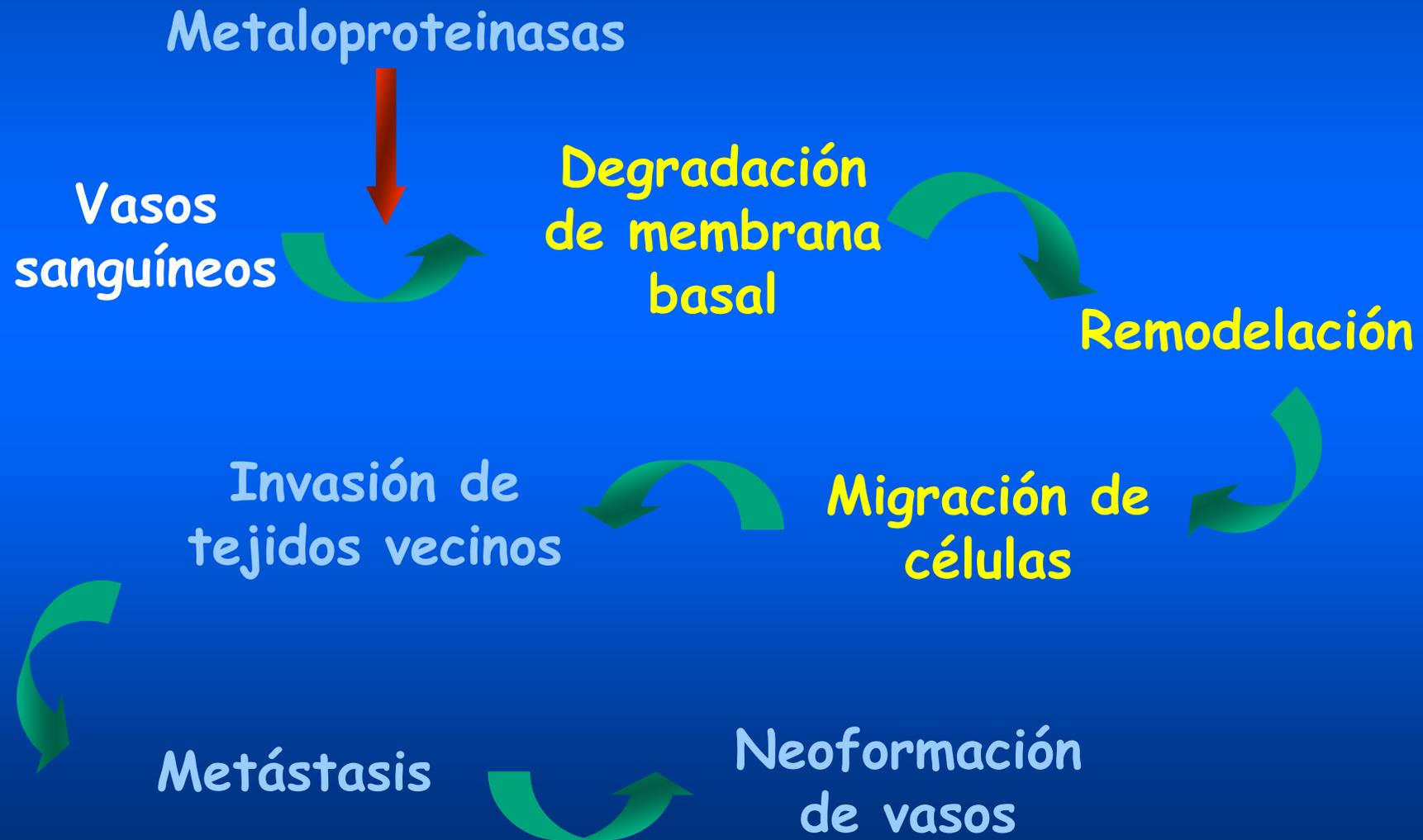
La hipoxia regula muchos factores de transcripción. Se producen cambios en la proliferación, angiogénesis, metástasis, invasión, dediferenciación y metabolismo energético de las células. HIF (factor inducible por hipoxia) está sobre-expresado en tumores sólidos

Clin Transl Oncol 2007; 9: 278

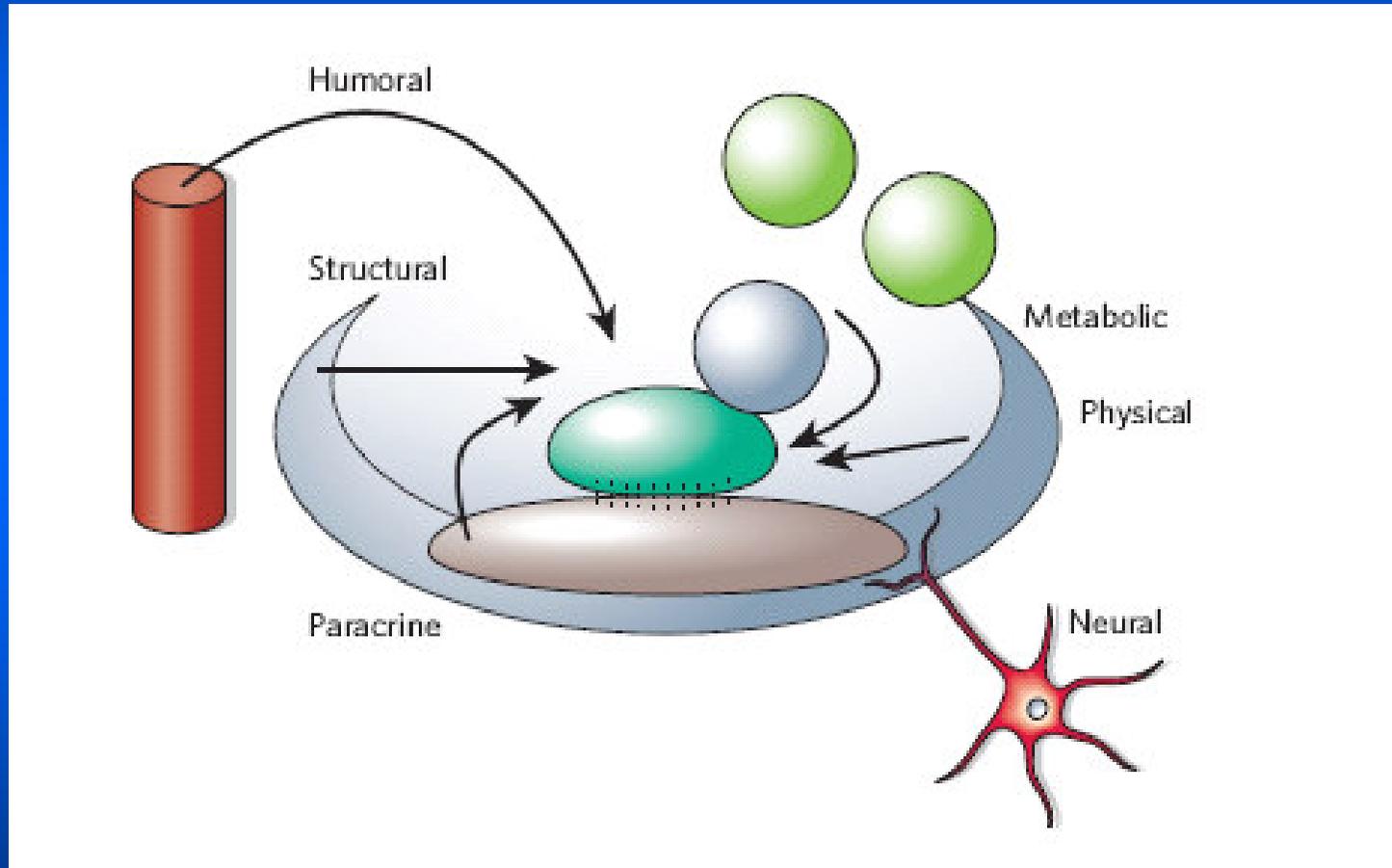
Cell Mol Life Sci 2007; ahead of print

# ANGIOGÉNESIS Y CÁNCER

Degradación de vasos sanguíneos  
Neoformación de vasos sanguíneos

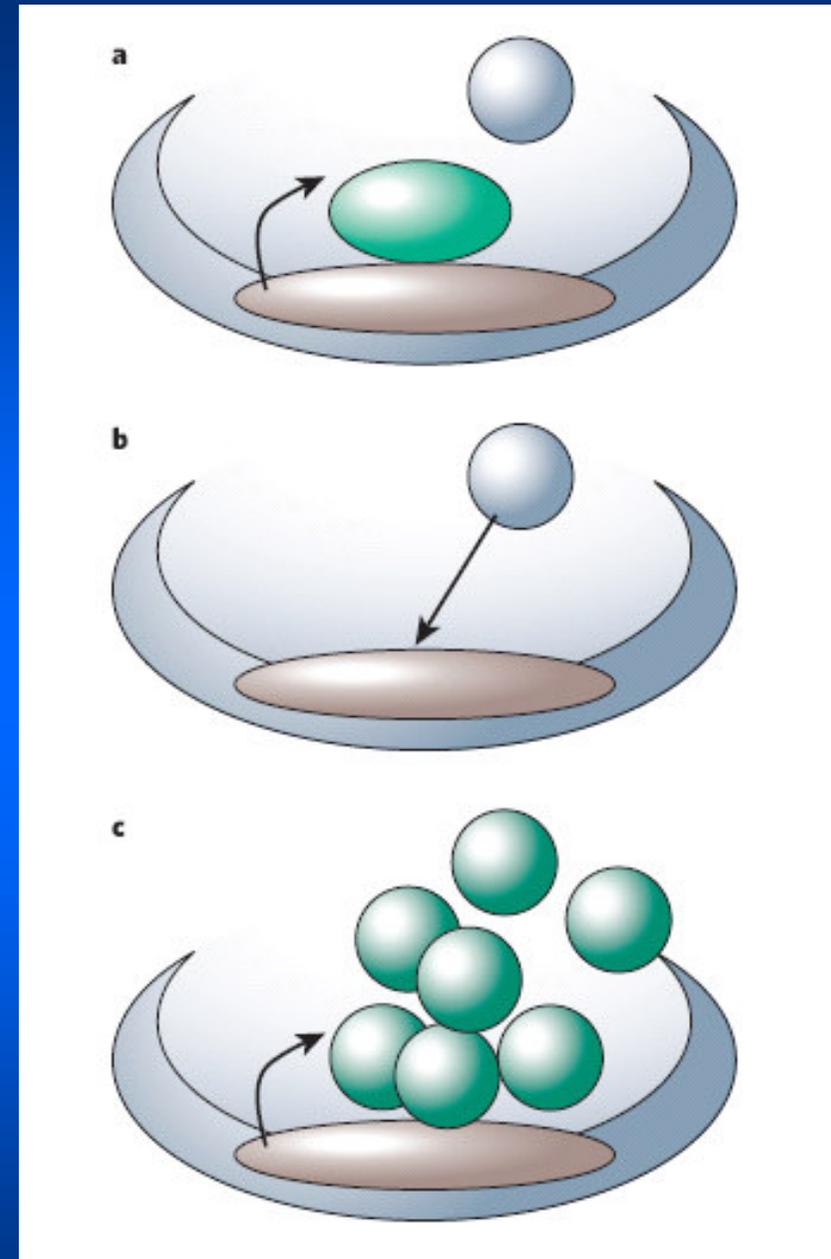


# El nicho de las células stem, sus interacciones y el cáncer



# Contribución del nicho de las células stem al desarrollo del cáncer

- a- Interacciones y ocupación normales del nicho
- b- Ausencia de la célula stem normal del nicho que resulta en ocupación ectópica por otra célula
- c- Señales del nicho que imponen señales proliferativas o de dediferenciación, contribuyendo a un estado de desorden de la organización y control del tejido



# TERAPIAS DE DIFERENCIACIÓN

El bloqueo de Oct-4 podría ser un enfoque para controlar el estadio de diferenciación

*Critical Rev in Oncology/Hematology 2004*

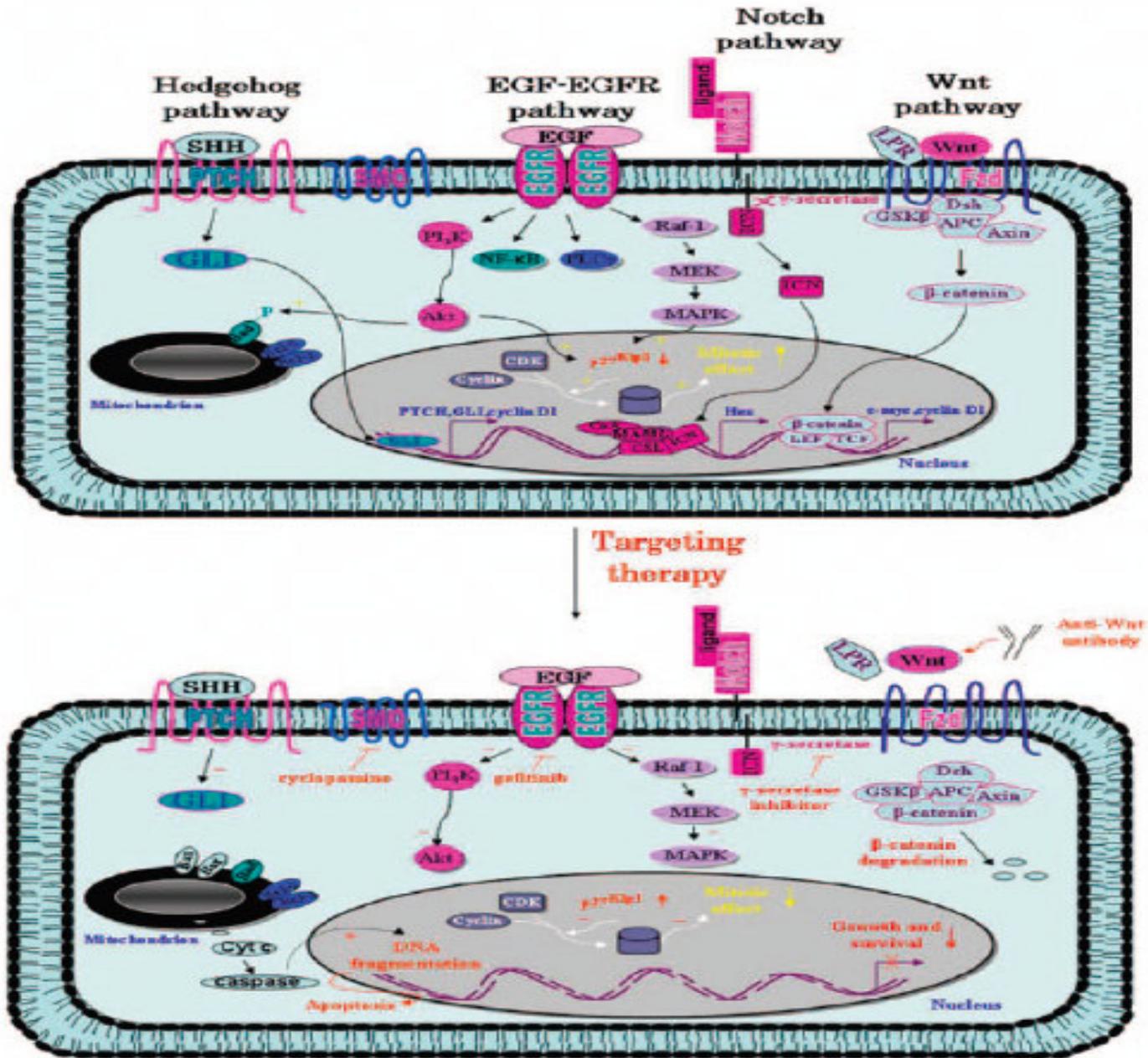
Los ácidos retinoicos producen rediferenciación o bien pueden prevenir la dediferenciación de varios tejidos neoplásicos. Activan receptores nucleares que up-regulan la expresión de genes de diferenciación.

*Critical Rev in Oncology/Hematology 2004*

Un derivado de la hidroxietil-urea promueve la diferenciación neuronal en neuroblastoma.

*Mol Pharmacol. 2006*

# TARGETING DISTINCT ONCOGENIC PATHWAYS IN CANCER CELLS



La autorrenovación de las células stem, la proliferación de las células cancerosas, y probablemente también el envejecimiento, son regulados coordinadamente por redes comunes que balancean la activación de proto-oncogenes y genes supresores de tumores

Un tema clave para el futuro es entender las señales que reciben las células stem para regular su división asimétrica/simétrica, y para diferenciar o mantenerse como célula stem.

El profundo entendimiento de estas regulaciones a nivel molecular es relevante tanto para conocer la biología básica de las células stem, como para el control de las mismas con perspectivas terapéuticas



**Muchas gracias**