

**CÈL·LULES MARE,
ESTRELLES DEL FUTUR**

*A tots aquells que, amb els seus estudis i amb
els que encara queden per fer, faran possible
el guariment de malalties avui incurables.*

Agraïments

Vull començar donant les gràcies a totes aquelles persones que amb el seu ajut i paciència m'han ajudat a realitzar el meu treball de recerca.

Primer de tot agrair a la meva mare per estar en tot moment al meu costat, llegint i rellegint el treball fins l'últim dia, i al meu cosí Pau per ajudar-me en els aspectes estètics.

Un agraïment molt sincer als qui m'han permès accedir al món de la investigació per tal de tenir l'oportunitat d'introduir al treball una part amena i variada, a més d'ampliar els meus coneixements sobre el tema i la realitat. Gràcies Angel Montero, Josep Roma i Antoni Bayés.

Per acabar, gràcies Josep Guàrdia per donar-me suport i escoltar-me dia a dia.

*Abans pensàvem que el nostre futur estava a les
estrelles. Ara sabem que està als nostres gens.*

James Watson

ÍNDIX

1. INTRODUCCIÓ	6
2. OBJECTIUS	8
3. BLOC TEÒRIC: LES CÈL·LULES MARE	9
3.1 La cèl·lula.....	9
3.2 Les cèl·lules mare	13
3.2.1 Tipus de cèl·lules mare segons el seu potencial de diferenciació.....	14
3.2.1.1 Cèl·lules totipotents	14
3.2.1.2 Cèl·lules pluripotents	15
3.2.1.3 Cèl·lules multipotents.....	17
3.2.2 Tipus de cèl·lules mare segons el teixit d'origen.....	19
3.2.2.1 Cèl·lules mare embrionàries	19
3.2.2.2 Cèl·lules mare adultes.....	20
3.2.2.3 Altres fonts de cèl·lules mare	29
3.2.3 Mètodes d'obtenció de les cèl·lules mare	32
3.2.3.1 Tècniques per obtenir cèl·lules mare embrionàries	33
3.2.3.2 Tècniques per aconseguir cèl·lules mare adultes	36
3.3 La diferenciació cel·lular.....	38
3.3.1 Models de diferenciació cel·lular.....	38
3.3.2 Mecanismes de diferenciació	43
3.4 Investigacions amb cèl·lules mare.....	46
3.4.1 Cèl·lules mare de teixits embrionaris	46
3.4.2 Cèl·lules mare de teixits adults	48
3.4.3 Cèl·lules iPS	50
3.5 Teràpia actual amb cèl·lules mare	53
3.5.1 Aplicacions en ús.....	53
3.5.2 Aplicacions en investigació	54
3.6 La clonació.....	55
3.6.1 Tipus de clonació	58
3.6.1.1 Clonació molecular	58
3.6.1.2 Clonació de cèl·lules, teixits i òrgans	61
3.6.1.3 Clonació d'organismes.....	61
3.7 Cèl·lules mare tumorals.....	63

3.7.1	El càncer	63
3.7.2	Introducció de les cèl·lules mare tumorals	64
3.7.3	Evidències de l'existència de les cèl·lules mare tumorals	65
3.7.4	La importància de les cèl·lules mare tumorals.....	67
3.7.5	Origen de les cèl·lules mare tumorals.....	68
3.7.6	Implicacions en el tractament del càncer.....	69
4.	BLOC PRÀCTIC: LÍNIES D'INVESTIGACIÓ ACTUAL A CATALUNYA	70
4.1	Objectius específics	70
4.2	Línies d'investigació actuals	71
4.2.1	Centre d'investigació de l'Hospital Sant Joan de Déu	71
4.2.1.1	Fundació Sant Joan de Déu	71
4.2.1.2	Càncer del desenvolupament.....	72
4.2.1.3	Línies de recerca	72
4.2.1.4	Línies d'investigació del neuroblastoma	77
4.2.1.5	Línia d'investigació del DIPG.....	78
4.2.1.6	Línia d'investigació del sarcoma d'Ewing.....	78
4.2.1.7	Visita a l'Hospital Sant Joan de Déu	78
4.2.1.8	Publicacions científiques	86
4.2.1.9	Futur de l'àrea	86
4.2.2	Institut de Recerca de l'Hospital Vall d'Hebron.....	88
4.2.2.1	Vall d'Hebron Institut de Recerca (VHIR)	88
4.2.2.2	Unitat de recerca biomèdica i oncologia translacional i pediàtrica	89
4.2.2.3	Línies de recerca	89
4.2.2.4	Laboratori d'investigació translacional de càncer pediàtric	92
4.2.2.5	Visita al VHIR.....	92
4.2.2.6	Publicacions científiques	95
4.2.2.7	Futur de l'àrea	95
4.2.3	Institut d'Investigació de Ciències de la Salut Germans Trias i Pujol	96
4.2.3.1	Institut del Cor de Germans Trias i Pujol.....	96
4.2.3.2	Instal·lacions i serveis	96
4.2.3.3	Grups d'investigació de l'iCor	97
4.2.3.4	Grup ICREC.....	98
4.2.3.5	Línies de recerca	99
4.2.3.6	Cèl·lules mare	106

4.2.3.7	Enginyeria de teixits	108
4.2.3.8	Miocardipaties	110
4.2.3.9	Visita al grup ICREC	111
4.2.3.10	Publicacions científiques	115
4.2.3.11	Futur de l'àrea	117
4.3	Publicacions científiques	118
4.3.1	L'organització i les publicacions científiques.....	118
4.3.2	Publicacions científiques destacades	119
4.4	Nobel per a les cèl·lules mare i la clonació.....	127
4.5	L'ètica i la investigació amb cèl·lules mare	130
4.5.1	Tres punts de vista.....	131
4.6	Entrevistes	133
	ENTREVISTA 1	134
	ENTREVISTA 2	136
	ENTREVISTA 3	138
5.	CONCLUSIONS.....	142
6.	FONTS UTILITZADES.....	145
6.1	Bibliografia	145
6.2	Webgrafia	146
7.	ANNEX.....	152

1. INTRODUCCIÓ

Abans pensàvem que el nostre futur estava a les estrelles. Ara sabem que està als nostres gens.

Al llarg de la història s'ha pensat que tot el que passa durant la vida d'una persona està determinat pel destí, que ha escollit Déu, i que dóna a tots l'oportunitat de ser recordats per la resta dels mortals en observar les nits estrellades i intentar endevinar quin punt lluminós representa els que ja han marxat.

Ara, però, se sap que tot aquest futur incert està escrit als gens. Això significa que cada persona té els nucleòtids ordenats d'una manera característica i única formant tota la cadena de DNA, i així determina les peculiaritats i les possibles opcions de desenvolupar malalties al llarg de la seva vida.

A més d'això, també es pot relacionar aquesta cita de James Watson amb una qüestió important i ètica relacionada amb cèl·lules mare. Com ja s'ha dit, que el futur estigui a les estrelles pot significar que el final de la vida és la mort, però si en un futur no tant llunyà es comencen a aplicar les teràpies amb cèl·lules mare, pràcticament es podrien guarir totes les malalties avui incurables, per tant la vida s'aniria allargant i es podria pensar que no moriríem mai ja que sempre existiria una teràpia que ens possibilitaria continuar vivint. Aquest tema és difícil de predir i difícil també d'imaginar, però cal tenir en compte totes les opcions abans que sigui massa tard.

Aquest treball de recerca pretén descriure amb detall les cèl·lules mare i les seves característiques pròpies, a més de fer una anàlisi dels possibles mètodes d'obtenció que s'utilitzen en l'actualitat. També diferencia les seves aplicacions que ja s'utilitzen com a tractament terapèutic de les que encara estan en fase d'estudi, i fa diferents prediccions del futur que tindran lloc dins la recerca científica.

S'ha escollit el tema de les cèl·lules mare perquè és un dels temes amb més renom dins la recerca científica del moment degut a les possibilitats que en un futur poden presentar, ja que no només serveixen per guarir un tipus de malalties, sinó que tenen aplicacions pràcticament a totes elles (càncers, infarts de miocardi, diabetis, lesions medul·lars, etc.). A més, hi havia un gran interès a entendre el seu funcionament i les

seves peculiaritats, ja que les mínimes diferències que presenten en comparació amb la resta de cèl·lules són les que les fan tant especials.

Els objectius que es volen assolir a partir d'aquesta recerca es poden resumir en, primer de tot, fer un recull teòric i estudiar-ne els aspectes principals a través de l'anàlisi de bibliografia científica i pàgines web. En segon lloc, visitar diversos equips d'investigació catalans per tal d'aprofundir en la seva recerca i conèixer la implicació personal dels investigadors a partir d'entrevistes. Per acabar, fer un estudi de publicacions científiques relacionades amb el tema i ponderar els aspectes ètics a favor i en contra d'aquesta investigació.

Així doncs, la metodologia emprada en la realització d'aquest treball es basa sobretot en consultes a pàgines web i articles científics, i en l'exposició de la informació obtinguda durant les visites a instituts de recerca i hospitals.

Per acabar, el treball s'estructura diferenciant dos blocs principals: el bloc teòric i el pràctic. Dins el bloc teòric hi ha diversos apartats on s'expliquen punts com la cèl·lula, les cèl·lules mare (característiques, classificació i mètodes d'obtenció), la diferenciació cel·lular, investigacions, teràpia actual, clonació i cèl·lules mare tumorals. En el cas del bloc pràctic, primer hi ha l'explicació de cada centre d'investigació i les seves línies de recerca, i en segon lloc les publicacions científiques, la notícia del premi Nobel de medicina, els aspectes ètics i les entrevistes realitzades. Per acabar, també hi ha un annex on s'hi recullen les publicacions científiques resumides en el bloc pràctic en la seva totalitat, tal i com es van publicar.

2. OBJECTIUS

Aquest treball de recerca fa una revisió bibliogràfica per tal de explicar què són les cèl·lules mare, el seu origen, els mètodes d'obtenció i la utilització mèdica que se'n fa. Amb aquesta cerca teòrica es vol donar a conèixer la importància que tenen i la que en un futur tindran aquestes cèl·lules dins de la recerca científica i en el guariment de malalties actualment incurables.

Els objectius es poden concretar en sis aspectes:

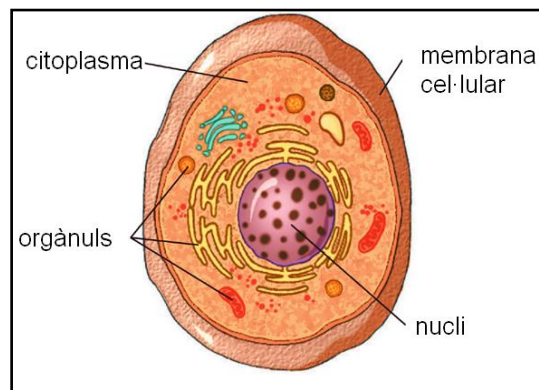
1. Fer un recull de la teoria bàsica sobre les cèl·lules mare i el seu ús científic i terapèutic.
2. Estudiar la utilització de les cèl·lules mare en la clonació de teixits i òrgans.
3. Exposar i aprofundir en la implicació de les cèl·lules mare en processos tumorals.
4. Presentar quines línies d'investigació es porten a terme actualment a Catalunya, a partir de visites a centres de recerca, hospitals i científics capdavanters.
5. Analitzar les publicacions científiques més destacades dels darrers anys relacionades amb cèl·lules mare i tumors.
6. Ponderar la influència dels aspectes ètics en l'estudi amb cèl·lules mare.

3. BLOC TEÒRIC: LES CÈL·LULES MARE

3.1 La cèl·lula

Gràcies a la teoria cel·lular que van enunciar Matthias J.Schleiden i Theodor Schwann el segle XIX, entenem com a cèl·lula aquella unitat que forma part de tots els éssers vius, des dels més simples fins als éssers pluricel·lulars superiors més complexos, i que és la unitat estructural i funcional de tots ells. Així doncs, les diverses formes de vida i les seves funcions vitals s'expliquen a través dels fenòmens fisicoquímics que succeeixen a l'interior de les cèl·lules, tenint en compte que cada una d'elles prové de la divisió cel·lular d'una d'anterior.

Tota cèl·lula es caracteritza per la seva estructura, és a dir, per com emmagatzema el material hereditari, pel conjunt d'òrgans que té en el seu citoplasma i per la seva membrana cel·lular, de manera que segons el tipus de cèl·lula, aquesta podrà formar un organisme unicel·lular, o bé s'agruparà formant estructures superiors i acabarà formant un organisme pluricel·lular.



1. Parts d'una cèl·lula

En el cas dels organismes pluricel·lulars complexos, la cèl·lules s'agrupen formant estructures organitzades en diversos nivells, que s'ordenen de la següent manera:

1. Cèl·lula: mínima unitat estructural i funcional que forma part d'un ésser viu.
2. Teixit: conjunt de cèl·lules que tenen característiques i funcions similars i que comparteixen un mateix origen.

3. Òrgan: conjunt de teixits units i coordinats per tal de dur a terme una funció específica.
4. Sistema: resultat de la unió de diversos òrgans, els quals funcionen de manera coordinada per tal de dur a terme un rol determinat.
5. Organisme: ésser viu format per un conjunt de sistemes, que treballen conjuntament.

Com ja he dit abans, les cèl·lules tenen una estructura definida, i aquesta es diferencia sobretot en tres parts: la membrana plasmàtica, el citoplasma i el nucli.

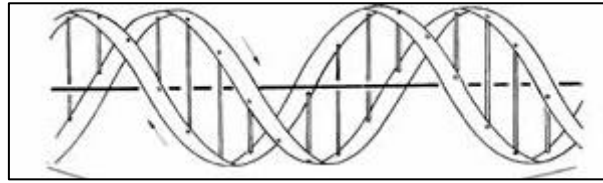
- La membrana cel·lular o plasmàtica és un embolcall semipermeable que rodeja tota la cèl·lula de manera que regula el pas de substàncies que hi entren i en surten, i que a més la protegeix de l'exterior. La seva composició depèn del tipus que sigui, però les substàncies principals que la formen són dues d'orgàniques: les proteïnes i els lípids, sobretot fosfolípids formant una bicapa lipídica.
- El citoplasma és l'espai que hi ha entre la membrana cel·lular i el nucli. A l'interior d'aquest espai hi trobem compartiments envoltats per membranes dobles o senzilles que anomenem orgànuls citoplasmàtics. Aquest tipus d'organització en compartiments permet que totes aquelles substàncies que participen en processos metabòlics es concentrin en un lloc determinat, l'orgànul, i que augmenti l'eficàcia d'aquests processos. La resta d'espai que hi ha entre els orgànuls és el que anomenem citosol, i està constituït majoritàriament per aigua i una gran varietat de substàncies com proteïnes, aminoàcids, glúcids, etc.



2. Orgànul citoplasmàtic: mitocondri

- El nucli és un espai limitat per una doble membrana anomenada embolcall nuclear o carioteca, on s'hi troba la major part del material genètic hereditari de

la cèl·lula si aquesta és una cèl·lula eucariota. Si es tracta d'una cèl·lula procariota, no hi ha cap nucli definit sinó que el material genètic es troba al citoplasma.



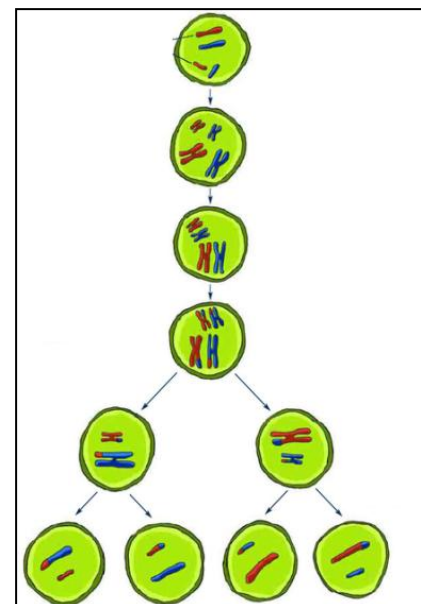
3.Fragment de cadena de DNA

El material genètic hereditari és molt important per la cèl·lula ja que conté la informació necessària per fabricar les proteïnes. Aquesta informació és interpretada segons la seqüència dels seus aminoàcids, que són els compostos que formen la doble cadena de DNA (àcid desoxiribonucleic).

Quan una cèl·lula es divideix per mitosi per tal de produir cèl·lules filles idèntiques a ella i poder renovar teixits o fer altres funcions, el que fa és duplicar el seu DNA per després repartir-lo equitativament entre les dues filles. Així, cada una té una còpia exacta del DNA que tenia la cèl·lula inicial.

Quan es tracta de la reproducció de l'organisme, centrant-nos en el cas dels éssers humans, el que es fa és una divisió diferent que s'anomena meiosi.

Cal tenir en compte que per a la formació d'un nou individu es requereix la unió de dues cèl·lules especialitzades, que són el que anomenem cèl·lules reproductores o gàmetes. Aquesta unió farà que el material que porta cada una d'aquestes cèl·lules s'uneixi. Si s'unissin dues cèl·lules amb la mateixa quantitat de DNA que la quantitat que té una cèl·lula somàtica de l'organisme, cada vegada que es produís la unió l'organisme resultant tindria el doble de material genètic que els seus progenitors, i la reproducció no seria factible.



4.Esquema de la divisió meiótica

És per això que per fabricar els gàmetes la cèl·lula precursora d'aquests no es divideix per mitosi sinó per meiosi. La meiosi dona com a resultat quatre cèl·lules filles amb la

meitat de cromosomes que la cèl·lula inicial, i així quan els gàmetes s'uneixen, la cèl·lula que formen, anomenada cèl·lula ou o zigot, torna a tenir el nombre de cromosomes característic de l'espècie.

cèl·lules somàtiques : $2n$
gàmetes: n
zigot (gàmeta + gàmeta): $2n$

En l'espècie humana:
 $n=23$ cromosomes
 $2n = 46$ cromosomes

3.2 Les cèl·lules mare

Les cèl·lules mare són unes cèl·lules especials que es diferencien de les somàtiques i de les reproductores no per tenir diferències estructurals, sinó perquè estan dotades simultàniament de dues qualitats que les altres no tenen: la potencialitat i la diferenciació.

La potencialitat, que pot ser de diferents tipus segons de quin tipus de cèl·lula mare estiguem parlant, és la capacitat pròpia d'una cèl·lula immadura o indiferenciada, la qual pot autorrenovar-se i convertir-se en qualsevol estirp cel·lular.

D'altra banda, la diferenciació és la qualitat que presenten aquestes cèl·lules per poder adquirir una especialització dins un tipus cel·lular concret. A l'adquirir aquesta especialització la cèl·lula perd de forma total o parcial la seva potencialitat, i per tant perd la capacitat de convertir-se en un altre tipus cel·lular concret.

Això explica el perquè es diu que són dos conceptes inversos, ja que com més potencialitat té una cèl·lula, menys diferenciada és, i al revés.

Aquest tipus de cèl·lules es poden classificar de tres maneres diferents:

- a) Segons el seu potencial de diferenciació en cèl·lules totipotencials, pluripotencials, multipotencials i unipotencials
- b) Segons el teixit d'origen en cèl·lules mare embrionàries o adultes

Un altre concepte a tenir en compte és el del fenomen de la plasticitat. Quan es diu que les cèl·lules mare presenten plasticitat significa que tenen la capacitat de generar grups cel·lulars diferents als del teixit d'origen on pertanyen. Per entendre millor aquest concepte cal conèixer els diferents models de diferenciació cel·lular que conduiran a aquestes cèl·lules, els quals van des del model convencional (cèl·lula mare-cèl·lula filla) fins a processos de transdiferenciació, dediferenciació i rediferenciació cel·lular.

3.2.1 Tipus de cèl·lules mare segons el seu potencial de diferenciació

Tal com ja hem mencionat anteriorment, un cop produïda la fecundació s'obté una cèl·lula anomenada zigot que serà la que donarà lloc al nou individu. El DNA que conté aquesta cèl·lula és la unió del DNA que portaven els dos gàmetes, i aquesta suma forma tot el DNA que tindrà l'individu embrionari. Aquest DNA no anirà variant ni patint modificacions, sinó que serà essencialment idèntic al que tindrà aquest mateix individu quan sigui un adult.

La diferència es troba en què el volum i la informació que es pot llegir i expressar en el DNA embrionari és molt major.

3.2.1.1 Cèl·lules totipotents

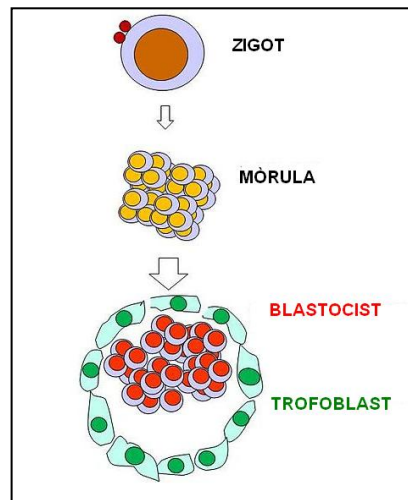
Durant els moments posteriors a la fecundació, l'embrió unicel·lular, que està format per una única cèl·lula, conté dins el seu nucli tota la informació genètica d'un nou ésser humà, la qual és diferent a la dels seus progenitors per diversos motius (recombinació genètica durant la meiosi, unió dels gàmetes a l'atzar...).

En aquest moment aquesta cèl·lula es pot considerar un ésser unicel·lular, el qual té la capacitat de desenvolupar tot un individu humà. Això és possible gràcies a que el DNA d'aquesta cèl·lula és totalment llegible, és a dir, com que no presenta plegaments, tota la informació genètica es pot expressar.

El terme "totipotencial" prové del llatí *totus* que significa complert, i fa referència al potencial que tenen aquestes cèl·lules de generar un embrió complert, tant el teixit embrionari com l'extraembrionari (trofoblast).

El zigot, totipotencial, després de passar per la fase de mòrula on totes les cèl·lules són iguals, es diferencia en cèl·lules internes (blastocist) i cèl·lules externes (trofoblast). Les cèl·lules mare embrionàries que formen el blastocist en aquest moment es diferencien cap als diferents teixits que donaran lloc a l'embrió complert mentre que les capes més exteriors, els trofoblastos, es diferencien cap a teixits extraembrionaris com és la placenta. El trofoblast per si sol sense presència del blastocist és incapaç de

desenvolupar embrions. És necessària la presència de cèl·lules mare embrionàries al seu interior per poder obtenir un embrió.



5. Esquema del procés de divisió del zigot

Un cop han passat 24 hores després de la seva formació, aquesta cèl·lula es comença a dividir i durant els seus primers estadis (primeres divisions cel·lulars) el DNA del zigot continua mantenint-se sense plegaments. Això explica que durant les primeres divisions l'embrió, que és una esfera compacta anomenada mòrula, està compost per un seguit de cèl·lules totipotents, les quals són capaces de donar lloc a un nou individu complet per separat.

3.2.1.2 Cèl·lules pluripotents

Pocs dies més tard comença una primera especialització, de manera que passa a formar-se el blastocist, el qual té una capa superficial que donarà lloc al trofoblast, d'on derivarà la placenta i una cavitat plena de fluid on hi trobem la massa cel·lular interna (m.c.i). És aquí on comencem a parlar de pluripotencialitat.



6. 1-Zigot 2-mòrula 3-blastocist

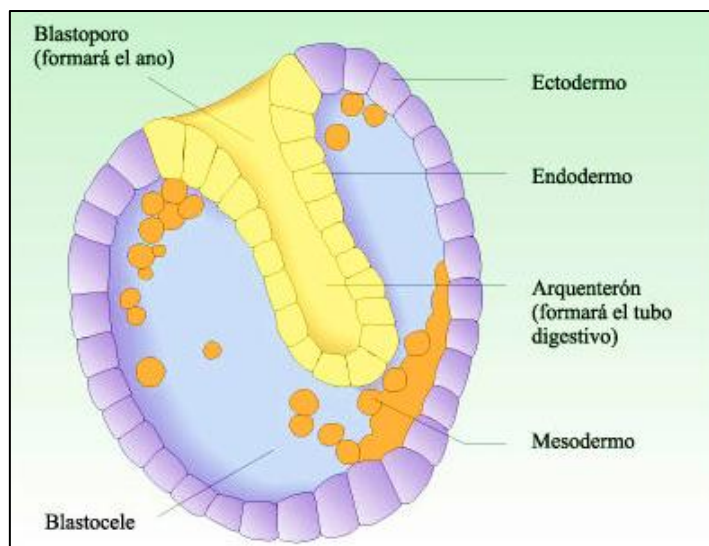
A mesura que l'embrió segueix el seu desenvolupament i es van succeint més divisions cel·lulars, les cèl·lules embrionàries que formen el blastocist es van diferenciant cap a unes funcions i cap a uns estirps cel·lulars determinats. Aquesta diferenciació és possible gràcies als plegaments que es van formant en el DNA d'aquestes cèl·lules, ja que deixen illegibles part dels gens que abans sí que es podien llegir. Aquests gens que a partir del plegament ja no es podran expressar són el que la cèl·lula en qüestió no necessitarà per la funció que durà a terme.

Així doncs, si extraguéssim artificialment les cèl·lules de la m.c.i d'un embrió en fase de blastocist (7-14 dies post fecundació) i les cultivéssim cadascuna per separat, no podrien donar lloc a un embrió complet, sinó a estirps cel·lulars determinats pels gens que en aquest moment es poguessin llegir en cada una d'elles.

Això explica el perquè es diu que les cèl·lules mare embrionàries van perdent la seva capacitat de donar lloc a tots els diversos teixits a mesura que comencen a diferenciar-se cap a un teixit o cap a un altre.

En aquest estadi les cèl·lules de l'embrió s'anomenen stem cell embrionàries o cèl·lules pluripotencials i són les encarregades de multiplicar-se a una gran velocitat, per tal de donar lloc a les diferents parts i òrgans del nou individu. A mesura que van proliferant, es van diversificant cap a un òrgan o cap a un altre i es produeix l'especialització. El procés d'especialització és el que fa una cèl·lula quan passa a tenir una ubicació i una funció concreta dins l'òrgan on es troba.

El terme "pluripotencial" prové del llatí *plures* que significa diversos, i és utilitzat per descriure aquelles cèl·lules mare que poden donar origen a progenitors que formaran qualsevol de les tres capes germinals embrionàries: mesoderma, endoderma i ectoderma.



7. Esquema de les capes embrionàries

És important destacar que perquè una cèl·lula mare es pugui considerar pluripotent ha de complir unes condicions: en primer lloc una única cèl·lula ha de ser capaç de diferenciar-se a progenitors especialitzats procedents de qualsevol capa embrionària; en segon lloc, s'ha de poder demostrar la funcionalitat *in vitro* (al laboratori) i *in vivo* (en un model animal) de les cèl·lules en les que s'ha diferenciat, i, finalment, que es produeixi un assentament clar i persistent d'aquestes en el teixit blanc, tant en presència com en absència de dany en els teixits on s'empelta.

Cal mencionar que aquestes cèl·lules no només són presents durant el desenvolupament embrionari, sinó que després del naixement i també la gran majoria de teixits adults conserven una quantitat petita i variable de cèl·lules pluripotencials capaces de multiplicar-se i així proporcionar cèl·lules amb l'objectiu de renovar i reparar els teixits on es troben quan és necessari.

3.2.1.3 Cèl·lules multipotents

La multipotencialitat es defineix com la capacitat que té una cèl·lula per crear cèl·lules precursors relacionades només amb una de les tres capes embrionàries.

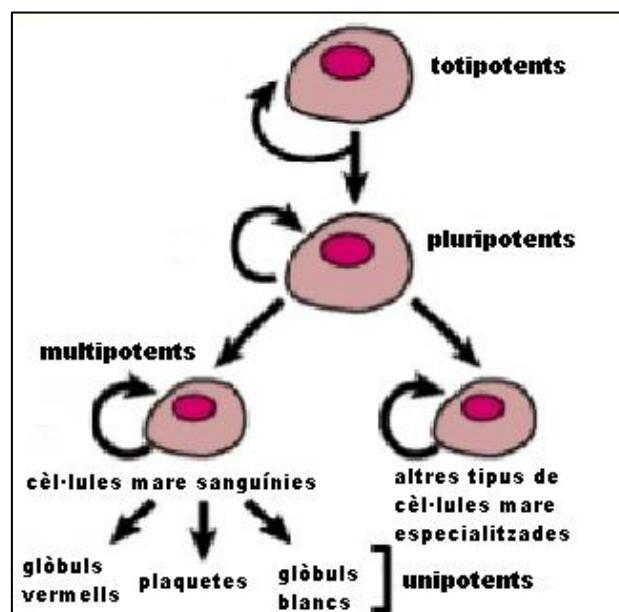
Aquestes cèl·lules multipotencials estan presents a la majoria dels òrgans d'un adult, on conviuen dins l'òrgan juntament amb la resta de cèl·lules diferenciades que realitzen les seves funcions. La funció exclusiva que tenen les multipotencials dins els òrgans o

teixits és normalment la de renovar les poblacions de cèl·lules a mida que aquestes van envellint.

Aquest tipus de cèl·lules també s'anomenen cèl·lules mare organo-específiques, i es troben en òrgans com el cor (on les cèl·lules mare cardíques són capaces de dividir-se donant lloc a cèl·lules de tres estirps diferents: cèl·lules musculars, endotelials de revestiment dels vasos del cor i conductores de l'impuls nerviós), la medul·la òssia, el cervell, el fetge, la pell, la retina...

També cal mencionar que totes aquelles cèl·lules que sí que es poden multiplicar però que únicament poden formar noves cèl·lules d'un tipus particular s'anomenen **cèl·lules unipotents**.

Les seves cèl·lules filles només es poden diferenciar al llarg d'una sola línia cel·lular, tal com indica l'etimologia de la paraula (del llatí *unus*, que significa un). Moltes de les cèl·lules mare que formen part d'un teixit específic que no ha patit cap tipus d'agressió són cèl·lules unipotents, i són les responsables de la fase fisiològica d'autorenovació tissular, on la quantitat de cèl·lules perdudes és igual al número de noves cèl·lules. Quan és el cas de teixits que han patit alguna lesió lleu, el tipus de cèl·lules mare que hi actuen ja no són les unipotents sinó les pluripotents, i en cas de lesions més greus cap d'aquestes hi pot actuar eficaçment de forma natural.



8. Esquema de la pèrdua progressiva de potencialitat de les cèl·lules mare

3.2.2 Tipus de cèl·lules mare segons el teixit d'origen

Si classifiquem les cèl·lules mare d'acord amb el teixit d'on es poden obtenir, aquestes poden procedir d'un embrió o d'un organisme adult. És per això que es parla de cèl·lules mare embrionàries (Embrionic stem o EScells) i cèl·lules mare adultes (Adult stem cells).

Cal tenir en compte que aquesta classificació es basa en l'origen d'aquestes cèl·lules i no pas en la seva potencialitat, de manera que trobarem dins el grup de les cèl·lules mare embrionàries diferents tipus de potencialitat, i en el cas de les cèl·lules adultes també.

3.2.2.1 Cèl·lules mare embrionàries

Les cèl·lules mare embrionàries es poden obtenir a partir de les primeres etapes de formació de l'embrió quan l'òvul fecundat està en fase de mòrula. En aquest moment aquestes cèl·lules mare embrionàries serien cèl·lules mare totipotents, ja que com hem vist anteriorment en aquesta fase les cèl·lules tenen la capacitat de proliferar indefinidament *in vitro*. Si aquestes cèl·lules provenen també de la m.c.i, però en estadi de blastocist, en aquest cas seran cèl·lules mare embrionàries pluripotencials.

Cal diferenciar les cèl·lules mare embrionàries germinals de la resta de cèl·lules mare embrionàries, les quals es poden anomenar cèl·lules mare somàtiques. Les cèl·lules mare somàtiques deriven del blastocist, a diferència de les germinals que deriven dels esbossos gonadals de l'embrió. Aquests esbossos gonadals es troben en una zona específica de l'embrió denominada cresta gonadal, que és la que donarà lloc als òvuls i als espermatozoides. Aquests dos tipus de cèl·lules són similars en molts aspectes; tots dos són capaços de replicar-se i dividir-se en cultius per llargs períodes de temps sense mostrar alteracions cromosòmiques i també expressen una sèrie de marcadors característics de progenitors totipotencials que faciliten la seva identificació. A més, tots dos tipus poden generar teratomes (tipus de tumors). Aquests tumors contenen una gran varietat de tipus cel·lulars que inclouen des de cèl·lules musculars, cartílag, os, epitelí, neuroectoderm primitiu, estructures ganglionars i epitelí glandular, és a dir, cèl·lules derivades de les tres capes embrionàries que té un embrió (endoderma,

mesoderma i ectoderma). Aquestes cèl·lules diferenciades del tumor mantenen la capacitat pluripotencial quan són mantingudes en condicions *in vitro*.

Un dels avantatges que presenta l'ús de cèl·lules mare embrionàries en investigació és la seva habilitat de proliferar indefinidament, ja que són capaces de generar una gran varietat de grups cel·lulars, cosa que permet que sota una condicions determinades puguin ser manipulades *in vitro* amb el fi de produir precursors d'un llinatge específic i contribuir així al tractament de malalties com la diabetis o el Parkinson. A més, poden ser utilitzades per estudis sobre malalties produïdes durant el desenvolupament embrionari i contribuir a identificar les seves bases genètiques. Tot i això, com que són cèl·lules molt indiferenciades poden formar neoplàsies com teratomes, i les implicacions ètiques generades per la seva utilització són un aspecte molt important a tenir en compte.

3.2.2.2 Cèl·lules mare adultes

A més de les cèl·lules mare embrionàries també s'han identificat cèl·lules mare adultes o organo-específiques, que es poden trobar a la majoria dels teixits d'un individu totalment desenvolupat com són la medul·la òssia, el sistema neuronal, el sistema gastrointestinal, el múscul esquelètic, el múscul cardíac, el fetge, el pàncrees i els pulmons.

Al principi es pensava que les cèl·lules mare adultes estaven predeterminades a diferenciar-se a un tipus cel·lular procedent del seu mateix teixit d'origen, o almenys de la seva mateixa capa embrionària. És per això que es consideraven cèl·lules multipotencials, i la seva funció era regenerar teixits que estaven continuadament desgastant-se com la pell o la sang, o bé teixits que havien patit algun dany. Ara, però, aquesta idea s'ha reevaluat per diferents grups d'investigació els estudis dels quals suggereixen que les cèl·lules mare adultes són capaces de diferenciar-se funcionalment a cèl·lules especialitzades procedents de capes embrionàries diferents a les del seu origen.

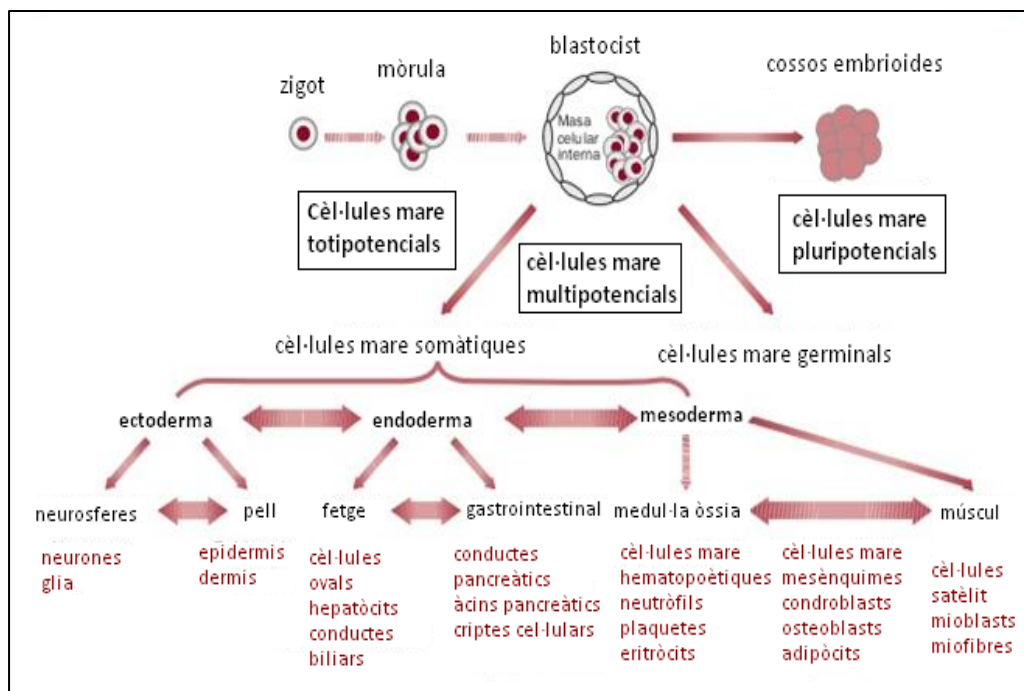
Aquesta habilitat de les cèl·lules mare adultes que estan estudiant tants grups d'investigació es fonamenta en la capacitat que tenen d'alterar dràsticament el seu

fenotip com a resposta de canvis del microambient on es troben, i actualment es coneix amb el nom de fenomen de plasticitat o fenomen de transdiferenciació.

Molts dels estudis que s'han fet o s'estan fent sobre aquest fenomen es realitzen amb cèl·lules procedents de la medul·la òssia, on s'han pogut observar canvis en el fenotip de les cèl·lules immadures sota unes condicions controlades que simulaven microambients diferents al medul·lar. A la medul·la òssia hi trobem diferents tipus de cèl·lules mare adultes. Les hematopoètiques, encarregades de la formació de la sang, i les mesènquimes, que poden diferenciar-se en nombrosos tipus de cèl·lules dels tres derivats embrionaris (musculars, vasculars, nervioses, hematopoètiques, òssies...).

Gràcies a les evidències obtingudes mitjançant aquestes estudis tant, *in vivo* com *in vitro*, s'ha pogut demostrar que les cèl·lules mare adultes originades en un teixit determinat tenen la capacitat de produir cèl·lules especialitzades amb una expressió fenotípica característica d'altres teixits quan aquestes s'han transferit a un microambient diferent de l'original.

Abans de descriure més detalladament les cèl·lules mare adultes que trobem a la majoria dels teixits del cos d'un individu, aquest esquema ens representa un model jeràrquic de les cèl·lules mare segons el seu potencial i com es van diferenciant:



9. Model jeràrquic de les cèl·lules mare segons la seva potencialitat

Ara sí, els teixits principals on trobem cèl·lules mare adultes són:

a) Cèl·lules mare de la medul·la òssia

S'han trobat concretament quatre tipus de cèl·lules mare en aquest teixit. Tenim les hematopoètiques (HSC), les mesènquimes (MSC), les anomenades *Side Population Cells* (SP) i les cèl·lules progenitores adultes multipotencials o MAPC.

- Cèl·lules mare hematopoètiques (HSC): Les HSC han estat identificades tant *in vitro* com *in vivo* per diversos laboratoris, i s'utilitzen clínicament des de fa més de 50 anys. Els transplants al·logènics (procedent d'un donant) de progenitors hematopoètics han demostrat definitivament que existeixen cèl·lules mare multipotencials hematopoètiques a la medul·la òssia i a la sang perifèrica. Molts dels estudis que s'han fet amb aquestes cèl·lules han intentat descobrir quins són els marcadors¹ característics d'aquestes. En general, l'absència d'expressió de marcadors de línia (Lin-), CD38-, c-kit^{lo}, Thy-1⁺ i l'expressió de CD34 s'ha associat a poblacions on abunden les HSC, tot i que no s'ha pogut identificar quins són els marcadors específics de la cèl·lula mare hematopoètica multipotencial.

Altres treballs fets recentment indiquen també que les HSC poden ser, en determinades circumstàncies, més potents del que es creia, és a dir, es poden diferenciar cap a teixits derivats de diferents capes embrionàries. Les cèl·lules mare de la medul·la òssia i de sang perifèrica són capaces de contribuir a la angiogènesi² i vasculogènesi³ *in vivo*, de tal manera que les cèl·lules CD34+ no només contenen progenitors hematopoètics sinó també cèl·lules progenitores endotelials. Això va portar a buscar un origen comú, i avui en dia hi ha força proves que existeix un progenitor comú endotelial i hematopoètic, l'anomenat hemangioblast. Tant les HSC com les cèl·lules mare endotelials són

¹ Els marcadors cel·lulars són antigens (proteïnes) que es troben a la superfície de totes les cèl·lules somàtiques del cos, però no són iguals a totes elles sinó que alguns són específics d'un tipus de cèl·lula.

² L'angiogènesi és el procés fisiològic que consisteix en la formació de vasos sanguinis nous a partir de vasos preexistents.

³ La vasculogènesi és la formació de nous vasos sanguinis quan no n'hi ha de preexistents.

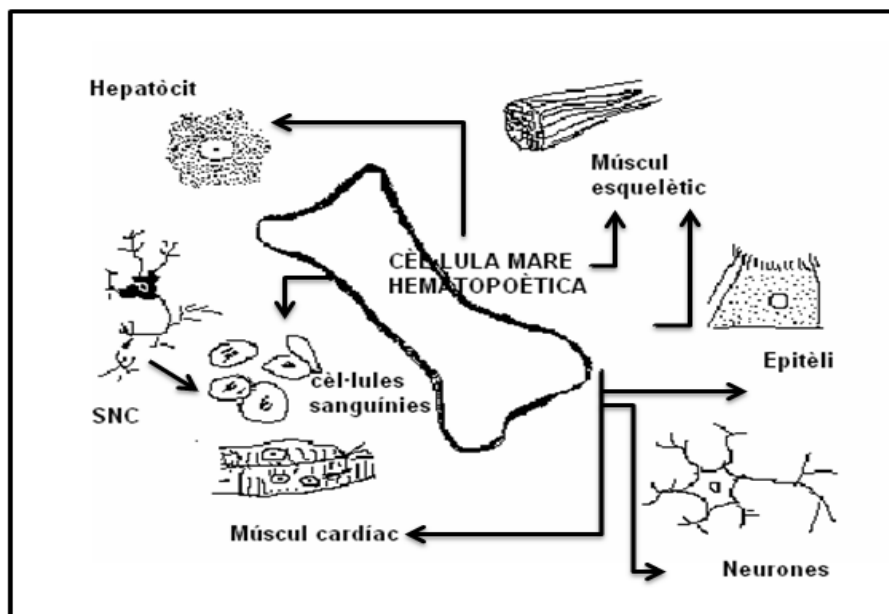
capaces, en models experimentals d'isquèmia⁴, de contribuir a regenerar les estructures vasculars danyades, gràcies a la seva capacitat de diferenciar-se a cèl·lules endotelials madures, afavorint l'angiogènesis i la vasculogènesis, com també contribueixen a reparar el miocardi danyat quan es produeix un model d'isquèmia cardíaca. Un dels aspectes que presenta més controvèrsia, fent referència a la potencialitat de les HSC, és la seva capacitat de diferenciar-se a cèl·lules musculars cardíques, però d'això ja en parlarem més endavant. Una altra de les potencialitats que se'ls ha atribuït és la capacitat de diferenciar-se en hepatòcits⁵. Basant-se en que les cèl·lules mare hepàtiques expressen uns marcadors de superfície tradicionalment associats a les HSC, es va suggerir que aquestes podrien diferenciar-se cap a cèl·lules ovals o hepatòcits.

A través de diverses investigacions s'ha demostrat que cèl·lules mare hematopoètiques de medul·la òssia amb uns fenotips característics són capaces de regenerar el fetge en un model de dany hepàtic fulminant⁶, mentre que utilitzant models de quimerismes en pacients sotmesos a transplantaments de medul·la òssia o de fetge i aprofitant la possibilitat d'utilitzar el cromosoma Y com a marcador de l'origen de la cèl·lula, també s'ha pogut demostrar que un percentatge d'hepatòcits prové de cèl·lules mare d'origen no hepàtic.

⁴ Una isquèmia és el sofriment cel·lular causat per la disminució transitòria o permanent del reg sanguini i, consegüentment, una disminució de l'aportació d'oxigen d'un teixit biològic.

⁵ Els hepatòcits són les cèl·lules que ocupen entre un 70 i un 80% de la massa citoplasmàtica del fetge, i que estan implicats en funcions com la síntesi de proteïnes, l'emmagatzematge de carbohidrats, la síntesi de colesterol...

⁶ També s'anomena dany hepàtic agut, i és causat per un traumatisme hepàtic greu o per la pèrdua massiva d'hepatòcits. Es caracteritza pel desenvolupament sobtat de disfunció hepàtica i icterícia. Pot arribar a presentar problemes cerebrals, a més d'altres complicacions.



10. Possibles diferències d'una cèl·lula mare hematopoètica

Tot i això, aquests aspectes encara no es poden donar com a certs ja que també existeixen nombroses investigacions els resultats de les quals no estan d'acord amb aquesta capacitat transdiferenciadora de les HSC cap a hepatòcits.

Per acabar ja amb aquest tipus, també s'han fet estudis per veure si tenen potencial per adquirir característiques de múscul esquelètic, neurones adultes, de contribuir en teixits com l'epiteli pulmonar, gastrointestinal, renal... Però, igual que en els altres casos, tot segueix en fase d'investigació.

- Cèl·lules mare mesènquimes (MSC): aquestes cèl·lules també s'anomenen cèl·lules mare estromals. En els últims anys s'han descrit diferents marcadors de superfície que han permès identificar i aïllar aquestes cèl·lules MSC, com són SH2, SH3, CD44, CD71, CD90 i CD106. Múltiples estudis tant *in vitro* com *in vivo* han descobert que les MSC són capaces de diferenciar-se a teixits mesodèrmics. Varis grups també van afirmar haver aconseguit diferenciar MSC a cèl·lules derivades del neuroectoderm, basant-se en l'adquisició de certs marcadors d'origen neuronal per part d'aquestes cèl·lules quan són sotmeses a sistemes de cultiu específics. Tot i això, no s'ha pogut demostrar que aquestes adquireixen característiques funcionals similars a les de les neurones o a les

cèl·lules de la glia⁷. Malgrat la seva multipotencialitat mesodèrmica i de la seva habilitat per diferenciar-se a neuroectoderm, aquestes no es diferencien a teixit derivat de l'endoderma i, per tant, no es poden considerar cèl·lules mare pluripotencials.

L'aplicació clínica que tenen aquestes cèl·lules actualment permet tractar diferents malalties, tant sigui amb teràpia regenerativa com en teràpia gènica.

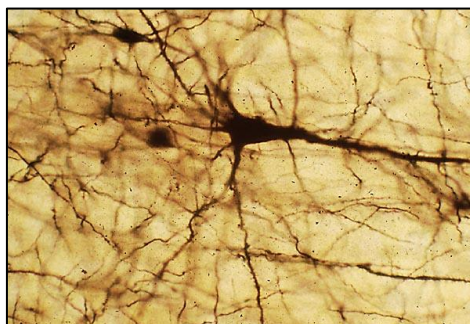
- Cèl·lules *Side Population* (SP): aquestes cèl·lules s'han pogut aïllar tant de la medul·la òssia com de teixit muscular. Se sap que les SP són capaces de diferenciar-se a HSC en humans, rosegadors i altres espècies. A més, alguns estudis descriuen que les SP podrien donar lloc a altres tipus de cèl·lules especialitzades i integrar-se a diferents teixits *in vivo*. Això es creu ja que el grup d'investigació de Jackson i Cols va demostrar, el 1999, que les SP podien diferenciar-se a cèl·lules amb característiques de múscul cardíac i endoteli en un model murí d'infart de miocardi.
- Cèl·lules adultes progenitores multipotencials (MAPC): aquestes cèl·lules es van descobrir més tard que les altres tres de la medul·la òssia, i s'han identificat com a autèntiques cèl·lules pluripotencials amb una capacitat diferenciadora molt similar a la de les cèl·lules mare embrionàries. Les MAPC han estat aïllades a partir de medul·la humana i també de ratolí. Són capaces de proliferar *in vitro* més de 120 divisions cel·lulars sense cap aspecte aparent d'envelliment. Igual que en les cèl·lules mare embrionàries, en aquestes es detecta l'activació dels factors de transcripció Oct-4 i Rex-1, factors que són necessaris per mantenir la cèl·lula en un estat proliferatiu i indiferenciat. *In vitro*, aquestes són capaces de diferenciar-se a teixits derivats del mesoderma, com per exemple en os, cartílag, adipòcits, múscul esquelètic, hepatòcits, neurones... no només fenotípicament sinó també funcionalment.

⁷ Les cèl·lules glials són, juntament amb les neurones, els dos tipus diferents de cèl·lules que formen el sistema nerviós. El conjunt de cèl·lules glials forma la neuròglia, i la funció d'aquestes cèl·lules és donar suport i protecció a les neurones, fent de cola d'unió entre les mateixes.

b) Altres teixits on trobem cèl·lules mare adultes

L'existència de cèl·lules mare als diferents teixits del cos com el sistema nerviós central, el fetge, el cor, la pell o els músculs no admet cap tipus de controvèrsia. La visió tradicional que es tenia del fet que els òrgans com el cor o el sistema nerviós no eren capaços de regenerar-se ja que les seves cèl·lules no tenien potencial de proliferar i diferenciar-se ha quedat obsoleta, de manera que cada vegada més es descriuen cèl·lules mare en diferents teixits i a més amb capacitat pluripotencial.

- Cèl·lules mare neurals: l'existència de cèl·lules mare neurals en el sistema nerviós central es va deduir a partir de l'observació de diferents regions del cervell murí, com són l'hipocamp i el bulb olfatori, on es va veure que s'hi produïen neurones madures al llarg de la vida de l'animal. Tot i això, no va ser fins els anys 90 quan es va poder demostrar la presència de cèl·lules mare neurals multipotencials en cultiu. Les cèl·lules mare neurals en cultiu formen estructures denominades neutrosferes, i representen un conjunt de cèl·lules heterogènies amb cèl·lules capaces d'autorenovar-se i de diferenciar-se tant a neurones madures com a astròcits i glia.

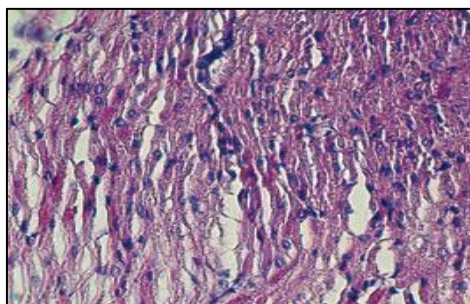


11. Teixit nerviós

Actualment se sap que les àrees neurogèniques fonamentals del cervell són la zona subventricular (SVZ), el bulb olfatori i l'hipocamp, i s'han identificat en el cervell humà les cèl·lules mare neurals com una subpoblació d'astròcits presents a la zona subventricular. Els estudis *in vivo* de models experimentals han demostrat que les cèl·lules mare neurals, quan són trasplantades a diferents regions del cervell, són capaces d'adoptar les característiques del nou microambient on es troben i integrar-se amb la resta de cèl·lules.

Com en molts altres casos, no s'ha pogut demostrar però sí que es creu que aquestes cèl·lules podrien tenir un major potencial del que inicialment s'esperava.

- Cèl·lules mare musculars: aquestes cèl·lules es coneixen com a cèl·lules satèl·lit, i quan es produeix un dany muscular són capaces de proliferar i diferenciar-se amb l'objectiu de reparar les fibres danyades. El seu potencial està limitat a aquesta funció de produir únicament noves fibres musculars però, igual que en la majoria de les altres, també es creu que en situacions experimentals concretes aquest potencial podria ser superior, de manera que podrien donar lloc a altre tipus de cèl·lules hematopoètiques.

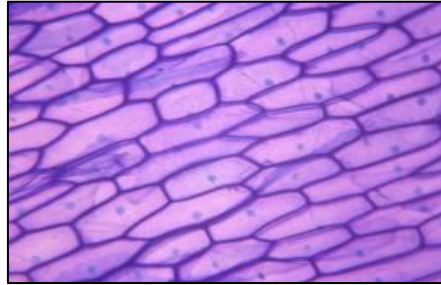


12. Teixit muscular

A més d'això, és possible identificar en el múscul esquelètic altres tipus de cèl·lules mare, gràcies a la seva capacitat d'adhesió i proliferació i que s'han denominat MDSC (*muscle derived stem cells*). La potencialitat d'aquestes cèl·lules derivades és molt superior a la de les satèl·lit, ja que poden mantenir-se en cultiu durant més de 60 divisions cel·lulars sense anomalies cromosòmiques i a més són capaces de diferenciar-se *in vitro* i *in vivo* a endoteli, múscul i també a cèl·lules de llinatge neuronal.

- Cèl·lules mare epidèrmiques: l'epidermis humana està constituïda per múltiples capes de queratinòcits. A la seva capa basal es localitzen dos tipus de queratinòcits amb capacitat proliferària: les cèl·lules mare epidèrmiques amb una capacitat proliferària il·limitada, i les cèl·lules amplificadores transitòries, també anomenades TAC, que tenen una capacitat proliferària més limitada.

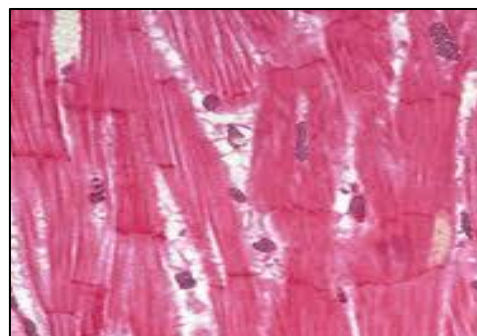
És possible identificar les cèl·lules mare epidèrmiques, i es coneixen amb força precisió els mecanismes que en regulen la proliferació i la diferenciació. Tot i això, el potencial està bastant restringit a produir cèl·lules epidèrmiques.



13. Teixit epidèrmic

Amb estudis que s'han fet tant en humans com en animals, s'ha vist que es poden aïllar cèl·lules mare de l'epidermis amb capacitat de diferenciar-se cap a cèl·lules especialitzades de dos capes embrionàries diferents. Aquestes es poden mantenir en cultiu durant més de dotze mesos sense diferenciar-se, i també poden ser induïdes a la diferenciació *in vitro* a neuroectoderm (neurones i cèl·lules de la glia), o a llinatges mesodèrmics (adipòcits i múscul llis).

- Cèl·lules mare cardíques: treballs recents suggereixen que és possible aïllar en el múscul cardíac cèl·lules mare multipotencials capaces de diferenciar-se *in vitro* i *in vivo* a qualsevol dels teixits necessaris per reconstituir un cor danyat, podent-se convertir doncs en endoteli, múscul llis o múscul cardíac.



14. Teixit cardíac

- Cèl·lules mare cornials: aquestes cèl·lules es troben a la zona de transició entre la còrnia i la escleròtica. Tenen totes les característiques de les cèl·lules mare, ja que posseeixen una gran capacitat de renovació, que es manté durant tota la

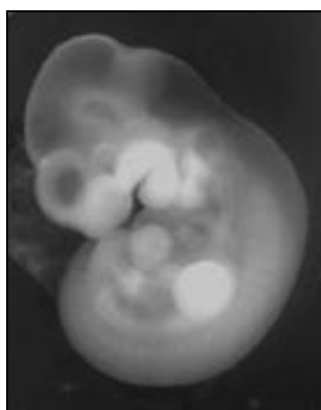
vida, i són capaces d'originar cèl·lules filles que poden patir un procés de diferenciació terminal a cèl·lules especialitzades. Tot i això, no s'ha pogut demostrar que aquestes cèl·lules sigui pluripotents, ja que sembla que només donen lloc a cèl·lules de l'epiteli corneal i conjuntival. Actualment no s'ha trobat que existeixi un marcador biològic definitiu d'aquestes cèl·lules mare.

3.2.2.3 Altres fonts de cèl·lules mare

Tot i que quan es fa la classificació segons el teixit d'origen es diferencien dos grans grups (embrionàries i adultes), cal mencionar que també trobem cèl·lules mare a altres teixits:

a) Cèl·lules mare fetals

Tal com indica el nom, aquestes cèl·lules s'obtenen del fetus. Podríem interpretar que serien també dins el grup de les cèl·lules mare embrionàries, però en aquest cas ja no és un embrió sinó que ja han passat les 10 setmanes de gestació i, per tant, és un fetus. La majoria dels teixits que té el fetus contenen cèl·lules mare que impulsen un creixement ràpid i el desenvolupament dels òrgans. Igual que les cèl·lules mare adultes, les cèl·lules mare fetals són, en general, específiques del teixit i generen els tipus de cèl·lules específiques que es troben dins el teixit o òrgan determinat al qual es troben elles.



15. Fetus humà

b) Cèl·lules mare procedents de sang de cordó umbilical

Aquestes cèl·lules mare es consideren com a cèl·lules mare adultes, i es classificarien com hematopoètiques ja que creen cèl·lules de la sang i del sistema immunològic. En comparació amb les cèl·lules de la medul·la òssia, aquestes són molt més fàcils d'obtenir, però actuen amb menys rapidesa. Un avantatge que tenen és que no necessiten una compatibilitat del cent per cent amb el pacient, ja que són immunològicament immadures.

c) Cèl·lules mare del líquid amniòtic

Actualment s'ha pogut demostrar que el líquid amniòtic conté cèl·lules de teixits embrionaris i extraembrionaris diferenciades i no diferenciades derivades de les tres capes embrionàries. La tipologia i les característiques de les cèl·lules del líquid amniòtic varien segons el moment de la gestació i en funció de l'existència de possibles patologies fetals. Recentment, s'ha comprovat la presència de cèl·lules mare fetals mesènquimes amb potencial diferenciador cap a elements cel·lulars derivats de les tres capes embrionàries. La funcionalitat que podrien tenir aquestes cèl·lules per teràpia encara està en estudi, però pel que s'està estudiant en condicions *in vitro*, s'expandeixen fàcilment en cultiu, mantenen l'estabilitat genètica i es poden induir cap a la diferenciació. Un altre avantatge que tenen és que no presenten problemes ètics i que, a més, es poden conservar pel propi ús de la persona. Les principals aplicacions que podrien tenir són en enginyeria dels teixits i en teràpia cel·lular, sobretot pel tractament d'anomalies congènites en el període perinatal.

d) Cèl·lules iPS (induced pluripotent stem)

Les cèl·lules mare pluripotents induïdes són un tipus de cèl·lules mare pluripotencials derivades artificialment d'una cèl·lula diana que inicialment no era pluripotencial.

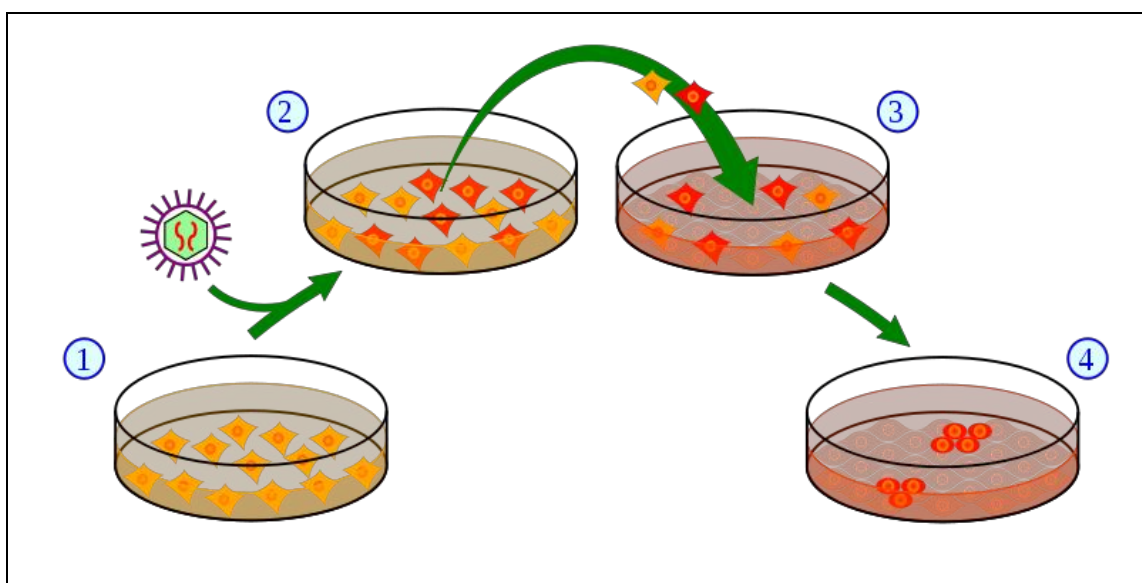
De forma general, s'utilitza com a diana una cèl·lula adulta diferenciada procedent d'un teixit, a la qual se li introdueix l'expressió de diversos gens exògens, com Oct4, Sox2, c-Myc y Klf4, la funció dels quals és desdiferenciar-la. Aquest procés de desdiferenciació s'anomena reprogramació. Un cop s'ha dut a terme aquest procés, aquestes cèl·lules iPS són capaces de diferenciar-se cap a cèl·lules de teixits pertanyents a les tres capes germinals d'un embrió natural, i de formar teratomes i quimerismes

(trastorn genètic la teoria del qual postula que dos zigots, després de la fecundació, es combinen entre ells formant-ne un de sol que desenvoluparà un organisme de forma normal).

S'ha demostrat que les cèl·lules iPS són idèntiques en molts aspectes a les cèl·lules mare embrionàries (ES), però que també presenten algunes diferències. Com a similituds, són iguals en morfologia, en l'expressió de diversos gens i proteïnes, en patrons de metilació del DNA, en el temps de duplicació cel·lular i en la capacitat de diferenciació a cèl·lules d'altres teixits. Tot i això, el mecanisme mitjançant el qual s'indueixen i la seva relació amb les cèl·lules ES està encara en investigació.

Les cèl·lules iPS es van obtenir per primera vegada l'any 2006 a partir de cèl·lules de ratolins, i el 2007 es va aconseguir a partir de cèl·lules humanes. Aquest descobriment es considera un dels avanços més importants de la investigació amb cèl·lules mare, ja que permet obtenir cèl·lules mare pluripotencials a partir de cèl·lules adultes. Les iPS tenen aplicacions com a models per estudis de malalties, possibles usos terapèutics (disminuint el rebuig en els transplants i sense la controvèrsia de l'ús d'embrions que tenen les ES) i en d'altres investigacions bàsiques. És per això que cal entrar més en detall en aquest tipus en concret:

El procés de reprogramació es fa de la següent manera:



16. Esquema del progrés de reprogramació de les cèl·lules iPS

1. S'aïllen i es cultiven les cèl·lules adultes que s'utilitzaran com a dianes.
2. Es fa la transferència de gens exògens provinents de cèl·lules mare a les cèl·lules diana mitjançant retrovirus. Això significa que a aquestes cèl·lules se'ls implanta un o més gens que prèviament no formaven part del seu ADN sinó que formaven part de l'ADN d'una cèl·lula mare. Perquè això sigui possible, cal utilitzar un vector, la funció del qual és facilitar el traspàs d'aquest gen exogen a la cèl·lula diana i desenvolupar el nou material genètic. Els vectors que existeixen es diferencien en dos grans grups, els virals i els no virals.

En el procés de reprogramació els vectors que s'utilitzen són del grup dels virals, concretament els retrovirus, que són una classe de virus el material genètic dels quals és una cadena senzilla d'ARN. Durant el seu cicle vital, transcriuen l'ARN a ADN gràcies a l'acció de l'enzim transcriptasa inversa, i s'integren en el genoma de la cèl·lula que han infectat i produeixen malalties i infeccions. Aquests virus s'utilitzen com a vectors, ja que tot i que la major part d'ells, a excepció del HIV, només es poden integrar en cèl·lules que tenen la capacitat de replicar-se i això en restringeix el seu us, es poden desenvolupar en grans quantitats i la seva expressió a la cèl·lula que estan hostejant es realitza durant llargs períodes de temps.

En aquest esquema, les cèl·lules de color vermell són cèl·lules diana a les quals ja se'ls ha transferit els retrovirus i ja expressen els gens exògens.

3. Es cultiven les cèl·lules transferides amb mètodes de cultiu de cèl·lules mare utilitzant cèl·lules inactivades com capes alimentadores (color gris).
4. Un subgrup petit d'aquestes cèl·lules transferides es transformen en cèl·lules mare pluripotencials induïdes (iPS), i des d'aquest moment es produeixen colònies de cèl·lules mare.

3.2.3 Mètodes d'obtenció de les cèl·lules mare

Com ja hem dit anteriorment, fins fa poc temps es creia que només existien dos tipus de cèl·lules mare: les cèl·lules mare embrionàries i les adultes que es formen en diferents teixits. Actualment, però, la teoria diu que es poden cultivar cèl·lules mare en un laboratori, utilitzant el material i les substàncies necessàries, i que a partir d'aquí es

poden obtenir cèl·lules del pàncrees, dels pulmons, de la sang o de qualsevol altre tipus de cèl·lula, per tal de curar malalties de diferents tipus.

Tot i això, la realitat indica que encara falta bastant temps i esforç per part de la investigació perquè aquesta potencial aplicació terapèutica sigui una realitat clínica.

Els mètodes que s'utilitzen per aconseguir cèl·lules mare embrionàries són diferents dels que s'utilitzen per obtenir-ne d'adultes. A més, no existeix un sol mètode per cada cas, sinó que n'hi ha varis, i a més cada vegada se n'estan descobrint més de nous.

De forma general, les embrionàries s'obtenen a partir del blastocist, i és per això que la seva obtenció i utilització presenta tants problemes ètics, ja que alguns dels mètodes impliquen la utilització total de les cèl·lules que el formen, i per tant destrueixen l'individu que s'hauria format. Tot i això, actualment existeixen tècniques que només n'utilitzen una part i per tant el blastocist pot continuar el seu desenvolupament i donar lloc a un nou individu.

3.2.3.1 Tècniques per obtenir cèl·lules mare embrionàries

Les tècniques per obtenir de forma directa cèl·lules mare embrionàries, com també nombroses tècniques basades en la reprogramació cel·lular, són:

a) Embrions crioconservats

La crioconservació és un mètode que utilitza nitrogen líquid ($-196\text{ }^{\circ}\text{C}$) per parar totes les funcions cel·lulars i així poder-les conservar durant anys.

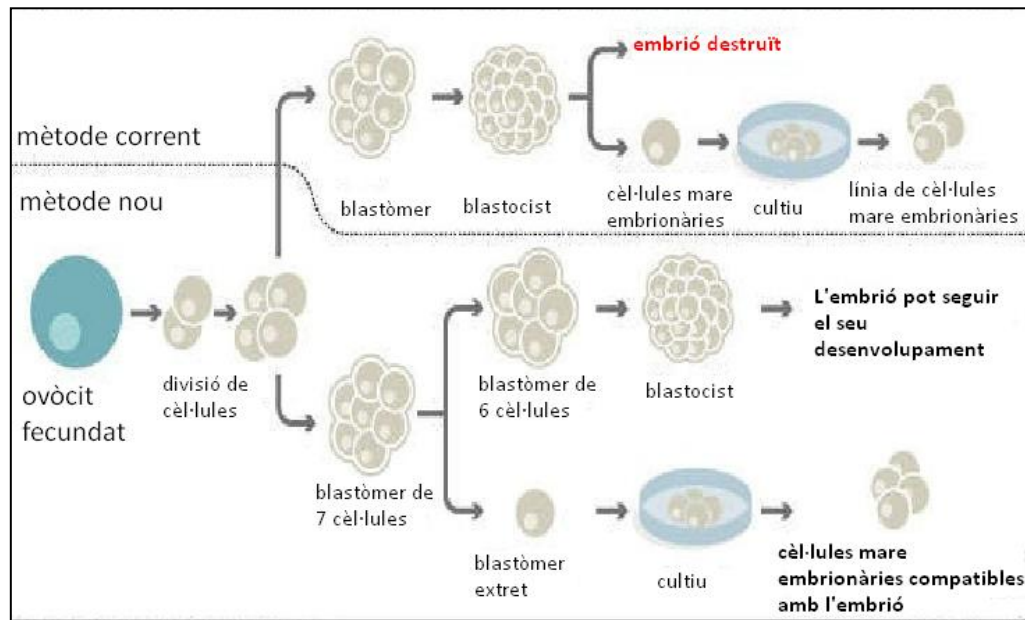
Aquests embrions procedeixen de tractaments de reproducció humana assistida, ja que quan se'n fecunden més dels necessaris, el que sobren poden ser donats a altres pacients que es sotmetin a tractaments com aquest.

En aquest cas, els embrions crioconservats en fase de blastocist es poden conservar durant un màxim de cinc anys, segons reglamenta el R.D.413/1996.

b) Blastòmers individuals

Amb aquesta tècnica, provada primer en ratolins i després en humans, s'aconsegueix no destruir l'embrió. El que es fa és utilitzar òvuls fecundats que es deixen créixer fins

que tenen de 8 a 10 cèl·lules. Llavors una d'aquestes cèl·lules s'extreu i es cultiva de forma aïllada, mentre la resta continua el seu desenvolupament i per tant pot originar perfectament un nou individu.



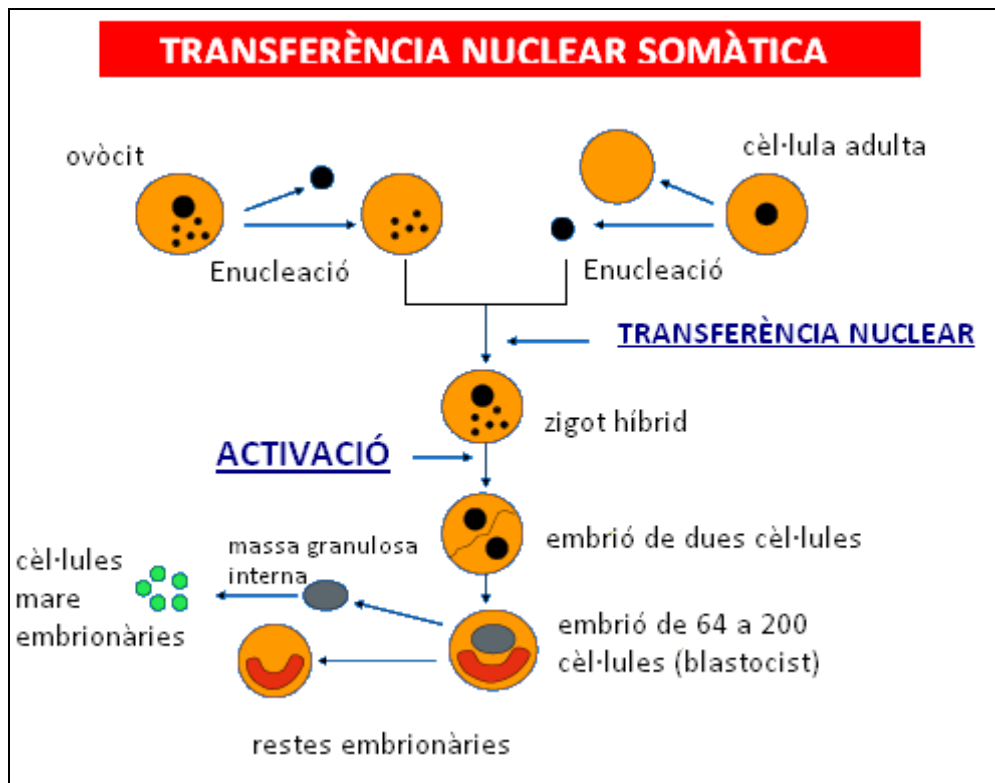
17. Diferències entre el mètode corrent i l'extracció de blastòmers individuals

Així doncs, aquesta tècnica ha aconseguit obtenir dues línies cel·lulars estables que mostren un cariotip normal i que presenten marcadors característics de pluripotencialitat. Tal com ja hem dit, l'embrió que s'obté del conjunt de cèl·lules un cop se n'ha extret una és completament viable, la qual cosa indica que es pot implantar en un úter i seguir el desenvolupament normal.

c) Activació d'ovòcits per transferència nuclear somàtica

Aquesta tècnica consisteix a extreure el nucli d'un òvul no fertilitzat i substituir-lo pel nucli d'una cèl·lula somàtica adulta. Un cop s'ha fet aquesta transferència, com que el nucli adult es troba en un ambient propici, que és el citoplasma de l'òvul, aquest és capaç de reprogramar-se.

Un avantatge que presenta aquesta tècnica és que les cèl·lules mare que s'obtenen tenen la mateixa dotació genètica que el pacient i que, consegüentment, no hi ha problemes de rebuig.

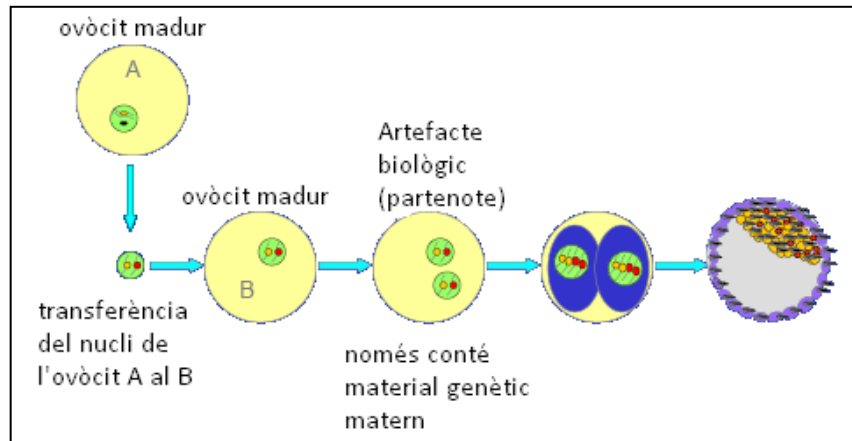


18. Esquema de la transferència nuclear somàtica

De moment només s'ha practicat en animals, ja que el problema que hi ha és que les mutacions produïdes en l'ADN d'aquestes cèl·lules adultes fa que es produeixin problemes durant la desdiferenciació.

d) Partenogènesis

Aquest procés reproductiu no el fan els mamífers, però sí que pot ser induïda en mamífers mitjançant mètodes químics o físics *in vitro*. Com a resultat d'aquesta activació, s'obté una massa cel·lular denominada partenot, d'on es poden aïllar cèl·lules pluripotencials. Aquesta tècnica només pot ser aplicada en dones.



19. Transferint el nucli d'un ovòcit madur A, a un altre ovòcit B, es construeix una cèl·lula diploide que conté dos conjunts de cromosomes, tots dos d'origen matern. Els partenots es divideixen i es desenvolupen com embrions normals, però moren aproximadament 12 dies després de la implantació.

3.2.3.2 Tècniques per aconseguir cèl·lules mare adultes

D'altra banda, existeixen nombroses tècniques que permeten aconseguir cèl·lules mare adultes. Primer de tot, un cop acabat el part, la placenta i el cordó umbilical són una font molt important de cèl·lules mare multipotencials, que últimament s'està utilitzant molt.

Després ja passem a l'obtenció de cèl·lules mare a partir de l'individu adult. En aquest cas tenim principalment dues tècniques:

a) Extracció de cèl·lules mare adultes

Es basa en l'extracció directament del pacient de cèl·lules mare que té en algun dels teixits com pot ser la medul·la òssia, el teixit muscular, el fetge... Un cop feta l'extracció aquestes s'aïllen en el laboratori i segons l'ús que se n'hagi de fer, es realitza un cultiu o no. Finalment s'injecten directament a la zona de l'òrgan en concret que es necessiti reparar.

b) Cèl·lules reprogramades

En aquest cas s'utilitza una cèl·lula somàtica adulta (actualment s'ha aconseguit amb cèl·lules de la pell). Mitjançant uns gens reguladors de la transcripció, s'obtenen cultius de cèl·lules mare pluripotents induïdes (iPS). La funció d'aquests gens és promoure la desdiferenciació de les cèl·lules. Per tal que aquests actuïn i puguin entrar dins l'ADN cel·lular, les cèl·lules que s'han extret prèviament s'infecten amb un virus fabricat amb només aquests gens, que solen ser quatre.

Actualment s'han presentat dos dissenys de virus alternatius, cada un d'ells format per quatre gens. Dos d'aquests gens són iguals en els dos dissenys, però la resta no.

Aquestes cèl·lules són cultivades al laboratori per desenvolupar qualsevol teixit humà. En aquest cas els teixits obtinguts contenen la mateixa informació genètica que el donant, cosa que fa que no hi pugui haver problemes de rebuig després de l'autotrasplantament.

3.3 La diferenciació cel·lular

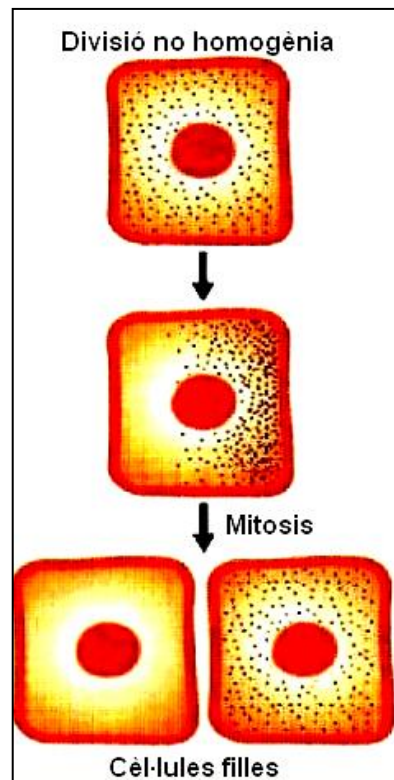
La diferenciació cel·lular és el procés pel qual una cèl·lula canvia la seva estructura per tal de poder realitzar una funció específica. Les cèl·lules ben diferenciades són cèl·lules madures, completament relacionades, que poden complir la seva funció particular. Cada tipus cel·lular té característiques, funcions i temps de vida específics, tot i que tots s'han diferenciat de la mateixa cèl·lula original que és el zigot.

3.3.1 Models de diferenciació cel·lular

Es creu que durant el desenvolupament embrionari primer s'estableix un esquema que defineix les principals regions del cos (cap, tronc...) i després es produeix una diferenciació a cèl·lules de l'embrió, produint-se una gran varietat de fenotips cel·lulars amb formes i estructures especialitzades en diferents funcions. La definició del pla corporal i la diferenciació cel·lular es porta a terme gràcies a l'expressió de diferents gens com a resultat d'un complex programa de desenvolupament.

Les cèl·lules embrionàries són capaces de transformar les seves característiques estructurals i funcionals quan reben la presència d'uns estímuls determinats, i això fa que es converteixin en cèl·lules especialitzades i que per tant perdin completament o parcialment el seu potencial inicial. Aquest procés s'anomena determinació.

Els factors determinants de la diferenciació cel·lular són unes molècules conegudes com a determinants citoplasmàtics localitzats. Tot aquest procés ja comença en el zigot, ja que els orgànuls i les molècules que conté no estan distribuïts de forma homogènia. Això fa que, quan el zigot comença a dividir-se, les cèl·lules que genera tinguin diferent composició citoplasmàtica. Aquest fet contribueix a una primera etapa per la formació de cèl·lules diferents:



20. Les cèl·lules filles del zigot no són idèntiques. Aquestes diferències citoplasmàtiques (blastòmers), determinen diferents patrons d'expressió gènica. Cada cèl·lula filla queda confinada a una trajectòria específica de desenvolupament diferent a l'altra.

Tornant amb els determinants citoplasmàtics localitzats, aquests constitueixen la primera senyal de diferenciació durant el desenvolupament. A més, són complementats amb processos relacionats amb la interacció de cèl·lules veïnes. Un exemple és la inducció, que es produeix quan dues cèl·lules que presenten un fenotip diferent entren en contacte.

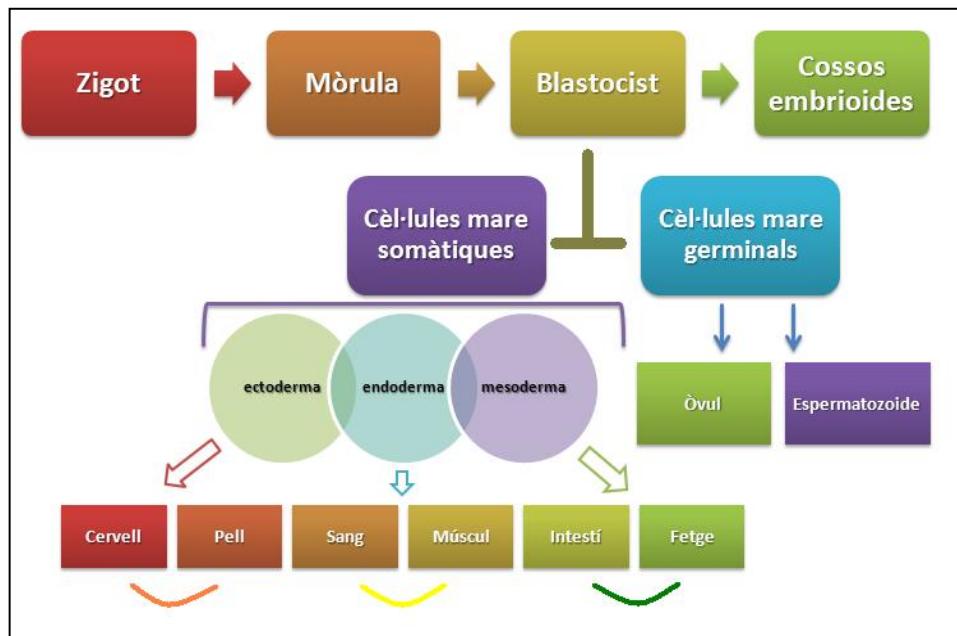
En el cas del procés de la inducció, les dues cèl·lules que entren en contacte reben noms diferents segons com actuen. Hi ha la cèl·lula responadora, que és la que canvia el seu fenotip influenciada per l'altra cèl·lula, i la cèl·lula inductora, que causa el canvi per modificar a l'altra. Aquest tipus d'interacció permet que les cèl·lules veïnes adquireixin un patró de desenvolupament similar i de forma coordinada.

Anomenem competència la capacitat que té una cèl·lula per modificar el seu fenotip com a resposta davant la presència d'una cèl·lula inductora.

Les senyals de la inducció són molècules molt diferents com hormones, factors de creixement i citocines (grup de proteïnes de baix pes molecular que actuen mitjançant

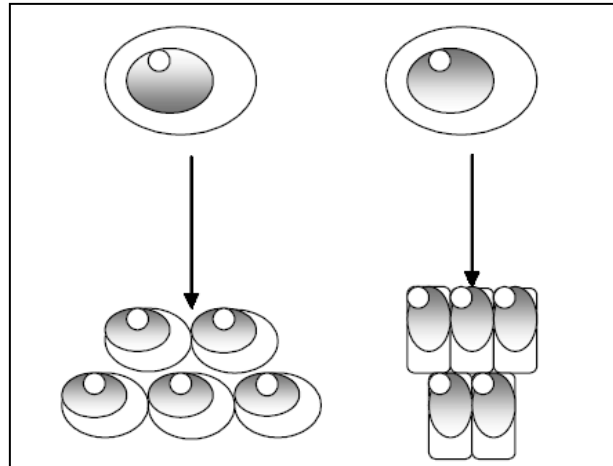
interaccions complexes entre cèl·lules limfoides, cèl·lules inflammatòries i cèl·lules hematopoètiques). Els efectes que provoquen aquestes senyals solen ser canvis en la producció de molècules d'adhesió (cèl·lula-matriu) important en la formació i determinació de les característiques dels teixits.

En el cas concret de les cèl·lules troncales (cèl·lules mare), hi ha hagut diversos models i teories al llarg de la història de la investigació, però actualment se sap que l'esquema de diferenciació que presenten és el següent, i que aquest es produeix a causa de plegaments a diferents fragments del DNA de les cèl·lules, provocats per canvis en el microambient i per contactes entre cèl·lules veïnes, a més del que ja hem dit de la primera etapa de divisió heterogènia del citoplasma del zigot.



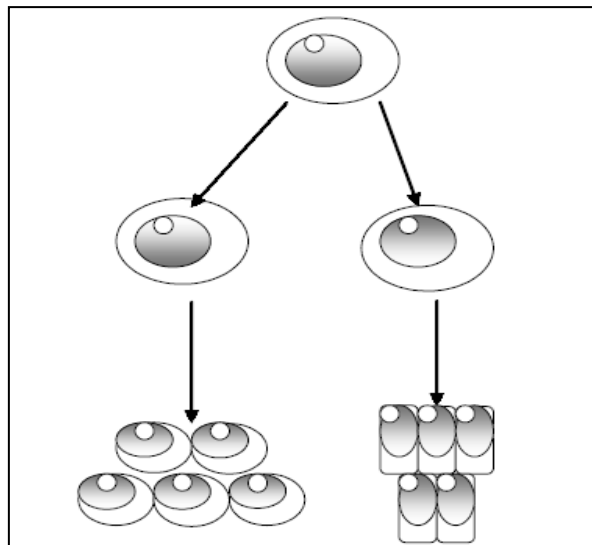
21. Esquema de diferenciació de les cèl·lules troncales

A més, existeixen quatre models que expliquen els possibles mecanismes que porten les cèl·lules mare adultes a diferenciar-se cap a cèl·lules d'un teixit diferent a l'original, com a resposta a canvis del microambient o processos de reparació tissular. El primer model és el conegut convencionalment com el model clàssic de diferenciació cel·lular, que diu que una cèl·lula progenitora restringida a un sol llinatge dona origen a cèl·lules de la seva mateixa estirp.



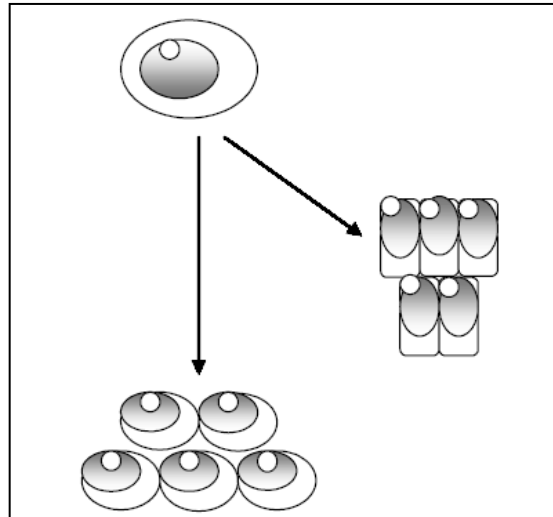
22. Model clàssic de diferenciació cel·lular

El segon model fa referència a la capacitat que tenen les cèl·lules mare adultes per diferenciar-se en progenitors més actius en el cicle cel·lular que puguin donar origen a la vegada a cèl·lules de llinatges cel·lulars diferents, com seria el cas de la cèl·lula mare hematopoètica, que pot generar progenitors cel·lulars diferents (progenitor mieloide i progenitor limfoide) els quals podran donar origen a llinatges cel·lulars diferents.



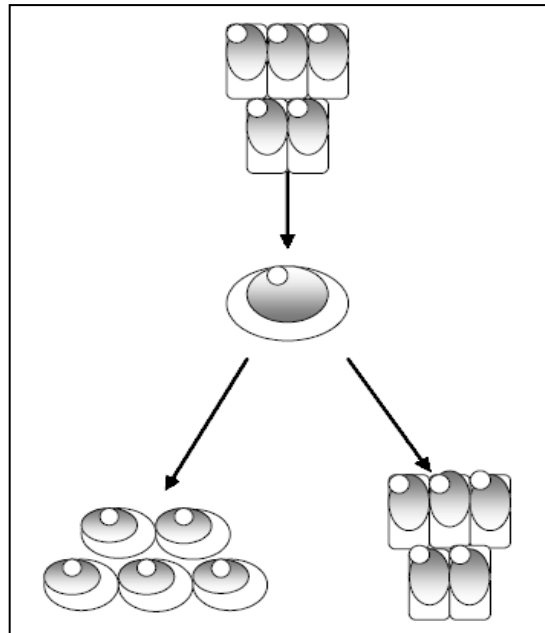
23. Model de diferenciació cel·lular per precursors compromesos

En el cas del tercer model, conegut com transdiferenciació, diu que les cèl·lules mare d'un teixit particular, quan es troben sotmeses a unes condicions d'un microambient diferent a l'original, adquireixen la capacitat de generar cèl·lules de llinatges molt diversos.



24. Model de transdiferenciació

Per acabar, el quart i últim model fa referència a la capacitat que posseeixen les cèl·lules madures de desdiferenciar-se i rediferenciar-se a cèl·lules del mateix teixit que els va donar origen o a un teixit totalment diferent.



25. Model de desdiferenciació i rediferenciació

3.3.2 Mecanismes de diferenciació

Abans que comencin a actuar els mecanismes de diferenciació, totes les cèl·lules que formen l'organisme contenen la mateixa informació genètica, ja que totes elles procedeixen del zigot. Aquests mecanismes són els encarregats d'activar o desactivar els gens de les cèl·lules, cosa que farà que segons el conjunt de gens activats la cèl·lula en qüestió agafi una direcció determinada de diferenciació.

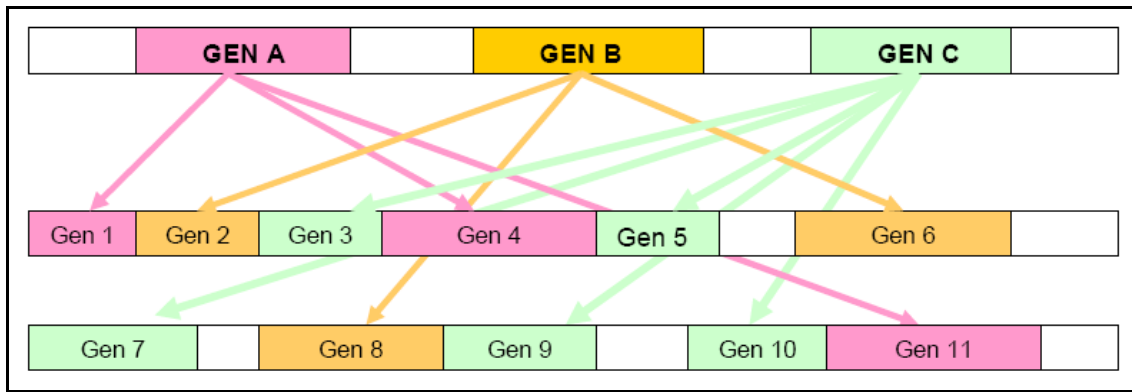
La diferenciació d'una cèl·lula implica la pèrdua de potencialitat, i a més cada cèl·lula en qüestió fa un procés de compromís cel·lular que acabarà amb un procés de diferenciació morfològica. Com a norma general, també cal dir que com més especialitzada està una cèl·lula per dur a terme una funció determinada, menys capacitat de reproduir-se té.

La diferenciació cel·lular es basa en variacions del material genètic, però sense causar-ne modificacions. Així, algunes zones determinades del genoma s'han d'activar, mentre d'altres han de quedar desactivades.

Dins del genoma de la cèl·lula existeixen un conjunt de gens que s'anomenen homeòtics. Aquests gens codifiquen per unes proteïnes, anomenades proteïnes homeòtiques, que tenen la capacitat de controlar l'activitat d'altres gens. Aquests són, doncs, els encarregats d'activar o de desactivar altres gens de les cèl·lules.

Un exemple és el gen *myoD*, que té les instruccions necessàries per fabricar la proteïna MyoD. Aquesta proteïna permet la transcripció de seqüències d'ADN que codifiquen per proteïnes musculars (actina, miosina, tropomiosina i troponina), és a dir, activa els gens corresponents. Si la proteïna MyoD no està present a la cèl·lula, aquests gens perduren "apagats" i no es desenvolupen les característiques musculars que contenen.

De la mateixa manera, existeixen molts més gens homeòtics que determinen la diferenciació cap a altres tipus cel·lulars diferents al muscular.



26. A, B i C són gens homeòtics que regulen l'activitat dels seus gens subordinats. Quan el Gen A està activat, els gens 1,4 i 11 són els que s'expressen.

Cada tipus cel·lular té un gen homeòtic encès, que és el que ha dirigit la seva diferenciació, i un conjunt d'altres gens homeòtics apagats, que no s'han expressat. Actualment, es coneixen determinats factors externs i interns de la cèl·lula que poden promoure l'activitat o la inactivitat d'aquests gens homeòtics. Això significa que aquests gens també poden ser regulats durant el desenvolupament inicial de l'embrió, cosa que determinarà el curs de la diferenciació que agafaran les cèl·lules.

Un aspecte també important que es va descobrir sobre aquests gens és que es troben alineats en el cromosoma en el mateix ordre que es van expressant les parts del cos durant el desenvolupament embrionari. Això indica que són els encarregats de determinar quin és l'ordre de formació de les parts del cos.

Aquests gens no només els trobem en els éssers humans, sinó que són presents en tots els organismes pluricel·lulars. En el cas de les plantes, reben el nom de gens MADSbox, i en els animals, gens HOX. En tots els casos presenten estructures similars, i compleixen la mateixa funció dins l'organisme.

Com ja hem dit, aquests gens no tenen la funció de formar estructures, sinó que codifiquen uns polipèptids concrets (proteïnes homeòtiques o factors de transcripció) la funció dels quals és activar o desactivar (com si es tractés d'un interruptor) un bloc de gens que especifiquen estructures particulars del cos.

A més del que hem dit anteriorment, en el procés de diferenciació cel·lular també hi ha períodes crítics que indueixen a que es porti a terme, i on són de vital importància el contacte amb altres cèl·lules o productes d'aquestes. Entre els contactes més significatius trobem:

- La interacció entre cèl·lula i cèl·lula.
- Interaccions entre cèl·lules i matriu extracel·lular.
- Difusió de molècules de senyalització.

Això el que provoca és que s'originin alteracions externes, i que per tant els gens homeòtics comencin a actuar. D'altra banda, també poden actuar a partir d'alteracions internes, les quals també causen alteracions en el citoplasma com podria ser una distribució asimètrica dels reguladors causada per les seves afinitats químiques.

També és important entendre el concepte de morfogènesi, que és el conjunt de processos pels quals les cèl·lules diferenciades s'ordenen formant una estructura espacial determinada, que formarà certs teixits i òrgans. Un dels aspectes que la condiciona és la diferenciació cel·lular.

3.4 Investigacions amb cèl·lules mare

Des de fa uns anys, el número d'assajos clínics que es porten a terme amb cèl·lules mare és cada vegada més elevat, cosa que permet descobrir utilitats que podrien servir per noves aplicacions.

Un aspecte que cal tenir molt en compte és que, quan es fa un experiment d'aquest tipus, no es pot provar de seguida amb humans, sinó que abans s'ha de fer amb animals de laboratori. Actualment s'estan descobrint o es creu que la capacitat d'aquestes cèl·lules per guarir malalties és altíssima, però d'aquí a que realment la seva utilització sigui verdaderament eficaç encara queda força per estudiar. D'altra banda, sempre s'ha d'assegurar que el seu ús no presenti complicacions o l'aparició d'altres malalties al pacient al cap d'un temps, i és per això que sovint sentim notícies als mitjans de comunicació on ens parlen que aquestes cèl·lules permetran curar una malaltia determinada, però que encara no s'utilitzen.

A continuació resumirem el conjunt d'assajos i experiències clíniques que s'han realitzat amb cèl·lules mare de diferents tipus des d'aproximadament l'any 2007 fins l'actualitat. Cal dir, però, que a partir dels anys 2010 i 2011 l'increment d'assajos ha estat molt important, i actualment s'estan investigant aplicacions d'aquestes cèl·lules en tots o gairebé tots els àmbits possibles.

3.4.1 Cèl·lules mare de teixits embrionaris

Les cèl·lules mare embrionàries són les primeres que es van descobrir, i és per això que les primeres experiències realitzades les van utilitzar.

Per començar, un grup de recerca va demostrar l'any 2007 que cardiomiocits generats a partir de cèl·lules mare embrionàries humanes podien millorar la funció cardíaca de cors de rata que havien patit un infart. Posteriorment, l'any 2008 un altre grup de recerca va comprovar que a partir de cèl·lules mare embrionàries es podien obtenir cèl·lules del múscul esquelètic, i que quan aquestes es transferien a ratolins amb distròfia muscular⁸, s'aconseguia millorar la funció muscular sense que es formessin

⁸ Les distròfies musculars són malalties hereditàries que es caracteritzen per l'atròfia progressiva muscular, pèrdua de reflexes, etc. Són malalties progressives que acaben amb limitacions molt greus o la mort.

teratomes, és a dir, amb èxit. Aquesta segona experiència va ser la primera en suggerir la possibilitat que es podien aplicar aquestes cèl·lules a pacients amb distròfia muscular, concretament la de Duchenne.

Centrant-nos ja en els assajos clínics, també l'any 2008 ens trobem que tres grups de recerca van proposar tres investigacions diferents:

1	Utilitzar cèl·lules mare embrionàries pel tractament de lesions de la medul·la espinal
2	Generar cèl·lules productores d'insulina a partir de les cèl·lules mare embrionàries
3	Desenvolupar cèl·lules epitelials pigmentades de retina per tractar pacients amb degeneració macular ⁹

Malauradament, aquestes tres propostes van ser denegades per la FDA (Food and Drug Administration) nord-americana, ja que va considerar que abans de realitzar aquests assajos en humans, s'havien de complimentar rigorosos controls de seguretat i dur a terme les experiències primer en animals.

Un any més tard, l'any 2009, es va aconseguir realitzar el primer assaig clínic dels tres que havien estat proposats. Aquest assaig va consistir a agafar un conjunt de 8 a 12 pacients que havien patit una lesió medul·lar un màxim de dues setmanes abans, i provar si la potencialitat d'aquestes cèl·lules els produïa alguna millora.

A partir de llavors es van iniciar noves propostes d'aquest i d'altres grups d'investigació, que proposaven l'aplicació pel tractament de l'esclerosi lateral amiotròfica¹⁰ i també per la malaltia de Peliazeus-Merzbacher¹¹ (una malaltia neurològica infantil molt greu).

⁹ La degeneració macular associada a l'edat és una malaltia de l'ull ocasionada per degeneració, danys o deteriorament de la màcula, que és una capa de teixit sensible a la llum que es troba a la part posterior de l'ull. Aquesta malaltia acaba amb una pèrdua important de la visió, o fins i tot amb la ceguera.

¹⁰ L'esclerosi lateral amiotròfica és una malaltia de tipus neuromuscular que s'origina quan unes cèl·lules del sistema nerviós que s'anomenen motoneurons disminueixen gradualment el seu funcionament i moren. Això provoca una paràlisi muscular progressiva que acaba amb la mort de l'individu.

Tot i això, si comparem el nombre d'experiències clíniques que s'han fet amb cèl·lules mare embrionàries i amb cèl·lules mare adultes o també amb iPS, veiem que les embrionàries són les menys utilitzades, sobretot en els últims anys.

El fet que s'hagin realitzat poques experiències clíniques amb aquestes es deu a diversos problemes que presenta el seu ús:

- Problemes ètics
- Sovint produeixen teratomes als pacients
- Ineficiència del procés de clonació
- Necessitat de mantenir teràpia immunodepressiva per vida
- Altres

3.4.2 Cèl·lules mare de teixits adults

Centrant-nos ja en les cèl·lules mare que trobem en els teixits adults, el nombre d'assajos que s'han realitzat són molt més nombrosos, tot i que inicialment no se'n coneixia la seva existència.

Primer de tot cal esmentar que va ser l'any 1992 quan es va demostrar la seva plasticitat. Es va veure que aquestes cèl·lules, que ja formaven part de teixits humans o també d'animals, es podien diferenciar cap a altres tipus cel·lulars. Llavors van començar a realitzar-se diferents experiències i es va proposar que aquestes cèl·lules mare adultes podien ser una alternativa a l'aplicació de les embrionàries, sobretot per la seva aplicació a la medicina regenerativa.

Anant cap als assajos clínics que s'han realitzat a partir de l'any 2007, trobem que aquest mateix any la FDA va aprovar que es fessin un conjunt de 1238 assajos. D'aquests, hi havia propostes molt diverses però els temes més comuns eren:

¹¹ La malaltia de Pelizaeus-Merzbacher és una malaltia hereditària rara que afecta al sistema nerviós central. Es caracteritza per la pèrdua progressiva de la grassa de la baina de mielina que cobreix les fibres nervioses del cervell i les glàndules adrenals. Es classifica com una leucodistrofia.

- Infart de miocardi (conegut com a atac de cor, fa referència a una irrigació sanguínia insuficient, per necrosi del miocardi, produït per una obstrucció en una de les artèries coronàries)
- Limfoma no-Hodgkin (és un tipus de càncer que sorgeix als limfòcits, un tipus de glòbuls blancs de la sang)
- Tumors testiculars (és una inflamació o neoplàsia a un o als dos testicles)
- Distròfia muscular
- Incontinència urinària (és la pèrdua del control de l'aparell genitourinari)
- Àrea de neurologia (trastorns del sistema nerviós): Parkinson, esclerosi lateral amiotròfica, alzheimer, remielització de la medul·la òssia, etc.

En el cas de l'infart de miocardi, en els resultats es va observar ràpidament un benefici (quant a funció cardíaca, però encara no s'ha demostrat un benefici en millorar la qualitat de vida o supervivència) sense efectes secundaris, i es va decidir continuar la investigació de manera que des d'aleshores fins l'actualitat els resultats han estat positius, fins al punt que a partir de l'any 2008 es va començar a treballar la creació d'un cor bio-artificial, que sembla haver-se aconseguit.

En aquell moment es va veure que era possible construir-lo. Quatre dies més tard començava a contraure's i aproximadament als vuit dies podia funcionar com una bomba cardíaca (en el model de ratolí). Tot i això, com ja s'ha dit a la introducció d'aquest apartat, el fet que s'aconsegueixi això en un laboratori no significa que actualment es puguin fabricar cors bio-artificials a partir de cèl·lules mare als pacients amb problemes cardíacs. Encara queda molt per descobrir.

És a partir d'aquest moment, l'any 2008, quan es comença a parlar de les aplicacions en teràpia cel·lular en un futur pròxim, i es creen els bancs universals de CM, es parla ja de teràpia cel·lular individual i es proposa l'aplicació artificial d'aquestes cèl·lules com a una possible alternativa al transplantament d'òrgans.

Paral·lelament a tots aquests nous descobriments, l'àmbit científic continua trobant-se pressionat per problemes ètics entre embrionàries i adultes, i es comença a investigar la reprogramació de cèl·lules somàtiques.

Després de nombroses experiències realitzades per diversos grups de recerca, a finals del 2008 s'aconsegueix demostrar que es poden crear les cèl·lules iPS utilitzant com a factors de transcripció l'Oct4 i el Sox2. Actualment se sap, gràcies a investigacions més actuals, que el procés de transcripció es pot realitzar de diverses maneres, i que alguns factors són necessaris en casos específics i d'altres no, però tampoc cal entrar en detall.

3.4.3 Cèl·lules iPS

Des del seu descobriment el nombre d'assajos clínics realitzats amb iPS és molt major a els dels altres dos tipus, ja que presenten molts avantatges:

- No presenten rebuig immunològic
- No és necessària la utilització d'ovòcits humans
- Presenten moltes facilitats tècniques
- El cost és més reduït

D'altra banda, però, s'ha pogut demostrar que poden presentar diversos inconvenients tècnics, alguns dels quals s'han pogut resoldre eficaçment des del 2008 fins l'actualitat:

- Existia una possibilitat de transmissió de malalties virals.
- Podien produir tumors, tot i que no tant freqüentment com les embrionàries.
- Hi havia problemes genètics ocasionats per la introducció de DNA de gens reprogramats a les cèl·lules receptores que propiciaven les mutacions.

Els tres problemes es van solucionar quan es va aconseguir substituir els vectors virals i alguns gens que s'utilitzaven per fer la reprogramació pels retrovirus. La utilització d'aquest nou tipus de virus va permetre que no hi haguessin alteracions genòmiques ni tumors, i que tampoc es transmetessin malalties virals.

Començant per les experiències pre-clíniques, cal destacar-ne quatre:

- Ratolins amb anèmia falciforme¹²

¹² L'anèmia falciforme és una malaltia que afecta a l'hemoglobina, una proteïna que forma part dels glòbuls vermells i que s'encarrega de transportar l'oxigen.

- Parkinson (on ja s'observen millores)
- Hemofília A¹³
- Infarts de miocardi

Aquestes experiències van obrir la porta a la medicina regenerativa personalitzada, aquest cop, però, per un camí èticament correcte.

A partir de llavors, un dels fets més importants que s'han aconseguit és obtenir aquestes cèl·lules iPS a partir de cèl·lules derivades de pacients amb diverses patologies. Això és molt important, ja que permet que es facin estudis de la patogènia que causa les malalties, és a dir, es poden arribar a determinar quins són els gens de les cèl·lules que estan afectats i que són els responsables de causar la malaltia, i a partir d'aquí buscar nous fàrmacs per poder tractar-les.

Això ha estat possible a partir de cèl·lules que presentaven les patologies següents:

- Esclerosi lateral amiotròfica
- Síndrome Shwahan-Bodian-Diamond (malaltia autosòmica recessiva caracteritzada per insuficiència pancreàtica exocrina, disfunció de la medul·la òssia, alteracions esquelètiques i talla baixa)
- Malaltia de Gaucher (és una malaltia autosòmica recessiva que afecta l'emmagatzematge lisosòmic, deguda a una acumulació d'un tipus d'esfingolípida a causa del dèficit d'un enzim concret)
- Distròfia muscular de Duchenne (és el tipus de distròfia muscular més comú i la seva herència està lligada al cromosoma X)
- Parkinson (és un trastorn que afecta a les cèl·lules nervioses (neurones) en una part del cervell que controla els moviments musculars)

¹³ L'hemofília A és una malaltia hereditària causada per una reducció de la quantitat o de l'activitat del factor VIII de coagulació. Això causa la formació de fibrina deficient, que provoca que la coagulació sigui molt més prolongada i el coàgul més inestable.

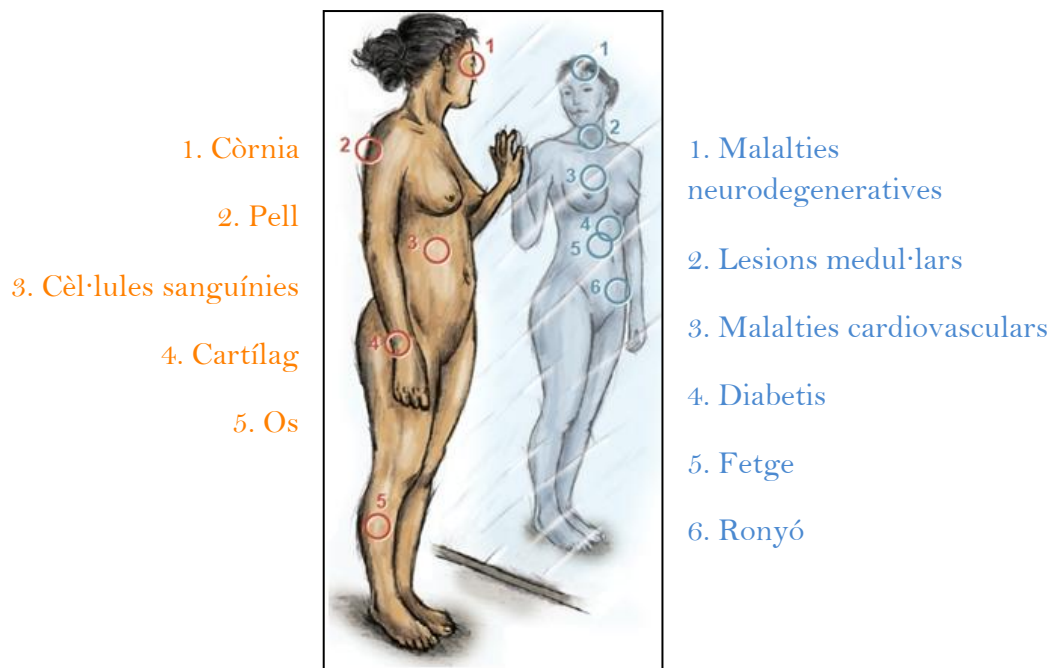
- Malaltia de Huntington (és una malaltia neurodegenerativa que afecta els ganglis basals del cervell i que produeix alteracions cognoscitives, psiquiàtriques i motores)
- Diabetis mellitus tipus 1 (és una malaltia autoimmunitària que resulta de la destrucció de les cèl·lules beta del pàncrees, que produeixen la insulina)
- Síndrome de Down (coneguda com la trisomia 21, és un trastorn genètic causat per la presència d'una còpia extra del cromosoma 21)
- Síndrome de Lesch-Nyhan (és una malaltia hereditària que s'inclou dins del grup dels errors congènits del metabolisme. Es caracteritza per l'absència d'un enzim molt important en el metabolisme de les purines)
- Anèmia Fanconi (és una malaltia hereditària rara molt greu que fa que l'esperança de vida dels malalts estigui al voltant dels 30 anys)
- Trastorns mieloproliferatius (és un conjunt heterogeni de neoplàsies hematològiques que tenen com a característica comuna la proliferació descontrolada dels precursors medul·lars d'alguna de les cèl·lules sanguínies)
- Disautonomia (grup de trastorns provocats per un mal funcionament del sistema nerviós autònom)

Per acabar, una de les novetats més recents és que a més de línies cel·lulars, s'han pogut obtenir cèl·lules germinals que podrien donar lloc a nous individus sencers. Així, s'han aconseguit crear ratolins al laboratori i s'han fet reproduir entre ells, però altra vegada cal tenir present què és i què no és èticament correcte, i fins a quin punt ha d'arribar la ciència.

3.5 Teràpia actual amb cèl·lules mare

Gràcies a tota la investigació que s'ha dut a terme i a la que es fa actualment, les aplicacions de les cèl·lules mare són cada vegada més extenses.

A partir de la següent imatge podem veure la diferència entre les aplicacions terapèutiques que tenen les cèl·lules mare actualment, i les possibles aplicacions que poden tenir en un futur pròxim, però que segueixen en investigació:



27. Imatge del cos d'una dona. Els nombres taronges indiquen aplicacions en ús, i els blaus aplicacions en investigació.

3.5.1 Aplicacions en ús

1. **Còrnia.** Les insuficiències cornials, que provoquen defectes visuals, úlceres i dolor al pacient, milloren amb la implantació de cèl·lules mare del limb corneal. La tècnica és molt innovadora.
2. **Pell.** Els pacients que han patit grans cremades es tracten amb làmines epidèrmiques obtingudes a partir de petites biòpsies de pell, que han estat cultivades al laboratori.

3. **Cèl·lules sanguínies.** És el tractament amb cèl·lules mare més antic i estès, ja que fa uns cinquanta anys que permet salvar moltes vides. S'obtenen cèl·lules mare de la medul·la òssia, que són les que posteriorment en generen d'altres (generalment també sanguínies).
4. **Cartílag.** Les lesions cartilaginoses poden reparar-se utilitzant cèl·lules cultivades a partir de biòpsies de cartílag o cèl·lules mare mesènquimes (presentes a la grassa i a la medul·la òssia). Aquest tractament s'utilitza molt en esportistes.
5. **Os.** També amb cèl·lules mare mesènquimes s'ha pogut tractar amb èxit a nens amb malalties genètiques i defectes en la formació de l'os.

3.5.2 Aplicacions en investigació

1. **Malalties neurodegeneratives.** La possibilitat de curar malalties com el Pàrkinson, l'Alzheimer o l'esclerosi múltiple amb el seu ús és encara incerta, tot i que s'estan realitzant avanços molt esperançadors en models animals.
2. **Lesions medul·lars.** En models animals ja s'ha vist que determinades cèl·lules mare indueixen la creació de noves connexions nervioses en lesions per traumatismes.
3. **Malalties cardiovasculars.** Actualment hi ha en marxa més de 100 estudis clínics per valorar l'eficàcia de la injecció de cèl·lules mare a cors que han patit un infart. Probablement en un futur no molt llunyà aquest tractament sigui una realitat.
4. **Diabetis.** Ja s'obtenen cèl·lules productores d'insulina a partir de cèl·lules mare de diversos teixits, però no en suficient quantitat com perquè el tractament sigui eficaç.
5. **Fetge.** Hi ha estudis experimentals que suggereixen la possibilitat de regenerar teixit hepàtic a partir de cèl·lules mare.
6. **Ronyó.** Actualment s'estan buscant les cèl·lules mare capaces de regenerar el ronyó.

3.6 La clonació

Un concepte que va molt lligat a tot el que hem estat explicant anteriorment és la clonació.

La paraula clonació s'utilitza en diferents contextos dins l'àmbit de la biologia. Així doncs, cal diferenciar els seus dos significats:

- En l'àmbit de l'enginyeria genètica clonar és aïllar i multiplicar dins un tub d'assaig un determinat gen o, en general, un tros de DNA.
- En l'altre cas, que és el que té a veure amb aspectes ja mencionats, clonar significa obtenir un o varis individus a partir d'una cèl·lula somàtica o d'un nucli d'un altre individu, de manera que els individus clonats són idèntics a l'original.

Centrant-nos en el segon dels seus significats, els experiments que s'han realitzat per tal d'arribar on es troba la ciència actualment han sigut molts.

D'una banda, en els animals superiors l'única forma de reproducció és la sexual, que implica la fecundació dels gàmetes, la formació d'un zigot i el seu desenvolupament fins a donar lloc a un individu adult. Aquest tipus de reproducció és un invent evolutiu que garanteix que, a cada generació d'una espècie, apareixeran noves combinacions genètiques que posteriorment seran sotmeses a la selecció i a altres mecanismes evolutius.

D'altra banda, els individus adults estan formats per el conjunt de cèl·lules somàtiques, les quals, com ja havíem dit anteriorment, estan diferenciades. Això implica que han perdut la capacitat de generar per si soles nous individus ja que s'han especialitzat a fer una funció determinada. Si ho recordem, el fet que s'anessin especialitzant no implicava en cap cas la pèrdua de fragments de material genètic sinó que seguien tenint-lo tot, però alguns fragments estaven plegats i ja no s'expressaven.

Un cop recordat això, anem a veure quins són els problemes amb què s'ha trobat la investigació al llarg dels seus experiments.

El primer experiment de clonació en vertebrats que es va fer va ser el de Briggs i King l'any 1952 amb granotes. Posteriorment, l'any 70 Gurdon va aconseguir col·leccions de

gripaus d'esperons (*Xenopus laevis*) idèntics a base d'inserir nuclis de cèl·lules de fases larvàries inicials en ovòcits als quals se'ls havia tret els seus nuclis.

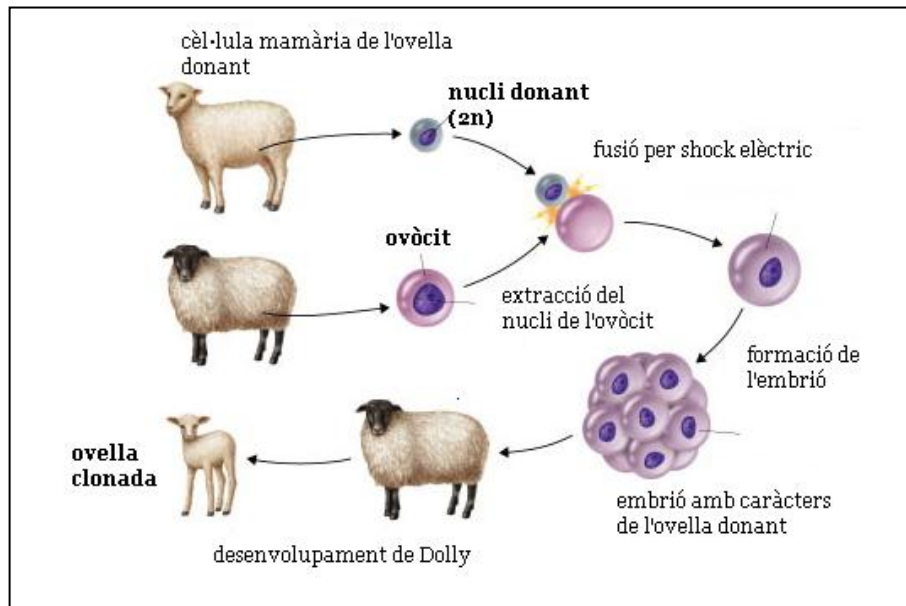
El problema arriba quan s'intenta fer el mateix experiment a partir de cèl·lules de gripau adultes com a donadores de nucli. En aquells moments no se sabia el perquè, però a partir de cèl·lules embrionàries molt inicials era possible realitzar la clonació, però a partir de cèl·lules adultes no. L'explicació era que aquestes cèl·lules embrionàries que utilitzaven encara no s'havien diferenciat i, per tant, seguien tenint propietats pluripotencials.

Anys més tard es va produir un dels fets científics més importants dins el món de la clonació. L'equip de Wilmut, de l'Institut Roslin d'Edimburg va comunicar que havien aconseguit una ovella mitjançant la clonació a partir d'una cèl·lula diferenciada d'un individu adult.

L'experiment de Wilmut va consistir a agafar cèl·lules i posar-les en cultiu. Mitjançant un medi nutritiu, de forma successiva va anar disminuint la seva concentració de proteïnes nutritives des d'un 10% fins a un 0'5%. D'aquesta manera va aconseguir parar la divisió d'aquestes cèl·lules en cultiu i deixar-les en estat de quiescència (repòs).

Paral·lelament, va agafar òvuls i els va extreure el nucli (enucleació) aspirant-lo mitjançant una micropipeta, i va deixar els seus citoplasmes en cultiu.

Com a últim pas, va posar en contacte les cèl·lules quiescents cultivades i els òvuls enucleats i els va sotmetre a un breu impuls elèctric amb dos objectius: per una banda crear microporus a les membranes d'ambdues cèl·lules per tal d'afavorir la fusió, i per l'altra obrir els canals del calci de la membrana provocant així una reacció semblant a la que causa l'espermatozoide al fecundar l'òvul, posant en marxa tot el metabolisme cel·lular i el desenvolupament del nou ésser.



28. Esquema de l'experiment de l'ovella Dolly.

Aquest experiment el van fer de la mateixa manera amb dos tipus de cèl·lules. Un primer experiment el van fer amb cèl·lules embrionàries, extretes de la massa cel·lular interna d'un blastocist d'ovella, i un segon experiment amb cèl·lules extretes d'una mamella d'ovella adulta. Tant les cèl·lules embrionàries com les adultes es van posar en contacte amb l'òvul enucleat. L'única diferència va ser el número de passades en cultiu necessaris per aconseguir la quiescència.

Una vegada aconseguida la fusió de l'òvul enucleat amb el nucli de la cèl·lula adulta, es va aconseguir una cèl·lula equivalent al zigot que es va implantar a una tercera ovella que va servir com a "mare de lloguer" per tal de portar a terme l'embaràs.

Així doncs, l'ovella resultant, que va ser anomenada ovella Dolly, va ser el producte de tres "mares": la donadora de l'òvul que contribueix amb el citoplasma (conté, a més, els mitocondris que tenen el propi material genètic), la donadora del nucli (que és la que aporta la major part del DNA, de la qual serà la clon) i de la que va servir per l'embaràs, que genèticament no aporta res.

Científicament, es tracta d'un esdeveniment molt interessant ja que demostra que al menys, sota determinades circumstàncies, és possible reprogramar el material genètic nuclear d'una cèl·lula diferenciada.

És arribat a aquest punt on es veu que qualsevol cèl·lula pot ser la donadora del seu nucli per tal de donar lloc a un nou individu, però cal reprogramar-la.

Si recordem els mecanismes per obtenir cèl·lules mare embrionàries, veurem com l'experiment de l'ovella Dolly no és res més que una transferència nuclear somàtica on s'acaba implantant la cèl·lula resultant per tal de donar lloc a un nou individu en comptes de destruir-se per obtenir-ne les cèl·lules mare pluripotencials.

3.6.1 Tipus de clonació

Un clon és una unitat genèticament igual a la seva unitat predecessora, de la qual està clonat. La unitat pot ser molecular, clonant un gen o un grup de gens, l'ADN complet, una cèl·lula, un teixit, un òrgan o un individu.

D'altra banda, els clons es produeixen de forma natural per divisió asexual. Aquesta forma de reproducció és molt comuna en organismes com les amebes i altres éssers unicel·lulars, tot i que la majoria de plantes i fongs també es reproduïxen asexualment.

Aquest tipus també inclou l'obtenció de bessons idèntics de manera natural, és a dir, els bessons univitel·lins. Es considera com una alteració espontània durant el desenvolupament embrionari, ignorant-se la causa, tot i que existeix una correlació familiar estadísticament significativa.

Així doncs, actualment existeixen diferents tipus de clonació:

3.6.1.1 Clonació molecular

La clonació de molècules es pot realitzar per dos processos, la clonació acel·lular i la clonació cel·lular.

- a) **Clonació acel·lular:** també es coneix com a mecanisme d'amplificació de DNA o RNA (PCR). Aquesta clonació pot tenir dos objectius, obtenir una gran quantitat de DNA per diferents aplicacions o determinar la seqüència d'una porció petita de DNA en una dissolució.



29. Fotografia d'un assaig d'amplificació de DNA

La seva aplicació és molt variada: s'utilitza per la detecció de seqüència de DNA, per la seqüenciació de DNA, pel rastreig de mutacions, diagnòstic de malalties (parentals o no), per estudis evolutius, detecció de cèl·lules tumorals, amplificació del DNA per clonació cel·lular, etc.

- b) **Clonació cel·lular:** aquest mecanisme, tot i que podria semblar una clonació de cèl·lules, utilitza cèl·lules per clonar fragments de DNA. Per realitzar-se requereix prèviament una amplificació el DNA que es vol clonar. Després d'això, s'insereix el DNA en vectors que el transporten i l'introdueixen a les cèl·lules. A partir d'aquest moment aquestes cèl·lules s'anomenen amfitrions i s'han de cultivar per aconseguir que es multipliquin. Explicarem més detalladament aquests processos:

L'enginyeria genètica és el conjunt de tècniques que permeten obtenir experimentalment al laboratori noves combinacions de material hereditari que no es troben a la natura. Aquesta enginyeria genètica també es pot anomenar tecnologia del DNA recombinant, i normalment segueix els passos següents:

1. Detecció i purificació d'un gen específic: s'ha de detectar quin és el gen o el conjunt de gens que controlen un procés determinat. La manera d'aconseguir-ho és contrastant el DNA de pacients sans amb d'altres que presentin irregularitats i així comprovar segons la localització dels gens alterats la funció d'aquests gens en concret. Seguidament, cal tallar els gens i separar-los de la resta del genoma. Per fer això calen els anomenats enzims de restricció, els quals tenen funció endonucleasa. Aquests enzims tallen el DNA en una regió diana determinada formant-

se així extrems cohesius. Després, aquest DNA pot unir-se a un altre punt del genoma sempre que el tall s'hagi produït amb el mateix tipus d'enzims de restricció, ja que els extrems cohesius són diferents per cada enzim de restricció.

2. Amplificació del gen per PCR (Polimerase chain reaction): és un procés totalment automatitzat que permet obtenir còpies de DNA. Consisteix a posar en contacte el DNA original amb els enzims i els substrats corresponents en uns banys termostatitzats on té lloc l'amplificació del gen.
3. Possible modificació química o enzimàtica del gen purificat: en cas que sigui necessària la modificació del gen artificialment, aquesta es pot realitzar de dues maneres: de forma dirigida (se sap quins són els canvis que s'han de fer), i de forma no dirigida (es tempta a la sort a l'espera d'obtenir una variació que pugui ser profitosa). En aquesta darrera forma, hi ha diverses opcions, com és el cas de sotmetre'l a agents mutàgens, a una modificació química selectiva o a una recombinació amb la seva part homòloga.
4. Introducció del gen en un vector i introducció a la cèl·lula receptora: per introduir el gen purificat, hagi estat modificat o no, a la cèl·lula receptora no es fa directament sinó que s'utilitza un vector que pot ser un plasmidi, un virus o microesferes. Un exemple d'aquest procés seria la incorporació d'un gen estrany a un virus, cosa que no n'alteraria la capacitat de penetrar a la cèl·lula, o, en el cas que la cèl·lula receptora fos un bacteri, entraria per transformació.
5. Selecció dels receptors i obtenció del producte gènic: per acabar, cal identificar les cèl·lules que han incorporat el gen o fragment de DNA introduït. Com que normalment les cèl·lules receptores són bacteris, el que es fa és afegir en el DNA introduït un gen que dona resistència a algun antibiòtic de manera que aquests bacteris es fan créixer en un medi selectiu on hi ha aquell antibiòtic. Com a resultat, només creixen aquells bacteris que han incorporat el nou material introduït.

Aquestes cèl·lules, en fer la multiplicació, duplicaran tant el DNA propi com el fragment que se'ls ha inserit, és a dir, el que es vol clonar. D'aquesta manera s'obté un nombre elevat de cèl·lules que contenen aquest DNA, que s'anomena recombinant.

L'objectiu d'aquest tipus de clonació és l'amplificació del DNA clonat amb el fi d'estudiar la seva seqüència, estructura, per estudis filogenètics o per identificació de mutacions. A més també s'utilitza per estudiar el mecanisme de regulació dels gens, la seva transcripció i traducció. Una altra aplicació és l'obtenció de la proteïna que codifica la seqüència de DNA clonat, tant per analitzar-ne l'estructura, per alterar-la o per comercialitzar-la en funció de les seves propietats. Aquest seria el cas de l'obtenció d'insulina.

3.6.1.2 Clonació de cèl·lules, teixits i òrgans

S'utilitzen cèl·lules troncales. Amb aquest tipus de clonació s'obtenen cèl·lules compatibles amb l'adult, que podrien diferenciar-se a diferents tipus cel·lulars, formant un teixit o reformant-lo. A més, s'ha provat també de clonar òrgans complets, però els resultats encara no són del tot positius, tot i que sí prometedors. Les complicacions en aquest darrer cas es deuen al fet que els òrgans fan l'organogènesi en unes condicions i un espai tridimensional concret durant l'estadi embrionari, de manera que s'ha d'aconseguir recrear aquestes condicions en un laboratori ja que és impossible formar un òrgan en una placa de petri, com sí que es possible de fer-ho amb els teixits.

Aquesta tècnica es basa en les propietats i capacitats de les cèl·lules mare que hem vist al llarg del treball, i per tant té l'objectiu de curar malalties, com la diabetis o també cremades i infarts de miocardi, mitjançant cèl·lules mare pluripotents que es diferencien segons el microambient on s'implanten i, per tant, permeten regenerar teixits. Algunes de les aplicacions, com també havíem vist, estan encara en fase d'estudi.

3.6.1.3 Clonació d'organismes

La clonació de plantes s'ha realitzat en agricultura i jardineria des de fa ja molt de temps. Durant segles s'ha buscat la millora de les races de bestiar, seleccionant

individus amb més carn o amb més producció de llet o llana. En el cas de l'agricultura s'han seleccionat pel cultiu les varietats més vistoses, més resistents i més grans.

La forma d'aconseguir aquests nous individus ha estat mitjançant el creuament de parentals amb les mateixes característiques desitjades, tot i que no sempre s'ha aconseguit.

La utilització d'hormones per produir un augment de la mida o un creixement més ràpid en animals destinats a l'alimentació humana està prohibida per les conseqüències negatives que apareixen en la salut dels consumidors. És per això que actualment s'utilitza la clonació d'organismes per obtenir organismes genèticament modificats, coneguts com a transgènics.

La tècnica en animals consisteix en aconseguir cèl·lules que continguin el gen responsable de la característica desitjada i, posteriorment, fer una transferència nuclear i seguir el procés que s'ha explicat anteriorment en l'experiment de l'ovella Dolly.

Es pot modificar genèticament el nucli de la cèl·lula d'un animal per, posteriorment, clonar-lo. En aquest cas, a l'ovòcit que se li ha extret el nucli se li injecta el nucli amb la informació genètica modificada.

En el cas dels vegetals, s'utilitzen cèl·lules amb capacitat de divisió. A aquestes se'ls afegeixen els gens seleccionats i a continuació es cultiven al laboratori i s'obtenen, a partir d'elles, plantes clonades a la planta inicial.

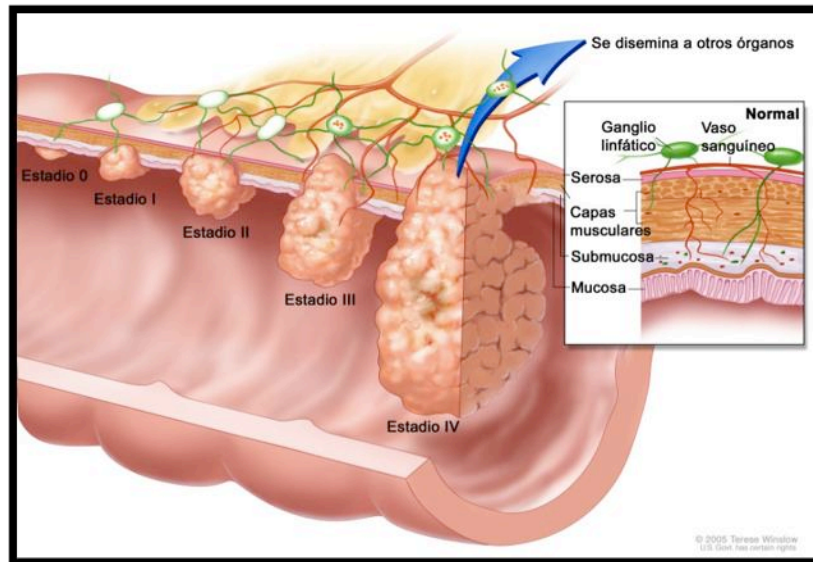
3.7 Cèl·lules mare tumorals

3.7.1 El càncer

Per entendre les cèl·lules mare tumorals cal prèviament explicar què és el càncer. La vida de les cèl·lules s'anomena cicle cel·lular, i aquest consisteix en el fet que les cèl·lules creixen, es divideixen i formen les noves cèl·lules que el cos necessita gràcies a la reproducció cel·lular. Un cop han realitzat les seves funcions i envelleixen, aquestes cèl·lules han de morir i ser reemplaçades per les noves. Aquest fenomen de la mort cel·lular programada s'anomena apoptosi, i serveix com a mecanisme del propi individu per eliminar a les cèl·lules que ja no poden realitzar les seves funcions correctament ja que s'han fet velles. A més, també cal aclarir que les cèl·lules normals, és a dir, les que no són cèl·lules mare, no es poden reproduir indefinidament tota la seva vida sinó que, de forma general, porten un control de les divisions que han de fer al llarg de la seva vida com a cèl·lules, ja que tenen un límit que depèn del tipus cel·lular que siguin.

Centrant-nos amb el càncer, el problema apareix quan el cicle cel·lular de les cèl·lules s'altera: les cèl·lules es comencen a dividir descontroladament, cèl·lules que haurien de morir no ho fan, etc. Aquestes cèl·lules són les que poden arribar a formar una massa o un teixit de cèl·lules sense funció i en excés que el cos no necessita, el que denominem tumor o neoplàsia.

Hi ha dos tipus de tumors, els tumors benignes i els tumors malignes. Els tumors benignes són aquells les cèl·lules dels quals no envaeixen altres parts del cos, generalment es poden treure i no tornen a aparèixer. Aquests no són considerats càncer. En el cas dels tumors malignes, aquests sí que ho són, de càncer, ja que les seves cèl·lules poden envair teixits propers i també escampar-se per altres parts del cos. Això és el que s'anomena metastasi, i succeeix quan les cèl·lules d'un tumor es disseminen des d'una part del cos cap a una altra. Aquest nou tumor que es produeix té el mateix tipus de cèl·lules que el tumor on s'ha iniciat, és a dir, del tumor primari.



30. Esquema d'un càncer de colon que acaba produint metàstasi.

No cal entrar en més detall, tot i que cal saber que sota el nom de càncer se n'engloben més de cent tipus diferents, que es classifiquen en diferents categories (segons el lloc d'origen): carcinomes (pell o teixits dels òrgans interns), sarcomes (ossos, cartílags, greix, músculs o altres teixits connectius), leucèmies (teixits formadors de cèl·lules sanguínies), limfomes i mielomes (sistema immunitari) i els del sistema nerviós central (cervell i medul·la espinal).

3.7.2 Introducció de les cèl·lules mare tumorals

Les cèl·lules mare tumorals són un tipus concret de cèl·lules mare que presenten les característiques pròpies d'aquestes (capacitat de renovació i de diferenciar-se en múltiples tipus cel·lulars), però que per causes que estan en fase d'estudi, són les causants dels tumors.

Aquest tipus de cèl·lules estan en fase d'investigació, tot i que hi ha evidències clares que indiquen que la seva existència és real. Hi ha diferents teories i hipòtesis sobre com funcionen o sobre quin és el paper que tenen en la formació dels tumors.

Una teoria suggereix que aquestes cèl·lules es troben als tumors com una població diferent, i que són les causants de la recaiguda i de la metàstasi ja que són les que fan que creixin nous tumors. Un dels problemes que es troba la investigació és que els tractaments de càncer existents van ser desenvolupats principalment amb models

d'animals, on les teràpies capaces de promoure la contracció del tumor van ser efectives. Tot i això, els animals no poden proporcionar un model complet de la malaltia humana ja que, per exemple, la recaiguda del tumor anys més tard és difícil d'estudiar en els ratolins de laboratori, degut a que les seves vides oscil·len al voltant dels dos anys.

A més d'això, les teories també apunten que les cèl·lules mare tumorals no formen tota la massa del tumor, sinó que només són una petita proporció d'aquest i que és per això que quan s'utilitzen medicaments com les quimioteràpies convencionals, el que pot succeir és que es matin la majoria de les cèl·lules del tumor, que són les diferenciades, les que formen la massa però que no són capaces de generar-ne d'altres, mentre que la població reduïda de cèl·lules mare tumorals, que són les que han donat origen a tot el tumor, no sofreixi cap dany i pugui causar la posterior recaiguda de la malaltia.

3.7.3 Evidències de l'existència de les cèl·lules mare tumorals

L'evidència de les cèl·lules mare tumorals és clara degut al fet que per sostenir el creixement d'un tumor calen unes cèl·lules amb una capacitat de proliferació contínua i d'autorenovació constant per retenir les moltes mutacions que es necessiten per la carcinogènesi, i això no és possible en les cèl·lules diferenciades perquè aquestes no es poden dividir indefinidament.

La carcinogènesi és el fenomen produït per un agent carcinogen, que pot ser un agent tant físic com químic o biològic, i que actua sobre els teixits vius de tal manera que provoca càncer.

Tal com hem dit anteriorment, tot i que no se'n discuteix l'existència, el que sí que es discuteix és si aquestes cèl·lules representen una minoria o no de la massa del tumor, ja que en cas que la majoria de les cèl·lules del tumor estiguessin dotades amb les propietats de les cèl·lules mare, no hi hauria un incentiu de centrar-se en una subpoblació específica.

Un altre aspecte que es debat és sobre les cèl·lules d'origen d'aquestes cèl·lules mare tumorals, és a dir, si provenen de cèl·lules mare que han perdut l'habilitat de regular la seva proliferació, o si provenen de poblacions més diferenciades de cèl·lules

progenitores que han adquirit l'habilitat de l'autorenovació, ja que això és possible tal com s'explica en el tema de la plasticitat.

Tornant a les evidències, la primera concloent que es va obtenir va ser publicada el 1997 a la revista *Nature Medicine*. Aquesta va ser publicada per dos investigadors, Bonnet i Dick, que van aïllar una subpoblació de cèl·lules leucèmiques que expressaven un marcador superficial específic, però que no en presentaven un altre de característic.

Quan es fan experiments d'investigació de càncer, la metodologia consisteix en injectar cèl·lules del tumor a un animal de laboratori per tal que aquest tingui exactament el mateix tipus de càncer que s'està estudiant. A partir d'aquí, la progressió de la malaltia es segueix, i es posa a prova l'eficàcia de les drogues (medicaments) i la seva capacitat per inhibir-la. Tot i això, la formació eficient del tumor requereix que s'introdueixin milers o en algunes ocasions milions de cèl·lules.

Antigament aquest fet s'explicava dient que les cèl·lules del tumor perdien la seva viabilitat durant la transferència, o també per la importància del microambient i els voltants bioquímics particulars de les cèl·lules injectades. Actualment, però, això es pot explicar gràcies a les cèl·lules mare tumorals.

Aquesta segona explicació detalla que només una petita fracció de les cèl·lules transferides són cèl·lules mare tumorals, que són les úniques que tenen el potencial necessari per generar el tumor. Això explica que calgui la injecció de tantes cèl·lules de la massa del tumor perquè aquest pugui proliferar a l'animal en qüestió.



31. Ratolins de laboratori immunodeprimits.

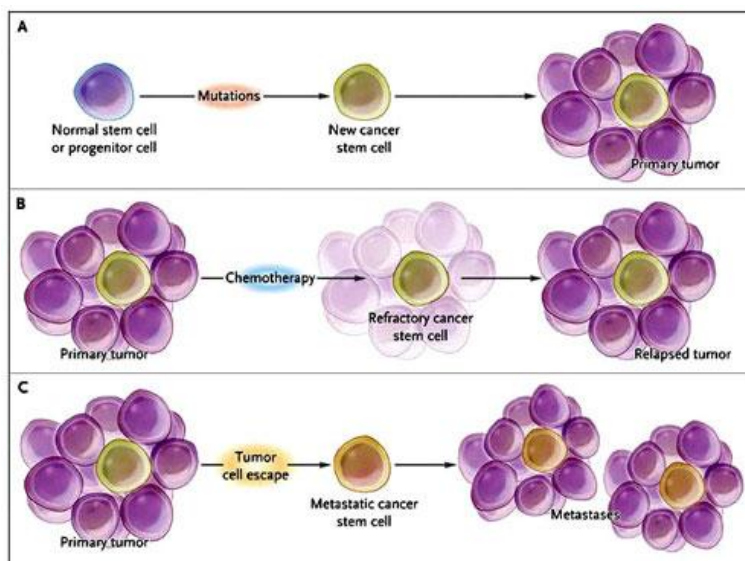
Una evidència addicional ve de la histologia, de l'estudi de l'estructura del teixit dels tumors. Molts tumors són molt heterogenis ja que contenen diversos tipus de cèl·lules procedents de l'òrgan primari on es desenvolupa el càncer. Aquesta heterogeneïtat normalment segueix retinguda per les metàstasi del tumor, cosa que implica que la cèl·lula que produeix la metàstasi tingui la capacitat de generar múltiples tipus de cèl·lula. Dit diferent, que aquesta cèl·lula causant de l'extensió del tumor ha de tenir potencial de multidiferenciació, i aquesta característica és pròpia de les cèl·lules mare indiferenciades i no pas de les cèl·lules diferenciades.

3.7.4 La importància de les cèl·lules mare tumorals

Les cèl·lules mare tumorals són les principals causants del tumor.

Sí amb l'aplicació dels fàrmacs adients s'aconsegueix eliminar aquestes cèl·lules, el tumor desapareix i el més probable és que no torni a aparèixer posteriorment. El que passa actualment, però, és que molts dels fàrmacs que s'utilitzen com la quimioteràpia, poden matar la majoria de les cèl·lules que formen el tumor però els és molt difícil d'eliminar a les cèl·lules mare tumorals.

Això es deu a que aquestes cèl·lules han desenvolupat mecanismes que els permeten que el fàrmac no pugui entrar dins la massa del tumor, ja que està protegit per una espècie de càpsula, o també han creat el que s'anomenen bombes de flux, que són unes proteïnes transportadores que els permeten expulsar cap a l'exterior el fàrmac que els entra dins el seu citoplasma.



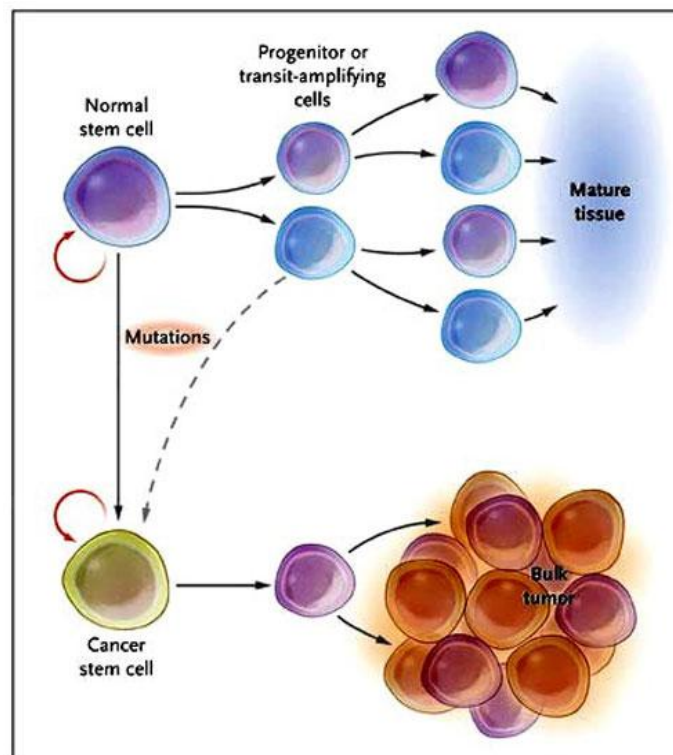
32. A: mutació d'una cèl·lula mare normal. B: destrucció de les cèl·lules tumorals amb quimioteràpia però persistència de cèl·lules mare tumorals i recidiva del tumor. C: migració de cèl·lules mare i producció de metàstasi.

La importància de conèixer i estudiar aquestes cèl·lules és, doncs, que coneixent aquestes cèl·lules es pot arribar a conèixer millor el tumor, la seva forma de reaccionar davant els fàrmacs, les seves característiques, la seva estructura... i així aconseguir noves teràpies més efectives que les que hi ha actualment les quals permetin atacar-les directament i així eliminar el tumor en la seva totalitat i evitar recaigudes.

3.7.5 Origen de les cèl·lules mare tumorals

L'origen d'aquestes cèl·lules depèn de l'anatomia. Com que el descobriment d'aquestes cèl·lules és molt recent, hi ha alguns tumors que encara no han estat estudiats o bé que encara no se n'ha descobert l'origen de les cèl·lules mare tumorals que els provoquen, així com tampoc se n'ha descobert si en tenen o no en alguns casos.

Tot i això, se sap que aquestes cèl·lules mare tumorals provenen d'altres cèl·lules mare que, per motius diversos i sovint desconeguts, han patit alguna mutació que ha fet que comencin a actuar d'aquesta manera dividint-se contínuament i formant les neoplàsies.



33. Origen de les cèl·lules mare tumorals

Actualment ja s'ha descobert l'origen d'algunes cèl·lules mare tumorals, cosa que significa que se sap quin és el tipus concret de cèl·lula mare del teixit on comença la formació del tumor que han desenvolupat les cèl·lules tumorals en qüestió.

Aquestes cèl·lules tumorals es caracteritzen per la presència d'uns marcadors concrets. Dos dels més característics són NESTIN i CD133 (Prominin 1).

3.7.6 Implicacions en el tractament del càncer

Les repercussions que tindria un bon coneixement de les cèl·lules tumorals de cada tipus de càncer en qüestió es basen sobretot a aconseguir canviar la quimioteràpia actual cap a uns tractaments més individualitzats, que serien més efectius i menys tòxics.

Això permetria que els fàrmacs només anessin dirigits a les cèl·lules mare tumorals, i no a altres cèl·lules de l'organisme com passa actualment amb la quimioteràpia. El que passa actualment és que, a més d'eliminar les cèl·lules malignes que formen part del tumor, els fàrmacs de la quimioteràpia també afecten altres cèl·lules del cos com són els glòbuls blancs i les cèl·lules epitelials, i això fa que hi hagi molts efectes secundaris com anèmia, diarrees, nàusees, vòmits, etc. ja que aquestes cèl·lules deixen de dividir-se o fins i tot es moren. Aquests efectes secundaris del tractament són molt perjudicials per l'organisme.

És per això que els científics veuen que és importantíssim descobrir els secrets que s'amaguen dins d'aquestes cèl·lules originàries, ja que és aquí on hi ha la clau per poder eliminar del tot la malaltia, i no només això, sinó també aconseguir-ho amb més bones condicions del pacient.

4. BLOC PRÀCTIC: LÍNIES D'INVESTIGACIÓ ACTUAL A CATALUNYA

4.1 Objectius específics

Els objectius genèrics del treball de recerca es concreten en aquest apartat pràctic, de manera que es poden desglossar en quatre punts:

1. Presentar les línies d'investigació que es porten a terme a Catalunya:
 - Visita al centre d'investigació de l'Hospital Sant Joan de Déu
 - Visita a l'Institut de Recerca de l'Hospital Vall d'Hebron
 - Visita a l'Institut d'Investigació de Ciències de la Salut Germans Trias i Pujol

Amb aquestes visites, a més de conèixer acuradament la investigació que s'està portant a terme actualment amb cèl·lules mare a Catalunya, també es vol aconseguir una visió general de la metodologia del treball científic del dia a dia.

2. Realitzar una síntesi de publicacions específiques a revistes científiques relacionades amb cèl·lules mare i els seus marcadors específics, cèl·lules mare tumorals i aplicacions de les cèl·lules mare en cardiologia.
3. Ponderar la influència dels aspectes ètics en l'estudi amb cèl·lules mare, tenint en compte dos punts de vista contraris: la visió catòlica i la visió dels professionals que hi treballen.
4. Conèixer possibles carreres universitàries que permetin la sortida professional en el camp de la investigació, situar la investigació catalana a nivell mundial o europeu en aquest àmbit i analitzar com afecta aquesta professió en el terreny familiar a través d'entrevistes a científics.

4.2 Línies d'investigació actuals

4.2.1 Centre d'investigació de l'Hospital Sant Joan de Déu

4.2.1.1 Fundació Sant Joan de Déu

La Fundació Sant Joan de Déu és la fundació que té com a objectiu treballar conjuntament amb els hospitals i centres de Sant Joan de Déu per ampliar el coneixement científic i millorar l'atenció sanitària a les persones que pateixen problemes de salut. Així doncs, el que pretén és crear un àmbit d'actuació conjunt dins els camps de recerca, en les àrees biomèdica i assistencial, dels centres de l'hospital.



La recerca de la Fundació abasta set àrees de coneixement:

- Càncer del desenvolupament
- Desenvolupament neuronal i malalties metabòliques
- Malalties en l'edat adulta d'origen fetal o en els primers anys de vida
- Malalties infeccioses i resposta inflamatòria sistèmica en pediatria
- Etiopatogènia i tractament dels trastorns mentals greus
- Tecnologies sanitàries i resultats en Atenció Primària i Salut Mental (PRISMA)
- Recerca i innovació en cirurgia

La part de recerca on treballen els investigadors és a l'Edifici Docent Sant Joan de Déu, que es troba just davant de l'hospital al carrer Santa Rosa, al municipi d'Esplugues del Llobregat.

4.2.1.2 Càncer del desenvolupament

Centrant-nos en l'àrea del càncer del desenvolupament, aquesta es basa en una investigació clínica, translacional i bàsica dels tumors del desenvolupament. El seu objectiu principal és portar a terme totes les tècniques de biologia molecular i cel·lular necessàries pel diagnòstic, pronòstic i seguiment dels pacients afectats de tumors del desenvolupament, i també trobar una millora pels tres processos.



34. Grup de recerca del càncer del desenvolupament

4.2.1.3 Línies de recerca

Les línies de recerca que tenen actualment són:

- Neuroblastoma
- DIPG
- Sarcoma d'Ewing
- Leucèmia i hemopaties no malignes
- Retinoblastoma
- Biobanc i diagnòstic molecular
- Limfoma

Aquesta àrea de recerca està formada per un equip de professionals que porten a terme totes aquestes línies d'investigació. Vam poder estar amb un d'ells, l'investigador Angel Montero Carcaboso, i amb el seu equip, que són els que participen a les tres

primeres línies que hem mencionat anteriorment, és a dir, a la del neuroblastoma, el DIPG i el sarcoma d'Ewing.

Específicament, a la investigació en gliomes, es basa en la presència de les cèl·lules mare tumorals per poder cultivar-los.

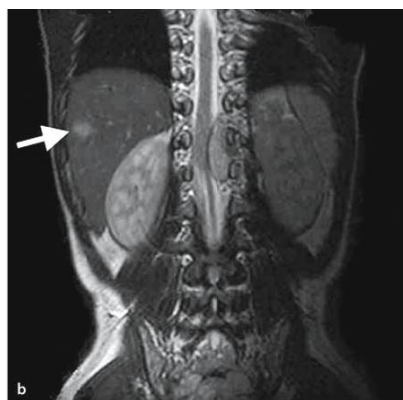
Abans d'explicar les línies de recerca en qüestió, fem una breu explicació d'aquestes tres malalties:

a) Neuroblastoma

El neuroblastoma és un tipus de càncer infantil que es forma al teixit nerviós. De forma general sol començar a les glàndules suprarenals que s'ubiquen a la part superior dels ronyons. Tot i això, també pot començar al coll, al pit o a la medul·la espinal. El més freqüent és que es diagnostiqui durant el primer any de vida o fins als tres anys, tot i que també pot aparèixer abans del naixement. És un tipus de tumor agressiu, amb una alta mortalitat i amb una afectació de l'estat molt important.



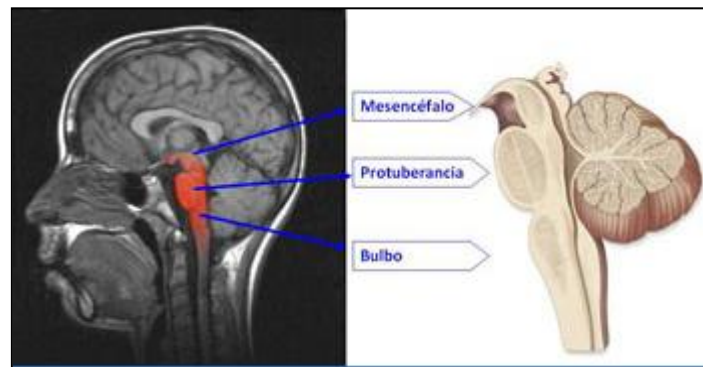
35. Neuroblastoma retroperitoneal (fletxa negra) amb extensió de la malaltia on es pot veure metàstasi de fetge (fletxes blanques)



Aquests tumors, a més, se solen diagnosticar de manera accidental durant l'avaluació d'un traumatisme, una infecció o per símptomes respiratoris. Gairebé en tots els casos, quan es detecta ja s'ha disseminat cap a altres parts del cos.

b) Tumors de tronc

Aquests tumors es localitzen al tronc cerebral, que és l'estructura del sistema nerviós que connecta entre si la medul·la espinal, el cervell i el cerebel. El tronc cerebral és una part dels nostre cos essencial per un bon funcionament, ja que al seu interior hi ha diversos nuclis reguladors i és l'origen de multitud de nervis que regulen des de funcions com la respiració i el ritme cardíac fins al control de la majoria dels músculs i la coordinació de l'equilibri.



36. Estructura bàsica del tronc

Entre els símptomes més comuns hi ha els problemes de coordinació, equilibri, dificultat o incapacitat de caminar, moviment de braços o mans, paràlisi dels músculs facials i fins i tot incapacitat per parlar o empassar qualsevol aliment sòlid o líquid.

Els tumors de tronc representen aproximadament el 20% dels tumors cerebrals infantils. Això significa que hi ha uns 20 nous casos anuals a Espanya i uns 200 als Estats Units. Els tumors cerebrals són els tumors sòlids (que formen una massa) infantils més freqüents, i el segon tipus de càncer infantil per número de casos després de les leucèmies.

La majoria dels tumors de tronc pertanyen al grup de tumors del SNC, englobat sota el nom genèric de gliomes. Els gliomes són, tal com el seu nom indica, tumors d'origen glial i poden aparèixer en qualsevol part del cervell o de la medul·la espinal. El cas del

glioma de tronc sol trobar-se exclusivament en nens, al voltat d'una franja d'edat entre els 5 i 7 anys tot i que també es pot diagnosticar en nens d'altres edats.

Un tipus de classificació dels tumors de tronc és segons el tipus específic de cèl·lules que els originen. En aquest cas diferenciem:

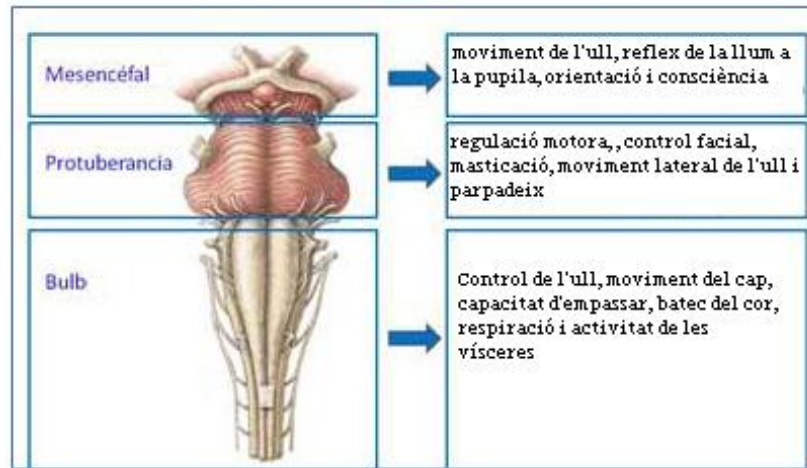
- Ependimomes (cèl·lules ependimàries)
- Gliomes :
 - Astrocitomes (astròcits) pilocítics (bon pronòstic)
 - Astrocitomes anaplàsics (pronòstic més greu)
 - Glioblastoma multiforme (el més agressiu)
- Oligodendrogliomes (oligodendròcits)

Un altre tipus de classificació és en funció de la morfologia o forma que presenten:

- Focals: el tumor està ben delimitat i té una forma ben diferenciada respecte a l'estructura del tronc cerebral (es pot diferenciar del teixit sa).
- Difusos: el tumor no està delimitat sinó que infiltra les estructures normals del tronc i no és possible diferenciar el teixit sa.

Com a últim tipus de classificació, segons la zona del tronc on s'ubica:

- Part superior del tronc o mesencèfal (*midbrain*)
- Part central del tronc o protuberància (*pons*)
- Part inferior del tronc o bulb (*medulla oblongata*)



37. Funcions del tronc per regions

De forma resumida, el 80% dels tumors de tronc són gliomes difusos situats a la protuberància i només el 20% són focals, apareixen en qualsevol part del tronc però rarament a la protuberància.

Els gliomes difusos de la protuberància (DIPG) s'han de distingir clarament dels altres tant des del punt de vista de tractament com de pronòstic:

❖ DIPG (diffuse intrínsec pontine glioma)

Aquest tipus és el pitjor tumor de tronc que pot tenir un infant; desgraciadament, la majoria dels tumors de tronc són DIPG.

El DIPG és un glioma que creix des de la part central del tronc i infiltra els teixits normals de la protuberància fent impossible la seva delimitació. Durant la seva progressió segueix unes vies de disseminació característiques on destaca el fet que no es pot difondre cap avall (cap al bulb) a causa de la barrera anatòmica que suposen les fibres que descendeixen cap a la medul·la.

És un tipus de tumor impossible d'eliminar mitjançant la cirurgia i inclús és pràcticament impossible fer-ne biòpsies degut a les característiques d'infiltració i a la seva ubicació a l'interior del tronc. És per això que es diagnostica habitualment només per imatge a través de la ressonància magnètica.

c) Sarcoma d'Ewing

El sarcoma d'Ewing és un tumor que es desenvolupa als ossos o als teixits tous propers als ossos. Sol afectar els adolescents, sobretot del gènere masculí, i, tot i que es pot

trobar a qualsevol part del cos, és freqüent a l'húmer, la tibia, al fèmur, a les costelles i a la pelvis.

Actualment el seu tractament inclou una combinació de quimioteràpia, cirurgia i també radiació. Si es fa un diagnòstic precoç i un tractament apropiat molts dels infants tenen moltes possibilitats de recuperació, tot i que no sempre és així.



38. Sarcoma d'Ewing a la tibia

4.2.1.4 Línies d'investigació del neuroblastoma

Tornant a les línies d'investigació que estan portant a terme l'Angel Montero i el seu equip, començarem per la del neuroblastoma.

En aquest cas, l'investigador Angel Montero no participa en tots els projectes, sinó només a alguns d'ells. Els projectes que té són:

- Farmacologia pre-clínica i translacional en neuroblastoma.
- Quimioteràpia dirigida amb nanopartícules recobertes d'anticossos antineuroblastoma.
- Distribució limitada de fàrmacs al microambient tumoral com a causa de quimio-resistència en neuroblastoma.

4.2.1.5 Línia d'investigació del DIPG

La segona línia d'investigació relacionada és la del DIPG, la qual es basa en la definició de les característiques pronòstiques dels diferents gliomes pediàtrics, i que té com a objectiu millorar el pronòstic dels pacients amb glioma d'alt risc mitjançant nous tractaments.

En aquest cas, el seu projecte principal és:

- Cerca de nous tractaments pels tumors cerebrals : model animal de tumor difús de tronc cerebral i teràpia vírica.

4.2.1.6 Línia d'investigació del sarcoma d'Ewing

Com a última línia d'investigació d'aquest camp hi ha la del sarcoma d'Ewing, que es basa en estudiar-ne l'origen i la caracterització fenotípica i genotípica dels diferents subtipus clínics. En aquest cas també s'investiga l'existència de cèl·lules mare tumorals o progenitores, i es pretén millorar el tractament dels pacients a través de l'estudi de la farmacologia preclínica.

En aquest cas ell no té cap projecte específic, sinó que col·labora amb altres investigadors per establir models animals de la malaltia que els permetin experimentar sobre noves dianes terapèutiques. Els projectes de la línia són:

- Assaig clínic fase II no controlat multicèntric i prospectiu de quimioteràpia intensiva, cirurgia i radioteràpia en tumors de la família del sarcoma d'Ewing en nens, joves i adults.
- Estudi multicèntric de tractament dels tumors de la família del sarcoma d'Ewing en nens i adults joves.

4.2.1.7 Visita a l'Hospital Sant Joan de Déu

Vam tenir la sort de poder anar un dia a veure com treballen i que ens expliquessin personalment la seva metodologia de treball i la investigació que porten a terme l'investigador Angel Montero i el seu equip.

Primer de tot ens van parlar dels seus estudis. Aquests es basen en l'estudi de tumors del sistema nerviós, sobretot tumors cerebrals com és el cas del DIPG, dels ependimomes i els neuroblastomes del sistema nerviós perifèric.

De forma general, ens van explicar que per poder estudiar aquests tumors el que fan és utilitzar mostres de pacients de l'hospital (sempre amb el seu consentiment) per fer-ne cultius i posteriorment estudiar-los. Aquí és on comença el paper de les cèl·lules mare tumorals, que explicarem posteriorment.

A més de fer aquests cultius, també treballen amb animals de laboratori, que són rates i ratolins immunodeprimits. Han d'estar immunodeprimits ja que se'ls posen tumors humans, perquè sinó el seu sistema immunològic els rebutjaria. Per treballar amb aquests animals es necessiten moltes regulacions ètiques, tant per part de la Generalitat com pel comitè de Barcelona. A més, s'ha de tenir un consentiment firmat pels pares dels pacients (ja que els pacients són menors) que digui que han estat informats i accepten que s'utilitzin els seus tumors per això.



39. Àrea denominada SPF (Specific Pathogen Free), condicionada especialment (aire filtrat i condicions especials de neteja) per poder mantenir animals immunodeprimits.



Abans d'introduir l'aplicació de les cèl·lules mare que utilitzen per fer els seus cultius, fem una petita explicació de la funció i l'estructura del laboratori d'oncologia i d'altres funcionaments de l'hospital que vam poder veure quan hi vam anar.

El laboratori d'oncologia on treballen està vinculat a la part d'oncologia de l'Hospital Sant Joan de Déu. Això implica que hi ha una relació entre ells. El que es fa és que al laboratori es busquen projectes aplicats a problemes que presenten alguns pacients, tot i que no es dediquen a la teràpia individualitzada. La teràpia individualitzada consistiria en fer créixer el tumor d'un pacient en concret per buscar-ne les dianes terapèutiques, buscar a través de literatura nova si s'ha descobert algun possible tractament nou en revistes i articles... Aquest tipus de teràpia s'aplicaria quan ja s'han exhaurit les opcions terapèutiques conegudes per un pacient, és a dir, quan el tumor del pacient progressa tot i l'acció de les teràpies convencionals que se li apliquen.

El laboratori es divideix en dues parts, les zones de cultius i les zones de taules, on treballen els diferents científics, i a més té la zona on hi ha els animals de laboratori que està a una altra planta.

Per últim, a més de poder presenciar una inserció subcutània de fragments tumorals humans a dos ratolins, vam assistir al que ells anomenen *Tumor Board*, que és una sessió clínica. En aquesta sessió es reuneixen cirurgians, oncòlegs, patòlegs, fisioterapeutes, investigadors, etc. Es parla i es discuteixen els casos més complicats o difícils de diagnosticar i s'intenta arribar a una conclusió comuna.

Centrant-nos, ara sí, en les cèl·lules mare tumorals, anem a veure en què es basen al laboratori de cultiu cel·lular:

Els tumors són masses de cèl·lules mal organitzades que tenen els vasos mal estructurats i amb problemes, i per això un dels símptomes que poden presentar és que sagnin. Actualment, quan s'utilitzen els fàrmacs per eliminar-los es troben amb diversos problemes:

- Alguns òrgans com el cervell tenen una espècie de barrera que no els deixa entrar i per tant si hi ha un tumor a aquesta zona el fàrmac no hi arriba tan bé.
- Altres tumors ja presenten barreres per si sols.

- Els fàrmacs aconsegueixen eliminar les cèl·lules que formen la gran massa del tumor però no les cèl·lules mare tumorals, originàries d'aquest. Així doncs, aquestes cèl·lules continuen presents dins l'individu i posteriorment poden ser les causants que el tumor torni a aparèixer. El fet que aquestes cèl·lules en qüestió en alguns casos no s'eliminin, es deu a que han originat mecanismes que els permeten que el fàrmac no les pugui afectar, com seria el cas de les bombes de flux, que tenen la funció d'expulsar cap a l'exterior el fàrmac quan aquest entra dins la cèl·lula.

Per aquest motiu, la investigació busca la manera de trobar les estratègies necessàries per tal que els fàrmacs quimioterapèutics puguin travessar les barreres dels tumors. Actualment en presenten dues de possibles:

- Fàrmacs inhibidors de les bombes de flux
- Noves tecnologies: nanopartícules que aconsegueixen augmentar la concentració de fàrmacs dins del tumor.

Per estudiar-ho s'utilitza una màquina que s'anomena HPLC, la qual analitza la concentració de fàrmac que hi ha dins d'una mostra del tumor. Per aconseguir la mostra s'utilitza la tècnica de la microdiàlisi, que es basa en la introducció d'una sonda buida finíssima composta d'una membrana semipermeable dins el tumor, a través de la qual es fa passar un líquid fisiològic. Els fàrmacs del microambient tumoral passen de la zona més concentrada (tumor) a la menys concentrada (interior de la sonda) a través de la membrana semipermeable.



40. A l'àrea de HPLC

En aquest laboratori es treballa sempre amb campanes per evitar la contaminació dels cultius, que es sembren en plaques i es posen en incubadores perquè creixin. Seguidament s'observen cultius al microscopi i es busca la presència de neurosfères a la mostra, cosa que implica la presència de cèl·lules mare tumorals.



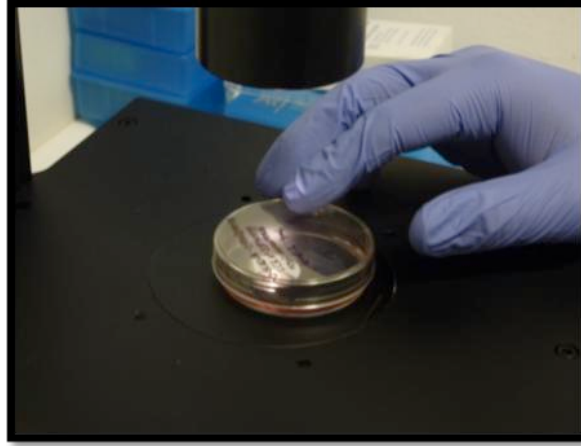
41. A la sala de cultius, amb la incubadora i el microscopi òptic



Com que les cèl·lules que es van proliferant indefinidament i que acaben donant lloc a tota la massa del tumor són les cèl·lules mare tumorals, per fer els seus cultius es basen en la utilització d'aquestes cèl·lules. La característica principal que presenten aquestes quan s'observen pel microscopi és la formació de neurosfères.

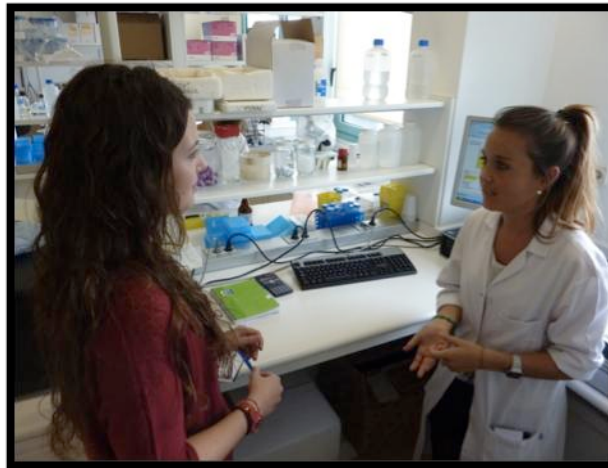
Una neurosfera és una estructura formada per un conjunt de cèl·lules que estan proliferant. Les neurosfères estan formades per un conjunt de cèl·lules les quals no són ni totes mare ni totes diferenciades, és a dir, no totes les cèl·lules que la formen són mare, però se sap segur que la cèl·lula que l'ha originat sí que ho és. Té una forma

arrodonida i que és present als cultius cel·lulars tumorals. A diferència dels altres cultius cel·lulars, les neurosfères no s'enganxen a la placa i van creixent així, sinó que es troben en suspensió de manera que podríem dir que estan flotant.



42. Placa petri amb cultiu de neurosfères d'ependimoma

Un altre aspecte a destacar és que els cultius de cèl·lules mare (CM) es diferencien dels altres perquè s'han de fer en un medi especial. Aquest medi es caracteritza per no tenir sèrum, ja que el que es vol és que no es diferenciïn i si n'hi hagués sí que es diferenciarien. Així doncs, aquests cultius no tenen sèrum FBS (Fetal Boví Suero), però sí que han de tenir obligatòriament un conjunt de factors de creixement concrets.

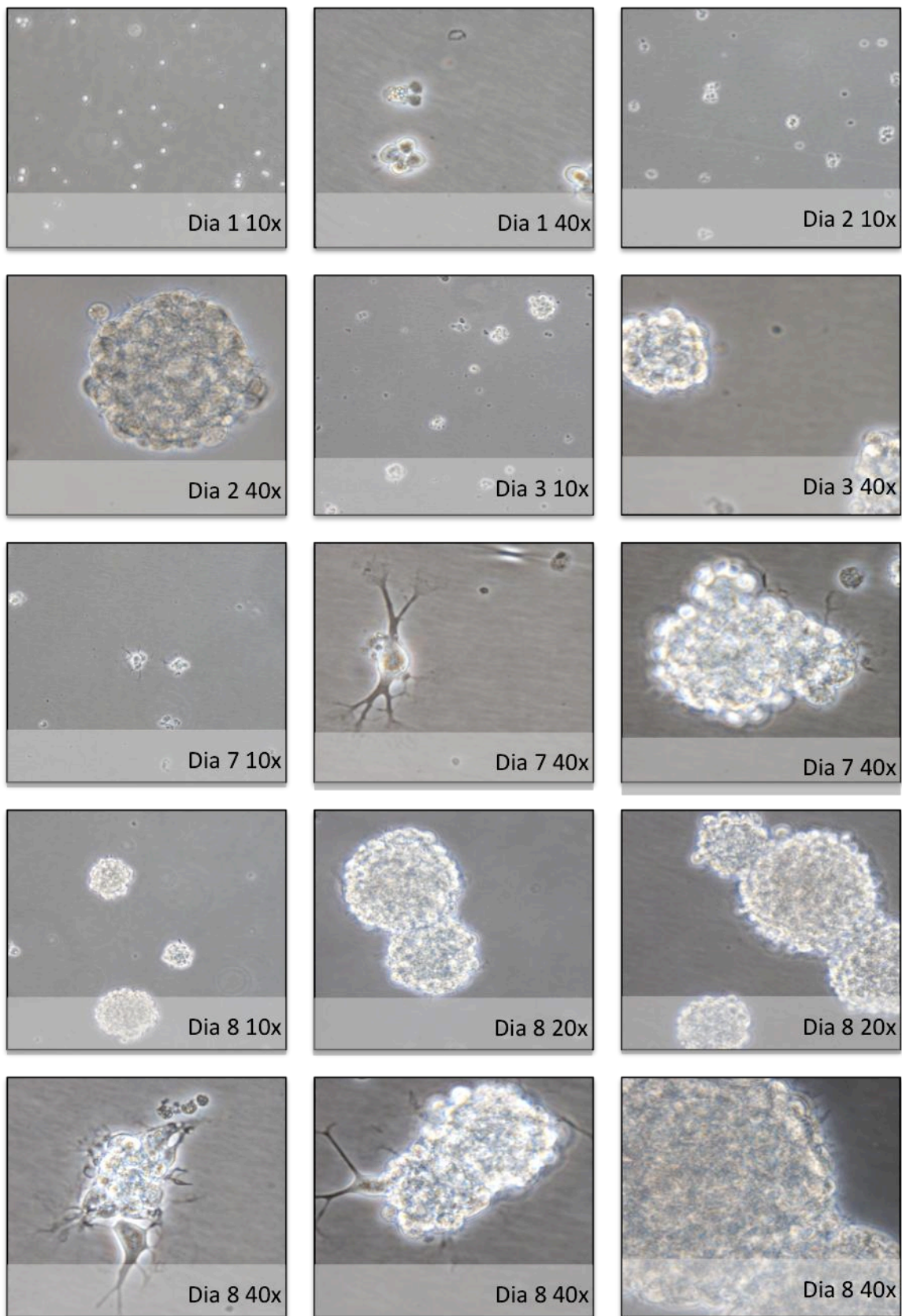


43. Amb la Nagore Gené, estudiant d'últim curs de la carrera de biomedicina, que durant aquest curs 2012-2013 està realitzant les seves pràctiques en el grup de l'Angel.

Com a última cosa a destacar, en aquests moments aquest equip està aconseguint cultivar un tipus de tumor que només s'ha aconseguit fer en una ocasió arreu del món. Aquest tumor és el DIPG, i la dificultat que presenta és que per la seva situació al

sistema nerviós és pràcticament impossible de biopsiar. Ells ho estan aconseguint a partir d'una mostra d'un pacient que va morir, la família del qual va tenir la generositat de permetre l'autòpsia i la recollida de mostres del tumor per la investigació.

Aquí tenim les imatges que s'han pogut observar al microscopi, on es veu el procés de la mostra, com va proliferant, i on també es veuen clarament les neurosfères, algunes d'elles fusionant-se entre si:



44. Cultiu DIPG, cortesia de Nagore Gené

4.2.1.8 Publicacions científiques

Com en qualsevol altre grup de recerca, aquest equip quan aconsegueix un objectiu publica els seus resultats a revistes científiques.

Aquest fet és molt important, perquè permet que els nous descobriments arribin als científics d'arreu del món, i que puguin comprovar-ne els resultats com també les aplicacions. Això fa que els avenços d'un equip puguin afavorir els altres o, en el cas de la medicina, donar opcions a nous tractaments a pacients on les alternatives s'estan acabant.

És per això que anteriorment hem mencionat que un dels aspectes de la teràpia individualitzada és buscar literatura científica.

4.2.1.9 Futur de l'àrea

Segons la visió d'Àngel Montero, en un futur no molt llunyà s'hauran descobert la majoria de les CM tumorals, cosa que permetrà aconseguir moltes noves teràpies. Tot i això, la seva incertesa clínica li diu que no serà tan fàcil aconseguir que l'eficàcia d'aquestes teràpies s'incrementi de forma considerable. És per això que creu que la clau no és altra que la combinació de diversos tractaments:

1. Primer de tot, una part dels fàrmacs estaria formada per medicaments existents, és a dir, per la quimioteràpia clàssica.
2. En segon lloc tindríem els fàrmacs específics que es trobaran per atacar directa i exclusivament les cèl·lules mare tumorals en qüestió.
3. En tercer lloc es trobarien les dianes terapèutiques, que permetrien atacar solament el tumor actuant només on fossin necessàries, cosa que significaria menys toxicitat per l'individu.
4. En quart lloc hi hauria també uns nous tractaments que permetrien modificar l'estroma del tumor, és a dir, la seva estructura i per tant contribuirien a millorar l'acció dels fàrmacs i la seva arribada a totes les cèl·lules malignes.

5. Per últim la combinació actuària amb l'ús de la nanotecnologia. Això significa que nous avenços farmacèutics permetrien millorar la penetració dels fàrmacs dins les cèl·lules, evitant, per exemple, les bombes de flux que tenen les CM tumorals.

4.2.2 Institut de Recerca de l'Hospital Vall d'Hebron

4.2.2.1 Vall d'Hebron Institut de Recerca (VHIR)

El Vall d'Hebron Institut de Recerca (VHIR) és un centre capdavanter en recerca biomèdica. Gràcies a la seva relació amb un hospital de tercer nivell com és l'Hospital Vall d'Hebron, té una posició molt competitiva, a més de la seva col·laboració amb altres parcs científics, universitats i instituts de recerca.



El VHIR orienta la recerca a la resolució de problemes de salut humana i a la millora assistencial, i a la vegada promou tasques de valorització i transferència dels resultats de la recerca al sector productiu.

El centre compta amb un equip de més de 1.000 professionals que engloben 10 àrees de recerca, cada una formada per diferents grups. Aquestes àrees són:

1. Oncologia
2. Endocrinologia i nefrologia
3. Malalties cardiovasculars
4. Neurociències
5. Malalties digestives i hepàtiques
6. Malalties infeccioses
7. Malalties respiratòries i sistèmiques
8. Malalties ginecològiques, pediàtriques i cirurgia experimental
9. Epidemiologia, farmacologia, noves teràpies i àrees de suport a la recerca clínica
10. Nanomedicina

4.2.2.2 Unitat de recerca biomèdica i oncologia translacional i pediàtrica

La unitat d'oncologia està enfocada a la investigació molecular translacional de diversos càncers com són el de pròstata, endometri, ovari, pàncrees, neuroblastoma pediàtric i rabdomiosarcoma.

El que es busca és identificar i caracteritzar les noves molècules que podrien tenir un paper rellevant en la transformació d'una cèl·lula cap a cèl·lula neoplàsica i en el creixement, la progressió o la disseminació d'aquests tumors. Tots els seus projectes estan basats en necessitats clíniques que encara no estan resoltes.

Per fer-ho, utilitzen models experimentals, desenvolupen noves estratègies d'investigació, estudien molècules de matriu extracel·lular, etc.

El seu objectiu és identificar molècules noves i valuoses amb marcadors biològics que permetin millorar el diagnòstic, el pronòstic i la teràpia dels càncers.

4.2.2.3 Línies de recerca

Actualment aquesta àrea de coneixement té les línies de recerca següents:

- Laboratori d'investigació uròloga translacional
- Laboratori d'oncologia ginecològica
- Laboratori de senyalització de cèl·lules i de la progressió del càncer
- Laboratori d'investigació translacional de càncer pediàtric
- Laboratori de bioenginyeria i interaccions cel·lulars
- Laboratori de cèl·lules mare i càncer

Centrant-nos amb el laboratori d'investigació translacional de càncer pediàtric, la seva investigació es basa en la millora de l'eficàcia de les teràpies contra el càncer pediàtric. Actualment la supervivència infantil i adolescent amb neoplasmes malignes oscil·la al voltant dels 70% als països occidentals, però, tot i això, hi ha un número considerable de pacients que tard o d'hora recauen degut a neoplàsies progressives o refractàries a les teràpies.

El diagnòstic molecular, la detecció de la malaltia microdisseminada i la recerca de noves estratègies terapèutiques ajudarien molt a millorar els resultats dels tractaments corrents per aquests càncers. Aquest grup d'investigadors en concret està enfocat a:

- Diagnòstic molecular de tumors malignes en nens: neuroblastoma, sarcoma d'Ewing, sarcomes de teixit tous, nefroblastoma i tumors cerebrals.
- Anàlisi de l'impacte del pronòstic de la malaltia mínima disseminada (MDD)
- Recerca de noves dianes moleculars en nens amb càncer.

Aquesta àrea de recerca està formada per un equip de professionals que porten a terme totes aquestes línies d'investigació. Vam poder estar amb un d'ells, l'investigador Josep Roma Castanyer, que ens va poder ensenyar les instal·lacions on treballen a més d'explicar-nos la investigació que està portant a terme actualment.

El que ens va explicar va ser la investigació del rabdomiosarcoma. Abans d'explicar-ne els objectius i la metodologia, fem una breu explicació d'aquesta malaltia:

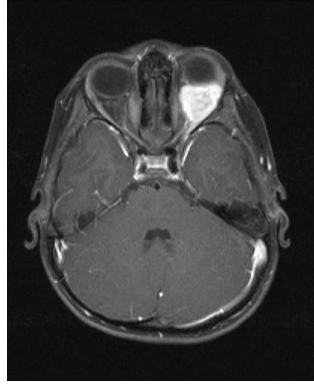
a) **Rabdomiosarcoma**

El rabdomiosarcoma és un tumor maligne que es desenvolupa als teixits tous, generalment als músculs. Tot i que pot afectar a qualsevol part del cos, sol trobar-se al cap, al coll, a la bufeta, a la vagina, al tronc i sobretot a les extremitats.

Les cèl·lules que formen aquest tumor solen créixer ràpidament i produeixen metàstasi a altres parts del cos.

Aquest càncer és el càncer infantil de teixits tous més comú. Els infants poden desenvolupar-lo a qualsevol edat, tot i que el més comú és entre els dos i sis anys, i entre els 15 i els 19. A més, s'ha vist que afecta a una proporció més alta de nens que de nenes.

El tractament actual pel rabdomiosarcoma inclou quimioteràpia, cirurgia i radioteràpia, i si es detecta precoçment i es tracta a temps la majoria dels nens es recuperen de forma total.



45. Rhabdomioma situat al nervi ocular

Existeixen dos tipus principals de rhabdomioma infantil:

- a. Rhabdomioma embrionari: es desenvolupa predominantment a la zona del cap i el coll, als genitals i a les vies urinàries. Generalment afecta nens menors de 6 anys i, tot i que es considera un tipus de tumor agressiu (de creixement ràpid), sol respondre força bé als tractaments.
- b. Rhabdomioma alveolar: aquest tipus, que es presenta sobretot a l'adolescència, afecta amb major freqüència als braços o les cames, al tòrax, l'abdomen i la zona genital i anal. També creix ràpidament però sol ser més difícil de tractar. La majoria dels nens que el desenvolupen necessiten un tractament molt intens.

Tot i que no se sap quina és la causa que provoca el rhabdomioma, el que sí que es creu és que es pot començar a desenvolupar abans del naixement. Això seria causat per una mutació o error genètic durant el desenvolupament del fetus, que afectaria les cèl·lules destinades a formar teixit muscular. El que també s'ha descobert és que certes malalties afavoreixen el risc de patir aquest càncer infantil. Entre elles hi ha diverses malalties genètiques:

- Síndrome de Li-Fraumeni: és un trastorn hereditari autosòmic dominant que predisposa els nens a desenvolupar certs tipus de càncer.
- Neurofibromatosi: és un trastorn genètic autosòmic dominant del sistema nerviós que afecta principalment al desenvolupament i creixement dels teixits de les cèl·lules nervioses. Aquest trastorn ocasiona tumors que creixen en els nervis i també produeix altres anomalies com canvis a la pell i deformitats als ossos.

- Síndrome de Beckwith-Wiedemann: és una malaltia genètica. Els pacients presenten de forma típica vísceres fora de la zona abdominal, llengua gran i pes elevat al néixer.
- Síndrome de Costello i síndrome de Noonan: malalties d'origen genètic autosòmic dominant que afecten moltes parts del cos. Els símptomes principals consisteixen en retard mental i físic, trets facials particulars, plecs profunds de la pell, flexibilitat inusual en les articulacions i anomalies cardíaques.

Per acabar, els símptomes depenen de la mida i de la localització del tumor. A vegades es pot observar un bony o notar una inflamació dolorosa, però d'altres el tumor pot estar ocult profundament dins el cos sense que produeixi cap símptoma.

Quan es localitza al cap, el rabdomiosarcoma pot provocar dolor, ulls sortits o parpelles caigudes. Al sistema urinari, pot provocar dificultats a l'hora d'orinar, o també l'aparició de sang a l'orina o a la femta. En cas que el tumor, localitzat a un múscul, pressioni un nervi, pot produir formigueig o debilitat a la zona en qüestió.

4.2.2.4 Laboratori d'investigació translacional de càncer pediàtric

L'objectiu principal de la investigació del rabdomiosarcoma és aïllar-ne les seves cèl·lules mare per poder estudiar els perfils d'expressió d'aquesta població cel·lular. Aquest estudi hauria de permetre identificar nous objectius terapèutics que acabarien amb la resistència d'aquestes cèl·lules envers la quimioteràpia.

4.2.2.5 Visita al VHIR

Vam tenir la sort de poder anar a veure les instal·lacions del VHIR i a més, poder escoltar les explicacions que ens va fer el científic Josep Roma sobre alguns dels seus estudis allà mateix.

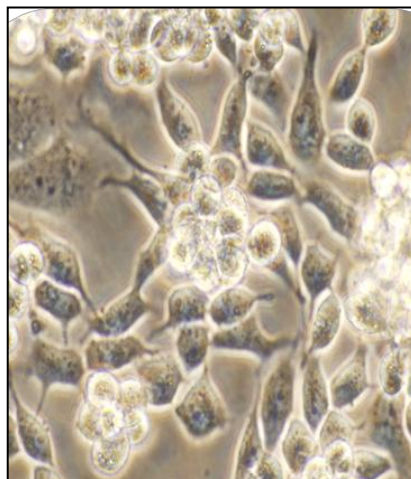
Després d'aclarir les característiques bàsiques de les cèl·lules mare tumorals, ens va parlar més concretament de l'estudi sobre les cèl·lules mare tumorals del rabdomiosarcoma.

L'objectiu que tenen ells actualment és aconseguir aïllar les cèl·lules tumorals de la resta de cèl·lules somàtiques que hi ha en aquests tumors, per tal d'aconseguir o bé matar-les, o bé fer-les diferenciar.

El fet que fer-les diferenciar sigui una alternativa a matar-les és degut a que, si de tota la massa del tumor les tumorals són les úniques capaces de fer-lo proliferar o de produir metàstasi, si no s'aconsegueix la manera de matar-les però si que s'aconsegueix que es diferenciïn, llavors, tot i que seguirien estant presents en l'individu, no tindrien capacitat de proliferació i, per tant, deixarien de ser un problema.

Per començar, si es vol investigar sobre aquestes cèl·lules el que cal és poder-les aïllar de la resta. Per aconseguir això, ens van explicar que hi ha tres possibles maneres de fer-ho:

- A partir de marcadors cel·lulars: si es coneixen els marcadors que presenten aquestes cèl·lules, a través de diferents mecanismes i tècniques de laboratori es poden aïllar. Tot i això, hi ha varis tipus de càncers dels quals se'n desconeixen els marcadors.
- Una altra opció és si aquestes cèl·lules formen esferes en els medis de cultiu. En cas que es faci un cultiu i a mesura que es va observant es troben neurosfères, es pot determinar que aquestes s'han format inicialment per cèl·lules mare tumorals del tumor en qüestió, i per tant poden anar aïllant-les. El problema en aquest cas apareix ja que no totes les cèl·lules mare tumorals tenen tendència a formar esferes.

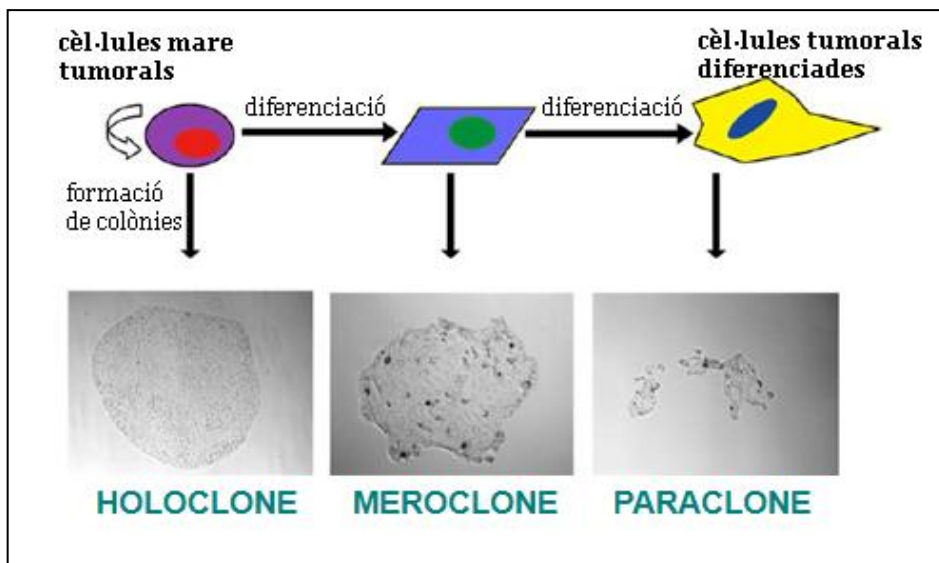


46.Rabdosferes

- Per últim, i el mètode en què més es basa aquest equip d'investigació, és en la formació de colònies. Resulta que les cèl·lules s'organitzen fent una distribució

determinada segons les seves característiques. Així doncs, un conjunt de cèl·lules mare formaran una estructura definida i ben estructurada que és la que s'anomena holoclone, mentre que d'altres, que seria el cas de les cèl·lules diferenciades, formaran el que s'anomenen meroclones o paraclones.

Seguint aquesta norma ells poden analitzar les mostres i observar detalladament si es formen holoclones o no, i, segons això, ja sabran si tenen en aquella mostra una població de cèl·lules mare tumorals o no.



47. Esquema que relaciona les diferents cèl·lules del tumor amb la corresponent formació de colònies

Com es pot veure en l'esquema, dins de la massa del tumor hi trobem diferents tipus de cèl·lules les quals tenen diferents graus de diferenciació. En el cas de les cèl·lules mare tumorals, les menys diferenciades, són les que formen els holoclones, unes cèl·lules intermèdies ja més diferenciades que serien les que formarien els meroclones, i finalment les cèl·lules tumorals no mares que són les que formen els paraclones.

Gràcies a un dels tres mecanismes, un cop han aconseguit aïllar aquestes cèl·lules, el que es tracta és d'anar provant diferents substàncies que representen possibles tractaments per la malaltia i observar-ne l'evolució. En el cas de les colònies, si s'observa que gràcies a una substància la mostra deixa de formar holoclones per formar mero o paraclones, això voldria dir que s'està aconseguint que les cèl·lules mare

tumorals del tumor en qüestió s'estan diferenciant en la seva pràcticament totalitat, de manera que s'aconseguiria un dels dos objectius plantejats al començament.

Actualment el seu estudi està en una fase força inicial, tot i que ja comencen a identificar-les i les han començat a introduir en ratolins immunodeprimits i també a provar-los-hi diversos tipus de drogues.

4.2.2.6 Publicacions científiques

L'investigador Josep Roma ha publicat diversos articles científics al llarg de la seva carrera, però d'aquesta investigació en concret de la línia del rhabdomyosarcoma encara no se n'ha publicat cap, tot i que segurament aviat en faran alguna cosa. Tot i això, sí que conjuntament amb el seu equip n'han publicat d'altres temes.

4.2.2.7 Futur de l'àrea

Segons la visió de Josep Roma, un cop aïllades les cèl·lules mare tumorals es procedirà a la seva caracterització molecular per identificar vies importants pel seu manteniment. Un cop identificades les vies, s'assajaran inhibidors específics d'aquestes per intentar bloquejar el seu creixement o per induir la seva diferenciació en cèl·lules menys malignes.

Tot això es farà tant *in vitro* com *in vivo*, utilitzant models animals (estudis preclínic). Si alguna de les molècules estudiades funcionés correctament, el fàrmac en qüestió podria entrar en fase clínica (proves en un grup reduït de pacients). Aquest seria l'objectiu final de la recerca.

Malgrat això, s'ha de tenir en compte que només un 2% dels fàrmacs que es proven en el laboratori acaben arribant finalment a fase clínica.

4.2.3 Institut d'Investigació de Ciències de la Salut Germans

Trias i Pujol

L'Hospital Universitari Germans Trias i Pujol (HUGTiP) és un dels grans hospitals universitaris de l'àrea de Barcelona que a més compta amb un centre associat dedicat a la investigació, l'Institut d'Investigació de Ciències de la Salut Germans Trias i Pujol (IGTP).



48. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol

4.2.3.1 Institut del Cor de Germans Trias i Pujol

L'Icor (Institut del Cor), que compta amb un equip de metges i investigadors d'origen multidisciplinari, va néixer amb l'objectiu de reunir els recursos i el talent necessaris per impulsar la investigació cardiovascular i així oferir una excel·lent atenció clínica.

El Servei de Cardiologia ha experimentat un increment significatiu en la seva activitat de recerca. S'ha convertit en un equip líder en algunes àrees científiques, especialment en insuficiència cardíaca i regeneració cardíaca (ha publicat més de 100 articles en revistes indexades des de l'any 2007). A més, ha obtingut quatre patents i participa en dos projectes del 7^o Programa Marc Europeu.

4.2.3.2 Instal·lacions i serveis

Les instal·lacions i serveis que fan possible la recerca són tres: l'Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, l'Institut d'Investigació en Ciències de la Salut Germans Trias i Pujol i els Models Experimentals.

D'una banda, l'iCor compta amb les instal·lacions i els serveis de l'hospital per a realitzar tasques de recerca, a més de l'Institut d'Investigació, que posa a disposició dels investigadors les seves instal·lacions i serveis científico-tècnics.



49. Institut d'Investigació de Ciències de la Salut Germans Trias i Pujol



Per altra banda hi ha els models experimentals. En el cas dels models experimentals, el seu equip s'ha especialitzat en el model experimental d'infart de miocardi. El que fan és provocar l'infart agut de miocardi en ratolins mitjançant la lligadura de l'artèria coronària descendent anterior, i en porcs l'artèria circumflexa. A més, han establert en l'espècie porcina el model d'infart crònic.

Aquests models permeten l'estudi exhaustiu dels mecanismes moleculars del 'infart de miocardi i la recerca de noves estratègies terapèutiques basades en la teràpia cel·lular i l'enginyeria de teixits.

4.2.3.3 Grups d'investigació de l'iCor

L'iCor compta amb diversos grups de recerca. Aquests són:

- Grup ICREC
- Grup de recerca en hemodinàmica i cardiologia intervencionista

- Grup de recerca en cardiologia clínica
- Grup de recerca en electrofisiologia
- Grup de recerca e imatge cardíaca
- Grup de recerca en cures intensives de cardiologia
- Grup de recerca en cirurgia cardíaca

L'equip amb qui vam poder estar és el grup ICREC.

4.2.3.4 Grup ICREC

El grup ICREC (Insuficiència Cardíaca i Regeneració Cardíaca) és un grup de recerca que el 2002 va publicar la primera evidència de la capacitat regenerativa del cor humà mitjançant l'estudi del quimerisme i els fenòmens de microquimerisme del cor.

Aquest grup treballa fent recerca bàsica i clínica en teràpia cardíaca amb cèl·lules mare procedents de diversos teixits i en enginyeria tissular desenvolupant pegats i estructures de polímers biocompatibles amb l'objectiu que sigui una recerca translacional.

L'equip té molta experiència en models animals d'infart, i també està desenvolupant experiència en l'àmbit clínic.

El coordinador és el Dr Antoni Bayés Genís, professor de medicina de la Universitat Autònoma de Barcelona i Cap del Servei de Cardiologia. Ha publicat en revistes de gran prestigi com New England Journal of Medicine, Circulation, JACC i European Heart Journal.



50. Grup d'investigadors de l'ICREC

4.2.3.5 Línies de recerca

Les línies de recerca que té l'iCor actualment són:

- Cèl·lules mare
- Enginyeria de teixits
- Miocardiopaties
- Factors pronòstics d'Insuficiència Cardíaca
- Bioimpedància
- Telemedicina
- Qualitat de vida i Insuficiència Cardíaca
- Projecte ECOPIH
- Assaigs clínics
- Nanopartícules terapèutiques
- Recerca en Cardiologia Intervencionista
- Recerca en Cures Intensives de Cardiologia
- Recerca en Imatge Cardíaca
- Pertinença a xarxes RETICS
- Col·laboració amb altres centres

Les línies de recerca que realitzen el grup ICREC són, de les mencionades anteriorment, les tres primeres. Abans d'explicar-les més detalladament, però, anem a aclarir l'estructura i el funcionament del cor i també l'infart de miocardi:

a) El cor

El cor és l'òrgan principal del sistema circulatori. És un òrgan musculós i cònic situat a la cavitat toràctica que funciona com una bomba, impulsant la sang a tot el cos.

La seva mida és una mica més gran que el puny de la persona en qüestió, i està dividit en quatre cavitats: dues de superiors, anomenades aurícula dreta i aurícula esquerra, i dues d'inferiors, anomenades ventricle dret i ventricle esquerre.

El cor és un bomba aspirant i impel·lent formada per dues bombes en paral·lel que treballen a l'uníson per enviar la sang cap a tots els òrgans del cos. Així doncs, les aurícules són cavitats de recepció, que envien la sang que reben cap als ventricles, que funcionen com a cavitats d'expulsió.

La part dreta del cor rep la sang poc oxigenada procedent de la vena cava inferior (VCI), que transporta la sang procedent del tòrax, l'abdomen i les extremitats inferiors, i la vena cava superior (VCS), que porta la sang de les extremitats superiors i el cap.

El recorregut que fa aquesta sang en el cor és el següent: la vena cava inferior o la superior deixen aquesta sang poc oxigenada a l'aurícula dreta del cor. Aquesta la traspasa al ventricle dret a través de la vàlvula tricúspide, i, des d'aquí, s'impulsa cap als pulmons a través de les artèries pulmonars, separades del ventricle dret per la vàlvula pulmonar.



51. Il·lustració del cor i venes i artèries principals.

Un cop aquesta sang passa pels pulmons i s'oxigena, torna a la part esquerra del cor a través de les venes pulmonars de manera que entra a l'aurícula esquerra. De l'aurícula passa al ventricle esquerre, els quals estan separats per la vàlvula mitral. Des del ventricle esquerre, a través de la vàlvula aòrtica, la sang es propulsa cap a l'artèria aorta per proporcionar oxigen a tots els teixits de l'organisme.

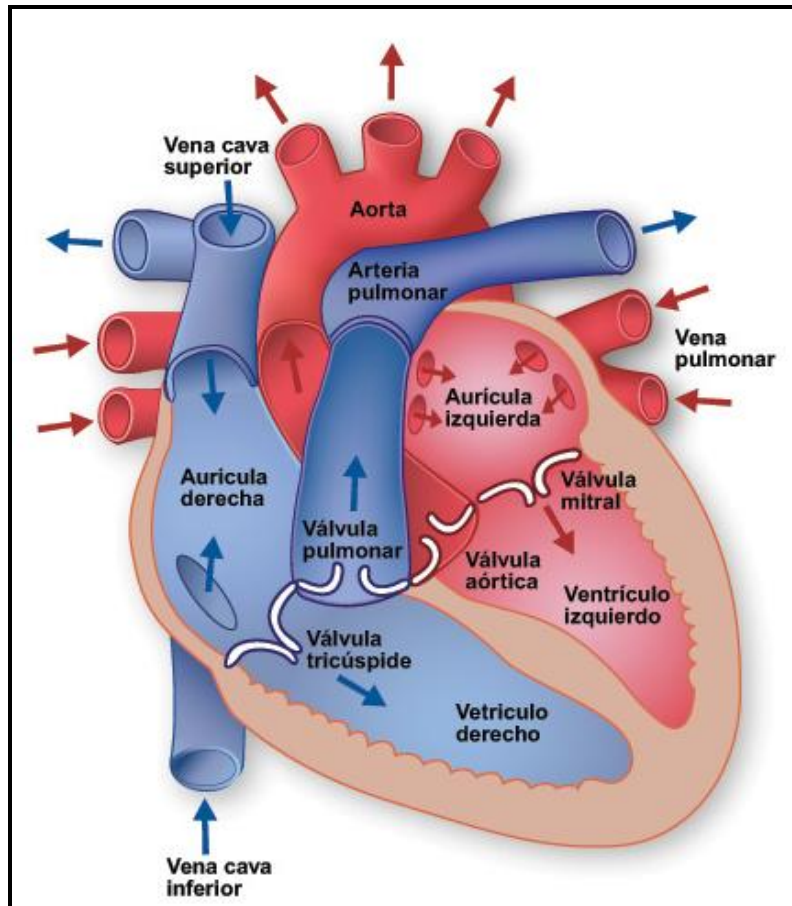
Un cop els diferents òrgans han captat l'oxigen de la sang arterial, la sang pobre en oxigen entra en el sistema venós i retorna al cor dret de manera que el cicle torna a començar.

Per tal d'impulsar la sang, el cor fa dos moviments diferents: la sístole i la diàstole.

S'anomena sístole a la contracció del cor ja sigui d'una aurícula o d'un ventricle, la qual expulsa la sang de la cavitat on es troba per anar o bé cap al ventricle, o bé cap als teixits.

S'anomena diàstole a la relaxació del cor per rebre la sang procedent dels teixits.

Un cicle cardíac està format per una fase de relaxació i ompliment ventricular (diàstole) seguida d'una fase de contracció i buidament ventricular (sístole).



52. Vista frontal d'un cor humà. Les fletxes indiquen el flux normal de la sang.

❖ Anatomia del cor

El cor està rodejat per una membrana fibrosa grossa anomenada pericardi. Així doncs, està envoltat pel sac pericàrdic que és un sac serós de doble paret. Aquest està format per una capa parietal i una visceral, i rodejant la parietal hi ha la fibrosa, formada per teixit connectiu i adipós.

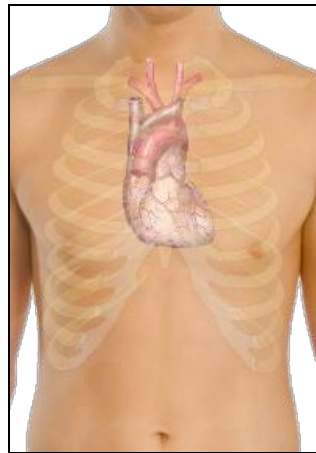
La capa serosa del pericardi interior (visceral) secreta un líquid anomenat líquid pericàrdic que lubrica la superfície del cor per tal d'aïllar-lo i evitar la fricció mecànica que pateix durant la contracció. Les capes fibroses externes el protegeixen i el separen.

Concretant en el múscul, el cor està compost per tres tipus de múscul cardíac:

- Múscul auricular
- Múscul ventricular
- Fibres musculars excitadores i conductores especialitzades

Tot i això, aquests tres tipus s'agrupen en dos de generals: els músculs de contracció i els músculs d'excitació. Els de contracció són els auriculars i ventriculars, i els d'excitació les fibres musculars excitadores i conductores especialitzades.

En el cas de la localització, el cor es troba a la part inferior del mediastí mitjà, entre el segon i cinquè espai intercostal esquerre. Està situat de forma obliqua (aproximadament dos terços a l'esquerra del pla mitjà i un terç a la dreta) i té forma de piràmide inclinada.

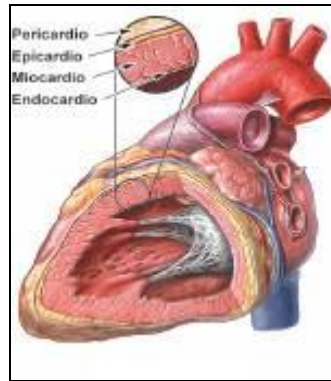


53. Ubicació del cor

En el cas de l'estructura, de dins cap enfora el cor presenta les següents capes:

- L'**endocardi**, una membrana serosa d'endoteli i teixit connectiu de revestiment intern amb la qual entra en contacte la sang. Té també fibres elàstiques i col·lagen, vasos sanguinis i fibres musculars especialitzades, que es denominen Fibres de Purkinje, i a la seva estructura hi trobem les trabècules carnosos que donen resistència per augmentar la contracció del cor.
- El **miocardi**, una massa muscular contràctil. Pròpiament dit és el múscul cardíac. S'encarrega d'impulsar la sang pel cos mitjançant la seva contracció. També hi trobem teixit connectiu en aquesta capa, capil·lars sanguinis, capil·lars limfàtics i fibres nervioses.

- El **pericardi**, una membrana fibroserosa de dues capes, el pericardi visceral serós o epicardi i el pericardi fibrós o parietal, que envolta el cor i als grans vasos separant-los de les estructures veïnes. Forma una espècie de bossa o sac que cobreix completament el cor i es prolonga fins les arrels dels grans vasos. En conjunt, cobreix tot el cor per protegir-lo de possibles lesions.

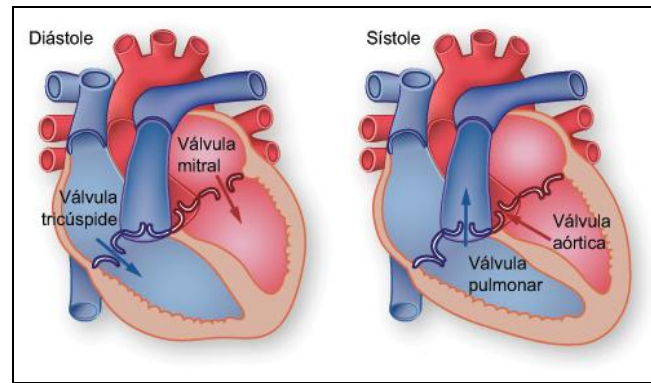


54. Capes del cor

D'altra banda, hi ha un teixit que separa el cor dret de l'esquerra que funcionalment es divideix en dos parts no separades: la superior o envà interauricular, i la inferior o envà interventricular. Aquest últim és molt important ja que a través d'ell passa el feix de His, que permet portar l'impuls elèctric a les parts més baixes del cor.

Per últim, les vàlvules cardíques són les estructures que separen unes cavitats de les altres, evitant que es produeixi reflux. Aquestes estan situades al voltant dels orificis auriculoventriculars i entre els ventricles i les artèries de sortida. Les vàlvules són:

- Vàlvula tricúspide, separa l'aurícula dreta del ventricle dret.
- Vàlvula pulmonar, separa el ventricle dret de l'artèria pulmonar.
- Vàlvula mitral o bicúspide, separa l'aurícula esquerra del ventricle esquerre.
- Vàlvula aòrtica, separa el ventricle esquerra de l'artèria aorta.



55. Vàlvules cardíques

b) Infart agut de miocardi

L'infart agut de miocardi (freqüentment abreujat com IAM o IMA i conegut col·loquialment com atac de cor o infart) fa referència a un reg sanguini insuficient, amb dany tissular en una part del cor produït per una obstrucció d'una de les artèries coronàries.

La isquèmia o subministrament deficient d'oxigen que resulta de l'obstrucció produeix l'angina de pit, que si es recanalitza precoçment no produeix la mort del teixit cardíac, mentre que si es manté aquesta anòxia es produeix la lesió del miocardi i finalment la necrosis, és a dir, l'infart.

L'infart de miocardi és la principal causa de mort d'homes i dones en tot el món. És per això que hi ha la tendència a col·locar desfibril·ladors externs automàtics en llocs públics molt concorreguts, ja que existeix la facilitat de produir arítmies. Fonamentalment la fibril·lació ventricular és la causa més freqüent de mort en l'infart agut de miocardi en els primers minuts.

El pronòstic vital d'un pacient amb infart depèn de l'extensió d'aquest, és a dir, de la quantitat de múscul cardíac perdut com a conseqüència de la falta d'irrigació sanguínia, i de la rapidesa d'atenció mèdica rebuda.

Els principals factors de risc que predisposen a patir un infart són l'aterosclerosi o altres malalties de les coronàries, antecedents d'angina de pit, d'un infart anterior o de trastorns del ritme cardíac, i també l'edat en els homes majors de 40 anys i en les dones majors dels 50. Dins dels riscos també s'inclouen alguns hàbits com el tabaquisme, el consum excessiu de begudes alcohòliques, l'obesitat i els nivells alts d'estrès.

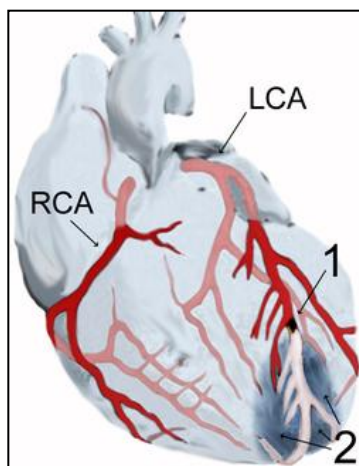
D'altra banda, no s'han de confondre els termes infart de miocardi i insuficiència cardíaca, ja que no són sinònims. En el cas de la insuficiència cardíaca es tracta d'un trastorn en el bombeig sanguini, el qual pot arribar a produir un infart. Tot i això, si aquesta insuficiència es produeix de forma sobtada, es pot arribar a un edema agut de pulmó (acumulació de líquid als pulmons) amb un intens ofec del pacient.

L'aparició d'un infart agut de miocardi es fonamenta en dos subtipus de la síndrome coronària aguda:

- Infart de miocardi sense elevació del segment ST
- Infart de miocardi amb elevació del segment ST

Els dos subtipus es caracteritzen per la manifestació d'una coronariopatia, és a dir, d'una malaltia de les artèries coronàries. El factor inicial més comú és el desprendiment d'una placa ateroscleròtica¹⁴ d'una de les artèries coronàries de l'epicardi (coberta del cor). Això porta a la iniciació de la cascada de la coagulació, que en certes ocasions genera l'oclusió total de l'artèria.

Si el deficient de flux sanguini al cor dura suficientment, es pot iniciar un procés que s'anomena cascada isquèmica en què les cèl·lules del cor moren, principalment per necrosis, ja que no són capaces de regenerar-se. És en aquest punt de mort cel·lular que es forma una cicatriu de col·lagen permanent, la qual perjudica l'arquitectura cardíaca.



56. Diagrama d'un infart de miocardi. RCA artèria coronària dreta, LCA artèria coronària esquerra. 2, a la part de la paret anterior del cor un infart apical després de l'oclusió. 1, oclusió en una de les branques de la LCA.

¹⁴ La aterosclerosis és un síndrome caracteritzat pel depòsit i la infiltració de substàncies lipídiques a les parets de les artèries de calibre mitjà i gran.

Estudis recents indiquen que el procés de mort cel·lular per apoptosis també hi té un paper important en el què explicàvem anteriorment, i, a conseqüència d'això, el teixit fibròtic posa al pacient en una situació de risc per la possible aparició de trastorns del ritme cardíac que tendeixen a ser molt perillosos, inclosa també l'aparició d'un aneurisma (dilatació) ventricular que pot causar la mort.

El teixit cardíac danyat condueix els impulsos elèctrics més lentament, i aquesta diferència de velocitat pot causar el que es coneix com un circuit de reentrada, un dels possibles causants d'arítmies laterals. En aquest circuit de reentrada, l'impuls elèctric que surt d'un node arriba a un punt fibròtic al llarg del seu camí que fa que l'impuls torni enrere i estimuli al mateix node que li havia donat origen. És per això que pot originar un major número de contraccions que en condicions normals.

L'arítmia més greu és la fibril·lació ventricular (VF), que consisteix en contraccions extremadament ràpides que comporten una mort cardíaca sobtada. També és molt greu la taquicàrdia ventricular, tot i que el pronòstic tendeix a ser menys letal. Una taquicàrdia ventricular i en especial una VF impedeixen que el cor bombegi la sang de manera eficaç, cosa que fa que el gast cardíac i la pressió arterial caiguin a nivells perillosos, i pot provocar una major isquèmia i un infart més extens.

Un cop explicat això, anem a veure les línies d'investigació del grup ICREC:

4.2.3.6 Cèl·lules mare

Clàssicament es creia que el cor humà no disposava de potencial d'autoregeneració. Aquesta visió va canviar radicalment quan als anys noranta uns estudis pioners van observar cardiomiòcits en mitosi activa dins del miocardi infartat. Tot i això, es va veure que aquest procés era insuficient per a un complet restabliment de la funció cardíaca després de la lesió.

Durant els últims 20 anys, s'ha intentat contrarestar aquesta realitat descoratjadora a través de l'exploració de noves estratègies de regeneració com ara les que es basen en l'ús de cèl·lules mare i, més recentment, en el conjunt de tècniques d'enginyeria de teixits que combina l'aplicació de diferents tipus de cèl·lules regeneratives, biomaterials, factors de creixement i dispositius avançats de mesura.

Actualment, l'augment en la supervivència i retenció de les cèl·lules mare administrades dins del miocardi infartat continuen sent desafiaments clau per al desenvolupament de tractaments més eficaços contra les malalties cardíaques.

❖ **El descobriment de cèl·lules progenitores derivades de teixit adipós:**

Aquest equip s'ha centrat en el teixit adipós que envolta el cor com a font de cèl·lules mare adultes per a la recuperació del miocardi lesionat. Concretament, han treballat amb un tipus de cèl·lules progenitores mesenquimals (poden esdevenir múscul, greix i altres teixits) que el 2010 ells mateixos van caracteritzar per primera vegada.

El que van fer i segueixen fent és aïllar i caracteritzar aquestes cèl·lules i així han pogut descobrir que, quan aquestes cèl·lules mare cardíaques són trasplantades en models de ratolí i de rata d'infart de miocardi, les cèl·lules empeltades expressen nous marcadors tant cardíacs com endotelials, augmenta la vascularització i es redueix la mida de l'infart.

També s'han trobat diferències en la funció cardíaca i en el gruix de la paret anterior del cor entre els animals control i els tractats amb aquestes cèl·lules.

En conjunt, aquests resultats suggereixen que la població de cèl·lules progenitores aïllades del teixit adipós humà cardíac poden ser candidates molt vàlides per al seu futur ús en teràpia cel·lular per regenerar el miocardi lesionat.

❖ **Angiogènesi terapèutica**

La utilització de teràpies basades en cèl·lules mare és prometedora per tractar diverses malalties. En el cas concret de les patologies cardiovasculars, a part de l'efecte regenerador que presenten aquestes cèl·lules mare sobre el múscul cardíac lesionat, també poden oferir altres beneficis.

Aquest seria el cas si aquestes cèl·lules mare poguessin participar en la creació i reparació de vasos després de l'infart. Així doncs, a partir d'aquesta idea han estudiat el potencial angiogènic de progenitors derivats de la medul·la òssia i del teixit adipós i recentment de cèl·lules provinents de la sang de cordó umbilical (SCU).

Gràcies a aquesta recerca han pogut demostrar que les cèl·lules mare mesenquimals derivades de SCU contribueixen a la formació de vasos sanguinis després d'un infart de

miocardi. A més, amb això també han obtingut un model *in vitro* per a l'anàlisi del creixement de les estructures vasculars.

4.2.3.7 Enginyeria de teixits

Durant gairebé dues dècades i en diversos assaigs clínics, el transplantament cel·lular s'ha estudiat com un tractament potencial per la regeneració cardíaca després de l'infart de miocardi(IM).

Tot i això, els resultats no han estat satisfactoris ja que no s'han aconseguit millores significatives en la funció cardíaca. Recentment, però, l'enginyeria tissular (de teixits) s'ha posicionat amb un enfocament nou i esperançador pel tractament de l'IM, i com una manera de superar les limitacions de la teràpia cel·lular.

Així doncs, mitjançant una sèrie de nous materials biocompatibles (matrius biològiques i biomaterials injectables) que fan de bastida a les cèl·lules, el seu grup de recerca estudia com imitar el teixit cardíac i construir un pegat que regeneri la cicatriu de l'infart.

A més, en col·laboració amb la UPC, treballen en aparells que entrenin les cèl·lules amb moviment i estimulació elèctrica per tal d'imitar el teixit cardíac *in vitro* al laboratori.

Els diferents tipus de matrius amb què estan experimentant són:

❖ Matrius biològiques

Pedicle adipós vascularitzat derivat del pericardi

Han desenvolupat recentment una nova intervenció quirúrgica en el model animal porcí que es basa en la transposició d'un pedicle adipós vascularitzat derivat del pericardi sobre les zones afectades per un infart agut de miocardi. Un pedicle és un fragment més o menys prim que uneix una formació anormal, com pot ser, en aquest cas, un teixit.

Després d'una toracotomia lateral (secció quirúrgica de la paret toràcica), el que fan és desenganxar el teixit adipós pericàrdic mantenint la seva vascularització per crear el pedicle adipós vascularitzat. A continuació d'això, s'elimina parcialment el pericardi per exposar la superfície externa de les càmeres cardíques i el pedicle adipós pericàrdic es col·loca de manera que cobreixi totalment la zona isquèmica.

Com a resultat, en els animals tractats es va detectar una millora del 19% de la fracció d'ejecció i els volums telesistòlics (succeeixen en la última part de la sístole) i telediastòlics (en l'última part de la diàstole) també van disminuir en comparació amb els animals control. A més, tant en l'infart agut com en el crònic s'ha pogut demostrar la presència de connexions vasculars entre el pedicle adipós i el miocardi adjacent, una reducció significativa de la mida de la cicatriu en ambdós models i una disminució de l'apoptosi (mort cel·lular programada) cardiomiocítica en el cas agut.

❖ **Matrius artificials**

El concepte RECTABI

L'infart de miocardi produeix cardiomiopaties isquèmiques severes, comportant una greu afectació de la funció del teixit necrotitzat. Els tractaments que actualment s'estan desenvolupant consisteixen en cardiomioplàstia cel·lular, on cèl·lules mare són encapsulades en matrius naturals o artificials i aplicades al ventricle infartat.

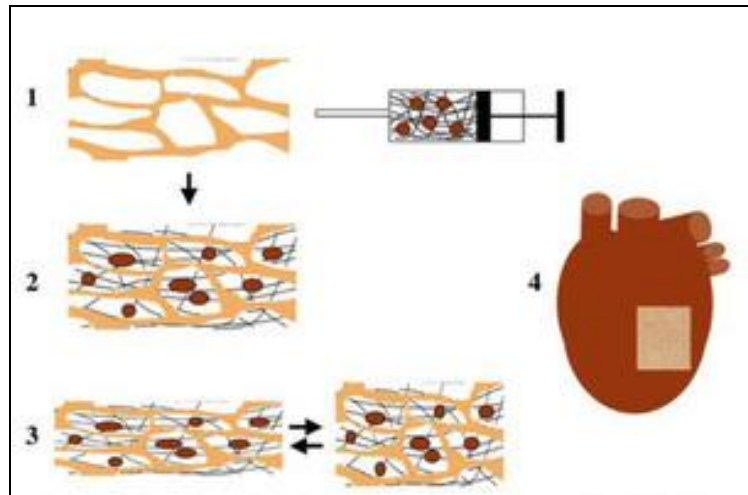
Tot i que s'han observat certs beneficis amb aquesta tècnica, la supervivència cel·lular és molt baixa. Així doncs, es pot afirmar que són necessàries noves aproximacions terapèutiques.

L'objectiu principal del projecte RECATABI es basa en el desenvolupament d'una plataforma de bioenginyeria que consisteix en cèl·lules progenitores preentrenades (biomecànica i biofísicament) per tal que resistixin la seva integració en un teixit estressat com és el del cor.

Fet això, les cèl·lules s'introduiran en un implant bioactiu de nou disseny que consisteix en una membrana microporosa carregada amb factors angiogènics que millorin la seva supervivència i diferenciació cardiogènica. Addicionalment, s'espera que l'implant indueixi una ràpida vascularització per tal d'assegurar un ràpid remodelat del teixit i la regeneració cap a un nou miocardi funcional.

El nom bé donat ja que aquest projecte es fa en el marc d'un consorci europeu que s'anomena RECATABI (Regeneration of Cardiac Tissue Assisted by Biactive Implants-Regeneració de teixit cardíac assistit per implants bioactius) en el que el grup ICREC treballa conjuntament amb altres centres de recerca europeus.

Els resultats que s'han obtingut en models de ratolins fins al moment són molt interessants ja que les cèl·lules implantades sobreviuen en el temps i es diferencien cap a cardiomiòcits i, a més, s'observa una vascularització significativa entre el miocardi i l'implant.



57. Esquema que representa l'implant bioactiu del RECATABI: una membrana elastomèrica (1) que es carrega amb un hidrogel peptídic i cèl·lules (2). Aquest s'entrena biomecànic i biofísicament (3) i finalment s'implanta damunt un cor infartat (4).

4.2.3.8 Miocardiopaties

❖ Estudi de les alteracions vasculars en la miocardiopatia dilatada idiopàtica

La miocardiopatia dilatada idiopàtica (MCDi) és la tercera causa més freqüent d'insuficiència cardíaca i la malaltia miocardiàca primària més prevalent.

En la MCDi el cor es dilata progressivament i es redueix irreversiblement la seva capacitat funcional fent necessari el trasplantament del cor malalt.

Durant els últims anys el grup ICREC ha estudiat quines són les principals alteracions en la MCDi. Fruit d'aquesta recerca, s'han reexaminat els mecanismes fisiopatològics d'aquesta malaltia cardíaca, la qual s'interpreta ara com el resultat d'un grau deficitari de vascularització que acaba provocant els danys irreversibles en les cèl·lules cardíques musculars (cardiòcits) que són característics dels pacients amb MCDi.

Així, aquest tipus d'alteracions podrien associar-se a una progressió més ràpida i a un pitjor pronòstic de la malaltia.

Aquesta línia de recerca s'està ampliant actualment a l'estudi dels mecanismes cel·lulars i moleculars bàsics que regulin l'activació, migració i incorporació funcional de cèl·lules mieloides proangiogèniques (les que ajuden a la formació de nous vasos dins el miocardi). D'aquesta manera, pensen que es podrà conèixer millor la fisiopatologia d'aquesta malaltia cardíaca i que es podran dissenyar tractaments específics molt més eficients que els actuals.

❖ **Senyalització intracel·lular associada a dominis de membrana rics en colesterol en la miocardiopatia dilatada idiopàtica**

Els "lípid rafts" són dominis de membrana rics en colesterol i lípids amb cadenes acíclics saturades que participen activament en múltiples processos cel·lulars com per exemple la presentació d'antígens i citoquines, senyalització intracel·lular i adaptació cel·lular a factors ambientals.

Recentment, el grup ICREC ha iniciat l'aïllament i caracterització de "lípid rafts" de miocardi humà, i l'estudi de la contribució de diferents receptors associats a aquests dominis especialitzats de membrana en la patogènesi i progressió de la MCDi.

4.2.3.9 Visita al grup ICREC

Afortunadament, vam poder parlar directament amb el doctor Antoni Bayés Genís, i, a més, veure les instal·lacions amb què treballa el grup ICREC així com la seva metodologia de treball.

Després d'ensenyar-nos l'institut de recerca i presentar-nos el seu equip, ens van explicar i ensenyar les últimes publicacions científiques que ha fet el grup relacionades, totes elles, amb les aplicacions que estan trobant a les cèl·lules mare per tal de curar o produir millores en els infarts de miocardi.

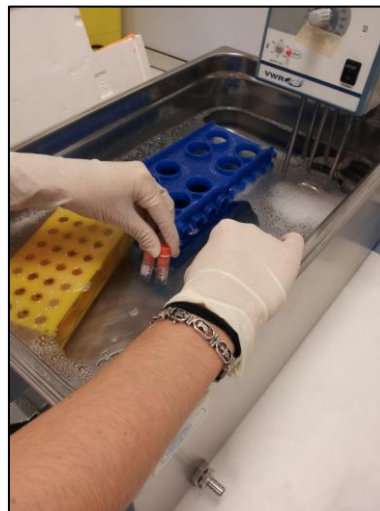
D'una banda, vam poder treure molta informació respecte el seu funcionament i estructuració gràcies a la pàgina web que estan acabant d'organitzar. A partir d'aquí, la nostra estada va ser ja més pràctica.

Vam estar la major part del dia amb dos dels investigadors de l'equip ICREC, la Cristina Prat Vidal i l'Isaac Perea Gil, els quals ens van explicar i ensenyar detalladament en què consisteix la seva investigació, que té com a objectiu regenerar el cor, i, més concretament, el que feien aquell dia en qüestió.

Per començar, ens van remarcar que en el treball de laboratori cal tenir molt en compte molts aspectes que tenen a veure amb una bona neteja i desinfecció, així com també amb l'ordre, ja que s'ha d'evitar perjudicar les mostres d'altres companys a causa, per exemple, d'una mala higiene en aparells com la campana o en el material.

Així doncs, cal retolar tots els tubs que s'utilitzen i que contenen mostres a dins, tant si el seu ús és per un moment donat o han d'estar setmanes dins una incubadora, cal netejar abans i després d'utilitzar tota la superfície de treball de la campana i també el vidre de protecció, s'ha de llençar tot aquell material que ha estat en contacte amb cèl·lules de les mostres a una brossa especial, etc.

Deixant de banda això, el que primer ens van ensenyar és com es descongelen mostres de cèl·lules que han estat congelades a molt baixes temperatures (-80°C) per tal de tenir-les a temperatura ambient sense matar-les degut al canvi bruscat de temperatura:

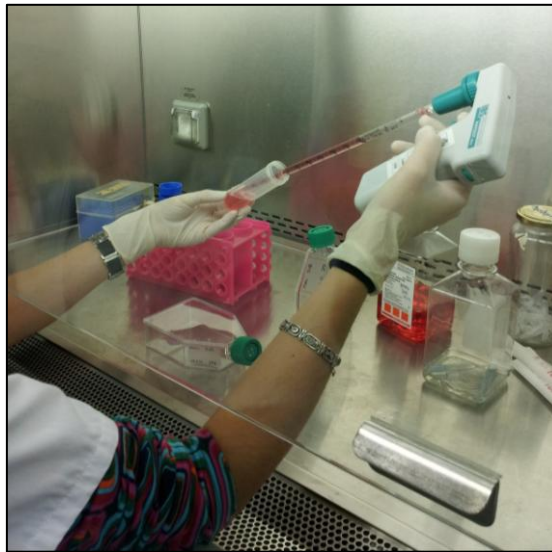


58. Descongelació de les mostres de cèl·lules

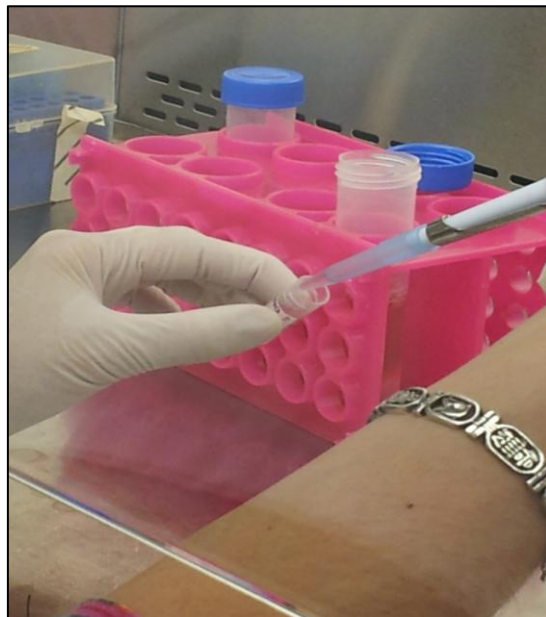
Aquestes mostres congelades s'han de descongelar submergeint-les en aigua tèbia de manera que passin ràpidament a una temperatura adequada per a elles (uns 37°C). El fet que les cèl·lules es puguin mantenir congelades es deu a que en el cultiu en què es troben se'ls hi ha posat una substància que els hi permet de fer-ho, però un cop descongelades s'ha de canviar aquest cultiu ja que les cèl·lules no viuen bé en presència d'aquesta substància.

Així doncs, un cop descongelades les mostres el que van fer va ser canviar-les de cultiu ràpidament. En aquest moment, ens van explicar que segons quin tipus d'investigació es vol fer amb les diferents mostres de cèl·lules, aquestes es poden barrejar o no.

L'institut de recerca disposa de mostres d'operacions de més de 600 pacients de l'hospital on es troba, de manera que en alguns experiments, com que no fan teràpia individualitzada sinó que fan recerca general en models animals sobretot, poden mesclar mostres de diferents pacients. L'única excepció que hi ha és que no es pot fer amb pacients diabètics i no diabètics, sinó que és en l'únic cas que no es barregen. És per això que totes les mostres, tant les que arriben de l'hospital com les que estan utilitzant ells al laboratori, han d'estar marcades amb totes les dades que les identifiquen.



59. La Cristina treballant a la campana



Un cop fet això i preparats els vectors per tal de tenir-los disponibles per la setmana següent, vam poder veure diverses mostres a través del microscopi i ens van explicar el projecte de les matrius biològiques que estan portant a terme.

El que es pretén amb les matrius biològiques és utilitzar-les com a suports per tal de mantenir les cèl·lules al lloc corresponent del cor on ha succeït l'infart de miocardi ja que aquest és un dels problemes en què es troben actualment. En l'actualitat, és possible infiltrar o col·locar cèl·lules mare o cèl·lules progenitores a la superfície d'un cor infartat, però sovint el que passa és que aquestes cèl·lules no es queden allà sinó que acaben marxant cap a altres parts del cos.

El que ells estan intentant és la utilització de matrius d'origen miocàrdic, les quals s'obtenen a partir de fragments de cors de porc, i mitjançant diversos processos se'ls treu tot el líquid interior i se'ls envaeix amb les cèl·lules d'interès. Un cop aconseguit això, és possible utilitzar aquestes matrius implantant-les a la part del cor infartat que ha estat danyada ja que en una operació a cop d'ull tot el teixit sa es veu de color rosat mentre que el teixit infartat té un color més blanquinós.

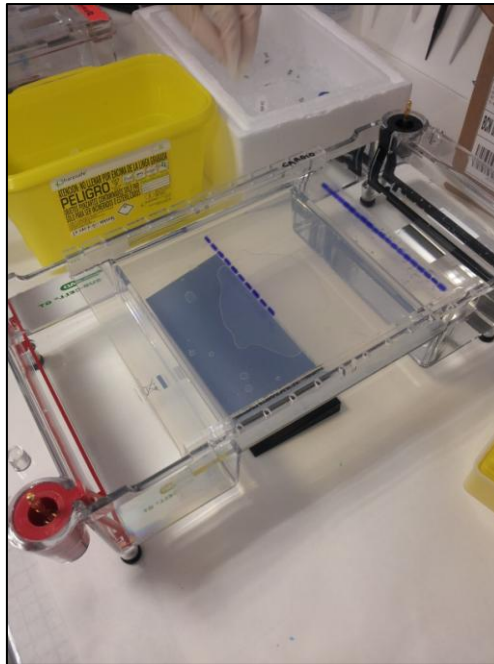


60. Matrius d'origen miocàrdic



Fent referència a aquesta línia, el que vam poder veure és com treien les mostres d'un aparell que les havia assecat, i llavors extreien aquests teixits de les plaques per tal de mesurar la seva massa amb una balança de precisió per així anotar-ne els resultats i tenir-ne constància.

Per últim, també vam observar com realitzaven una altra prova anomenada electroforesi amb un seguit de mostres de fragments de DNA. En aquest cas, s'utilitzaven uns controls i uns tints per veure la distància que recorria cada mostra de fragment en aplicar el corrent elèctric a través d'un ànode i un càtode. Aquesta tècnica permetia veure si les seccions de DNA s'havien tallat correctament, ja que segons la distància que recorren en el temps es pot determinar si el fragment té més o menys parells de bases, ja que degut a això agafarà més velocitat o menys.



61. Tot preparat abans de començar l'electroforesi

4.2.3.10 Publicacions científiques

El Dr Antoni Bayés Genís és el cap del servei de cardiologia de l'Hospital Universitari Germans Trias i Pujol i també professor de la Universitat Autònoma de Barcelona. A més, és el cap del grup de recerca ICREC del qual n'hem parlat en detall anteriorment.

A continuació farem un resum de les moltes contribucions científiques en què han participat:

- Identificació del biomarcador PAPP-A per la identificació precoç de l'angina i l'infart de miocardi. Aquesta recerca va ser publicada al *N Engl J Med* (**Bayes-Genis A et al**, *NEJM* 2001;345:1022-9) I va generar una patent (US patent 12/785,893).
- Desenvolupament de l'*stent* d'elastina per reduir el risc de restenosis (Karnik SK, et al. *Development*. 2003; Brooke BS, et al. *Trends Cardiovasc Med*. 2003).
- Caracterització de l'ús clínic de pèptids natriurètics per al diagnòstic, pronòstic, monitorització i teràpia guiada en la insuficiència cardíaca. Han publicat 22 articles i nou conferències en reunions internacionals.
- Quimerisme del cor humà. L'any 2002 van ser pioners per identificar la capacitat d'auto renovació del cor humà i la presència de microquimerismes cardíacs. El resum d'aquestes aportacions va ser publicat per petició dels editors a la revista *Nature Medicine* (**Bayes-Genis et al**. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*. 2007; **Bayes-Genis et al**. *J Heart Lung Transplant*. 2005; **Bayes-Genis et al**. *Eur J Heart Fail*. 2004; **Bayes-Genis et al**. *Cardiovasc Res*. 2002).
- Identificació d'una font de noves cèl·lules per a la regeneració cardíaca (**Bayes-Genis A et al**. *JMCC* 2010). El seu grup ha identificat i caracteritzat teixit cardíac adipós derivat de cèl·lules progenitores a partir de biòpsies humanes.
- Desenvolupament d'una nova tècnica intervencionista per rescatar el miocardi després de l'infart. L'equip del doctor Bayés ha demostrat recentment que l'enginyeria de teixits biològics restaura el teixit cardíac després d'infarts aguts i crònics (Galvez-Monton et al, *Cardiovasc Res* 2011; Gálvez-Monton *Int J Cardiol* 2011).
- Identificació característica de la cardiomiopatia idiopàtica hipertròfica. La seva recerca obra noves dianes terapèutiques per limitar la mortalitat d'aquesta malaltia. (Roura S. et al. *Nat Rev Cardiol*. 2009; Roura S. et al, *Eur J Heart Fail*. 2007).

4.2.3.11 Futur de l'àrea

Les cèl·lules mare representen un futur molt prometedor per la regeneració del teixit cardíac. No cal precipitar-se i començar a buscar aplicacions que encara no han estat comprovades clínicament, però es pot ser optimista ja que totes les línies de recerca que té el seu equip estan aconseguint resultats molt interessants.

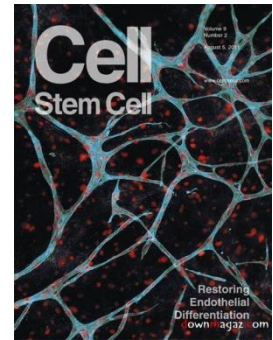
El futur immediat d'aquesta línia de recerca és continuar aprenent els mecanismes bàsics que afavoreixen la cardioregeneració mitjançant cèl·lules mare. De cara a poder tenir aplicacions terapèutiques, s'està avançant en tres línies:

- Solucions de cèl·lules mare més o menys homogènies.
- Creació de teixit cardíac artificial: combinació de polímers (naturals o artificials) amb cèl·lules mare, com per exemple el model del greix.
- El nou concepte de la neorganogènesi. Consisteix en la decel·lularització del cor i la seva posterior recel·lularització amb cèl·lules mare del pacient. Això significa que si a una persona li fes falta un òrgan concret, com pot ser el cor, tindríem un esquelet de matriu extracel·lular que podríem omplir-la amb cèl·lules pròpies i fer una reconstitució global de tot l'òrgan a partir de cèl·lules mare.

4.3 Publicacions científiques

4.3.1 L'organització i les publicacions científiques

En qualsevol altre grup de recerca, quan s'aconsegueix un objectiu o uns resultats interessants cal fer-ne un treball i enviar-lo a revistes científiques perquè el publiquin i altres científics d'arreu del món puguin assabentar-se i tothom es pugui beneficiar del que aquest projecte en qüestió pot significar.



El funcionament és el següent:

1. Hi ha un equip d'investigadors format per un que el dirigeix i la resta que l'ajuden a fer la investigació, que presenten un projecte. Aquest projecte no es pot començar a realitzar directament sinó que es valora per experts externs, els quals decideixen si s'aprova o no.
2. Un cop aprovat, s'ha de trobar la manera de finançar-lo, i un cop aconseguits els diners necessaris per portar-lo a terme es comença. Cal tenir en compte que la investigació és molt interessant, però que un científic no es pot presentar a un laboratori dient que es passarà la seva carrera cultivant cèl·lules i ja està, sinó que sempre s'ha de mirar d'aportar coses comercialitzables a la institució que el finança, perquè sinó la inversió no acaba sortint a compte.
3. A partir d'aquí es va fent la investigació, que pot durar anys, i si finalment s'obtenen resultats interessants o es descobreix alguna cosa, cal fer-ne un treball per enviar-lo a les revistes:
 - a. Primer de tot s'envia el treball original a les diverses revistes escollides. Existeix un gran nombre de revistes científiques però les més importants i que tenen una difusió més gran són: *Nature*, *Science*, *Cell*, *Càncer Cell* i d'altres.
 - b. Un cop enviat el treball, altres científics experts el revisen i decideixen si es publica o no es publica. Moltes vegades el que passa és que si es tracta d'una revista d'aquestes que tenen una difusió tan important, han de ser molt selectius i per tant no el publiquen a la seva revista però sí que diuen als autors del treball que l'enviïn a una altra de més específica

del tema perquè es publiqui allà. Tot i això, si decideixen que sí que el publicaran el que cal fer gairebé sempre és canviar-lo una mica. Així doncs, t'aconsellen que has de canviar algun aspecte del treball, fer experiments addicionals, presentar més proves...

- c. Finalment, un cop el treball ha estat publicat, apareix a la revista i també a algunes pàgines específiques d'internet, tot i que fins que ha passat un temps no es poden veure de forma gratuïta. Aquí apareix el nom de tots els membres que han contribuït en la investigació ordenats de la següent manera: el primer autor que apareix (o primers) són els qui han fet la investigació, mentre que l'últim de tota la llista és el qui l'ha dirigida.

4.3.2 Publicacions científiques destacades

A continuació podem veure un resum de diverses publicacions científiques on es reflecteixen els primers equips de recerca que van començar a demostrar l'existència de les cèl·lules mare tumorals i les seves característiques i també altres publicacions relacionades amb marcadors cel·lulars propis d'aquestes. A més, també hi trobem tres articles redactats per l'equip del doctor Bayés els quals ens expliquen més detalladament la seva recerca innovadora en cèl·lules del teixit adipós cardíac i en cèl·lules mesenquimals derivades del cordó umbilical humà.

a) Les cèl·lules glials radials són cèl·lules mare de candidats d'ependimoma

ARTICLE

Radial glia cells are candidate stem cells of ependymoma

Michael D. Taylor,^{1,8} Helen Poppleton,^{1,8} Christine Fuller,² Xiaoping Su,³ Yongxing Liu,³ Patricia Jensen,¹ Susan Magdaleno,¹ James Dalton,² Christopher Calabrese,¹ Julian Board,¹ Tobey MacDonald,⁴ Jim Rutka,⁵ Abhijit Guha,⁶ Amar Gajjar,⁷ Tom Curran,¹ and Richard J. Gilbertson^{1,7,*}

¹Department of Developmental Neurobiology, St. Jude Children's Research Hospital, 332 North Lauderdale Street, Memphis, Tennessee 38105
²Department of Pathology, St. Jude Children's Research Hospital, 332 North Lauderdale Street, Memphis, Tennessee 38105
³Hartwell Center for Bioinformatics and Biotechnology, St. Jude Children's Research Hospital, 332 North Lauderdale Street, Memphis, Tennessee 38105
⁴Department of Pediatric Hematology and Oncology, Children's National Medical Center, Washington, D.C. 20010
⁵Division of Neurosurgery and the Arthur and Sonia Labatt Brain Tumor Research Center, Hospital for Sick Children, Toronto, Ontario M5G 1X8, Canada
⁶Division of Neurosurgery, Toronto Western Hospital, Toronto, Ontario M5T 2S8, Canada
⁷Department of Hematology/Oncology, St. Jude Children's Research Hospital, Memphis, Tennessee 38105
⁸These authors contributed equally to this work.
*Correspondence: richard.gilbertson@stjude.org

Els tumors del mateix tipus histològic sovint comprenen clínicament i molecularment subgrups diferents, però, l'etiologia d'aquests grups es desconeix. Aquí s'informa que, histològicament idèntics però genèticament diferents, els ependimomes mostren patrons d'expressió gènica que recapitulen els de les cèl·lules gials radials a la regió corresponent del sistema nerviós central. Les cèl·lules mare canceroses aïllades d'ependimomes mostren un fenotip de glia radial i formen tumors quan són trasplantades a ratolins.

Aquestes troballes identifiquen poblacions restringides de les cèl·lules gials radials com a cèl·lules mare candidates dels diferents subgrups d'ependimoma, i recolzen la hipòtesi general que els subgrups del tipus histològic del tumor mateix són generats per diferents poblacions de cèl·lules progenitores en els teixits d'origen.

b) La captura de les cèl·lules mare tumorals

COMMUNITY CORNER

Capturing cancer stem cells

Numerous studies have identified tumor-seeding cancer stem cells in a range of tumor types. To help define these cells, many researchers have relied on the expression of the cell surface molecule CD133, thought to be specific for such stem cells. Working with colon cancer, Sergey Shmelkov *et al.*¹ now call this premise into question. From their analyses in mice and in human tissues, the researchers conclude that CD133 is widely expressed and that it does not give a competitive edge to tumor cells. What do the findings mean for the quest to find and target cancer stem cells?

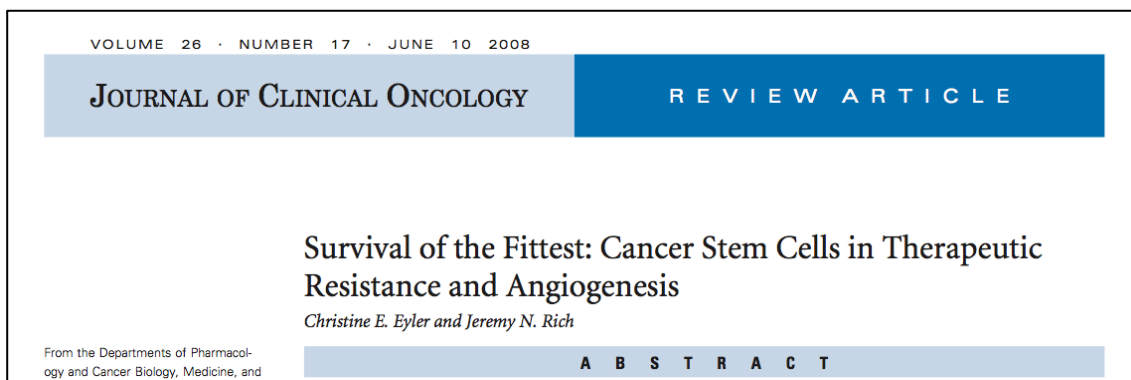
medicine

As attractive as the concept of a single marker is, it is now crucial to consider what such markers really mark.—ZW

Nombrosos estudis han identificat cèl·lules mare tumorals en una àmplia gamma de tipus de tumors. Per ajudar a definir aquestes cèl·lules, molts investigadors s'han basat en l'expressió de la molècula de superfície cel·lular CD133, pensada com a específica per a aquestes cèl·lules en qüestió.

L'equip Sergey Shmelkov *et al.*¹, treballant amb el càncer de còlon, ha analitzat teixits de ratolins i d'humans i ha arribat a la conclusió que el marcador CD133 s'expressa àmpliament però no dona un avantatge competitiu a les cèl·lules tumorals. La pregunta és, què signifiquen aquests resultats per a la missió de trobar i atacar el càncer?

c) **La supervivència del més apte: les cèl·lules mare tumorals en resistència terapèutica i angiogènesi**

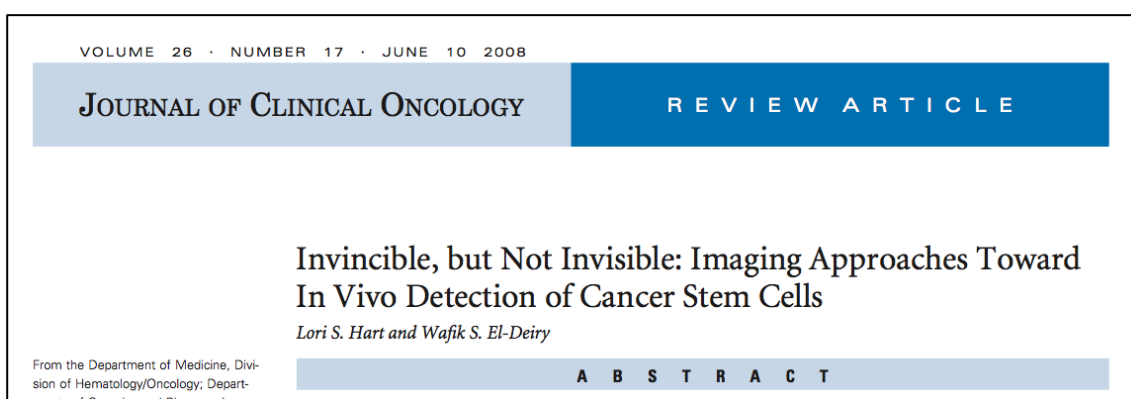


El treball recent en diversos tipus de càncers ha suggerit la població de cèl·lules mare canceroses (CSC) com a causants de la resistència a quimioteràpia i a la teràpia de radiació dels tumors.

En el cas dels càncers de mama i de glioblastoma, el treball realitzat dona suport a la idea que les CSC poden posseir mecanismes innats de resistència contra la radiació i la quimioteràpia, cosa que els permet sobreviure i iniciar la recurrència del tumor. És per això que s'han proposat diversos mecanismes de resistència, incloent l'activació del punt de control amplificada i reparació de danys en el DNA, així com l'augment de Wnt/ β -catenin i la senyalització de Notch.

Els resultats recents d'aquest treball i altres donen suport al paper de les CSC en la unitat angiogènica, així com el mecanisme dels agents antiangiogènics. Es creu que la identificació i selecció dels mecanismes moleculars responsables de la resistència pròpia de les CSC podria millorar l'eficàcia de les teràpies actuals contra el càncer.

d) **Invencible però no invisible: enfocaments d'imatge cap a la detecció *in vivo* de les cèl·lules mare del càncer**



Les cèl·lules mare canceroses representen una rara població de cèl·lules, ja que representen un 0,1% de les cèl·lules d'un tumor humà. El seu fenotip s'altera fàcilment quan es col·loquen aïllades sota condicions *in vitro*. Això representa un desafiament per l'estudi de les cèl·lules mare canceroses sense manipulació o extracció a partir del seu entorn natural.

Les tècniques d'imatge avançades permeten l'observació en viu dels esdeveniments fisiològics en resolució cel·lular. És per això que els estudis amb cèl·lules mare tumorals intenten beneficiar-se d'aquesta tecnologia per comprendre millor aquestes cèl·lules en relació amb el creixement tumoral i la metastasi, així com també potenciar la millora en els principis que s'utilitzen per tractar la malaltia.

A partir d'aquesta revisió s'examinen les opcions de crear imatges *in vivo* de suposades cèl·lules mare de càncer respecte les acceptades en el moment.

e) Cèl·lules mare tumorals del cervell: posant ordre en el caos del càncer cerebral



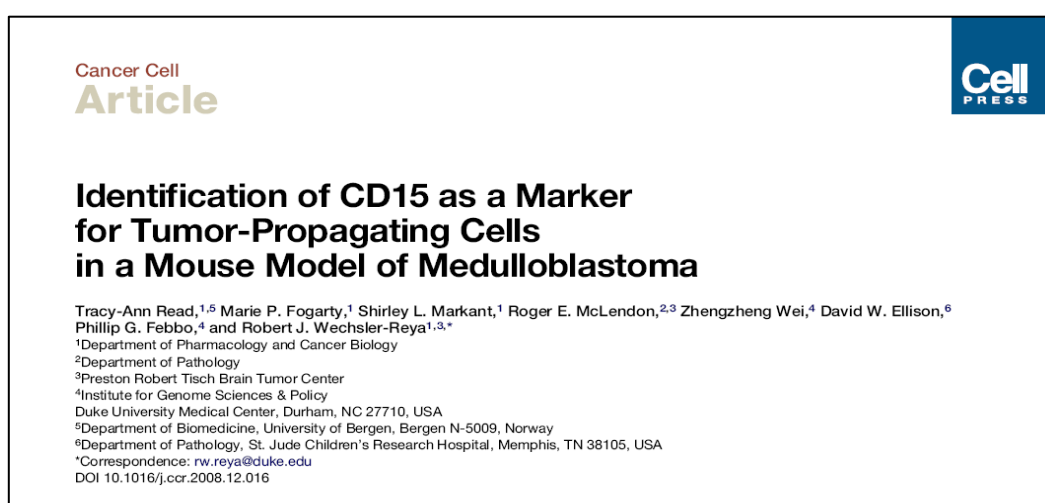
Els tumors cerebrals són generalment càncers incurables. El treball d'un nombre de laboratoris suggereix que s'organitzen com una jerarquia basada en un subconjunt de cèl·lules canceroses que tenen propietats de cèl·lules mare. Aquestes cèl·lules han resultat ser resistents a la teràpia convencional i sensibles a la teràpia de diferenciació.

S'han desenvolupat nous models *in vitro* i *in vivo* per tal d'interrogar les cèl·lules tumorals del cervell en condicions de cèl·lules mare per tal de proporcionar noves oportunitats importants per descobrir els camins que causen la proliferació d'aquestes

cèl·lules.

L'aplicació continua dels principis de la biologia de les cèl·lules mare per a l'estudi dels càncers cerebrals és probable que segueixi aportant una visió molt important en aquests càncers agressius, i així arribar a nous tractaments i a la comprensió del seu origen.


f) Identificació de CD15 com a marcador de tumor de multiplicació de les cèl·lules en un model de ratolí de medul·loblastoma



El creixement de molts tipus de càncer depèn de l'autorenovació de les cèl·lules mare tumorals (*tumor-propagating cells*, TPCs). En els tumors cerebrals humans, les cèl·lules que expressen els marcadors de cèl·lules mare CD133 han estat implicades com a TPCs.

En aquest article es mostra que els tumors d'un model de medul·loblastoma es propaguen no per cèl·lules amb CD133+ sinó per cèl·lules que expressen els marcadors progenitors Math1 i CD15/SSEA-1. Aquestes cèl·lules tenen un perfil d'expressió diferent que suggereix una major capacitat proliferativa i la disminució de la tendència a experimentar apoptosi i diferenciació. CD15 també es troba en un subconjunt humà de medul·loblastoma, i s'ha trobat també que tumors que expressen gens similars als trobats en cèl·lules murines CD15+ tenen un pitjor pronòstic. Per tant, CD15 podria representar un marcador important per TPC en els medul·loblastomes.

- g) La transposició d'un fragment de teixit adipós pericàrdic vascular derivat per al salvament del miocardi després d'un infart.



Cardiovascular Research Advance Access published June 9, 2011

Cardiovascular Research
doi:10.1093/cvr/cvr136

Transposition of a pericardial-derived vascular adipose flap for myocardial salvage after infarct

Carolina Gálvez-Montón^{1*†}, Cristina Prat-Vidal^{1†}, Santiago Roura¹, Jordi Farré², Carolina Soler-Botija¹, Aida Lluçà-Valdeperas¹, Idoia Díaz-Güemes³, Francisco M. Sánchez-Margallo³, Alejandro Arís⁴, and Antoni Bayes-Genis^{1,5}

¹ICREC (Heart Failure and Cardiac Regeneration) Research Program, IGTP, Cardiology Service, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Ctra. Can Ruti, Camí de les Escoles, s/n, 08916 Badalona, Barcelona, Spain; ²Networking Biomedical Research Center on Bioengineering, Biomaterials and Nanomedicine (CIBER-BBN), Barcelona, Spain; ³Jesús Usón Minimally Invasive Surgery Centre, JUMISC, Cáceres, Spain; ⁴Cardiac Surgery Service, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, Spain; and ⁵Department of Medicine, UAB, Barcelona, Spain

Received 4 January 2011; revised 2 April 2011; accepted 11 May 2011

Time for primary review: 28 days

L'oclusió de l'artèria coronària s'associa amb el risc de la remodelació ventricular, amb la insuficiència cardíaca i el xoc cardiogènic. Aquí es busquen noves estratègies per tractar aquestes complicacions amenaçadores examinant l'efecte d'un derivat de greix pericàrdic col·locat sobre un infart agut causat per l'oclusió coronària.

Els resultats obtinguts indiquen que una aleta de greix vascular exerceix efectes beneficiosos en els límits de la remodelació miocàrdica. Futurs estudis són els que han de confirmar si aquests resultats proporcionen una aproximació a una alternativa terapèutica per a la recuperació miocàrdica després d'un infart.

- h) Teixit adipós cardíac: una nova frontera per a la regeneració cardíaca?

ARTICLE IN PRESS


IJCA-14915; No of Pages 4
International Journal of Cardiology xxx (2012) xxx-xxx



Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

International Journal of Cardiology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ijcard



Review

Cardiac adipose tissue: A new frontier for cardiac regeneration? [☆]

Antoni Bayes-Genis ^{a,b,*}, Carolina Gálvez-Montón ^a, Cristina Prat-Vidal ^a, Carolina Soler-Botija ^a

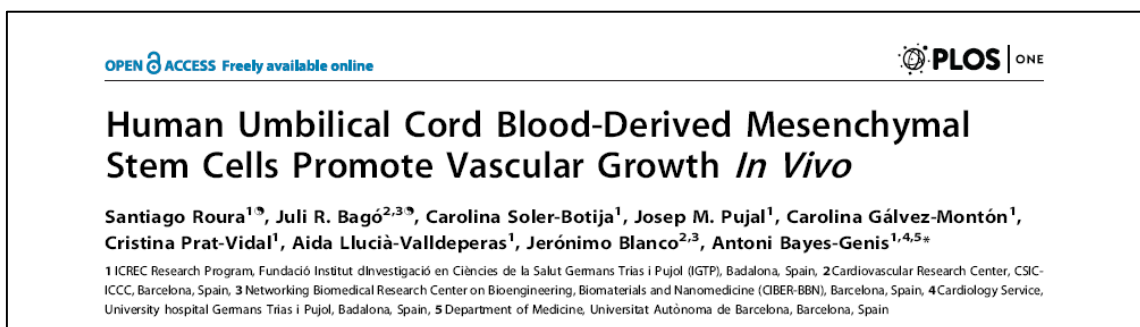
^a ICREC (Heart Failure and Cardiac Regeneration) Research Program, Health Sciences Research Institute Germans Trias i Pujol (IGTP), Cardiology Service, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Badalona, Barcelona, Spain
^b Department of Medicine, Autonomous University of Barcelona (UAB), Barcelona, Spain

ARTICLE INFO
ABSTRACT

El cor humà té capacitat de regeneració limitada. La investigació s'ha centrat en el teixit adipós cardíac com a font de cèl·lules progenitores i en matrius biològiques per a la recuperació del miocardi lesionat. En primer lloc, es va identificar i caracteritzar una població de progenitors mesenquimals humans adults derivats del teixit adipós cardíac, la qual presenta un potencial cardíac i endotelial inherent. A continuació, es va provar una estratègia de rescat on un derivat de pericardi adipós, vascularitzat, es va utilitzar per cobrir el miocardi privat d'oxigen en un model porcí.

A partir d'aquí es va veure que aquest greix reduïa la mida de la cicatriu miocàrdica, tant en els infarts aguts com els crònics. En aquests moments s'està portant a terme un assaig clínic en humans per tal d'examinar aquest nou descobriment.

i) Cèl·lules mare mesenquimals derivades de sang del cordó umbilical humà impulsen el creixement vascular *in vivo*



Les teràpies amb cèl·lules mare són estratègies prometedores per la regeneració de teixits humans danyats, incloent el miocardi isquèmic. Aquí, s'ha examinat l'adquisició de propietats associades amb el creixement vascular de les cèl·lules mare mesenquimals derivades de sang del cordó umbilical (UCBMSCs), i s'ha valorat si aquestes promouen el creixement vascular *in vivo*.

Aquestes cèl·lules es van induir a cèl·lules endotelials específiques de creixement mitjà (EGM-2), adquirint nous marcadors cel·lulars, augmentant l'absorció Ac-LDL i la capacitat migratòria segons l'avaluació de QRT.PCR, *Western blotting*, immunofluorescència indirecta i assajos d'invasió.

A partir de models de ratolins, després de la injecció subcutània amb Matrigel, les UCBMSC que havien estat modificades per tal d'expressar bioluminescència i proteïnes fluorescents, es va demostrar que participen en la formació de nova microvascularitat connectada amb el sistema circulatori. Això va permetre fer nous models de ratolins d'infart agut de miocardi (MI) als quals se'ls va trasplantar UCBMSCs utilitzant un pegat de fibrina. Els resultats van ser molt positius, ja que van mostrar que aquests animals mostraven una cicatriu d'infart més reduïda.

En conjunt, els resultats presentats mostren que les UCBMSC poden ser induïdes *in vitro* per adquirir propietats angiogèniques i vasculogèniques i així contribuir al creixement vascular *in vivo*.

4.4 Nobel per a les cèl·lules mare i la clonació

Premiades les investigacions que han obert la via a la medicina regenerativa

El científic britànic John B. Gurdon i el japonès Shinya Yamanaka van guanyar aquest any 2012 el premi Nobel de Medicina per les seves investigacions pioneres en clonació i cèl·lules mare.



62. Medalla del premi Nobel de Medicina

Gurdon, de la Universitat de Cambridge (Regne Unit), va realitzar experiments en granotes l'any 1962 els quals li van permetre establir les bases de la clonació que van ser claus per a la clonació de l'ovella Dolly i d'altres mamífers.

Yamanaka, de la Universitat de Kyoto, va demostrar el 2006 com obtenir cèl·lules mare pluripotents a partir de cèl·lules adultes. D'aquesta manera va establir les bases de gran part de les investigacions actuals sobre cèl·lules mare.

Així doncs, aquests dos científics van rebre el Nobel per la descoberta que les cèl·lules madures es poden reprogramar per convertir-se en pluripotents. Tal com veiem en aquesta frase, reprogramar és el concepte que uneix els seus treballs, ja que Gurdon va reprogramar organismes sencers i Yamanaka, cèl·lules individuals.

Tal com diu l'Assemblea Nobel, a partir dels seus treballs s'han creat nous camps de recerca. Anem a resumir els seus experiments més detalladament:

Per començar, Gurdon amb el seu experiment l'any 1962 va demostrar que l'especialització de les cèl·lules és reversible. El que va fer va ser extreure el nucli d'un òvul de granota i el va substituir pel nucli d'una cèl·lula intestinal també de granota. A

partir d'aquí, va observar que a partir d'aquest òvul en què s'havia introduït el nucli de la cèl·lula intestinal es desenvolupava un capgròs perfectament normal. Això va permetre determinar que la reprogramació era possible ja que si el desenvolupament d'un organisme fos un viatge de sentit únic l'ADN de la cèl·lula intestinal no hauria pogut tornar enrere per actuar com l'ADN d'un òvul. Així doncs, Gurdon va aconseguir reprogramar l'òvul.



63. John B. Gurdon

En segon lloc, Yamanaka es va preguntar anys més tard el per què les cèl·lules d'un embrió tenen la capacitat de convertir-se en qualsevol teixit de l'organisme i les adultes no. Va pensar que aquesta capacitat devia estar controlada per alguns gens, i va començar a buscar gens candidats amb l'esperança de reprogramar cèl·lules adultes perquè tornessin a ser com les embrionàries. Finalment va descobrir que n'hi ha prou amb quatre gens per transformar cèl·lules adultes en cèl·lules com les d'un embrió, a les quals va donar el nom de cèl·lules mare pluripotents induïdes o cèl·lules iPS.



64. Shinya Yamanaka

La importància d'ambdós descobriments rau en què han proporcionat noves eines a científics de tot el món i han conduït a avenços notables en moltes àrees de la medicina, ja que aquestes cèl·lules representen eines molt valuoses per comprendre els mecanismes de les malalties i, a més, obren noves oportunitats per desenvolupar tractaments mèdics.

4.5 L'ètica i la investigació amb cèl·lules mare

Tot i que cada vegada s'utilitzen més cèl·lules mare adultes que cèl·lules mare embrionàries degut a la seva facilitat d'obtenció i rapidesa, des dels inicis de la investigació amb cèl·lules mare hi ha hagut controvèrsies. Des d'alguns punts de vista es creu que la utilització de cèl·lules mare embrionàries en aquest camp consisteix en la destrucció d'un embrió humà, és a dir, d'una vida humana, però des d'altres punts de vista aquest embrió no es pot considerar encara un individu.

Actualment els problemes ètics ja no són tan importants degut al fet que les cèl·lules mare adultes no presenten problemes, i també perquè s'han trobat nous mètodes per obtenir-ne d'embrionàries sense haver de destruir l'embrió.

Als inicis, científics que es van començar a dedicar a la investigació amb cèl·lules mare embrionàries van quedar desconcertats quan van rebre tanta oposició pública pel que estaven fent. Per la seva part, ells s'estaven esforçant per alleugerir el sofriment de milions de pacients que havien posat la seva esperança en la promesa de la medicina regenerativa. No havia de ser un objectiu digne d'elogi? D'altra banda, pels seus opositors era i segueix sent important convèncer-los que no estan en contra d'aquesta investigació, però sí de que impliqui la destrucció d'un embrió humà, ja que creuen que això és atemptar contra la naturalesa de l'ésser humà i contra la seva condició moral i legal.

Aquesta oposició s'ha relacionat molt amb la visió de l'Església Catòlica, i, tot i que és cert, cal dir que cada persona pot pensar d'una manera diferent de manera que hi pot haver científics que tampoc estiguin d'acord amb la utilització d'aquestes cèl·lules. A més d'això, aquesta oposició tampoc aprova la clonació d'éssers humans per fins terapèutics, ja que aquesta pràctica científica juntament amb la destrucció d'embrions humans significarien pràctiques greument immorals que atacarien i denigrarien la dignitat de l'ésser humà.

4.5.1 Tres punts de vista

a) Angel Montero Carcaboso

L'investigador Angel Montero està d'acord amb què s'ha de fer investigació amb cèl·lules mare ja que això pot permetre curar moltes malalties. Tot i això, també afirma que s'ha de fer sota uns controls estrictes, ja que sinó es podria descontrolar i no se sabia fins on es pot arribar.

Cal mencionar que la polèmica que hi ha sobre aquestes investigacions no fa referència a qualsevol tipus de CM, sinó que es centra sobretot en l'ús de cèl·lules mare embrionàries, i en la utilització completa d'embrions, ja que això podria veure's com l'assassinat d'un individu, però com que gràcies als avenços que hi ha hagut ara ja gairebé no s'utilitzen aquestes cèl·lules mare embrionàries per la investigació, sinó que tot es basa en cèl·lules reprogramades o provinents d'altres fonts no pas d'embrions, ja no cal donar-hi tantes voltes.

Per acabar, torna a mencionar que les repercussions del que es descobreixi poden arribar a ser molt positives per la medicina regenerativa, però que sempre hi ha d'haver controls legals ja que, tot i que no es tracti de destruir embrions, també hi ha altres aplicacions on es podria arribar i que serien, segurament, poc ètiques.

b) Josep Roma Castanyer

Segons la visió de l'investigador Josep Roma, un embrió és un conjunt de cèl·lules que encara no s'ha de considerar vida humana. És per això que ell defensa la seva utilització si és necessària encara que això impliqui la destrucció d'un embrió complet. Tot i això, sí que està d'acord que quan aquest embrió ja és un fetus no es pot utilitzar, ja que llavors sí que es considera vida humana.

D'altra banda, menciona que malgrat hi hagi aquesta controvèrsia cada vegada s'utilitzen més les cèl·lules reprogramades (iPS) que no pas les embrionàries, però que si per alguna raó concreta s'haguessin d'utilitzar les embrionàries no hi hauria d'haver cap problema ètic perquè la investigació es pogués portar a terme.

A més, fent referència a la introducció de l'apartat, a la visió catòlica, Josep Roma creu que els objectius que presenta aquesta investigació amb cèl·lules mare justifiquen plenament la destrucció d'embrions si és necessari.

Per últim, sí que està en contra de la clonació humana per finalitats terapèutiques, ja que afirma que no es poden crear persones només per guarir-ne d'altres, sinó que, si això es fes, aquestes tindrien els mateixos drets que qualsevol de nosaltres i no s'haurien d'utilitzar per treure'ls hi els òrgans o per altres possibles aplicacions.

c) Toni Bayés Genís

El seu grup des del principi va optar per fer la recerca amb cèl·lules mare adultes o de cordó umbilical, en les quals no hi ha component ètic rellevant. Tampoc hi ha aspectes ètics en l'ús de iPS, sempre i quan es pugui eliminar el vector viral necessari per la seva transformació.

Fent referència a l'ús de cèl·lules embrionàries, és cert que hi ha aspectes ètics que molts sectors de la societat no entenen ni entendran mai. La realitat és, però, que hi ha centenars d'embrions congelats que mai s'utilitzaran amb finalitats reproductives i, eventualment, fins i tot es podrien acabar perdent.

Personalment, el doctor Bayés no està en contra de la utilització d'aquestes cèl·lules, però veu que la seva aplicació queda llunyana, doncs tenen un alt risc de produir teratomes. No creu que sigui el futur en l'àmbit de la cardiologia.

4.6 Entrevistes

A partir d'aquestes entrevistes es veuen reflectits diferents estudis universitaris i de postgrau els quals convergeixen en una mateixa sortida professional, la investigació amb cèl·lules mare (CM). A més, també es pot analitzar la investigació que s'està portant a terme a Catalunya en comparació amb la resta del món o d'Europa i el treball cooperatiu que fan tots els científics en compartir resultats i experiències. Per últim, també es reflecteix l'afectació personal que implica aquesta professió, sovint en el terreny familiar.

ENTREVISTA 1

Nom: Angel Montero Carcaboso

Edat: 36 anys

1. Quina carrera universitària vas estudiar i a quina universitat?

Vaig estudiar Farmàcia a la Universitat del País Basc (UPV), 1994-1999

2. Què et va fer decidir a triar aquesta carrera?

Em va fer decidir el fet que era una combinació de la química, la biologia i la medicina gairebé a parts iguals (no em decidia!)

3. Has fet algun postgrau o màster relacionat amb la carrera o d'algun altre camp després d'acabar-la?

Doctor de la UPV 1999-2004

Màster MBA 2001-2003

Post doctorat 2004-2010

4. A què et dediques professionalment en aquest moment?

Sóc investigador en l'àrea "farmacologia preclínica y alliberació de fàrmacs"

5. Com està la investigació catalana a nivell mundial o europeu en el teu camp?

En el meu camp estem a un nivell mitjà europeu i mundial, encara podem créixer.

6. Quan vas començar a estudiar, esperaves que t'acabaries dedicant a la investigació?

És possible, no ho recordo bé. El que tenia clar és a què no em dedicaria: no seria un farmacèutic d'oficina de farmàcia.

7. En el camp que estàs estudiant suposo que hi ha investigadors d'arreu del món treballant-hi. Us trobeu regularment o compareu els resultats?

Sí. És important perquè es comparteixen recursos (per exemple, models animals, fàrmacs o nous agents terapèutics) que permeten conèixer potencials col·laboradors.

8. Esperes dedicar-te tot el que queda de la teva vida professional a la investigació?

Sí. Després d'haver-me format durant 10 anys un cop acabada la carrera ara desenvolupo els meus projectes i formo a altres investigadors. L'Estat ha invertit molts recursos en la meva formació i espero tornar-los generant coneixement i riquesa, de la qual tots ens podem beneficiar.

9. La teva feina t'afecta d'alguna manera al terreny familiar (molta dedicació, desplaçaments llargs...)?

Sí que requereix molta dedicació però puc compaginar bé la vida familiar i el treball ja que m'organitzo el temps amb llibertat. En la meva carrera professional he canviat tres vegades de país, dos d'elles amb la família. Això és una experiència que enriqueix a tots els membres de la família perquè s'aprenen moltes coses: cultures, idiomes, valors, capacitat d'adaptació als canvis i despreniment per allò material.

ENTREVISTA 2

Nom: Josep Roma Castanyer

Edat: 40 anys

1. Quina carrera universitària vas estudiar i a quina universitat?

Vaig estudiar bioquímica a la facultat de Biologia de la Universitat de Barcelona (UB).

2. Què et va fer decidir a triar aquesta carrera?

Sempre m'havia agradat la ciència, especialment des de l'Institut.

3. Has fet algun postgrau o màster relacionat amb la carrera o d'algun altre camp després d'acabar-la?

Vaig fer el màster en recerca i també el doctorat a la Universitat Autònoma de Barcelona (UAB).

4. A què et dediques professionalment en aquest moment?

Sóc investigador del Vall d'Hebron Institut de Recerca i professor lector de la UVIC.

5. Com està la investigació catalana a nivell mundial o europeu en el teu camp?

La investigació en càncer a Catalunya és de les punteres a nivell mundial. Som un país petit però la producció científica normalitzada a la població del territori és molt elevada. Falta encara, però, un teixit industrial que capti les idees i les comercialitzi.

6. Quan vas començar a estudiar, esperaves que t'acabaries dedicant a la investigació?

No en tenia ni idea del que acabaria fent, però m'atreia la idea, encara que pensava que mai ho aconseguiria.

7. En el camp que estàs estudiant suposo que hi ha investigadors d'arreu del món treballant-hi. Us trobeu regularment o compareu els resultats?

Especialment en congressos internacionals, i també en la xarxa de càncer espanyola de la qual formem part.

8. Esperes dedicar-te tot el que queda de la teva vida professional a la investigació?

No penso molt a llarg termini, però no veig perquè no ho hauria de fer.

9. La teva feina t'afecta d'alguna manera al terreny familiar (molta dedicació, desplaçaments llargs...)?

Doncs sí, fins a cert punt, la dedicació és alta, sovint cal viatjar, però intento que no afecti especialment l'àmbit personal i familiar. Encara que no tan com voldria, hi ha temps per tot.

ENTREVISTA 3

Nom: Antoni Bayés Genís

Edat: 44 anys

1. Quina carrera universitària vas estudiar i a quina universitat?

Vaig estudiar medicina a la Universitat Autònoma de Barcelona (UAB).

2. Què et va fer decidir a triar aquesta carrera?

La medicina sempre ha estat present a casa. Jo soc la cinquena generació de metges i sempre he sentit a parlar de medicina en el meu entorn. Em vaig decidir força jove, crec que gràcies a acompanyar al meu pare de petit a visitar malalts a domicili. No recordo haver volgut fer res que no fos medicina, i crec que no sabia fer res més.

3. Has fet algun postgrau o màster relacionat amb la carrera o d'algun altre camp després d'acabar-la?

Al finalitzar la carrera vaig fer l'examen del MIR i vaig començar l'especialitat de Cardiologia durant 5 anys. Després vaig cursar el doctorat i vaig llegir la tesi doctoral amb qualificació màxima per unanimitat. A continuació vaig decidir anar 2 anys als Estats Units, concretament a la Clínica Mayo (Rochester, MN) per aprendre a fer recerca bàsica-translacional en cardiologia. Allí vaig aprendre a fer cultiu cel·lular, les tècniques de biologia molecular i l'experimentació animal.

4. A què et dediques professionalment en aquest moment?

La meua vida professional esta dividida en 7 apartats que intento gestionar el millor possible per dedicar al màxim temps a cadascun d'ells:

- 1- Gestió del servei de Cardiologia de l'Hospital universitari Germans Trias i Pujol. Es un Servei complex que té 24 adjunts, 15 residents i alta tecnologia. Assegurar que tot rutlli no és tasca fàcil.
- 2- Assistència mèdica. Almenys 1-2 dies a la setmana dedico el matí a consulta externa de malalts preferentment afectes d'insuficiència cardíaca. Aquesta és la meva subespecialització dintre de la Cardiologia.
- 3- Docència de pre i post-grau. Cada dia de la setmana tenim sessions formatives amb els residents que estan aprenent cardiologia. Alhora, soc Professor Titular de Cardiologia de la Universitat Autònoma de Barcelona i dono classes teòriques i pràctiques als alumnes de 4rt de Medicina.
- 4- Recerca. Soc el director del grup de recerca ICREC dedicat a investigar en insuficiència cardíaca i regeneració cardíaca. Actualment som 15 investigadors i en els darrers 15 anys hem publicat 150 articles científics en revistes de màxim nivell.
- 5- Activitat editorial. Des de fa 3 anys soc editor associat de la 'Revista Española de Cardiología'. Aquesta és la revista en llengua espanyola amb el factor d'impacte més alt. Rebem uns 750 nous manuscrits cada any que han de ser avaluats i publicats per ordre d'importància. En l'actualitat només accepten el 32% de tot el que ens envien.
- 6- Consulta privada – 1 o 2 tardes a la setmana passo consulta a Consultori Bayés Vic des de les 5 de la tarda fins a les 9-10 del vespre.
- 7- President de la Societat Catalana de Cardiologia. Des del mes de setembre passat he estat nomenat president de la SCC durant els propers 2 anys.
En fi, que no tinc massa temps per avorrir-me.

5. Com està la investigació catalana a nivell mundial o europeu en el teu camp?

Hi ha pocs grups de recerca a Catalunya dedicats a la regeneració cardíaca. Fa uns anys altres grups hi van dedicar esforços, però la manca de resultats immediats els va fer desistir. A nivell europeu i mundial hi ha molts centres i grups dedicats amb una competència ferotge. A Anglaterra, Alemanya i Estats Units hi ha centres exclusivament dedicats a això. Per tant, hem de tenir més imaginació i idees més originals que ells per a ser competitius.

6. Quan vas començar a estudiar, esperaves que t'acabaries dedicant a la investigació?

Ja de petit era molt inquiet i els de casa ja em deien que a mi m'agradava la recerca. A batxillerat, molt abans de que es fessin projectes de recerca, el 1985, jo vaig anar tots els caps de setmana a la UAB per fer experiments sobre l'efecte de l'alcohol en l'embrió de pollastre. El catedràtic de la universitat em va deixar les claus perquè hi anés sempre que fos necessari. Van sortir resultats molt interessants, gairebé una tesina. Vaig aprendre a manipular teixits, parafinar-los, microscopia òptica i electrònica ... Durant la carrera universitària vaig tenir poc temps, però a l'iniciar la residència vaig tornar a plantejar experiments de recerca, de tal manera que poc després de finalitzar-la vaig poder defensar la tesi doctoral amb la màxima puntuació.

En fi, crec que la inquietud i la cerca de respostes al que t'envolta forma part de l'esperit d'un investigador des de petit.

7. En el camp que estàs estudiant suposo que hi ha investigadors d'arreu del món treballant-hi. Us trobeu regularment o compareu els resultats?

Efectivament, com he comentat anteriorment hi ha molts investigadors i grups treballant en regeneració. Les societats científiques convoquen regularment congressos que ens permeten explicar els darrers resultats i contrastar-los amb el que fan els col·legues. A més, aquest intercanvi d'idees permet establir col·laboracions amb la finalitat d'incrementar l'expertesa i afavorir la cerca de respostes a les hipòtesis plantejades.

5. CONCLUSIONS

L'inventor i científic rus Konstantin Tsiolkovsky deia "els impossibles d'avui seran possibles demà". Aquesta cita serveix per introduir les conclusions a les que s'arriba després de finalitzar el present treball.

Durant l'evolució d'aquest projecte s'han anat assolint els objectius plantejats. Primer de tot, gràcies a tota la informació que es va cercar es va poder fer un recull teòric extens tractant la majoria dels temes relacionats amb cèl·lules mare, on es van ampliar els coneixements sobre l'àmbit. Dins aquest punt, cal remarcar que el fet de ser un tema molt científic i desconegut, va fer que el principi fos força difícil de comprendre la teoria cercada. Però poc a poc es van anar lligant tots els fils fins al punt que l'esforç requerit va acabar fent que s'aprofundís molt més en l'explicació de tots aquests conceptes, com poden ser la potencialitat, la diferenciació, la plasticitat, els tipus de classificació, etc. Això implica que abans de començar la redacció va ser necessària una bona comprensió del que s'estava a punt de tractar, per tal de poder-ho explicar el més simple i entenedor possible. Addicionalment, es va veure que tota aquesta cerca teòrica havia estat eficaç i ben realitzada quan es va començar a desenvolupar la part pràctica i a fer visites a instituts de recerca degut al fet que, anant allà amb els conceptes clars, no calia perdre el temps explicant el més bàsic, sinó que ens podíem centrar en els detalls més interessants.

Fent referència al segon dels objectius, a partir també d'informació teòrica es va poder fer un apartat tractant el tema de la clonació relacionat amb aquestes cèl·lules. Tot i que aquest treball pretén donar la informació màxima general sobre les cèl·lules mare i no pas sobre la clonació, es va veure que era interessant fer un apartat d'aquest tema per l'estreta relació que les lliga. Així doncs, una explicació general sobre clonació ha permès veure el seu funcionament, la seva història científica, els mètodes que utilitza i com una cèl·lula mare reprogramada podria acabar desenvolupant un nou individu si es reproduís en les condicions necessàries per fer-ho possible.

D'una banda, des del començament es tenia molt interès en poder visitar hospitals i centres de recerca degut al fet que, pels coneixements que es tenia del tema i per les instal·lacions necessàries, no es podia realitzar cap experiment, de manera que aquestes

visites representaven la part més pràctica possible a incloure. D'altra banda, en assabentar-nos del tipus d'investigació que es feia a cada centre, es va veure necessari afegir un objectiu teòric més: la implicació de les cèl·lules mare en processos tumorals.

Centrant-nos en aquest punt, cal dir que, tot i no ser en els objectius inicials del treball, és un dels que ens ha commogut, sorprès i esperançat més. Quan es va decidir el tema del treball de recerca, es va fer tenint un desconeixement bastant gran de tot, però amb algunes idees conegudes d'esquitllada. Tot i no saber-ne el perquè, se sabia que les cèl·lules mare presentaven característiques molt peculiars respecte la resta de cèl·lules, que tenien molta importància en la regeneració de teixits, com pot ser el teixit cardíac, també es coneixia que hi havia una relació amb la clonació, i també que hi havia persones que estaven en contra de la seva utilització per fer-ne experiments. El que no se sabia era que podien tenir alguna implicació en el tema del càncer, i molt menys que podien arribar a ser la clau que permetés curar les nombroses malalties que s'engloben sota aquest nom.

És per això que aquest és un dels punts del treball que més es vol destacar, no perquè sigui més important que els altres sinó perquè, personalment, es creu que és un dels més desconeguts dels que s'han tractat en aquest treball. Des de ja fa anys que ens han explicat què és i com es comença a formar un tumor, sigui benigne o maligne, i també se'ns explicava la incertesa de perquè després de tractaments tan forts com pot ser la quimioteràpia, anys més tard, moltes persones tornaven a recaure-hi. La investigació realitzada en aquest treball ens ha permès conèixer què és el que passa en aquests casos, com es forma realment un tumor i que la clau que obra el pany als dubtes existents es diu cèl·lula mare.

Les visites a centres d'investigació ens ha permès constatar que aquest tema no és una esperança imaginària, sinó que és un objectiu real i cada vegada més proper, tant en el cas de millors tractaments pel càncer com també en la millora del teixit cardíac danyat després d'un infart de miocardi.

Ja per anar acabant, els dos últims objectius proposats també s'han assolit, és a dir, s'han analitzat publicacions científiques relacionades amb les línies de recerca que s'estudien en els centres visitats, algunes d'elles escrites pels mateixos investigadors amb qui s'ha entrat en contacte. Això ha estat molt interessant principalment per dos aspectes: per conèixer realment com funcionen aquestes publicacions i la feina científica dels investigadors d'arreu del món, i per aprofundir més sobre els temes tractats, no

tan sols de cara a la metodologia i el procediment descrit, sinó per visualitzar com se sintetitza el treball realitzat durant mesos o anys i també per aprendre a analitzar les imatges esmentades en les publicacions.

A més, també s'han pogut ponderar les dues visions ètiques respecte la investigació amb cèl·lules mare, en contrastar les visions dels investigadors dels centres i una visió catòlica. En aquest punt, s'ha pogut veure com tothom és conscient del perill que poden suposar aquestes investigacions si se'ns escapessin de les mans, com és el cas d'arribar a clonar humans només per ús terapèutic, però també s'ha vist com, mentre alguns donen més importància a la vida i els drets que pot tenir un embrió congelat que no s'implantarà mai a cap úter, d'altres creuen que destruir un embrió no significa destruir una vida humana, i molt menys si la finalitat d'aquesta destrucció és trobar la solució a nombroses malalties que sí que s'emporten vides humanes minut a minut.

6. FONTS UTILITZADES

6.1 Bibliografia

Bayes-Genis A., et al, "Cardiac adipose tissue: A new frontier for cardiac regeneration?". Int J Cardiol, acceptat 5 de maig 2012.

CORBELLA, Josep. "Els premis més prestigiosos de la ciència". La Vanguardia, 9.10.12, pàgines 22-23.

D. Taylor M., et al. "Radial glia cells are candidate stem cells of ependymoma". Cancer cell, Vol. 8, 2005, pàgines 323-335.

Dirks P.B. "Brain Tumor Stem Cells: Bringing Order to the Chaos of Brain Cancer". American Society of Clinical Oncology, Vol. 26, Núm. 17, 2008, pàgines 2916-2924.

Eyler C.E. i Rich J. "Survival of the Fittest: Cancer Stem Cells in Therapeutic Resistance and Angiogenesis". American Society of Clinical Oncology, Vol.26, Núm.17, 2008, pàgines 2839-2845.

Gálvez-Montón C., Prat-Vidal C., et al. "Transposition of a pericardial-derived vascular adipose flap for myocardial salvage after infarct". European Society of Cardiology, acceptat 11 de maig 2011.

Hart L.S. i El-Dery W.S. "Invincible, but Not Invisible: Imaging Approaches Toward In Vivo Detection of Cancer Stem Cells". American Society of Clinical Oncology, Vol.26, Núm.17, 2008, pàgines 2901-2910.

Read T., et al. "Identification of CD15 as a Marker for Tumor-Propagating Cells in a Mouse Model of Medulloblastoma". Cancer Cell, Vol.15, 2009, pàgines 135-147.

Roura S., Bagó J.R., et al. "Human Umbilical Cord Blood-Derived Mesenchymal Stem Cells Promote Vascular Growth *In Vivo*". Plos one, Vol.7, Núm. 11, 2012.

WEINBERG, Robert A. *The biology of CANCER*. Estats Units, Editorial Garland Science, Taylor & Francis Group, 2007.

Werb Z., Rich J., et al. "Capturing cancer stem cells". Nature medicine, Vol. 14, Núm. 9, 2008, pàgina 814.

6.2 Webgrafia

- *Anemia de Fanconi.* <http://es.wikipedia.org/wiki/Anemia_de_Fanconi> [consulta 31.10.2012]
- *Biología Celular: Células Madre.* <<http://evabiologiacelular.blogspot.com.es/2010/09/celulas-madre-segunda-parte.html>> [consulta 25.07.2012]
- *Cèl·lula madre pluripotente inducida.* http://es.wikipedia.org/wiki/C%C3%A9lula_madre_pluripotente_inducida [consulta 07.08.2012]
- *Célula madre cancerosa.* <http://es.wikipedia.org/wiki/C%C3%A9lula_madre_cancerosa> [consulta 10.10.2012]
- *Célula madre- Wikipedia, la enciclopedia libre.* <http://es.wikipedia.org/wiki/C%C3%A9lula_madre> [consulta 18.07.2012]
- *Células madre (stem cells), clonación terapéutica y regeneración de tejidos.* http://www.ugr.es/~eianez/biotecnologia/clonembrion.htm#_toc3643836 [consulta 17.07.2012]
- *Células Madre!!* <<http://www.slideshare.net/EduardoGonzlezRamrez/clulas-madre-8486066>> [consulta 24.08.2012]
- *Células Madre.* <<http://www.slideshare.net/cmcontemporaneo/clulas-madre-2693535>> [consulta 04.09.2012]
- *Células madre: La esperanza de una vida mejor.* <<http://www.neoteo.com/celulas-madre-la-esperanza-de-una-vida-mejor>> [consulta 04.09.2012]
- *Centres de Recerca de Catalunya.* <<http://cerca.cat/c/vhir/>> [consulta 30.10.2012]

- *Clonación (biología)*. <<http://es.wikipedia.org/wiki/Clonaci%C3%B3n>> [consulta 14.11.2012]
- *CLONACIÓN Y MANIPULACIÓN DE EMBRIONES HUMANOS*. <<http://www.ugr.es/~eianez/Biotecnologia/Clonacion.html>> [consulta 05.11.2012]
- *Corazón*. <<http://es.wikipedia.org/wiki/Coraz%C3%B3n>> [consulta 21.11.2012]
- *Diabetes mellitus tipus 1*. <http://ca.wikipedia.org/wiki/Diabetis_mellitus_tipus_1> [consulta 02.11.2012]
- *Diferenciación cel·lular*. <http://es.wikipedia.org/wiki/Diferenciaci%C3%B3n_celular> [consulta 24.08.2012]
- *Diferenciación celular-Wikipedia, la enciclopedia libre*. <http://es.wikipedia.org/wiki/Diferenciaci%C3%B3n_celular> [consulta 02.09.2012]
- *Diferenciación*. <http://www.facmed.unam.mx/deptos/biocetis/Doc/Tutorial/tejidos_archivos/Page1740.htm> [consulta 02.09.2012]
- *Disautonomía*. <<http://es.wikipedia.org/wiki/Disautonom%C3%ADa>> [consulta 31.10.2012]
- *Distrofia muscular de Duchenne*. <http://es.wikipedia.org/wiki/Distrofia_muscular_de_Duchenne> [consulta 04.11.2012]
- *Embrios. Clonación y Células madre*. <<http://www.embrios.org/celulas.htm>> [consulta 17.07.2012]
- *Embrios. Clonación y Células madre*. <http://www.embrios.org/clonacion/fin_reproductivo.htm> [consulta 05.11.2012]

- *Enfermedad de Gaucher.*
<http://es.wikipedia.org/wiki/Enfermedad_de_Gaucher> [consulta 04.11.2012]
- *ESTRUCTURA DEL CORAZON.*
<<http://www2.udec.cl/~caguirre/estructura.htm>> [consulta 21.11.2012]
- *Estudios confirman la existencia de células madre cancerosas.*<<http://www.telesurtv.net/articulos/2012/08/02/estudios-confirman-la-existencia-de-celulas-madre-cancerosas-7587.html>> [consulta 15.10.2012]
- *Fondo Alicia Pueyo- tumores de tronco.*<<http://www.fondoaliciapueyo.org/Alicia00401.html>> [consulta 20.10.2012]
- *Fundació Sant Joan de Déu.* <http://www.fsjd.org/ca/grups-de-recerca_3230/36234/team> [consulta 20.10.2012]
- *Glioma.* <<http://es.wikipedia.org/wiki/Glioma>> [consulta 10.10.2012]
- *Incontinència urinària.*
<http://isearch.babylon.com/?q=incontinencia+urinaria&s=web&as=3&babsr c=HP_sft> [consulta 31.10.2012]
- *Infart miocardiàc.*<http://ca.wikipedia.org/wiki/Infart_miocard%C3%ADac> [consulta 30.10.2012]
- *Infarto del Miocardio.*<<http://www.drscope.com/cardiologia/pac/infarto.htm>> [consulta 02.12.2012]
- *Infarto miocardio.*
<http://geosalud.com/Enfermedades%20Cardiovasculares/infarto_miocardio_pg2.htm> [consulta 02.12.2012]
- *Institut Català de la Salut.*<http://www.gencat.cat/ics/infocorp/recerca_vall_hebron.htm> [consulta 30.10.2012]

- *Instituto del Corazón de Texas.*
<http://www.texasheartinstitute.org/HIC/Anatomy_Esp/valve_sp.cfm>
[consulta 21.11.2012]
- *La cèl·lula.* <<http://www.xtec.cat/~jgurrera/mtcndri.htm>> [consulta 16.07.2012]
- *La célula.* <<http://www.profesorenlinea.cl/Ciencias/Celula.htm>> [consulta 16.07.2012]
- *La Terapia Genetica Manipulacion de Genes Diologia Celular.*
<<http://www.portalplanetasedna.com.ar/terapia.htm>> [consulta 24.08.2012]
- *Linfoma no-Hodgkin.* <http://es.wikipedia.org/wiki/Linfoma_no-Hodgkin>
[consulta 30.10.2012]
- *Malaltia de Huntington.*
<http://ca.wikipedia.org/wiki/Malaltia_de_Huntington> [consulta 02.11.2012]
- *MaterCell-Venezuela.*
<http://www.matercell.com.ve/prof_experiencia_transplantes.php> [consulta 04.09.2012]
- *Métodos de obtención de células madre.*
<<http://madrecelulas.blogspot.com/2010/12/metodos-obtencion-celulas-madre.html>> [consulta 04.09.2012]
- *Modelos de diferenciación cel·lular.* <<http://www.slideshare.net/uplano/modelos-de-diferenciacion-celular-7333851>> [consulta 24.08.2012]
- *Rabdomiosarcoma.*
<http://kidshealth.org/parent/en_espanol/medicos/rms_esp.html#>
[consulta 30.10.2012]
- *Rabdomiosarcoma.* <<http://es.wikipedia.org/wiki/Rabdomiosarcoma>> [consulta 30.10.2012]

- *Rabdomiosarcoma: Diagnóstico, Tratamiento y Pronóstico.* <<http://sarcomahelp.org/translate/es-rabdomiosarcoma.html>> [consulta 30.10.2012]
- *Retrovirus. Artículo de la Enciclopedia.* <<http://enciclopedia.us.es/index.php/Retrovirus>> [consulta 24.08.2012]
- *Revista chilena de anatomía – DIFERENCIACIÓN SEXUAL EMBRIO-FETAL: DE LAS MOLECULAS A LA ANATOMÍA.* <http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0716-98682001000100012&script=sci_arttext> [consulta 25.07.2012]
- *Sarcoma de Ewing.* <http://kidshealth.org/parent/en_espanol/medicos/ewings_esp.html#> [consulta 20.10.2012]
- *SAVALnet.* <<http://www.savall.cl/link.cgi/cienciaymedicina/progresosmedicos/9075>> [consulta 20.10.2012]
- *Síndrome de Down.* <http://es.wikipedia.org/wiki/S%C3%ADndrome_de_Down> [consulta 02.11.2012]
- *Síndrome de Lesch-Nyhan.* <http://es.wikipedia.org/wiki/S%C3%ADndrome_de_Lesch-Nyhan> [consulta 31.10.2012]
- *Síndrome mieloproliferativo crónico.* <http://es.wikipedia.org/wiki/S%C3%ADndrome_mieloproliferativo_cr%C3%B3nico> [consulta 31.10.2012]
- *Temas de Biología: Diferenciación celular.* <<http://biologiaev.blogspot.com.es/2009/04/diferenciacion-celular.html>> [consulta 02.09.2012]
- *Terapia celular con células madre adultas. Clínica Universidad de Navarra.* <<http://www.cun.es/la-clinica/servicios->