

2015

En el CIPF
investigamos para tratar
lesiones medulares.

Dra. Victoria Moreno



PRINCIPE FELIPE
CENTRO DE INVESTIGACION

Laboratorio de Regeneración Tisular y Neuronal

<http://www.cipf.es/regeneracion-neuronal>

CIPF

C/ Eduardo Primo Yúfera, 3

Valencia 46012, Spain

Tel. +34 963 289 680 Fax. +34 963 289 701

www.cipf.es

© 2015

Con la financiación de:



GENERALITAT VALENCIANA
CONSELLERIA DE SANITAT



Unión Europea
Fondo Europeo
de Desarrollo Regional

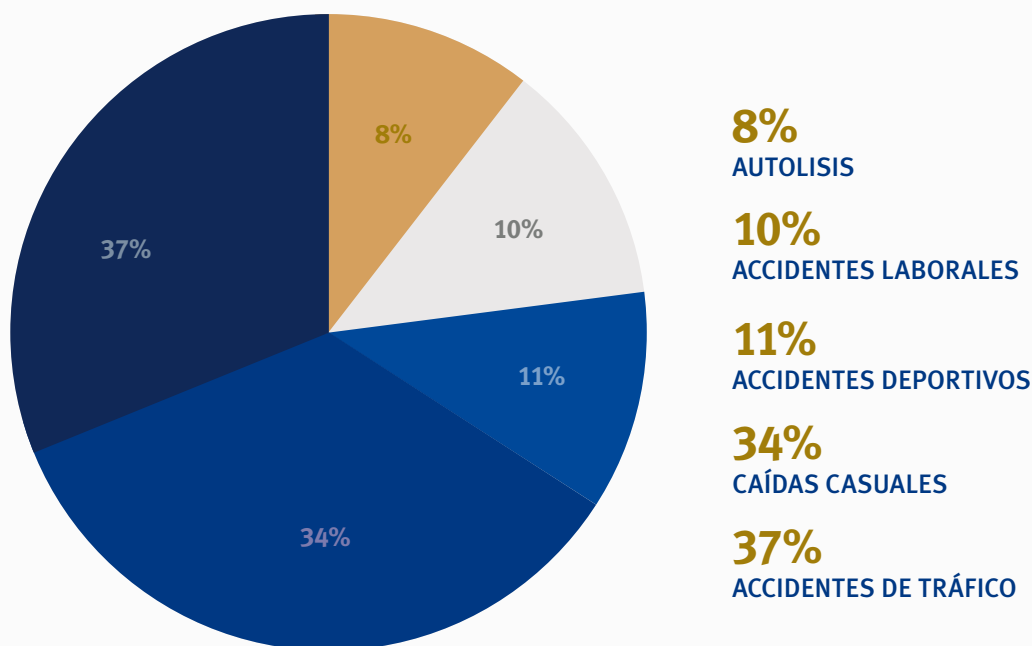
- 04 Datos estadísticos de incidencia de LM
- 06 ¿Por qué es tan difícil tratar una lesión medular?
- 08 ¿En qué estamos trabajando?
- 09 ¿Quiénes estamos trabajando?
- 11 ¿Con quién colaboramos?
- 12 ¿Qué hemos conseguido hasta ahora?
- 17 ¿Qué queremos estudiar en un futuro?
- 18 ¿En que se invertirá lo que dones?

Datos estadísticos de incidencia de LM

Sólo en España, **más de 1.000 personas sufren cada año una lesión medular (LM) traumática** (2,5 por 100.000 habitantes), habiendo en la actualidad cerca de 40.000 personas afectadas. Se calcula que **en Europa hay 330.000 personas con lesión medular** y se producen alrededor de **11.000 casos nuevos cada año**. Hasta el año 2003, la causa más frecuente en España eran los accidentes de tráfico que representaban más del 50% de los casos, reduciéndose a partir de esa fecha hasta el 36,6%. Las caídas casuales representan el 33,6%, los accidentes laborales el 10%, los deportivos el 11,3% y los intentos de autolisis el 8,5%.

La LM es un proceso de alta complejidad técnico asistencial que conlleva un elevado consumo de recursos sanitarios. Significa una agresión terrible en la vida de cualquier persona: comporta una ruptura con la vida anterior, un grado severo de discapacidad y una importante pérdida de funcionalidad y de calidad de vida.

GRÁFICO 1 - Origen de las causas de la lesión medular.
GRÁFICO 2 - Datos estadísticos.

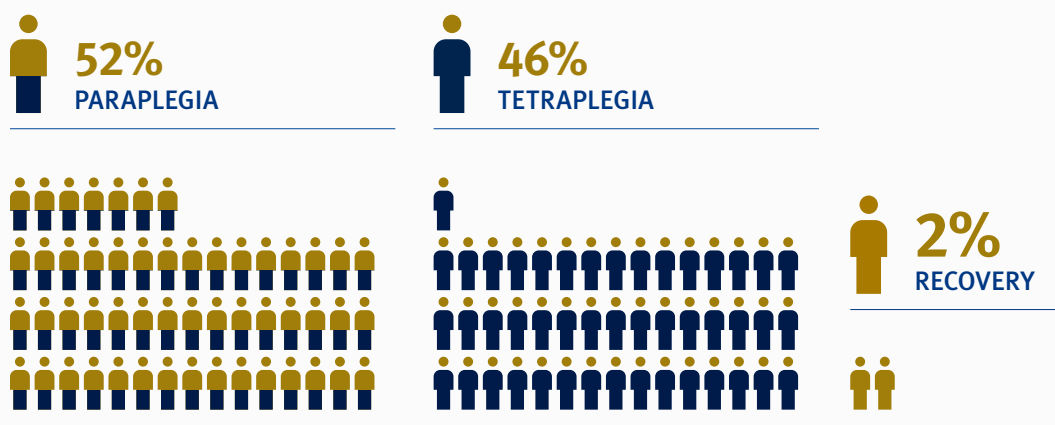


Sin embargo, el dato más significativo recogida por las estadísticas de incidencia es que del 100% de la población afectada por tetraplegia o paraplegia (repartidos casi a partes iguales) **sólo un 2% consigue recuperar la función neuronal perdida.**

A pesar de que durante las últimas décadas muchos trabajos experimentales han mostrado en más o menos medida una recuperación significativa en este tipo de lesión, empleando diversas estrategias experimentales, la realidad clínica es que aún no existe un tratamiento eficaz para curar las graves consecuencias originadas por una LM.

Es por ello que la investigación biomédica en este tipo de patología cobra, si cabe, aún mayor importancia. En el CIPF, en el Laboratorio de la Dra. Victoria Moreno se han conseguido resultados muy esperanzadores, en animales de laboratorio, que podrían llegar a traducirse en tratamientos más eficaces en la práctica clínica en un futuro no demasiado lejano.

GRÁFICO 2 - Datos estadísticos.



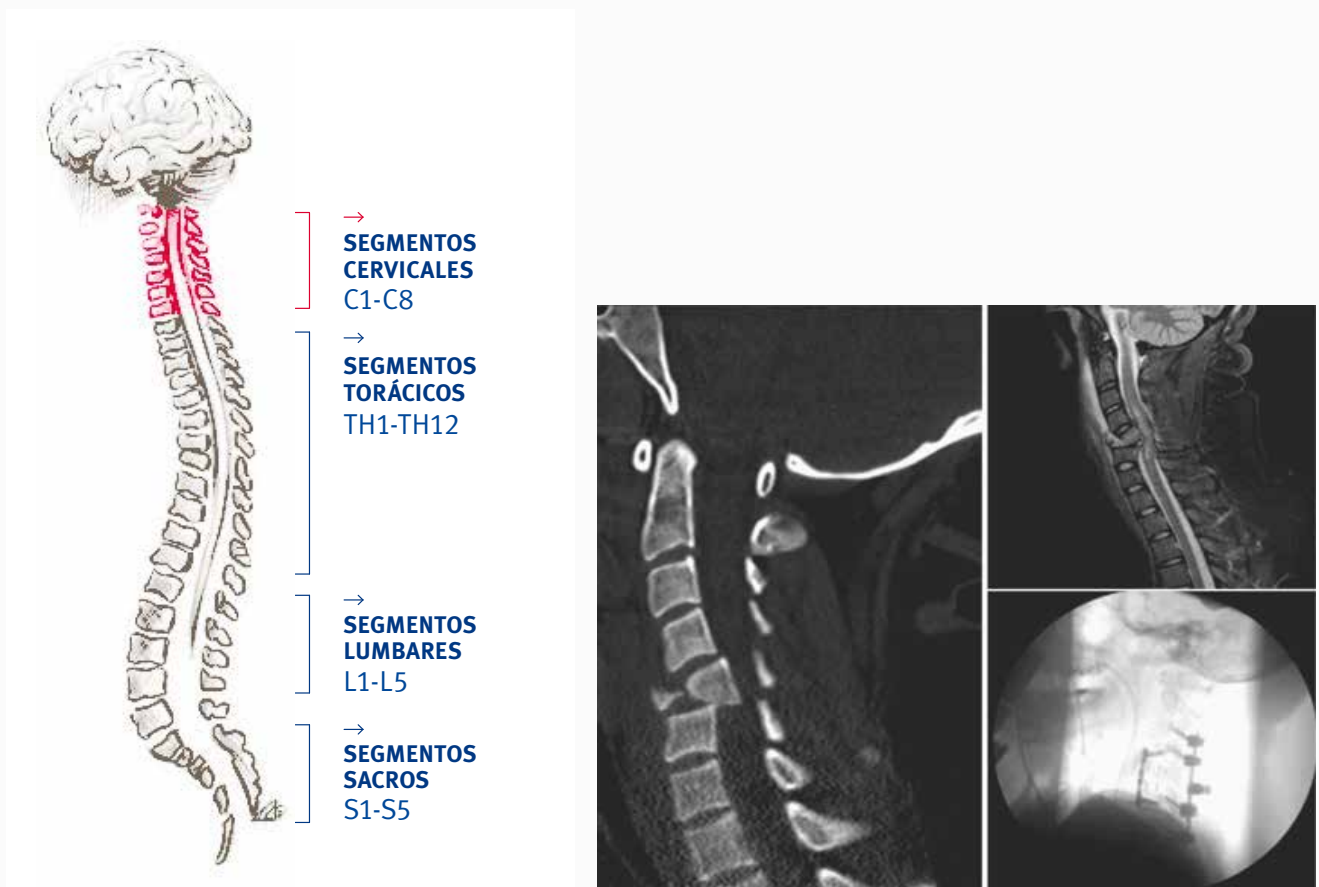
Adaptado de www.wingsforlife.com

¿Por qué es tan difícil tratar una lesión medular?

La lesión medular es un proceso multifásico, donde convergen múltiples eventos y concurren consecuentemente en cascada.

GRÁFICO 1 - Representación gráfica de los segmentos medulares.

IMAGEN 2 - Imagen radiológica de un paciente con lesión medular a nivel cervical.



Hablando en términos más sencillos podemos decir que la médula espinal es un cordón nervioso que se extiende desde la base del cerebro hasta la región lumbar. Está protegida por la columna, por las vértebras, y funciona como una línea eléctrica de doble recorrido, de ida y vuelta, que transmite las órdenes del cerebro al resto del cuerpo y viceversa. Cuando esta conducción nerviosa se interrumpe por una lesión –en este caso traumática, sus consecuencias son más o menos graves según la localización de la lesión. A nivel cervical (tetraplejía) provoca pérdida o disminución de la sensibilidad, de la movilidad de extremidades superiores e inferiores y de todo el tronco, y de la funcionalidad de las vísceras torácicas y abdominales. A nivel torácico y lumbar (paraplejía) provoca pérdida de la sensibilidad, de la movilidad de las extremidades inferiores y de parte del tronco, y de la funcionalidad de las vísceras abdominales. A nivel lumbar bajo (cola de caballo) provoca parálisis de las extremidades inferiores.

La mayoría de LM traumáticas no presentan una sección completa de la médula, sino que la lesión se produce por compresión, laceración o contusión. Además del daño inicial en el tejido medular –mueren neuronas motoras y sensoriales, se produce una degeneración post-traumática de la médula, que en gran medida es consecuencia de un proceso secundario a la lesión, en el que intervienen múltiples factores: estrés oxidativo por síntesis excesiva de óxido nítrico; activación de la microglía; inflamación local; microcirculación alterada; disfunción de la barrera hematoencefálica; y, según se ha descubierto recientemente, un mecanismo de muerte celular diferida. Todo ello sucede durante los primeros minutos, horas, días o incluso meses después del trauma inicial.

Al mismo tiempo se produce una reparación espontánea por diversos mecanismos, que ha sido observada en modelos animales: generación de nuevos circuitos neuronales a partir de los ya existentes o a partir de una población de células madre multipotente que existen en la médula espinal (células endimarias) y precisamente en esta posible maquinaria de reparación endógena estamos trabajando en el Laboratorio de Regeneración Tisular y Neuronal de la Dra. Victoria Moreno en el CIPF.

¿En qué estamos trabajando?

El trasplante celular puede sustituir a las células perdidas, y a la vez generar un ambiente propicio para la supervivencia y buen funcionamiento de los axones supervivientes y lesionados, aliviando el proceso de degeneración, favoreciendo la regeneración endógena, espontánea, incluidas las fases crónicas de la lesión.

Reducir la cicatriz glial y la supresión de los inhibidores del crecimiento axonal puede ser un método eficaz para favorecer la reparación de la médula, en la fase crónica.

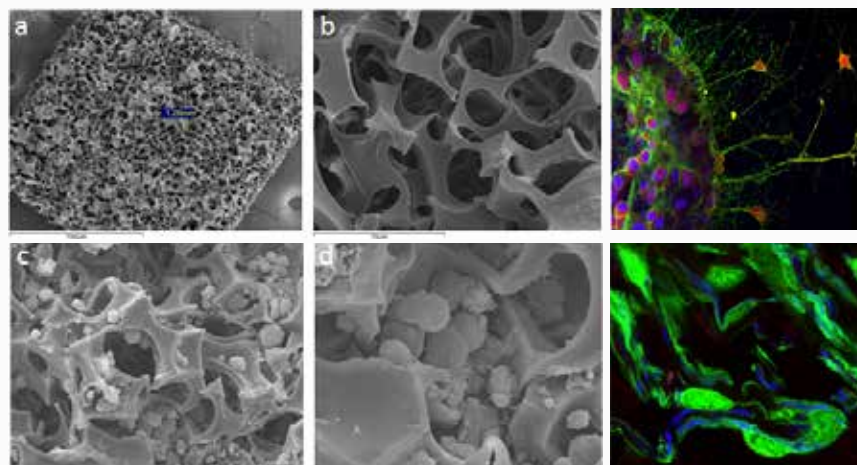
El uso de las plataformas biotecnológicas, herramientas innovadoras y útiles para liberar compuestos de forma controlada y local, permitiría usar fármacos y otras sustancias capaces de reparar la médula y regenerar los axones, creando de este modo un puente sobre el que pueda generarse el crecimiento axonal, en la fase crónica.

La utilización de polímeros terapéuticos (nanoconstrucciones híbridas) puede ser un sistema de transporte intracelular y extracelular específico, para conseguir terapias de aplicación clínica, en fase crónica y aguda.

La liberación y actuación de fármacos dirigidos mediante nanotecnología sobre el lugar de la lesión, permitiría limitar y reducir la inflamación. En fase aguda, podría ser una terapia eficaz, evitando los efectos nocivos de la lesión secundaria, y en fase crónica, crear un ambiente propicio a la regeneración.

Determinar los biomarcadores, tanto a nivel clínico como experimental, necesarios para conocer el estado y grado de la lesión, y poder predecir su evolución en el tiempo.

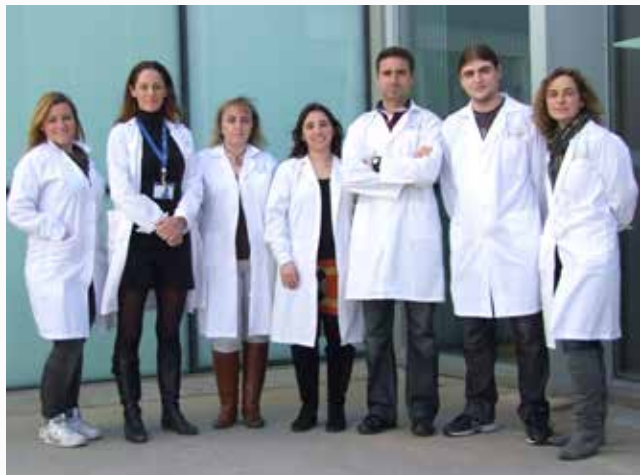
IMÁGENES1/6 - Imágenes de células madre endimarias empleadas en el Laboratorio de la Dra V. Moreno en la Regeneración funcionales de LM.



¿Quiénes estamos trabajando?

Laboratorio de Regeneración Tisular y Neuronal de la Dra . Victoria Moreno Manzano.

IMAGEN 1 - Equipo Laboratorio Regeneración Tisular y Neuronal CIPF.



El principal objetivo del grupo radica en aumentar las posibilidades de éxito en el rescate de la función neuronal tras un proceso traumático.

Exploramos fundamentalmente el potencial regenerador endógeno del sistema nervioso adulto con la participación de células troncales como protagonistas en las estrategias terapéuticas. Recientemente hemos demostrado que el trasplante en fase aguda de células ependimarias con capacidad multipotente, procedente de individuos adultos que han sufrido una lesión, en un modelo de contusión en la médula espinal, restaura la función neurológica y la actividad locomotora perdida de forma significativa (Stem Cells. 2009;2012).

La caracterización del proceso de “activación” de precursores neurales adultos que ocurre en el proceso de lesión y su influencia sobre las propiedades regeneradoras de éstos forma parte de los objetivos experimentales del laboratorio. Mejorar el conocimiento de los procesos moleculares y celulares que ocurren en una lesión del sistema nervioso nos ayudará además en la búsqueda de herramientas farmacológicas que favorezcan el escenario más propicio para la regeneración in vivo con efectos sinérgicos sobre la función neuronal perdida.

<http://www.cipf.es/regeneracion-neuronal>

IMAGEN 1 - Dra. Victoria Moreno Manzano.



Además trabajamos en estrecha colaboración con el Laboratorio de Polímeros Terapéuticos, liderado por la Dra M^a Jesús Vicent, que se encargan de la generación de nanofármacos para administración local en la zona de la lesión, dirigidos a estrategias en fases agudas y crónicas tras la LM.

El tratamiento de la LM mediante administración sistémica de nanofármacos no ha sido muy estudiada hasta el momento. Sin embargo el mayor avance en este campo se ha conseguido con la utilización de sistemas de administración local capaces de controlar la liberación de fármacos. Principalmente mediante la utilización de 'scaffolds' o arquitecturas de soporte para terapia celular o mediante la administración de diferentes tipos de hidrogeles/nanogeles, en la laboratorio actualmente trabajamos en la generación de sistemas híbridos (macro-nano) que nos ofrecen un sistema dual de liberación de varios fármacos a nivel local a la vez de una protección de los agentes liberados.

<http://www.cipf.es/web/portada/polimeros-terapeuticos>



¿Con quién colaboramos?

Uno de los proyectos de mas envergadura actualmente en el laboratorio es aquel denominado TIME TO MOVE orquestrado fundamentalmente por la investigación desarrollada desde el CIPF por nuestro laboratorio (Regeneración Tisular y Neuronal) y el Laboratorio de Poímeros Terapéuticos aunque en estrecha colaboración con la Unidad de lesionado medulares del Hospital Val de Hebron y el grupo de investigación del Dr. Joan Comella del Instituto de Recerca de Val de Hebron desarrollaran simultáneamente cuatro grandes líneas de investigación, que se llevarán a cabo de forma coordinada y en consonancia con la Fundación Step by Step que promueve el tratamiento y rehabilitación de afectados por LM.



¿Qué hemos conseguido hasta ahora?

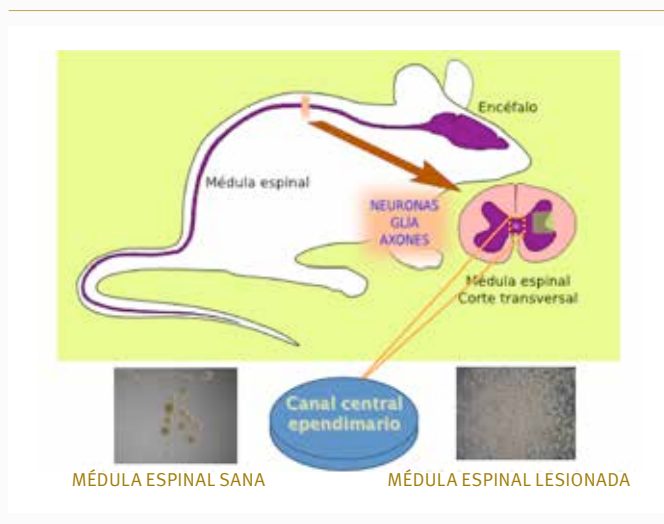
En nuestro grupo de investigación hemos apostado por activar este programa de reparación espontánea. Esta estrategia de regeneración funciona eficientemente en los vertebrados inferiores, como ocurre en los anfibios que regeneran espontáneamente la función neuronal tras una lesión medular por intervención de las células endimarias residentes. Aunque en vertebrados inferiores resulta ser el mecanismo responsable en la regeneración del tejido medular, en mamíferos por sí solo, resulta insuficiente.

La descripción más detallada hasta el momento de lo que denominamos maquinaria de regeneración endógena en médula espinal sana así como su comportamiento y capacidad regeneradora tras una lesión la encontramos en nuestros propios resultados de laboratorio (Moreno-Manzano et al. 2009). Muy recientemente, el laboratorio del Dr. Tator en Canadá, demuestra desde biopsias humanas, de donantes de órganos, post-mortem, que este tipo celular también está presente en humanos y que muestra un comportamiento similar, en términos de autorenovación y capacidad de diferenciación, a aquellas homólogas en roedor (Mothe AJ, et al. *Plos One* 2011, 6(11):e27079).

Los precursores neurales que en el tejido sano se mantienen alineados en el canal endimario, proliferan y se amplifican significativamente migrando e invadiendo la zona de lesión. Si hacemos una disección post-mortem del tejido medular de un animal de laboratorio sano (fotografías a la izquierda del siguiente panel) y de otro animal una semana después de haber sufrido una lesión medular traumática (fotografías a la derecha) observamos una evidente diferencia en la cantidad de precursores neurales (células madre) presentes en cada condición experimental.

GRÁFICO 1 - Comparación células rata sin lesión medular y rata con lesión medular traumática.

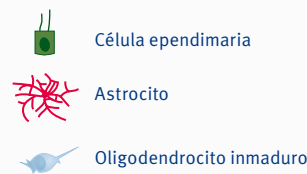
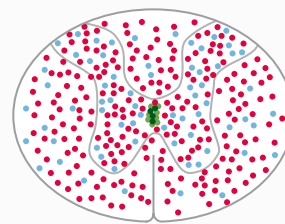
EL CANAL CENTRAL MEDULAR CONTIENE CÉLULAS MADRE EPENDIMARIAS Y ÉSTAS PROLIFERAN, SE ACTIVAN TRAS UNA LESIÓN MEDULAR.



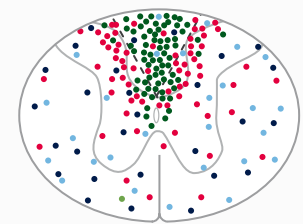
Este mismo fenómeno que observamos en la placa de cultivo, favoreciendo de forma selectiva el crecimiento de estas células madre, lo podemos observar en el tejido medular in vivo tras realizar tinciones histológicas específicas. En un dibujo, de forma más simplista, podemos observar las células endimarias (en verde) (y también los oligodendrocitos inmaduros del parénquima, en azul) que proliferan abundantemente y migran hacia la zona afectada por la lesión:

GRÁFICO 1 - Comparativa en la distribución y proporción de los diferentes tipos celulares antes y después de una LM traumática

SECCIÓN DE UNA MÉDULA ESPINAL SANA



SECCIÓN DE UNA MÉDULA ESPINAL UNA SEMANA DESPUÉS DE LA LESIÓN

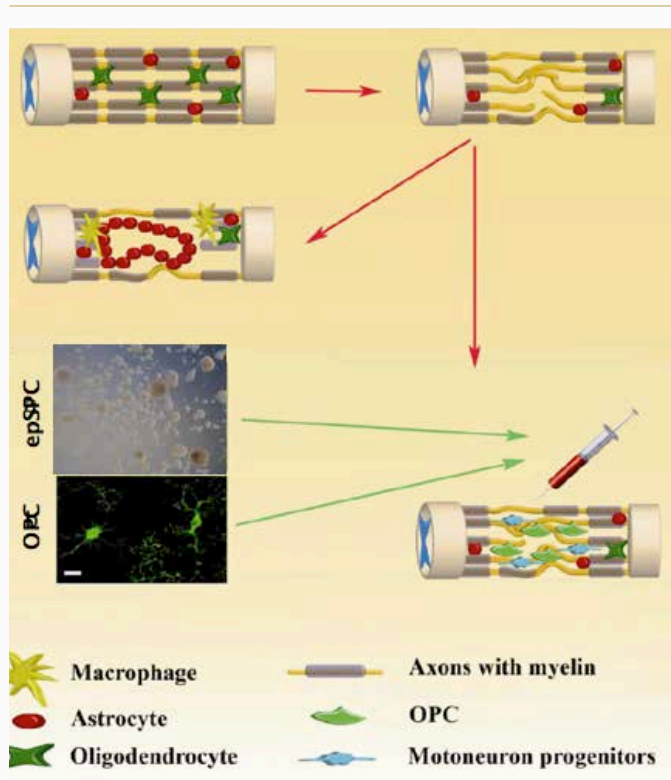


La prueba definitiva para mostrar la capacidad terapéutica de estas células es su uso en el tratamiento in vivo en un modelo de lesión medular. En el laboratorio elegimos un modelo de lesión por contusión, tratando de simular aquellas lesiones traumáticas que más frecuentemente ocurren en la práctica clínica. Realizamos los experimentos en roedor, en ratas adultas (3 meses), con una vida media de unos dos años, donde podemos ensayar mayor número de individuos y distintas condiciones experimentales. El primer experimento que realizamos mostró una respuesta sorprendentemente positiva. Realizamos un trasplante en fase aguda, es decir, inmediatamente después de generar la lesión por contusión severa. Empleamos células madre extraídas de la médula espinal de un animal previamente lesionado a nivel torácico, y que dejamos sobrevivir durante una semana. En este estudio incluimos tres grupos experimentales, un grupo control, con lesión medular pero sin trasplante celular, un grupo con lesión medular y trasplantado con células madre endimarias sin diferenciar (epSPCi), y un grupo con lesión medular y trasplantado con oligodendrocitos procedentes de la diferenciación previa de las células madre endimarias (OPCi).

Monitorizamos el comportamiento locomotor de los animales durante 2 meses tras la lesión. Durante estos dos meses realizamos un cuidado post-operatorio diario de cada animal, y ejercicios de rehabilitación “pasiva” (masajeado de extremidades y articulaciones inferiores para favorecer el retorno venoso) y “activa”, que exige una continua actividad física, en los primeros días sin participación del tronco inferior al estar completamente paralizado.

En este experimento los dos grupos de ratas trasplantadas, tanto el grupo trasplantado con células madre endimarias sin diferenciar (epSPCi) como el grupo trasplantado con oligodendrocitos diferenciados en cultivo (OPCi), recuperaron muy significativamente la movilidad de sus patas traseras desde la primera semana tras la lesión y el trasplante (los asteriscos denotan diferencias estadísticamente significativas entre los grupos trasplantados y el grupo control). Aunque bien es cierto, que no se encontraron diferencias entre trasplantas células madre sin diferenciar o las diferenciadas previamente a oligodendrocitos.

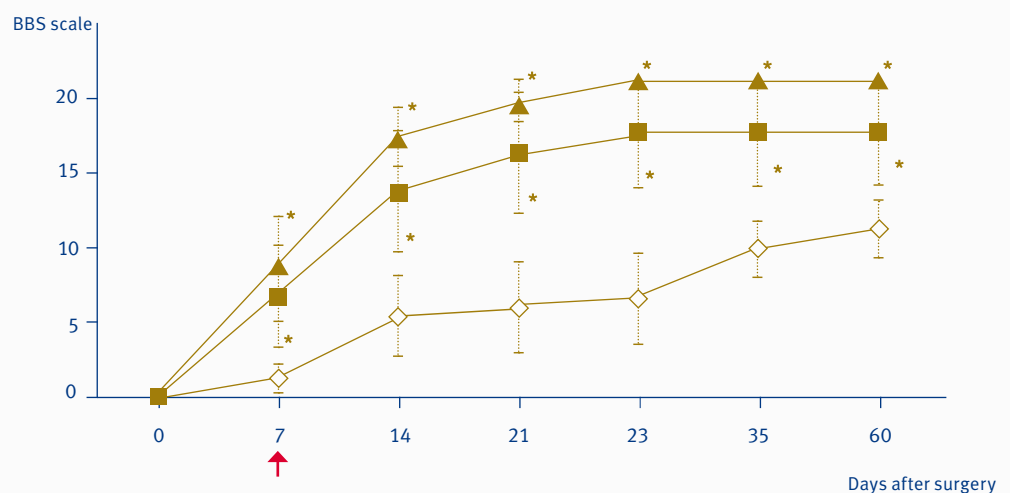
GRÁFICO 1 -Representación de la estrategia experimental de trasplante de células endimarias tras una lesión medular en roedor.



Debido al hecho de que existe menos necrosis y menos cicatriz con menor residuo del infiltrado inflamatorio en los animales trasplantados y sumado a que la recuperación de la funcionalidad motora era evidente una semana después de la lesión y trasplante, la hipótesis más factible en el mecanismo de regeneración se fundamenta en la neuroprotección y muy posiblemente neuromodulación del trasplante tras la lesión. Podemos afirmar con esta serie de experimentos, que el trasplante de células madre procedentes de la propia médula espinal mejoran la función neuronal implantadas inmediatamente después de la lesión.

Además de las aproximaciones de terapia en base a trasplante de células madre muy recientemente nuestro grupo ha comenzado a desarrollar fármacos de uso en terapia de LM, y recientemente hemos desarrollado una nueva molécula FM19G11 (Moreno-Manzano, Rodríguez-Jimenez et al. 2010) que inhibe de forma específica la actividad transcripcional de HIF en el rango nanomolar (sin síntomas de toxicidad en ensayos celulares por debajo de 100 micromolar, dosis mil veces superior a la IC50), y que favorece la diferenciación in vitro de células madre endimarias (epSPC) a oligodendrocitos maduros e inhibe la apoptosis de éstos en un ambiente hipóxico.

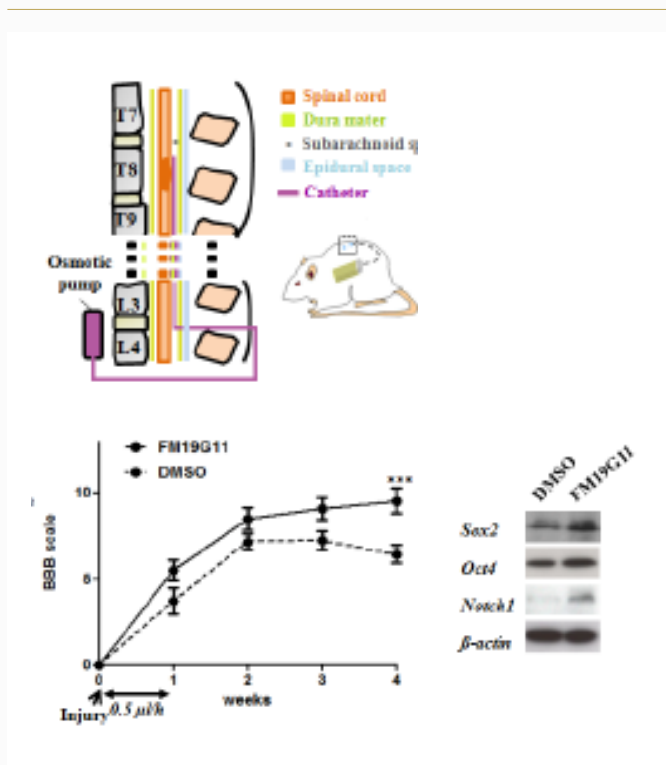
GRÁFICO 1 - Estudio funcional de la actividad locomotriz de animales solo lesionados (control) o trasplantados con células endimarias sin diferenciar (epSPCi) o con células endimarias que han sido previamente inducidas a diferenciar en oligodendrocitos inmaduros (OPCi).



En condiciones normales de oxígeno, FM19G11 ha mostrado capacidad para autorenovar la población de células madre de médula espinal, lo que, en ambos sentidos, favorecería la regeneración funcional de la actividad neuronal tras una lesión- Por ello, la consecución lógica en el desarrollo de estos experimentos previos nos dirige hacia el tratamiento de lesiones medulares explotando el potencial regenerador endógeno, que puede ser activado tras la lesión, ayudado de la actividad del compuesto FM19G11. Observamos que el tratamiento continuado, cateterizando la zona de la lesión para aplicaciones locales y continuadas en el espacio intratecal, mejora significativamente la actividad locomotriz, dos meses tras el comienzo del tratamiento y lesión medular (ver gráfico) (Rodriguez et al, Stem Cells, 2012).

GRÁFICO 1 - La administración intratecal de FM19G11 en la zona de lesión, en fase aguda, mejora la movilidad de las patas traseras de los animales tratados en comparación con los no tratados.

Este fenómeno va acompañado del aumento en la expresión de genes propios de la población de células madre en la médula espinal tratada con el compuesto.



¿Qué queremos estudiar en un futuro?

- 1. Conocer los mecanismos** que intervienen en la inflamación, en la destrucción de tejidos y la muerte celular tras una lesión de la médula espinal.
- 2. Determinar la eficacia** neuroprotectora y neuroregeneradora de ciertos fármacos y otras sustancias en la lesión de la médula espinal.
- 3. Verificar la efectividad** de la aplicación de terapias celulares, a partir de los mecanismos de reparación espontánea e inducida de la médula espinal lesionada.
- 4. Adaptación de terapias eficientes** con proyección clínica desde la terapia celular hasta los tratamientos farmacológicos, incluidos los abordajes en nanomedicina, así como la extrapolación del diagnóstico desde los modelos animales.
- 5. Generar el primer banco de células madre** adultas en condiciones óptimas para el trasplante en pacientes humanos.
- 6. Aplicar el uso de nanofármacos** de aplicación en lesión medular .

¿En que se invertirá lo que dones?

Apoyar la investigación en salud es una inversión en el futuro del país y contribuye a generar riqueza, añade valor a la atención sanitaria y crea las bases de una sociedad mejor, en la que personas que ahora son subsidiadas, puedan convertirse en contribuyentes natos.

La involucración y complicidad de todos los sectores y agentes resulta imprescindible. La colaboración en este proyecto significa la oportunidad para “transformar la vida de las personas con lesión medular”.

Si donas 2500 euros

Podremos comprar reactivos o pagar el gasto de animalario durante dos meses. Y con 6 donaciones más como la tuya contrataremos a una persona especializada para trabajar todo un año.

Si donas 20.000 euros

Con dos donaciones como esta podríamos trabajar en una línea de investigación durante un año.

Si donas 60.000 euros

Podremos contratar a un equipo completo, un postdoctoral y un técnico o estudiante de doctorado que podrán desarrollar con autonomía varias líneas de investigación durante un año.

Si donas 200.000 euros

Podremos trabajar en equipo en líneas de investigación de mayor envergadura y valor terapéutico, con un equipo de personal especializado y suficiente material para tres años de trabajo.



PRINCIPE FELIPE
CENTRO DE INVESTIGACION