DE LA FECUNDACIÓ IN VITRO A LES CÈL·LULES MARE

Anna Veiga

Servei de Medicina de la Reproducció - Institut Universitari Dexeus

Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona

Barcelona

CMR[B]
Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona

ESSAY

30 years: from IVF to stem cells

Ruth Deech, former chair of Britain's Human Fertilisation and Embryology Authority, reflects on how the science that gave an infertile couple a baby has been extended to saving lives.

Evening News

Meet Louise, the world's first test-tube arrival

SUPERBABE

Wide-eyed Louise Brown pictured in hospital 18 hours after she was born. Today she's doing well. See Page Three

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2010
Robert G. Edwards

Dexeus

CMR[B]
Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona

HISTORIA

- 1878 Primeros intentos de Fecundación in Vitro ovocitos de mamífero
- 1959 1º éxito de Fecundación in Vitro (FIV) (conejo) en USA
- 1968 1º intento de FIV en humanos
- 1978 1º nacimiento de FIV en humanos (Edwards y Steptoe- Louise Brown)
- 1984 Nacimiento España (Victoria Anna)

Dexeus

CMR[B]
Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona

80's

- Inicio de los programas de FIV
- 1984 1er nacimiento en España
- FIV clásica
- Protocolos de estimulación ovárica limitados
- Inicio congelación embrionaria
- Metodología laboratorio rudimentaria y poco estandarizada
- Pocos grupos

Dexeus

CMR[B]

Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona

Dexeus

CMR[B]
Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona

90 - 00's

- Diversificación de los protocolos de estimulación ovárica
- Estandarización y mejora de condiciones de cultivo
- Optimización protocolos congelación embriones, ovocitos, tejido ovárico y testicular
- Donación de ovocitos y embriones

Dexeus

CMR[B]
Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona

DONACIÓN DE ESPERMATOZOIDES, OVOCITOS Y EMBRIONES

- Infertilidad
- Nuevos modelos de familia
- Adopción prenatal

* Compensación- Pago donantes.

*Anonimato

*Trazabilidad

TURISMO REPRODUCTIVO

Dexeus

CMR[B]
Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona

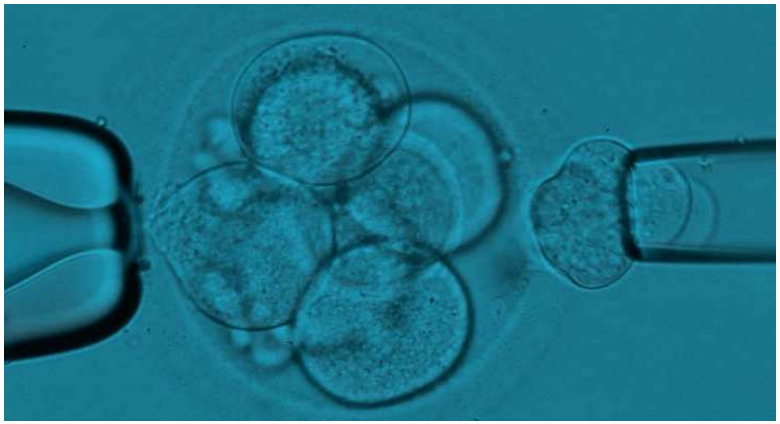
90 - 00's

- Microinyección espermática (ICSI)
- Diagnóstico genético preimplantacional
- Transferencia de citoplasma - transferencia nuclear

Dexeus

DIAGNÓSTICO GENÉTICO PREIMPLANTACIONAL

CMR[B]
Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona



Dexeus

CMR[B]
Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona

DIAGNÓSTICO GENÉTICO PREIMPLANTACIONAL

- Permite la selección de embriones sanos en parejas con riesgo genético elevado

- Permite la selección de embriones en parejas de FIV de mal pronostico

- Permite la selección de embriones compatibles para tratamiento de terceros afectos

- Permite la selección de embriones con predisposición a cáncer y enfermedades degenerativas de aparición precoz.

* Selección de sexo

Dexeus

CMR[B]
Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona

00 – 10's

- Perfeccionamiento técnicas de cultivo de embriones.
- Reducción embarazo múltiple
- Transplante tejido ovárico: primeros nacimientos
- Optimización congelación ovocitos, embriones y tejido germinal: vitrificación

Dexeus

CMR[B]
Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona

CONGELACIÓN

• Permite preservar gametos (ovocitos y espermatozoides) y embriones. Tejido testicular y ovárico

- Preservación fertilidad pacientes oncológicos
- Retraso maternidad

Dexeus

CMR[B]
Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona

CÉLULAS MADRE

- Se trata de células indiferenciadas que se han localizado en la masa celular interna del blastocisto, en algunos tejidos fetales, en el cordón umbilical y la placenta y en varios tejidos adultos.

Células madre adultas

Células madre fetales

Células madre embrionarias/pluripotentes

Dexeus

CMR[B]
Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona

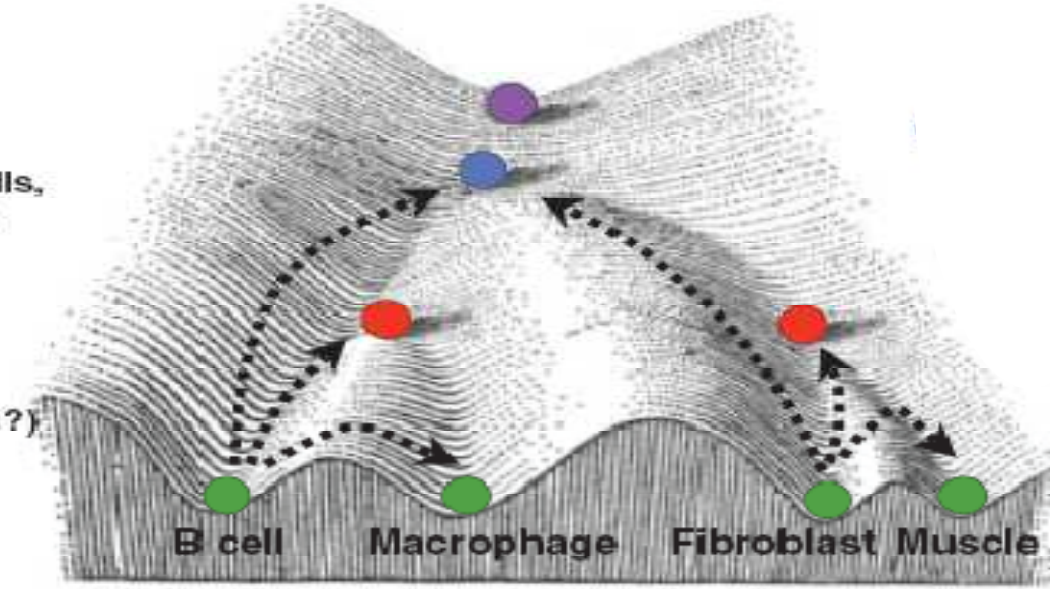
Developmental potential

Totipotent
Zygote

Pluripotent
ICM/ES cells, EG cells, EC cells, mGS cells iPS cells

Multipotent
Adult stem cells (partially reprogrammed cells?)

Unipotent
Differentiated cell types



Hochedlinger, Development 2009 (adapted from Waddington, 1957)

Dexeus

CMR[B]
Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona

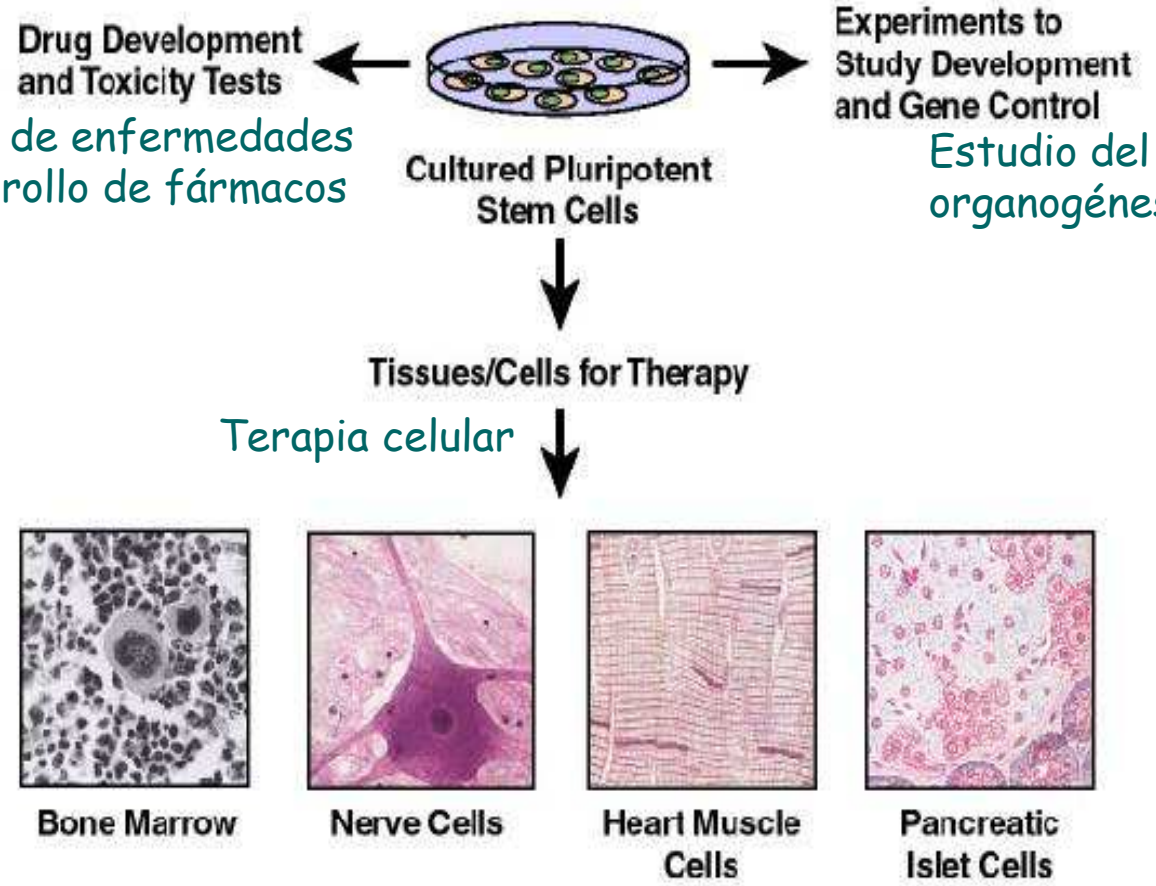
CÉLULAS MADRE PLURIPOTENTES:

CÉLULAS MADRE EMBRIONARIAS Y CÉLULAS DE REPROGRAMACIÓN INDUCIDA

Dexeus

CMR[B]
Medicina Regenerativa de Barcelona
Medicina Regenerativa de Barcelona
Regenerative Medicine in Barcelona

The Promise of Stem Cell Research



Modelo de enfermedades y desarrollo de fármacos

Estudio del desarrollo y organogénesis

Terapia celular

Dexeus

CMR[B]
Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona

Proc. Natl. Acad. Sci. USA
Vol. 95, pp. 13726–13731, November 1998
Developmental Biology

Derivation of pluripotent stem cells from cultured human primordial germ cells

(alkaline phosphatase/embryoid body/embryonic stem cell/embryonic germ cell)

MICHAEL J. SHAMBLOTT*, JOYCE AXELMAN*, SHUNPING WANG*, ELIZABETH M. BUGG*, JOHN W. LITTLEFIELD†, PETER J. DONOVAN‡, PAUL D. BLUMENTHAL§, GEORGE R. HUGGINS§, AND JOHN D. GEARHART*†¶

Departments of *Gynecology and Obstetrics and †Physiology, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, MD 21287; ‡Kimmel Cancer Institute, Jefferson Medical College, Philadelphia, PA 19107; and §Department of Gynecology and Obstetrics, Johns Hopkins Bayview Hospital, Baltimore, MD 21224

Contributed by John W. Littlefield, September 29, 1998

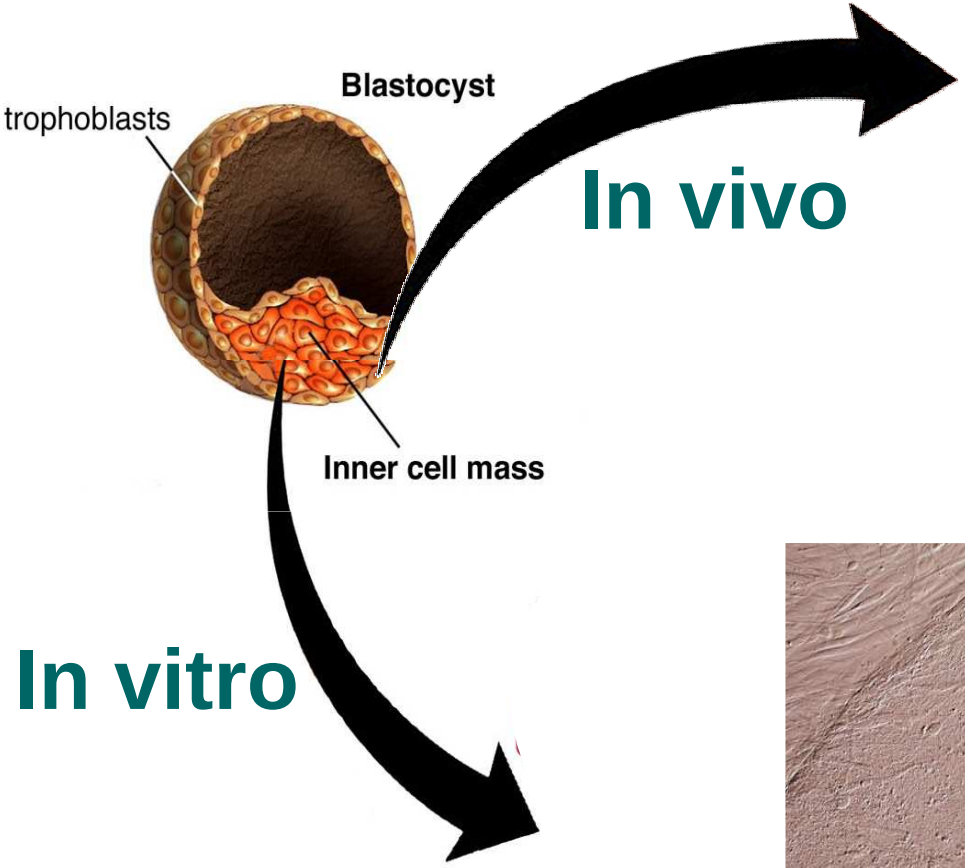
REPORTS

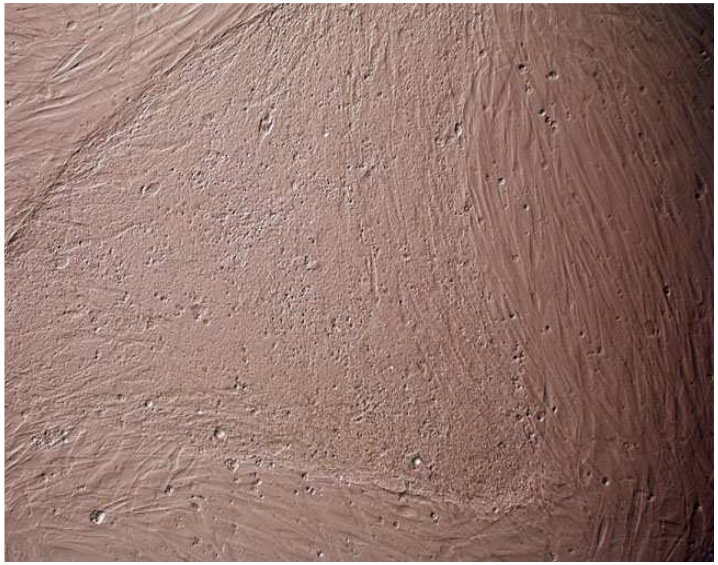
Embryonic Stem Cell Lines Derived from Human Blastocysts

James A. Thomson,* Joseph Itskovitz-Eldor, Sander S. Shapiro, Michelle A. Waknitz, Jennifer J. Swiergiel, Vivienne S. Marshall, Jeffrey M. Jones

Dexeus

CMR[B]
Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona

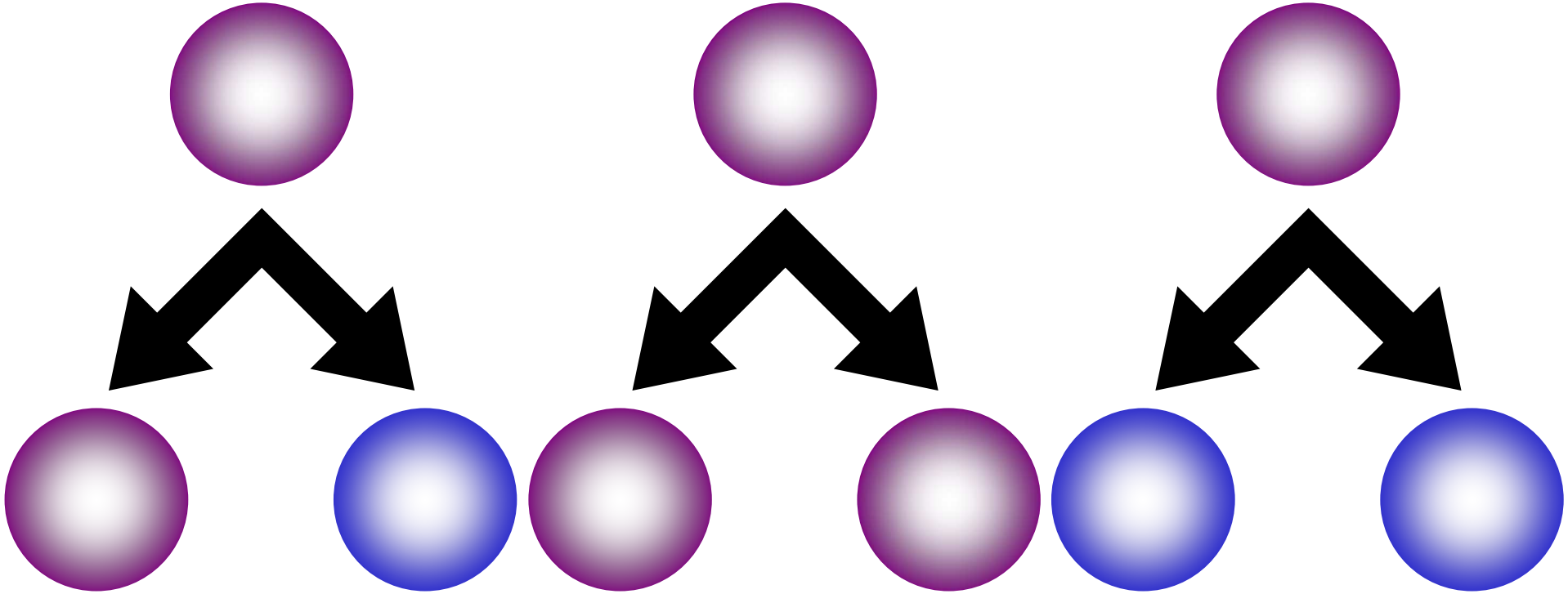




Dexeus

CMR[B]
Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona

Embryonic stem cells
Self renewal/Differentiation



Asymetric division Self renewal Diferentiation

Dexeus

CMR[B]
Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona

ORÍGEN DE LOS EMBRIONES

- Embriones sobrantes programas de FIV (sin proyecto parental, embriones DGP)

Dexeus

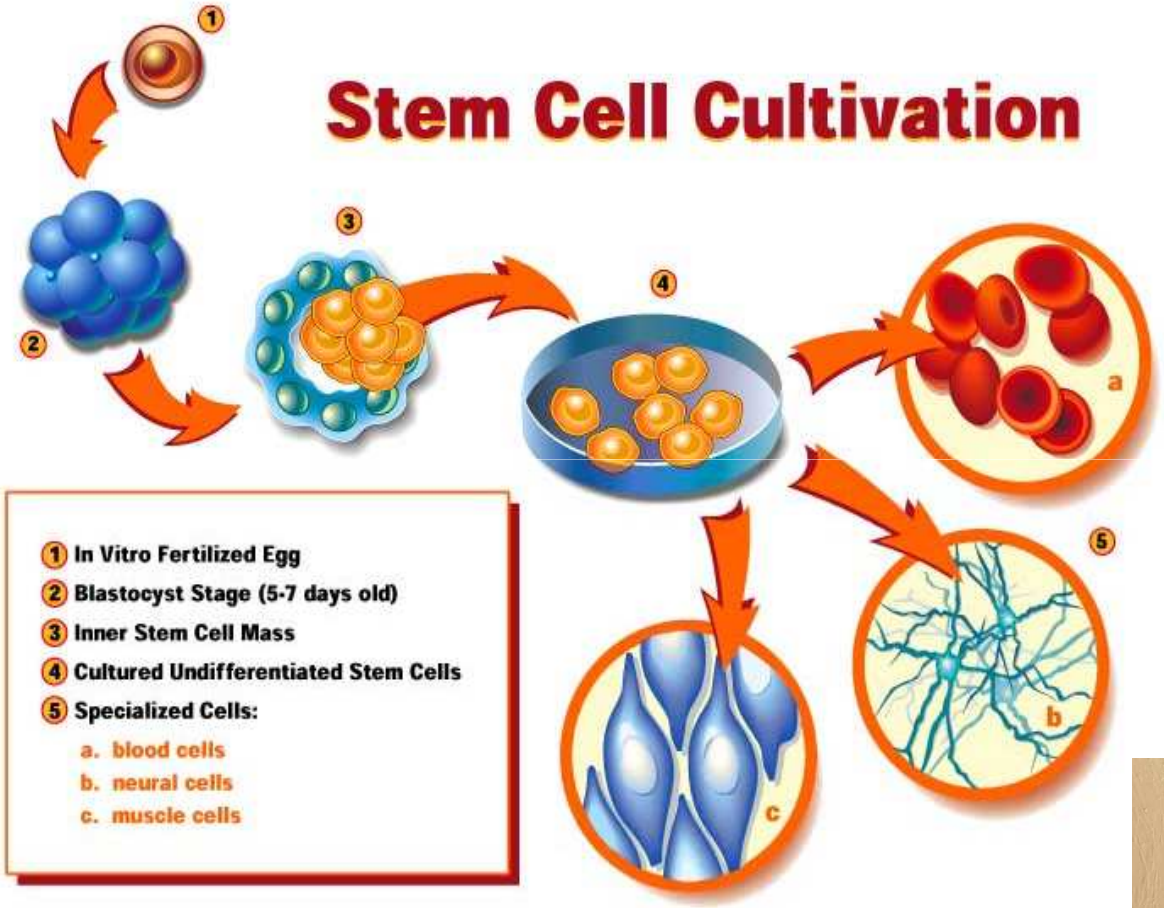
CMR[B]

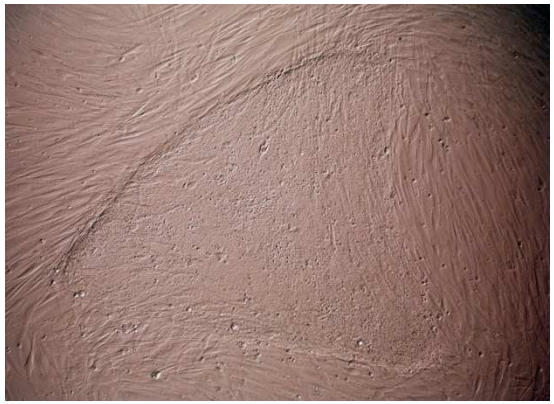
Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centre for Regenerative Medicine in Barcelona

Dexeus

CMR[B]

Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona



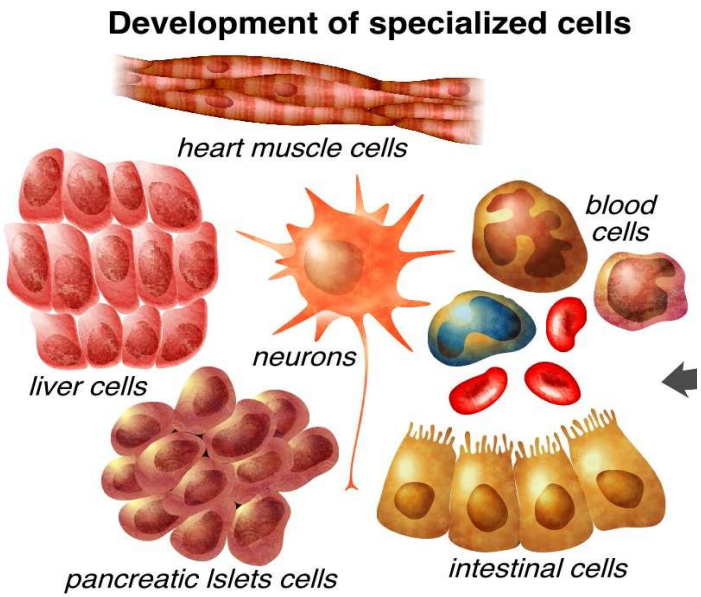


Dexeus

CMR[B]
Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona

DIFERENCIACIÓN

❄ Estudio de los factores genéticos y/o ambientales que controlan el desarrollo de las CME y su importancia durante los distintos estadios y tipos de diferenciación.



Dexeus

CMR[B]
Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona

DIFERENCIACIÓN DE LAS CME

Se han obtenido ya numerosos tipos celulares a partir de CME:

- células de músculo cardiaco
- células neuronales
- células hematopoyéticas
- células pancreáticas
- células endoteliales
- hepatocitos
- trofectodermo… *gametos

Dexeus

CMR[B]

Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona

Dexeus

CMR[B]

Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona

TRANSFERENCIA NUCLEAR

Dexeus

CMR[B]
Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona

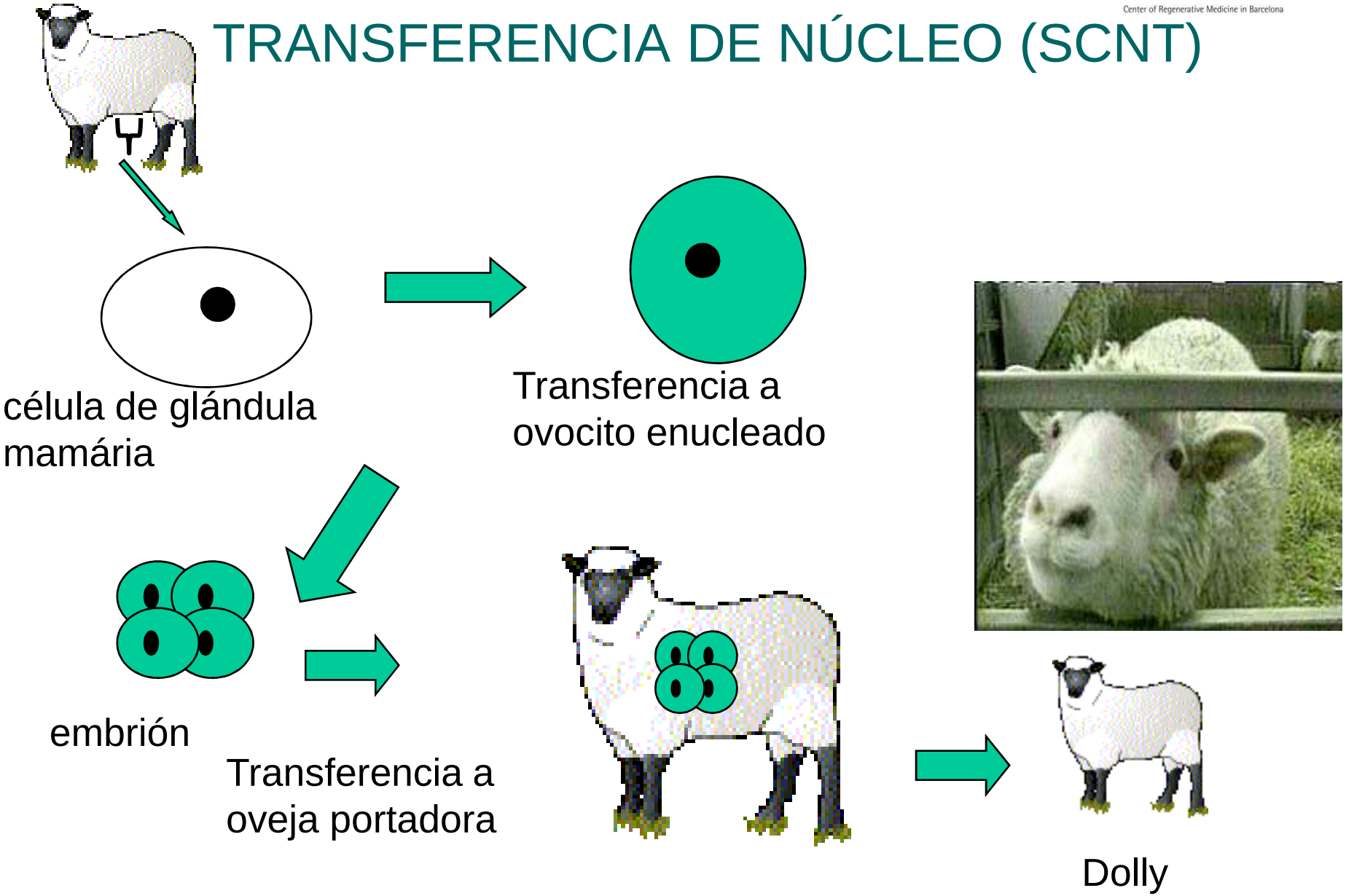
LA OVELLA DOLLY

- 1997: Publicación en la revista Nature (Wilmut et al, Roslin Institute, Edinburgo) del nacimiento del primer mamífero superior a partir de una célula de un individuo adulto
- Oveja, macaco, cerdo, vaca, gato, ratón, conejo, mula, ciervo, caballo, cabra, perro

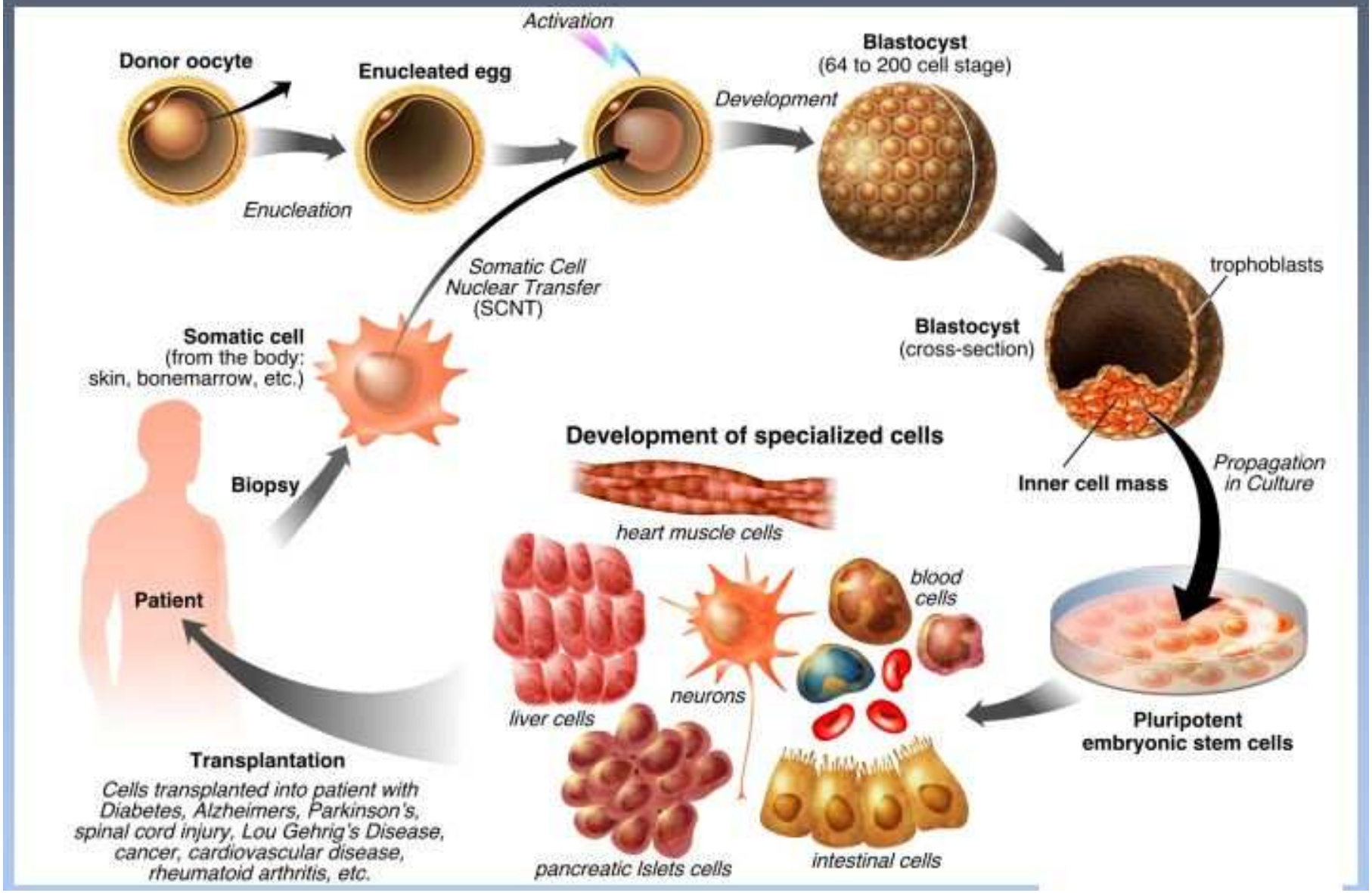
Dolly y su madre portadora

CLONACIÓN

TRANSFERENCIA DE NÚCLEO (SCNT)



Nuclear transplantation



Dexeus

CMR[B]

Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona

CÉLULAS DE REPROGRAMACIÓN INDUCIDA (iPS)

Dexeus

CMR[B]
Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona

Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors.

Takahashi K, Yamanaka S.
Cell. 2006.

Induction of Pluripotent Stem Cells from Adult Human Fibroblasts by Defined Factors

Kazutoshi Takahashi,[1] Koji Tanabe,[1] Mari Ohnuki,[1] Megumi Narita,[1,2] Tomoko Ichisaka,[1,2] Kiichiro Tomoda,[3] and Shinya Yamanaka[1,2,3,4,*]

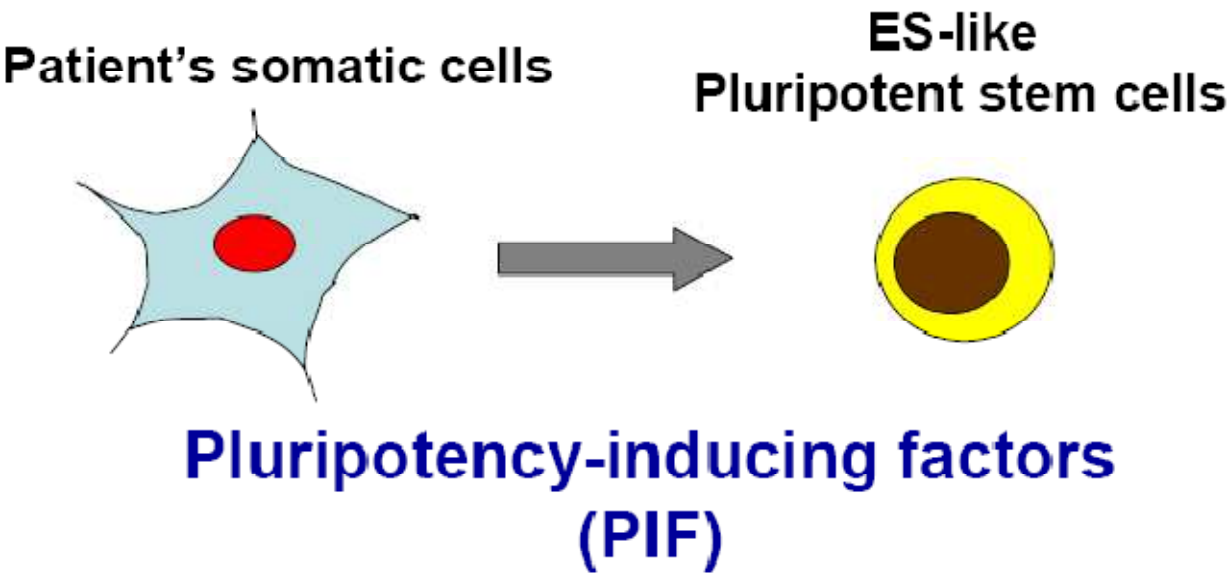
Cell, 2007

Induced Pluripotent Stem Cell Lines Derived from Human Somatic Cells

Junying Yu,[1,2*] Maxim A. Vodyanik,[2] Kim Smuga-Otto,[1,2] Jessica Antosiewicz-Bourget,[1,2] Jennifer L. Frane,[1] Shulan Tian,[3] Jeff Nie,[3] Gudrun A. Jonsdottir,[3] Victor Ruotti,[3] Ron Stewart,[3] Igor I. Slukvin,[2,4] James A. Thomson[1,2,5*]

Science, 2007

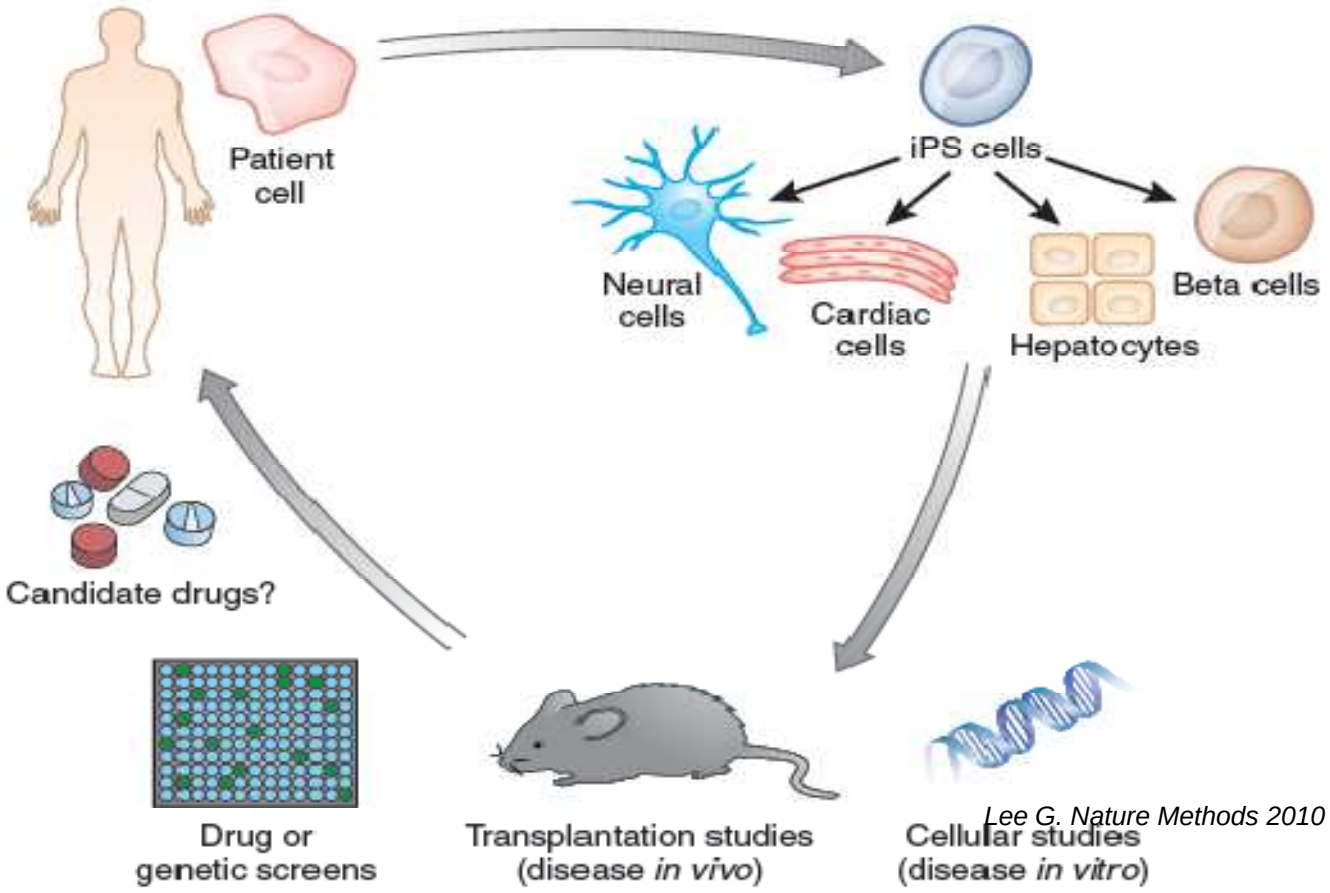
IPS Cells: Induced pluripotent Stem Cells



<u>Gene Combinations for IPS induction</u>

1. **Oct4/3, Sox2, Klf4 and c-Myc *(Yamanaka S, 2006)***
2. **Oct4/3, Sox2, Lin28, Nanog *(Thomson J, 2007)***

Células iPS modelo de enfermedad



Lee G. Nature Methods 2010

Dexeus

CMR[B]

Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona

TERAPIA CELULAR

Dexeus

CMR[B]
Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona

TERAPIA CELULAR

- Transplante de células diferenciadas derivadas de células madre: cultivo y diferenciación in vitro

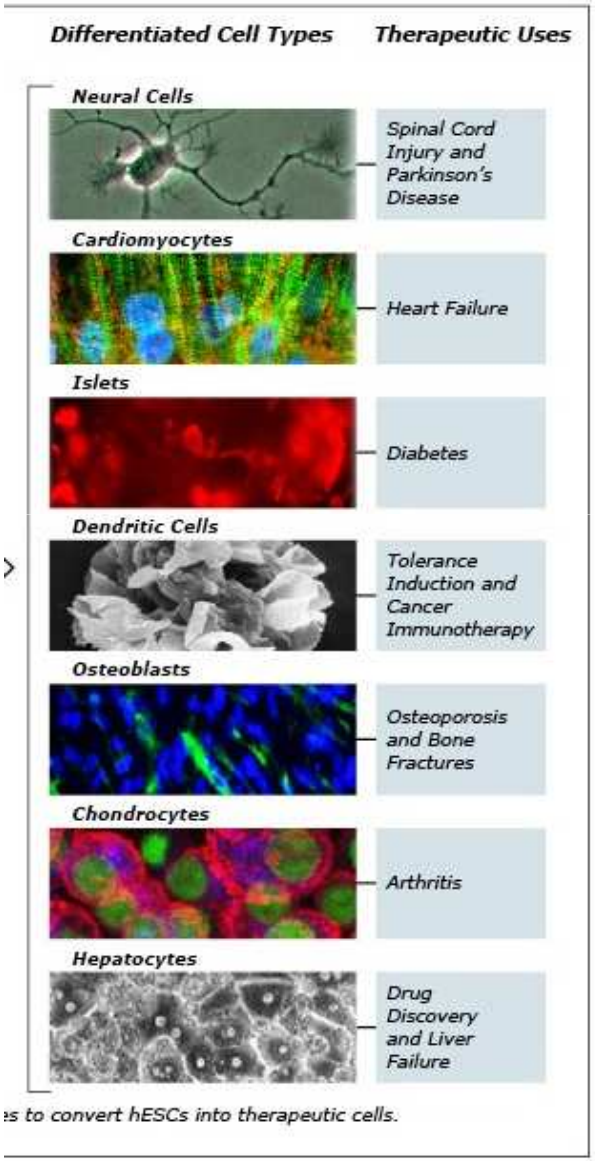
ENFERMEDADES CON PÉRDIDA DE FUNCIÓN CELULAR POTENCIALMENTE TRATABLES MEDIANTE TERAPIA BASADA EN CM

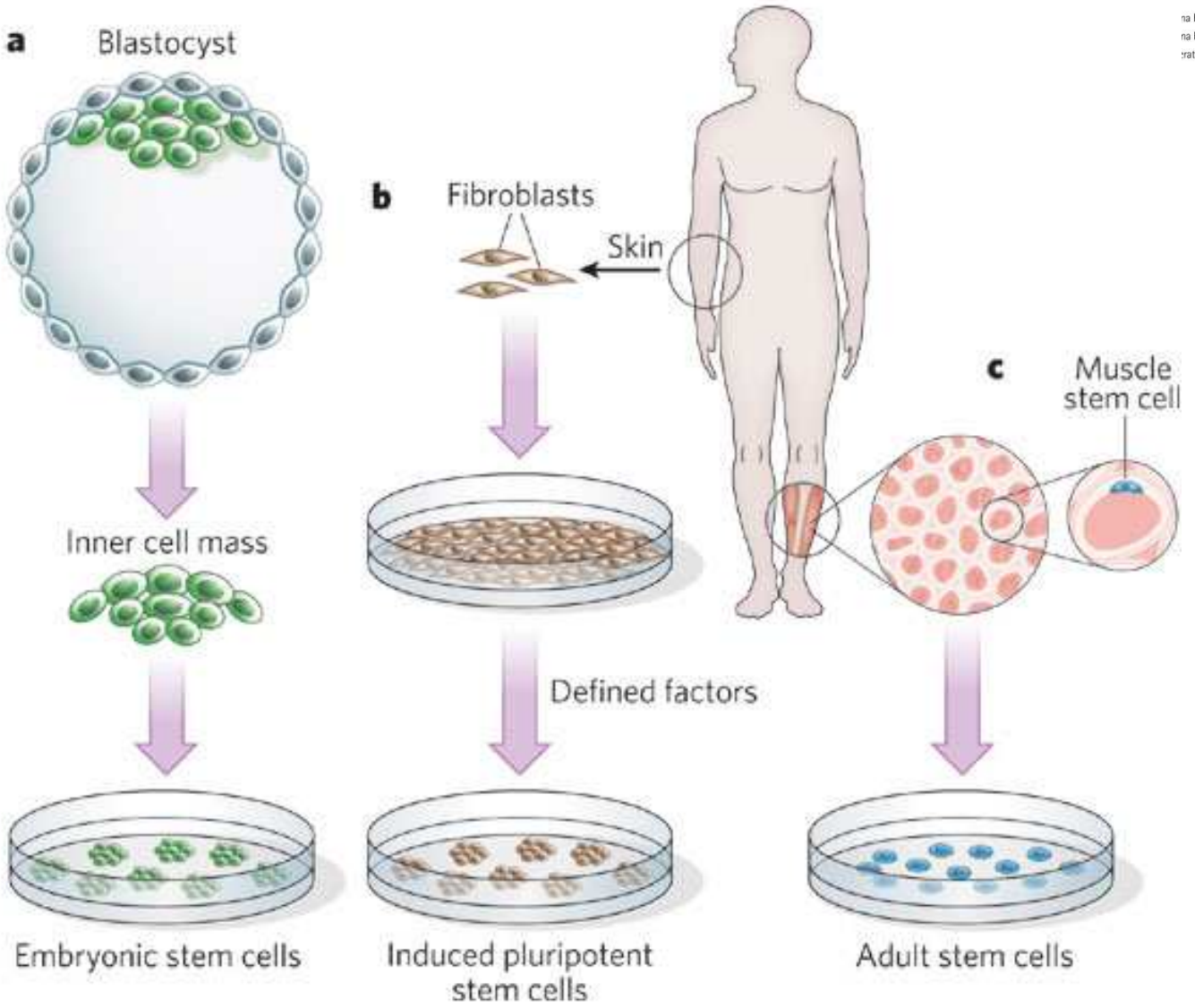
- Alteraciones neurodegenerativas
- Accidentes vasculares
- Lesiones medulares
- Fallo cardíaco
- Diabetes mellitus

Dexeus

CMR[B]

Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona





Lutolf, Nature 2009

Dexeus

CMR[B]
Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona

Terapia celular

PROBLEMAS TÉCNICOS

- Control del crecimiento, migración, destino y diferenciación celular para asegurar procesos estables
- Desarrollo tisular inadecuado
- Aparición de tumores
- Aislamiento y purificación
- Rechazo inmunológico
- Funcionalidad y viabilidad
- Condiciones de cultivo (GMP)

Dexeus

CMR[B]

Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona
Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona
Center of Regenerative Medicine in Barcelona

LEGISLACION Y NORMATIVAS

9292 *LEY 14/2006, de 26 de mayo, sobre técnicas de reproducción humana asistida.*

Artículo 15. *Utilización de preembriones con fines de investigación.*

d) Que se realicen con base en un proyecto debidamente presentado y autorizado por las autoridades sanitarias competentes, previo informe favorable de la Comisión Nacional de Reproducción Humana Asistida si se trata de proyectos de investigación relacionados con el desarrollo y aplicación de las técnicas de reproducción asistida, o del órgano competente si se trata de otros proyectos de investigación relacionados con la obtención, desarrollo y utilización de líneas celulares de células troncales embrionarias.

12945 *LEY 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica.*

GRÀCIES PER LA VOSTRA ATENCIÓ!

anavei@dexeus.com

aveiga@cmrb.eu