

Empleo de células madre mesenquimales para el tratamiento de la EB

Resumen de la presentación realizada en el Encuentro Nacional 2016 sobre el ensayo clínico que se está llevando a cabo entre el CIEMAT-UC3M-IISFJD¹ y el Hospital de la Paz para el tratamiento de la EB Distrofica Recesiva (EBDR) con células madre mesenquimales: MesensistemEB

María José Escámez Toledano, Investigadora del CIBER de Enfermedades Raras (CIBERER).

Rocío Maseda Pedrero, Médico Adjunto del Servicio de Dermatología del Hospital Universitario La Paz.

Se trata de un ensayo clínico financiado por el Instituto de Salud Carlos III, que se está realizando en colaboración entre los clínicos del departamento de Hematología y Dermatología del Hospital La Paz y los investigadores básicos del CIBER de enfermedades raras que trabajan en el CIEMAT y en la Universidad Carlos III de Madrid. El ensayo que está liderado por el Dr. Raúl de Lucas y la Dra. María José Escámez está cofinanciado por la Asociación de pacientes Berritxuak.

Empleo de Células Madre Mesenquimales para el tratamiento de la Epidermólisis Bullosa Distrofica

Para definir los beneficios que esperamos del tratamiento que se plantea en MesensistemEB es preciso conocer bien la causa que produce la EBDR e identificar los problemas asociados que tenemos que solucionar. Nuestro material genético se organiza en 46 cromosomas, dispuestos en 23 pares, en los que se encuentran los genes. El ADN que constituye los genes lleva las instrucciones para que se produzcan todas las proteínas de nuestro cuerpo.

La Epidermólisis Bullosa Distrofica está causada por mutaciones en el gen COL7A1 que codifica para la proteína Colágeno de tipo 7 (en adelante Colágeno 7). En otras palabras, en la EBDR las instrucciones para producir la proteína Colágeno 7 están alteradas.

El Colágeno 7 se encuentra en la lámina basal; en la piel que recubre nuestro cuerpo externamente y en las mucosas que tapizan nuestros órganos internamente. Tanto la piel como las mucosas están principalmente compuestas por dos capas de tejido como se observa en la Figura 1.

1) **Tejido epitelial**, que descansa sobre la lámina basal que es donde se encuentra el **Colágeno 7**

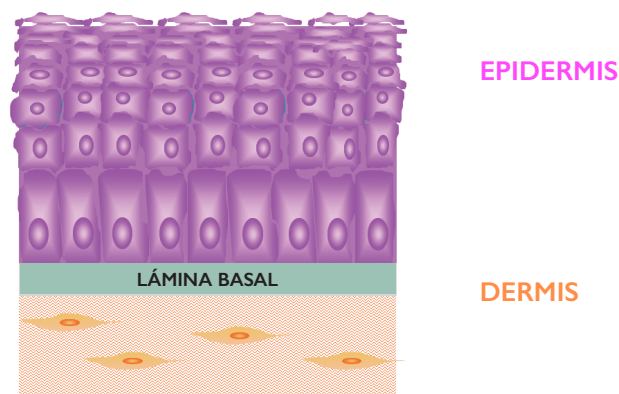
2) **Tejido conectivo** por debajo de la lámina basal.

La función del Colágeno 7 es mantener unidas estas dos capas a modo de pegamento para que la piel y las mucosas puedan llevar a cabo su función. Para ello el Colágeno 7 forma unas estructuras que se llaman fibrillas de anclaje que se pueden observar empleando un microscopio electrónico.

En las personas con EB Distrofica el Colágeno 7 que mantiene unido el epitelio al tejido conectivo está alterado y no funciona bien. Además del mal funcionamiento, la piel de los pacientes con EBD puede contener poca cantidad o carecer totalmente de colágeno 7.

Generalmente, **una menor cantidad del pegamento Colágeno 7 se corresponde con mayor fragilidad cutánea y más severidad** en los síntomas clínicos. De este modo, las personas con EB Distrofica Recesiva pueden tener distintos grados de afectación, desde muy leve a muy extenso. Como resultado de la fragilidad aparecen ampollas y heridas en la piel y a veces también en las mucosas. Estas heridas en muchos casos se hacen crónicas, permaneciendo abiertas durante largos periodos de tiempo, incluso años. La hiperinflamación y la fibrosis son dos de las principales causas que impiden que las heridas cierren. La pseudosindactilia y el carcinoma epidermoide están asociados a la cronificación de las heridas.

Figura 1: Dibujo esquemático de un corte histológico de piel en el cual se diferencian las distintas capas de la piel y los tipos celulares de cada una de ellas.

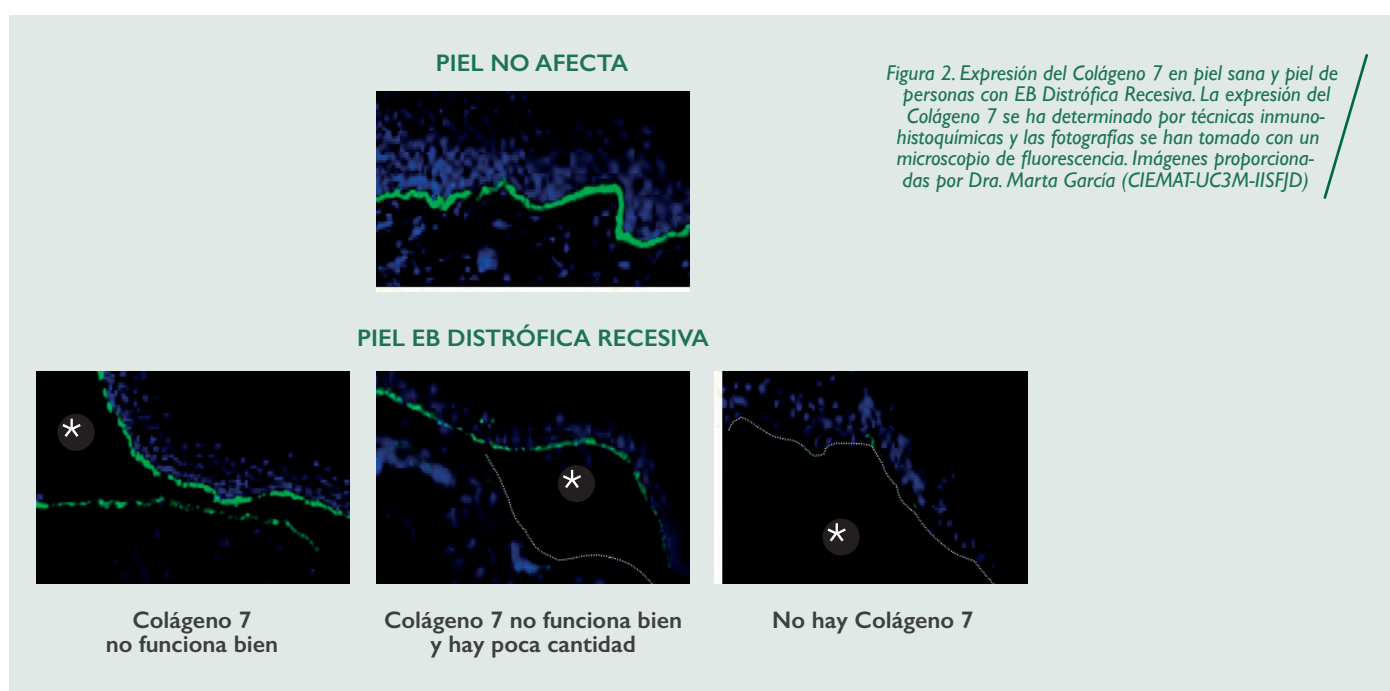


Células epiteliales



Fibroblastos





¿Por qué Células Madre Mesenquimales?

Una vez que hemos identificado el problema, sabemos que lo que **buscamos es mejorar la cicatrización de las heridas y, en el mejor de los casos, la fragilidad cutánea: proporcionando Colágeno 7 a la piel y a las mucosas** para que estas puedan hacer su función adecuadamente. ¿Pero cómo lo podemos hacer?

Para una revisión sobre terapias innovadoras en la EB Distrófica Recesiva, ver el artículo de revisión de Larcher y Del Rio publicado en el 2015 (**Disponible en <http://www.actasdermo.org/es/pdf/S0001731015000691/S300/>**). Existen tres estrategias de terapia que se están investigando:

- Administración directa de la proteína Colágeno 7 funcional (**terapia proteica**).
- Corrigiendo la causa genética, es decir el gen COL7A1 que produce la proteína (terapia génica)
- Tratando con las células que producen Colágeno 7 (terapia celular) y otros factores potencialmente terapéuticos.

En esta última opción es donde entran en juego las células madre mesenquimales, que además de producir Colágeno 7 (aunque no son las productoras naturales en la piel y las mucosas) son capaces

de proporcionar factores que mejoran la cicatrización. Estas células tienen además otras muchas propiedades (Arevalo Romero y cols., 2007) que las señalan como buenas candidatas. Entre estas propiedades cabe destacar su bajo potencial inmunogénico que hace que su trasplante sea seguro (no inducen rechazo agudo en el receptor aunque el donante no sea histocompatible). Además, las células madre mesenquimales tienen capacidad de autorrenovarse de por vida lo cual es **beneficioso si queremos una terapia duradera**.

Por último, podemos aislar las células madre mesenquimales fácilmente de diversos tejidos como la médula ósea, la grasa, sangre periférica, placenta y cordón umbilical. Muy importante también es que existe una **gran experiencia en producirlas para uso en humanos en cantidad** suficiente para que sean capaces de aliviar los síntomas de distintas enfermedades (García Olmo y García Arranz, 2011).

Para más información sobre las Células Madre Mesenquimales ver los Artículos disponibles en:

<http://analesdepediatría.org/es/celulas-curar-del-corazon-al/articulo/S1695403311001603/>

http://www.unicolmayor.edu.co/invest_nova/NOVA/nova8_artrevis1.pdf

¿En qué consiste el ensayo MesensistemEB?

El medicamento de terapia celular que se administrará en este ensayo se obtiene mediante el aislamiento de las Células Madre Mesenquimales de la médula ósea de un donante familiar que no tenga la enfermedad y expandirlas en unos laboratorios especiales llamados “salas blancas”. En estos laboratorios se trabaja en las condiciones necesarias para que las células puedan ser después administradas a seres humanos. En este caso la vía de administración será por infusión intravenosa.

MesensistemEB durará entre 10 meses y 1 año y consta de 7 visitas. El seguimiento se extenderá como parte de las revisiones periódicas del paciente hasta los 2 años. La visita 1 se realizará a lo largo de varios días y en ella se evaluará si el paciente puede formar parte del ensayo y se estudiará también al donante. Para ello se realizarán diversos cuestionarios, se tomarán muestras y fotografías.

Una vez seleccionado el paciente y el donante que cumplan con los criterios de inclusión se tomará la biopsia de médula al donante familiar. La muestra se enviará a la sala blanca para producir el medicamento. Este proceso puede durar hasta 3 meses.

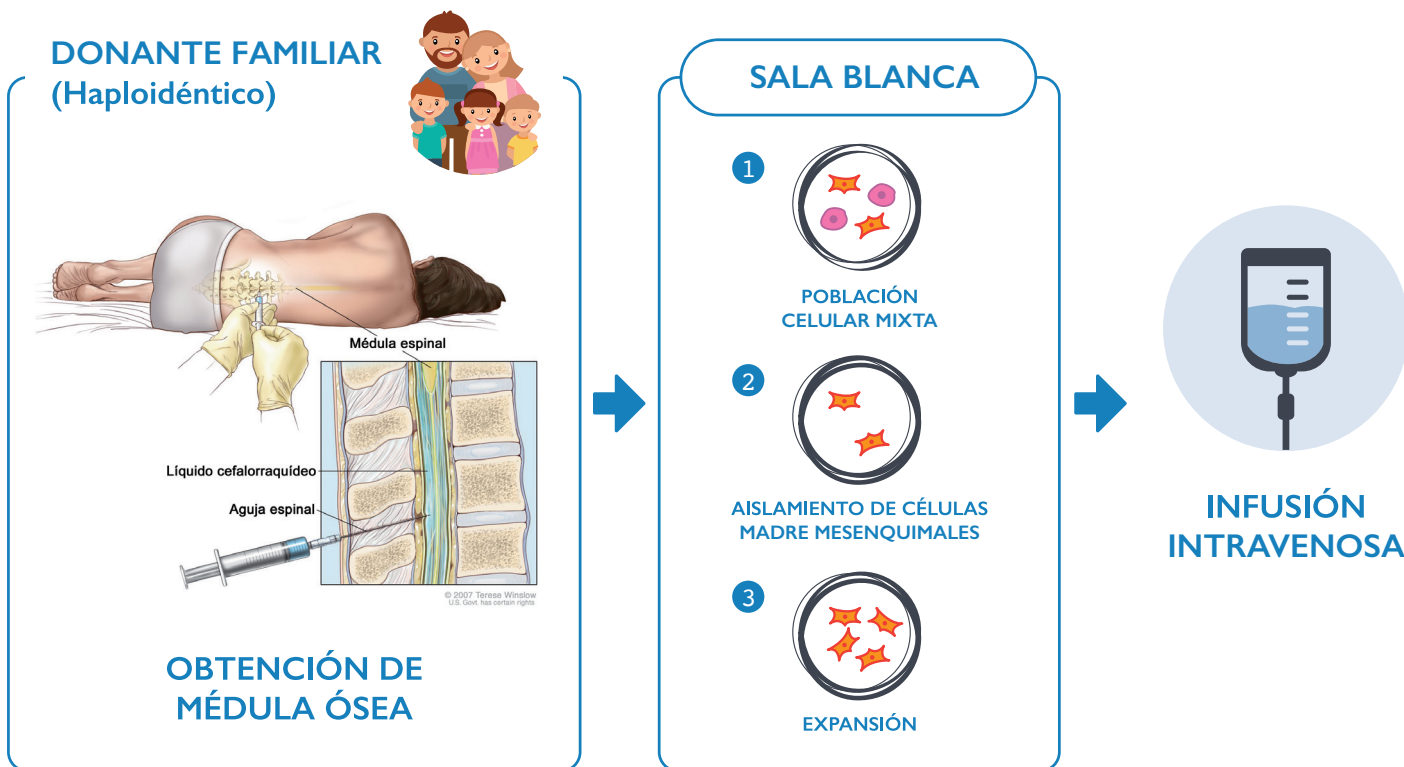


Figura 3. Representación esquemática de la producción de las Células Madre Mesenquimales derivadas de Médula Ósea para su infusión intravenosa.

El tratamiento consiste en 3 infusiones en 3 semanas consecutivas. Antes del tratamiento se realizarán también pruebas y preguntas para asegurarnos de que el paciente está en condiciones de tratarse.

Inmediatamente después del tratamiento, el seguimiento será telefónico. A continuación, se estudiarán los efectos del tratamiento en el hospital 7 semanas, 3 y 6 meses después del tratamiento. En las visitas se realizarán diversos cuestionarios, se tomarán muestras y fotografías. Entre las visitas de los 3 meses y los 6 meses se hará un seguimiento telefónico.

El tratamiento se llevará a cabo en las instalaciones de la Unidad Central de Investigación Clínica y Ensayos Clínicos del Hospital La Paz (UCICEC).

• Efectos esperados del tratamiento

Como ya hemos mencionado, las Células Madre Mesenquimales son unas células que tienen unas características biológicas muy especiales y por eso podrían aliviar los síntomas de la enfermedad.

En primer lugar, **son bien toleradas por el sistema inmune.** Esto quiere decir que aunque sean de otra persona el sistema inmune no las reconoce del todo como extrañas. Además, emplearemos células de un familiar haploidéntico que comparte cierta identidad con el paciente. Con esto pretendemos aumentar la persistencia de las células del donante en el paciente.

Se está discutiendo todavía si una vez que las Células Madre Mesenquimales de donante alogénico se encuentran en el torrente sanguíneo son atraídas a las zonas donde hay heridas. En cualquier caso y aunque sea a distancia, estas células producen factores que mejoran la cicatrización mediante el control de la inflamación (que es en muchos casos la causa por la que las heridas se hacen crónicas y no cierran). Además, producen Colágeno 7 que es el causante de la EB Ditrófica Recesiva.

Todo esto lo sabemos hoy día gracias a una gran cantidad de trabajos de investigación básica y clínica. En base a todo ello, hemos formulado la hipótesis de nuestro estudio: **“Las Células Madre Mesenquimales producirán niveles terapéuticos de Colágeno 7 y factores estimuladores de la cicatrización de la piel y mucosas afectadas”.**

• Objetivos del ensayo

El fin último del ensayo clínico es **mejorar la calidad de vida** de los pacientes con EBDR así como evaluar de forma preliminar la seguridad (efectos adversos) y la eficacia (mejora de la cicatrización y de la fragilidad muco-cutánea) del tratamiento en un total de 9 pacientes.

• Estado de progreso del ensayo

Llevar a cabo un ensayo clínico es un proceso complicado que requiere un protocolo complejo, que incluya el diseño científico del estudio (antecedentes, hipótesis a comprobar, objetivos) y unos procedimientos a seguir (criterios de incorporación de pacientes, consentimiento informado, recolección de datos, métodos de evaluación de resultados, criterios de publicación de los mismos...). Se debe preparar, por tanto, un dossier regulatorio que contenga toda esta información que debe ser aprobado por un Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) y por la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS) para poder realizarlo.

Nuestro ensayo ya ha sido **aprobado por el Comité de Ética de Investigación Clínica del Hospital La Paz**, lo que significa que cumple con las normas de buena práctica clínica y administrativas requeridas para ser realizado. Estamos **pendientes de que la Agencia del Medicamento** revise el dossier. La Agencia, además de exigir que ya haya sido aprobado por un Comité de Ética de Investigación Clínica, evaluará más exhaustivamente los aspectos más científico-técnicos para decidir, principalmente, si el producto es razonablemente seguro para ser empleado en humanos en las condiciones que se establece en el protocolo. Todo este proceso pretende asegurar que existan indicios suficientes para justificar el riesgo/beneficio asociado a la realización del ensayo.

Una vez aprobado por la Agencia, desde el momento en que se inicia el ensayo, incluso antes de incluir al primer paciente, todos los procedimientos se monitorizan, es decir se realiza una supervisión por un monitor externo que no pertenece al equipo de investigación. Durante el ensayo se recogen exhaustivamente todos los datos clínicos e incidencias. Una vez finalizado el ensayo, los resultados se envían de nuevo a la Agencia del Medicamento para seguir con la evaluación del medicamento. Cabe destacar que **nuestro ensayo es de Fase I y II**, pero para la autorización final de un medicamento para su comercialización hace falta, en general, realizar ensayos de Fase III y IV.

• Criterios de inclusión y exclusión

Para poder participar en el estudio el paciente tiene que cumplir con todos los criterios de inclusión y ninguno de los de exclusión. Dichos criterios están diseñados para, de forma teórica y en base al conocimiento existente, minimizar los riesgos y maximizar los beneficios.

[Ver tabla página siguiente >](#)

Criterios de inclusión

1. Tener entre 8 y 50 años en el momento de la inclusión.
2. En caso de mujeres, no estar embarazada y utilizar anticonceptivos.
3. Contar con diagnóstico clínico, molecular y genético de EBDR.
4. Presentar una disminución de Colágeno 7 (menos del 75%) y presencia de dominio de NCI.
5. tener una puntuación de gravedad superior a 20 (según Birmingham EB Severity Score).
6. Contar con un donante haploidéntico familiar.
7. Firmar el consentimiento informado.
8. Que tenga disponibilidad para acudir a todas las visitas y acatar todos los procedimientos.

Criterios de exclusión

1. No poder trasladarse al Hospital La Paz.
2. Haber recibido inmunoterapia (>1 semana) o quimioterapia (8 días).
3. Haber estado en tratamiento de medicamentos en investigación 90 días antes del tratamiento.
4. Ser alérgico a los componentes del producto en investigación o no poder tomar antihistamínicos y/o corticoides.
5. Mostrar signos de infección sistémica activa en el momento de la inclusión.
6. Presentar algún tipo de anomalías bioquímicas (albúmina, leucocitos, hemoglobina)
7. Tener antecedentes o signos de malignidad, incluyendo carcinoma epidermoide
8. Presentar anticuerpos circulantes anti-Colágeno 7 neutralizantes
9. Tener adicción al alcohol o abuso de drogas
10. No firmar el consentimiento informado

Experiencia previa en el tratamiento de pacientes con el medicamento en investigación

Las Células Madre Mesenquimales derivadas de médula ósea se han administrado por infusión intravenosa a multitud de pacientes. En la página oficial del Instituto Nacional de los Estados Unidos están registrados 52 ensayos empleando estas células para distintas patologías que se están llevando a cabo en distintos países distribuidos por todo el mundo.

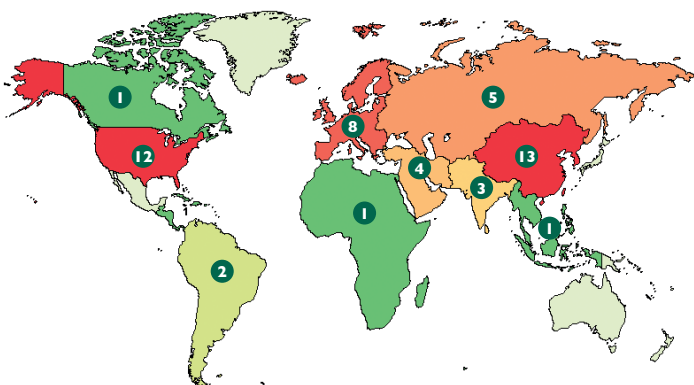


Figura 4. Distribución geográfica de los ensayos clínicos registrados en Septiembre de 2016 en el Instituto Nacional de Salud de Estados Unidos (<https://clinicaltrials.gov/>).

Con estas células se han tratado multitud de enfermedades. Por ejemplo, en España se están utilizando para tratar la esclerosis múltiple, fallos hepáticos, osteoporosis y cierto tipo de tumores.

Y lo más interesante es que las Células Madre Mesenquimales derivadas de médula ósea se han empleado para tratar la EB Distrófica Recesiva administradas tanto de forma local como sistémica, con resultados prometedores en ambos casos. Los dos ensayos clínicos en los que la administración ha sido sistémica,

están acabados y los resultados publicados (Petrof y cols., 2015; El-Darouti y cols., 2016). Uno de ellos se realizó en el Reino Unido (Hospital Great Ormond Street, Londres) y el otro en Egipto (Facultad de Medicina de El Cairo) tratándose 10 y 14 pacientes respectivamente. **La conclusión más importante** a la que han llegado estos estudios es que **la administración de estas células es segura**, ya que los pacientes tratados no han sufrido efectos adversos graves. La segunda conclusión más importante es que efectivamente **son capaces de aliviar los síntomas** de los pacientes con EBDR por periodos de 6 meses y excepcionalmente de hasta 1 año.

Más concretamente, en el ensayo de Londres, se ha observado en todos los pacientes una tendencia a aumentar la resistencia cutánea o lo que es lo mismo a disminuir la fragilidad (Figura 5 y 6).

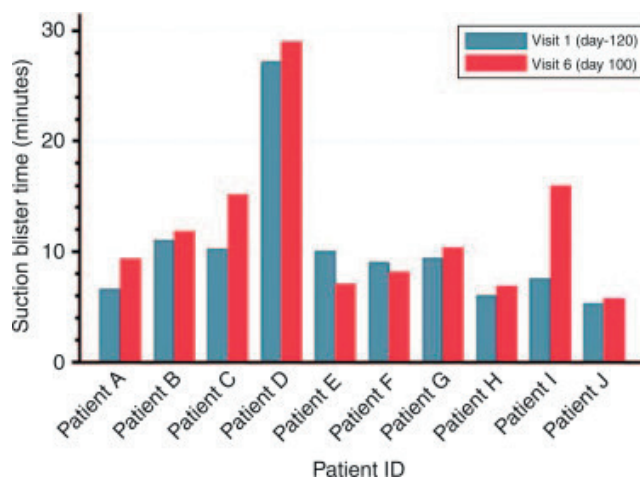


Figura 5. Potencial de la terapia celular empleando células estromales mesenquimales alogénicas administradas de forma sistémica a niños con epidermolisis bullosa distrófica recesiva. A la derecha se ve que en todos los pacientes tratados hay una tendencia a aumentar la resistencia cutánea o lo que es lo mismo a disminuir la fragilidad. En la gráfica "suction blister time" significa el tiempo en minutos que se tarda en inducir un ampolla por succión, en los pacientes antes (columna azul) y 100 días después del tratamiento (columna roja).

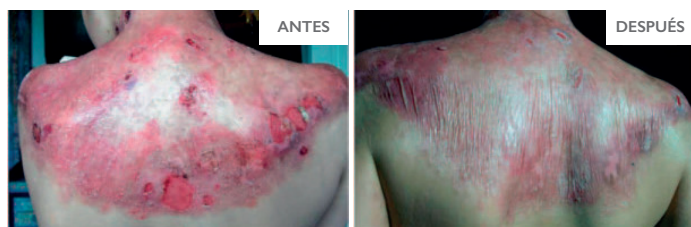


Figura 6. Mejora de uno de los pacientes 8 semanas después de ser tratado. |



Petrof y Cols., 2015
Copyright © 2015 The Society for Investigative Dermatology, Inc

El texto completo del artículo está disponibles en:

[http://www.jidonline.org/article/S0022-202X\(15\)39008-4/fulltext](http://www.jidonline.org/article/S0022-202X(15)39008-4/fulltext)

<http://www.jidonline.org/cms/attachment/2039705550/2053256509/gr2.jpg>

En El Cairo, cabe destacar que como resultado del tratamiento disminuyen las ampollas y se observa colágeno 7 formando fibrillas de anclaje. El resumen del artículo está disponible en:

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/dth.12305/abstract;jsessionid=F624A69F9C963553E70E397A9513D08A.f02t02>

• Posibles aportaciones de MesensistemEB

Tenemos dos buenas noticias sobre este tratamiento en base a las experiencias anteriores: que es seguro y que tiene indicios claros de ser beneficioso para la EBDR. Pero los efectos son transitorios.

Con MesensistemEB pretendemos **aportar más datos de seguridad** sobre la administración sistémica de células madre mesenquimales derivadas de médula ósea pero también recavar información sobre si aumentar el número de células y emplear donantes familiares haploidénticos son estrategias válidas para **optimizar los beneficios terapéuticos** observados en los ensayos previos.

Dra. Rocío Maseda |



| Dra. María José Escamez

Bibliografía y referencias

- Arevalo Romero J, Paez Guerrero D, Rodríguez Pardo V. Células madre mesenquimales: características biológicas y aplicaciones clínicas. *Nova*. 2007; 5: 177 – 185. Disponible en http://www.unicolmayoredu.co/invest_nova/NOVA/nova8_artrevis1.pdf
- El-Darouti M, Fawzy M, Amin I, Abdel Hay R, Hegazy R, Gabr H, El Maadawi Z. Treatment of dystrophic epidermolysis bullosa with bone marrow non-hematopoietic stem cells: a randomized controlled trial. *Dermatol Ther*. 2016 Mar-Apr;29(2):96-100. doi: 10.1111/dth.12305. PubMed PMID: 26439431. Disponible en <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/dth.12305/abstract;jsessionid=F624A69F9C963553E70E397A9513D08A.f02t02>
- García Olmo D, García Arranz M. Células para curar: Del corazón al todo. *An Pediatr (Barc)*. 2011; 74(4): 215-217. Disponible en <http://analesdepediatria.org/es/celulas-curar-del-corazon-al/articulo/S1695403311001603/>
- Larcher F, Del Río M. Estrategias terapéuticas innovadoras para la epidermolisis bullosa distrófica recesiva. *Actas Dermosifiliogr*. 2015 Jun;106(5):376-82. doi: 10.1016/j.ad.2015.01.007. English, Spanish. PubMed PMID: 25796272. Disponible en <http://www.actasdermo.org/es/pdf/S0001731015000691/S300/>
- Petrof G, Lwin SM, Martínez-Queipo M, Abdul-Wahab A, Tso S, Mellerio JE, Slaper-Cortenbach I, Boelens JJ, Tolar J, Veys P, Ofuya M, Peacock JL, Martínez AE, McGrath JA. Potential of Systemic Allogeneic Mesenchymal Stromal Cell Therapy for Children with Recessive Dystrophic Epidermolysis Bullosa. *J Invest Dermatol*. 2015 Sep;135(9):2319-21. doi: 10.1038/jid.2015.158. PubMed PMID: 25905587. Disponible en [http://www.jidonline.org/article/S0022-202X\(15\)39008-4/fulltext](http://www.jidonline.org/article/S0022-202X(15)39008-4/fulltext)

Agradecimientos

El equipo de investigadores implicado en MesensistemEB quiere agradecer a las personas con EB y sus familias, la confianza, el cariño, el respeto, la paciencia y la extraordinaria voluntad que siempre han mostrado de colaborar con nuestro equipo. Agradecer la colaboración y dedicación a los profesionales sanitarios de enfermería, genetistas, dermatólogos, pediatras, cirujanos y otras especialidades. Siempre gracias al apoyo recibido de la Asociación de Pacientes "piel de mariposa", DEBRA-España.

El grupo CIBERER-CIEMAT-UC3M-IISFJD está principalmente financiado por los proyectos IC14/00363, SAF2013-43475-R y GENEGRAFT HEALTH-F2-2011-261392 y la Asociación de Pacientes Berritxuak.

*Podéis ver un video de la ponencia de las Dras. María José Escamez y Rocío Maseda sobre el ensayo con Células Madre Mesenquimales, en nuestro canal de Youtube www.youtube.com/PieldeMariposa o en <http://bit.ly/mesenquimalesEB>