



**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN EN  
TERAPIA DE LAS DISTROFIAS MUSCULARES  
Fundación Isabel Gemio**

**Investigador Principal: Dr. Adolfo López de Munain**

Hospital Donostia – CIBERNED – Fundación Lundain

**San Sebastián – Donostia**

**“caracterización de células con potencial miogénico”**

El grupo de investigación neuromuscular del HOSPITAL DONOSTIA, dirigido por el Dr. López de Munain, está realizando con financiación de la Fundación Isabel Gemio un proyecto cuyo objetivo fundamental *es seleccionar un tipo de células con potencial de transformarse en músculo y que sean útiles para la transferencia a los enfermos*. Dos son las características que idealmente deben reunir estas células: capacidad de reproducción in vitro sin pérdida de su carácter multipotente y posibilidad de utilización por vía intravenosa.

**Durante el 2011** se está trabajando en la obtención de unas células con potencial miogénico. A priori, estas características las reúne las células *CD133+* (presentes en la sangre) que se ha utilizado para repoblar músculo en pacientes con Duchenne. Estas células se pueden aislar tanto del músculo como de la sangre aunque con un diferente nivel de eficiencia. Se ha observado que el rendimiento de estas células es escaso pues se necesitan grandes volúmenes de sangre y el medio específico de cultivo celular rico en citoquinas es excesivamente oneroso, y aunque a nivel experimental es factible que estas células se dirijan al músculo expresando las isoformas de proteínas propias de células miogénicas (distrofina, calpaína 3, etc.), **hay que optimizar la técnica para que sean** una alternativa viable para el tratamiento en humanos.

Por otro lado, tratan de caracterizar otras células con potencial miogénico a través de tres procedimientos diferentes:

1. Trasfección de los fibroblastos para convertirlos en mioblastos.
2. Diferenciación de células madre pluripotentes inducidas (iPS)
3. Obtención de miotubos a partir de las células precursoras de la piel

A partir de estas células se ha empezado a estudiar aspectos de la homeostasis del calcio, en los mioblastos tanto en la Distrofia muscular de Duchenne como en la Distrofia de Cinturas Tipo II A.



Otra alternativa es *la infección de fibroblastos de piel* utilizando vectores de transferencia génica como los lentivirus con MyoD para diferenciar a mioblastos. In vitro se ha observado que los cultivos expresan marcadores protéicos musculares como receptor ryanodine y calp-3. Por otra parte, en colaboración con un Instituto de Medicina Regenerativa de San Sebastián, INBIOMED, se está trabajando para reprogramar *células de la piel* de los pacientes (fibroblastos) a células madre inducidas (iPS en terminología inglesa). Estas células se comportan como las células madre embrionarias y pueden diferenciarse de cualquier tejido.

En el proyecto se ha logrado obtener **células madre pluripotentes inducidas (Ips)** de 2 pacientes con distrofia de cinturas y **actualmente** se está produciendo su diferenciación como paso previo para su aplicación a modelos animales de distrofias.

**Recientemente** se ha publicado que pueden reprogramarse **células madre pluripotentes inducidas (Ips)** sin el uso de vectores lentivirales, utilizando la herramienta molecular llamada microRNA, lo que abre nuevas vías menos problemáticas para su transferencia a humanos.

Sin embargo en este campo nos enfrentamos a un nuevo reto que es tratar de ver qué rastros no directamente genéticos (epigenética) dejan huella en la reprogramación a **células madre pluripotentes inducidas (Ips)**, lo que implica que la célula embrionaria iPS no tiene un fondo biológico exactamente igual al fibroblasto de piel original.

Otro reto, es la dificultad que están encontrando grupos muy expertos en este campo para reprogramar a célula muscular, y sus posibles reversiones a células de carácter tumoral.

En este sentido desde el **CIBERER**, a través de su Director Científico Francisco Palau, se pone de manifiesto que las **células madre pluripotentes inducidas (Ips)** pueden suponer un buen modelo celular de enfermedad, que será necesario reprogramar varios enfermos con diferentes mutaciones y con la misma mutación para tener una buena referencia fisiopatológica de la enfermedad. Se están interesando en la posibilidad de establecer una plataforma para generar materia celular para el estudio fisiopatológico de enfermedades raras.

Por último el grupo del **Dr Munain** está estudiando el *papel del calcio en las distrofias musculares* en colaboración con un grupo de química de Donostia utilizando análogos menos tóxicos de la molécula S107 cuya función es la regulación de flujos de calcio.

**La financiación de la FIG les ha permitido que inicien y continúen estos estudios**