



Universidad de Valladolid

FACULTAD DE MEDICINA

Grado en Nutrición Humana y Dietética

TRABAJO DE FIN DE GRADO

Células madre como posible solución para la Diabetes

Presentado por

DIEGO PASCUAL FERREIRO

Dirigido por:

Dra. Veronica García Díaz

Valladolid, 2022

ÍNDICE

RESUMEN	4
ABREVIATURAS	5
INTRODUCCIÓN	7
1. Diabetes mellitus	7
• Definición	7
• Prevalencia DM	8
• Clasificación DM	9
- Diabetes mellitus Tipo 1	9
- Diabetes mellitus Tipo 2	9
- Diabetes Gestacional (DG)	10
- Diabetes tipo MODY (maturity-onset diabetes of the young)	10
• Criterios diagnósticos	11
• Complicaciones asociadas a la DM	11
- Enfermedad cardiovascular (ECV)	12
- Nefropatía y retinopatía	12
- Pie diabético	12
2. Nutrición y DM.	12
• Recomendaciones dietéticas en personas con DM	13
• Distribución de macronutrientes	13
3. Células madre	13
• Clasificación según su potencial de diferenciación	14
- Células totipotentes	14
- Células pluripotentes	14
- Células multipotentes	14
- Células oligopotentes	15
- Células unipotentes	15
• Clasificación según su origen	15
- Células madre embrionarias	15
- Células madre adultas	16
4. Medicina regenerativa y terapia celular en la DM	16
• Terapia celular de la DM	17
OBJETIVOS	18
METODOLOGÍA	18
RESULTADOS	19
1. Terapia celular	19
2. Obtención de células madre	19
• Células madre embrionarias (ESC)	19
• Células madre pluripotentes inducidas (iPSC)	19
• Células madre de la línea germinal	20
• Células madre mesenquimales (MSC)	20
3. Diferenciación de las células madre	21
• Diferenciación de ESC en IPCs	21
• Diferenciación de iPSC en IPCs	21

• Diferenciación de células madre de la línea germinal en IPCs	23
• Diferenciación de MSC en IPCs	24
4. Aplicación clínica	25
• ESC	25
• iPSC	26
• MSC	27
• Células madre hematopoyéticas de médula ósea (BM-HSC)	28
5. Futuras perspectivas	29
DISCUSIÓN	30
CONCLUSIONES.	32
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33

RESUMEN

La Diabetes Mellitus (DM) es una patología endocrino-metabólica que se caracteriza por la presencia de una cantidad elevada de glucosa en la sangre de las personas que la padecen a consecuencia de la falta de insulina o el mal funcionamiento de esta. Las terapias actuales están basadas en la administración de insulina exógena y en el trasplante de la totalidad del páncreas o de sus islotes y no son totalmente eficaces debido a que no permiten un buen control glucémico, existe riesgo de rechazo por parte del paciente debido a la necesidad de inmunosupresión y además, hay una escasez de donantes.

Desde el descubrimiento de las células madre, la regeneración de los islotes pancreáticos se ha convertido en el principal objetivo en investigación clínica para el tratamiento de la DM, ya que la terapia con células madre tiene la capacidad de disminuir o eliminar la necesidad de administración de insulina exógena y medicamentos complementarios. Este trabajo pretende describir los avances de los diferentes tratamientos con células madre que se están llevando a cabo en los últimos años, así como las futuras perspectivas planteadas en el tratamiento de la DM. Esto implica la diferenciación de células madre en células β pancreáticas para después poderlas llevar a la aplicación clínica, aunque hemos comprobado, que la mayoría de las células madre presentan diferentes limitaciones que deben de ser superadas para que este tratamiento se haga realidad.

ABREVIATURAS

- ADA: Asociación Americana de Diabetes
- Akt: Proteína quinasa B
- ATP: Adenosin trifosfato
- BM-HSC: Células madre hematopoyéticas de médula ósea
- BM-MSK: MSC derivadas de la médula ósea de rata.
- Células SC- β : Células β derivadas de iPSC
- Células NK: Células natural killer
- Células SC- β : Células β derivadas de iPSC
- Células Treg: Células T reguladoras
- DE: endodermo definitivo
- DM: Diabetes mellitus
- DM1: Diabetes mellitus Tipo 1
- DM2: Diabetes mellitus Tipo 2
- DG: Diabetes gestacional
- ECV: Enfermedad cardiovascular
- ESCs: células madre embrionarias
- FID: International Diabetes Federation
- fESLC: células femeninas similares a las ESC
- FGSC: célula madre de la línea germinal femenina
- FID: International Diabetes Federation
- G: gramos
- GCK-MODY o MODY2: MODY por mutación del gen de la glucoquinasa
- GLUT4: Transportador de glucosa tipo 4
- HCO: Hidratos de carbono
- HDL: high-density lipoprotein o lipoproteínas de alta densidad
- HbA1c: Hemoglobina glicosilada
- hESC: ESC humanas
- hiPSCs: Células madre pluripotentes inducidas humanas
- HLA: Antígeno leucocitario humano
- HNF1A-MODY o MODY3: MODY por mutación del factor nuclear 1 alfa de hepatocito
- HNF4A-MODY o MODY1: MODY por mutación del gen factor nuclear 4 alfa de hepatocito
- HNF1B-MODY o MODY5: MODY por mutación del gen factor nuclear hepático 1 beta.
- hPSCs: Células madre pluripotentes humanas
- HSCs: células madre hematopoyéticas
- hiPSCs: Células madre pluripotentes inducidas humanas
- HTA: Hipertensión arterial
- HSCs: células madre hematopoyéticas
- htESLC: ESC derivadas de testículos humanos
- IPCs: Células productoras de insulina
- iPSCs: células madre pluripotentes inducidas
- IRS-1: Sustrato 1 del receptor de insulina fosforilado
- Kcal: kilocaloría

- LDL: low-density lipoprotein o lipoproteínas de baja densidad
- LOPS: pérdida de sensación protectora
- mmHg: milímetros de mercurio
- MODY: maturity-onset diabetes of the young
- ND: Donantes sin diabetes
- NIH: U.S National Institutes of Health
- NT-ESC: ESC de transferencia nuclear
- OMS: Organización Mundial de la Salud
- RCAD: Síndrome de quistes renales y diabetes
- SeV: Virus de Sendai
- SSC: Células madre de espermatogonia
- TH1: Células T helper 1
- WJ-MSC: MSC derivadas de la gelatina de Wharton

INTRODUCCIÓN

1- Diabetes mellitus

- **Definición**

La Diabetes mellitus (DM), se define como “unos tipos de patologías endocrino-metabólicas crónicas que se caracterizan por la presencia de una cantidad elevada de glucosa en la sangre de las personas que la padecen a consecuencia de la falta de insulina o el mal funcionamiento de dicha hormona”, según la Federación Española de Diabetes (1).

La **insulina** es una hormona que se secreta cuando hay hiperglucemia, es decir, cuando aumenta la concentración de glucosa en sangre, situación que va unida al estado postprandial. Esta hormona provoca la captación (la entrada), almacenamiento y consumo de la glucosa en casi todos los tejidos del cuerpo, pero sobre todo en músculos, tejido adiposo e hígado. Así, en el hígado, la insulina facilita la entrada de glucosa en las células hepáticas, evita la liberación de glucosa a sangre y promueve la síntesis de glucógeno. En el músculo incrementa el transporte de glucosa hacia el interior de las células musculares (donde posteriormente podrá consumirse para obtener energía en forma de ATP). En el tejido adiposo la insulina promueve, indirectamente, el depósito de grasas en forma de triglicéridos. Esto, hace que la glucemia disminuya a valores de normoglucemia (70-100 mg/dl en ayunas), y así se elimina la señal que provocó la síntesis de insulina y esta deja de secretarse. Por lo tanto, las moléculas de insulina permiten que la glucosa entre en las células para llevar a cabo sus múltiples funciones. Cuando no hay suficiente insulina o hay una resistencia a esta, la glucosa no puede entrar en las células y se acumula en la sangre, produciendo una hiperglucemia (1).

La insulina es la hormona que permite mantener el equilibrio entre los niveles de glucosa e insulina en el organismo y cuando se produce un desajuste en este equilibrio se desarrolla la DM.

La insulina es una hormona polipeptídica sintetizada por las células β del páncreas. En su forma activa consta de dos cadenas polipeptídicas: la A, de 21 aminoácidos y la B, de 30. Estas dos cadenas se unen entre sí por medio de dos puentes disulfuro. La insulina se sintetiza como preproinsulina, formada por una sola cadena polipeptídica, que posteriormente tras varios procesamientos da lugar la insulina activa (pérdida del péptido señal y eliminación del péptido C o conector). (Figura 1)

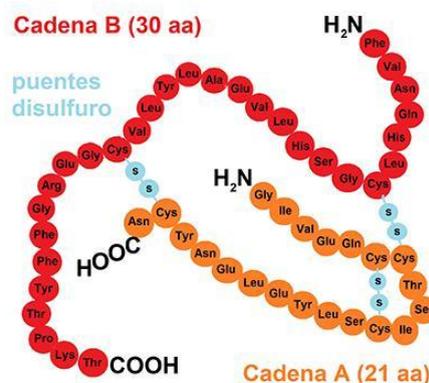


Figura 1. Estructura de la insulina humana.

Las **células β** del páncreas son células altamente especializadas que se localizan en unas estructuras pancreáticas denominadas islotes de Langerhans; y desempeñan un papel único en la fisiología del organismo, ya que son las únicas capaces de **sintetizar la insulina**. Estas células son muy versátiles y pueden cambiar su organización y su capacidad funcional mediante fenómenos de senescencia, desdiferenciación y transdiferenciación. (Figura 2) La senescencia se refiere a los procesos de envejecimiento celular. La desdiferenciación es la situación por la que las células β regresan a un estado inmaduro y la transdiferenciación se refiere al proceso por el cual la célula madura se transforma en otro tipo celular. Esta plasticidad funcional de la célula β ocurre cuando está expuesta a un ambiente diabético de hiperglucemia o hiperinsulinemia, y genera pérdida de funcionalidad en las mismas, es decir, la capacidad de sintetizar insulina.

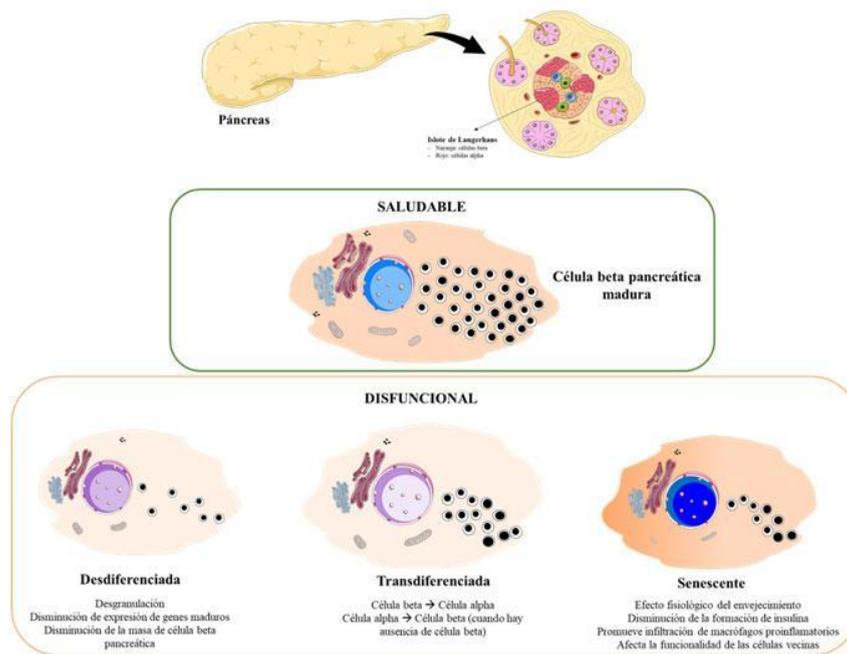


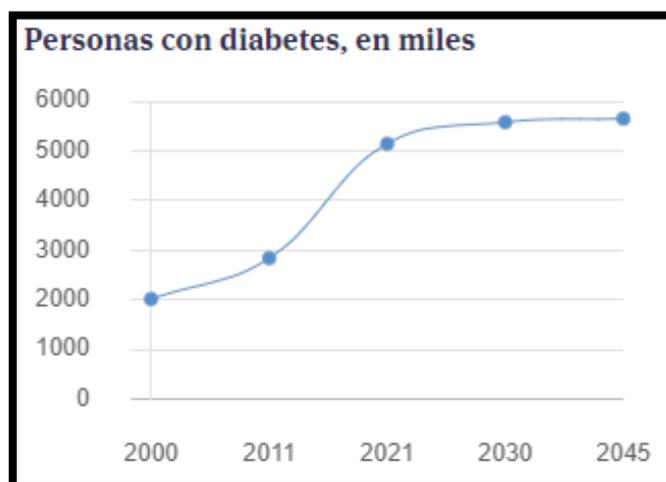
Figura 2. Localización y plasticidad de la célula β pancreática. Fuente: <https://web2020.sebbm.es/>

● Prevalencia DM

La DM es una enfermedad que en los últimos años ha aumentado de manera preocupante, ya que según la Organización Mundial de la Salud (OMS), su prevalencia ha pasado de 108 millones de personas en 1980 a 422 millones en 2014. Según los últimos datos de la International Diabetes Federation (FID), actualmente 537 millones de personas comprendidas entre los 20-79 años sufren esta enfermedad, es decir, 1 de cada 10 adultos presenta DM. Además, se estima que esta cifra aumente a 643 millones para 2030 y a 783 millones para 2045. Destacamos la importancia de esta enfermedad, ya que, en 2021, hubo 6,7 millones de defunciones por DM. (2,3). Por lo tanto, la DM es uno de los problemas sanitarios más relevantes del siglo XXI y parece que lo seguirá siendo, a menos que se implementen medidas preventivas y nuevos métodos de tratamiento.

En Europa, la FID estima que 61 millones de personas sufren esta enfermedad y que además 1 de cada 3 adultos que sufren DM, no están diagnosticados. El número de defunciones en 2021 por DM en Europa alcanzó 1,1 millones. (3)

En España, en 2021, hay más de 5 millones de personas entre los 20-79 años que sufren DM y más de 1,5 millones que no están diagnosticadas, y en este año, han fallecido en España 81.717 personas por DM. (3)



*Figura 3. Gráfica que representa el número de personas con diabetes en España en miles. La estimación se centra en los años 2000, 2011, 2021, 2030 y 2045 pudiéndose ver un incremento bastante significativo entre los años 2000 y 2021. (Atlas de Diabetes de la FID, 10ª edición, 2021).

● Clasificación DM

Según la Asociación Americana de Diabetes (ADA), podemos clasificar la DM en diferentes tipos, destacando la Diabetes mellitus Tipo 1 (DM1) y Diabetes mellitus Tipo (DM2), (5) cuyas características se muestran en la tabla 1. Y comparten como característica común la hiperglucemia, ya sea debido a una disminución y deterioro progresivo de la masa de células β en los islotes pancreáticos o a una disminución en la eficacia de los mecanismos de señalización.

- Diabetes mellitus Tipo 1 (DM1)

La DM 1 es también conocida como DM insulino dependiente y se debe a una respuesta autoinmune. En este tipo de diabetes, se produce una insulinoopenia, ya que el sistema inmune ataca a las células β del páncreas siendo estas incapaces de producir insulina lo que conlleva a un déficit absoluto de esta. La ausencia de insulina hace que las personas con DM1 tengan dependencia a la insulina para mantener los niveles de glucosa en sangre normales. Este tipo de DM suele aparecer en edad juvenil, aunque se puede encontrar a cualquier edad. Normalmente las personas con DM1 presentan cetoacidosis, ya que el organismo metaboliza la grasa como principal fuente de energía formando cuerpos cetónicos los cuáles son tóxicos para el organismo.

- Diabetes mellitus Tipo 2 (DM2)

La DM2 es una DM no insulino dependiente y supone un 90-95% del total de pacientes diabéticos a nivel mundial. Está provocada por un déficit progresivo de secreción de insulina y por un aumento de la resistencia periférica de las células sobre esta.

Los marcadores de riesgo para la DM2 incluyen la edad avanzada, la obesidad, la historia familiar de diabetes, la etnia, el nivel socioeconómico y el estilo de vida occidental (se refiere principalmente a la obesidad, dieta e inactividad física). En este tipo de DM no existe dependencia a la insulina, aunque la mayoría necesitan insulina para corregir hiperglucemias si no son capaces de mantener los niveles de la glucosa a través de la dieta. Suele aparecer en personas adultas asociado a los marcadores de riesgo.

	DM1	DM2
Sexo	Igual proporción en hombres y mujeres	Mayor proporción en mujeres
Edad	Más frecuente en jóvenes	Más frecuente a partir de los 35 años
Forma de presentación	Brusca	Prolongada en el tiempo
Peso	Normopeso	Frecuentemente obesos
Autoanticuerpos	50-85%	10%
Cetosis	Propensos	No propensos
Tratamiento con insulina	Indispensable	Inicialmente no se precisa, pero puede ser necesaria para mejorar el control

Tabla 1. Tabla resumen con las características diferenciales de los 2 grandes grupos en los que se clasifica la diabetes. **Fuente:** <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-diabetes-mellitus-13095504>

- **Diabetes gestacional (DG)**

La DG aparece cuando la intolerancia a la glucosa tiene lugar durante el embarazo. Suele desaparecer después del embarazo, pero las mujeres que presentan esta intolerancia, presentan mayor riesgo de padecer DM2 en el futuro. Además, este tipo de diabetes está asociada a un mayor riesgo de complicaciones perinatales.

Al tratarse, como en el caso de la DM2, de una hiperglucemia como consecuencia de resistencia a la insulina, el tratamiento que se puede aplicar con el objetivo de disminuir la glucemia es un cambio en el estilo de vida (dieta y ejercicio) y, de manera ocasional, administración de insulina exógena.

- **Diabetes tipo MODY (maturity-onset diabetes of the young),**

Es un tipo de DM causada por mutaciones en varios genes. Según el gen afectado podemos distinguir: HNF1A-MODY (también conocido como MODY3); GCK-MODY (MODY2); HNF4A-MODY (MODY1) y el síndrome de quistes renales y diabetes (RCAD) (también conocido como HNF1B-MODY o MODY5). (6)

Se han identificado al menos 10 tipos más de diabetes, pero se dan muy raramente. (6). Además, de las causas analizadas, la DM también puede ser producida por otros factores como: enfermedades pancreáticas, defectos en los receptores de insulina, Síndrome de Cushing, enfermedades endocrinas, drogas y agentes químicos, condiciones medioambientales desfavorecidas, etc. (5)

- **Criterios diagnósticos**

Los **criterios** para el diagnóstico de DM son los mismos en niños que en adultos, y se describen en la tabla 2.

Estados de hiperglucemia	Criterios ADA
Diabetes mellitus	Síntomas clásicos y glucemia al azar en plasma venoso $\geq 200\text{mg/dl}$ Glucemia basal en plasma venoso $\geq 126\text{ mg/dl}^*$ Glucemia en plasma venoso $\geq 200\text{mg/dl}$ a las 2 horas de sobrecarga oral con 75g de glucosa *
Glucemia basal alterada	Glucemia basal entre 100-125mg/dl
Intolerancia a la glucosa	Glucemia entre 140-199 mg/dl a las 2 horas del test de tolerancia oral con 75g de glucosa

Tabla 2. Criterios diagnósticos para los principales estados de hiperglucemia. *Confirmar en dos ocasiones. **Fuente:** ADA, Diabetes Care 2004; 27 (suppl 1); S5-S10

- **Complicaciones asociadas a la DM**

La DM aumenta el riesgo de los individuos que la padecen de presentar otros tipos de complicaciones asociadas a la misma, destacando la enfermedad cardiovascular.

- **Enfermedad cardiovascular (ECV)**

La **ECV** (7) es la primera causa de morbilidad y mortalidad en personas con diabetes. La hipertensión arterial, dislipemias, la obesidad o el tabaco son factores de riesgo tanto de la diabetes, como de las ECV, por lo que es importante el control de los mismos. Además, la diabetes por sí misma es un factor de riesgo independiente de las ECV.

Por ello, es importante controlar la **presión arterial** en cada consulta y aconsejar a los pacientes con presión arterial $>120/80$ mmHg sobre cambios en el estilo de vida para ayudar a reducirla. Estos cambios son: pérdida de peso (si el paciente sufre sobrepeso), reducción de la ingesta de sal, moderación de la ingesta de alcohol y una mayor actividad física entre otros. El tratamiento también puede incluir la administración de fármacos antihipertensivos.

Otro de los factores a tratar son las **dislipemias**. En individuos sin ECV, el objetivo es un colesterol LDL <100 mg/dL, mientras que en individuos con ECV, el objetivo es de un colesterol LDL <70 mg/dL. En cuanto a los niveles de triglicéridos, son recomendables valores por debajo de 150 mg/dL y el colesterol HDL, por encima de 50 mg/dL. El principal tratamiento de las dislipemias consiste en una modificación del estilo de vida centrada en la reducción de grasas saturadas, grasas trans y colesterol; pérdida de peso (si existe sobrepeso); y un aumento de la actividad física, además de la administración de estatinas.

Por último, es importante aconsejar a los pacientes fumadores, que eliminen el **tabaco** ya que estos pacientes tienen un mayor riesgo de sufrir ECV, muerte prematura y una mayor tasa de complicaciones microvasculares de la diabetes.

- **Nefropatía y retinopatía**

La **nefropatía diabética** (7) ocurre entre 20 y 40% de los pacientes con diabetes y es la principal causa de ESRD (enfermedad renal en etapa terminal). La albuminuria permanente en el rango de 30 a 299 mg/24 h es una etapa temprana de la nefropatía diabética en la DM1 y un marcador para el desarrollo de nefropatía en la DM2, además de un marcador bien establecido de un mayor riesgo de ECV.

La **retinopatía diabética** es una complicación vascular altamente específica de la DM1 y DM2, con una prevalencia en gran medida relacionada con la duración de la diabetes. La retinopatía diabética es la causa más frecuente de nuevos casos de ceguera entre adultos de 20 a 74 años. El glaucoma, las cataratas y otros trastornos de la vista ocurren con mayor frecuencia en las personas con diabetes.

- **Pie diabético (7)**

La amputación y la ulceración del pie son comunes y son las principales causas de morbilidad y discapacidad en las personas con diabetes.

El riesgo de úlceras o amputaciones aumenta en personas con los siguientes factores de riesgo: amputación previa, antecedentes de úlceras en los pies, neuropatía periférica, deformidad del pie, enfermedad vascular periférica, discapacidad visual, nefropatía diabética (especialmente pacientes en diálisis), mal control glucémico y fumadores.

Es recomendable para todos los pacientes con diabetes, realizar un examen anual de los pies para identificar los factores de riesgo predictivos de úlceras y amputaciones. El examen de los pies debe incluir inspección, evaluación de los pulsos de los pies y pruebas de pérdida de sensación protectora (LOPS), además de brindar educación general sobre el autocuidado de los mismos a todos los pacientes con diabetes.

2- Nutrición y DM

La importancia de seguir una dieta adecuada es clave para el control glucémico y metabólico en cualquier tipo de diabetes. Los pacientes con DM1, en general delgados, normalmente deben ganar peso. Los pacientes con DM2, frecuentemente obesos, se benefician de una dieta con una disminución calórica, con una restricción de alrededor de unas 500 kcal/día sobre la ingesta habitual. La restricción calórica y la pérdida de peso mejoran considerablemente el control metabólico. (9) Cuando la diabetes es tratada con insulinas de acción lenta, es muy importante tener una correcta distribución calórica y un fraccionamiento adecuado de los hidratos de carbono (HCO). (10)

Los pacientes con DM1, deben adquirir la pauta de insulina a sus comidas. Es recomendable que estos pacientes aprendan a seguir la dieta por raciones. Esta dieta consiste en planificar las raciones de HCO de cada comida, siendo 1 ración, 10g de HCO y ajustar la dosis de insulina rápida a la cantidad de raciones que van a comer. Esto permite una mayor flexibilidad y una mayor variación de los menús. (11)

En cuanto a los pacientes con DM2, el cambio en el estilo de vida es uno de los pilares básicos en el tratamiento de la enfermedad, ayudando a conseguir adecuados niveles de glucemias, de

lipemia y de HTA, disminuyendo el riesgo cardiovascular. Este cambio es posible conseguirlo con cambios en los hábitos alimentarios y con ejercicio físico diario. (11)

En cualquier embarazo, la alimentación de la madre es crucial para el correcto desarrollo del feto. Esto se hace todavía más importante en madres con diabetes gestacional. Es muy importante controlar la glucemia materna, para reducir el riesgo de complicaciones, además de asegurar el bienestar materno y el buen desarrollo del feto. La dieta es la pauta terapéutica inicial. La ganancia de peso debe ser adecuada, al igual que las necesidades energéticas y nutricionales del embarazo, sin incluir dietas demasiado restrictivas. Además, hay que promover hábitos de alimentación según los requerimientos necesarios, evitar episodios de hipoglucemia, lograr una adecuada adherencia al plan de alimentación y fomentar la auto vigilancia frecuente de la glucosa capilar. (12)

- **Recomendaciones dietéticas en personas con DM (13):**

- Tanto las personas con diabetes, como el resto de la población, deben seguir una alimentación variada, equilibrada, completa y personalizada incluyendo todo tipo de alimentos.
- Solamente será necesaria una disminución del aporte de calorías en aquellas personas que deban reducir su peso corporal.
- Es recomendable realizar 3 comidas principales, pudiendo añadir un suplemento con un bajo contenido en hidratos de carbono entre ellas cuando su médico así se lo indique.

Su médico le recomendará una alimentación personalizada, según sus necesidades, teniendo en cuenta sus valores de glucemia, los objetivos de glucemia, su actividad física, etc.

- **Distribución de los macronutrientes:**

- Hidratos de carbono: aproximadamente el 50% del aporte calórico total.
 - Evitar el consumo de hidratos de carbono de absorción rápida (azúcares, dulces, etc.).
 - Es recomendable consumir hidratos de carbono de absorción lenta: legumbres, pan, arroz, patatas, etc.
 - Fibra: 20-35 g/día.
- Grasas: un 35% del consumo calórico total, con un máximo del 7% de grasas saturadas.
- Proteínas: 15% del consumo calórico total, aunque debe restringirse su consumo en personas con nefropatía diabética.

3- Células madre

“Una célula madre o más adecuadamente denominada troncal, es aquella que es capaz de dividirse indefinidamente y diferenciarse a distintos tipos de células especializadas, no sólo morfológicamente sino también de forma funcional”. (Figura 4) (14).

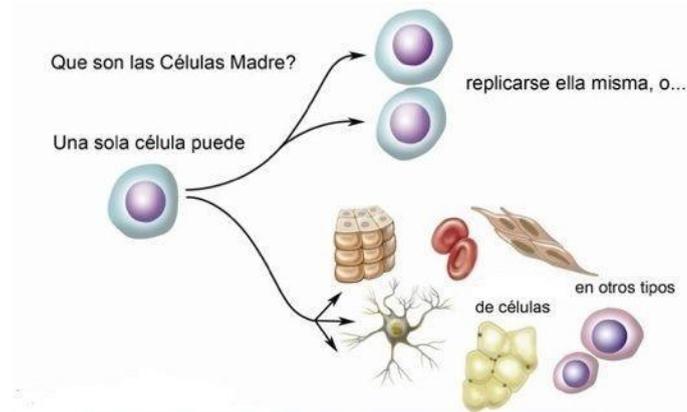


Figura 4. Características células madre. **Fuente:** www.areaciencias.com

Las células madre pueden ser clasificadas según su capacidad de diferenciarse a distintos tipos de tejidos o lo que es lo mismo según su potencialidad. Podemos diferenciar entre 5 tipos distintos de células madre: células totipotenciales, pluripotenciales, multipotenciales, oligopotenciales y unipotenciales. (15)

Por otra parte, también pueden ser clasificadas según su origen: células madre embrionarias (ESCs), células madre adultas, células madre fetales y iPSCs. (15)

- **Clasificación según su potencial de diferenciación.** (15)

- **Células totipotentes**

Las células totipotentes o también denominadas omnipotentes son las más indiferenciadas, es decir no poseen una función específica y pueden convertirse en cualquier célula específica. La célula madre totipotente por excelencia es el cigoto, y éste mantiene su totipotencia hasta la etapa de 8 a 16 células. Este tipo de células madre tiene un uso restringido en terapia celular por diferentes controversias en cuanto a su potencial carcinogénico, ya que una vez implantadas pueden dar lugar a teratomas o teratocarcinomas, y además presentan el problema ético, que supone trabajar con embriones humanos, ya que muchas corrientes defienden que la vida humana comienza en la fecundación.

- **Células pluripotentes**

Son las células madre embrionarias aisladas de la masa celular interna del blastocisto. Son células con capacidad de generar cualquier tipo celular de los tres linajes embrionarios (ectodermo, mesodermo y endodermo) y células de la línea germinal. Las células pluripotentes más estudiadas son las células madre embrionarias. (ESCs). Estos embriones son obtenidos mediante fecundación in vitro en tratamientos de infertilidad y donados para su uso en investigación.

- **Células multipotentes**

Las células multipotentes se encuentran en la mayoría de los tejidos adultos y son las encargadas de realizar la reparación de los mismos. Son células capaces de diferenciarse a células de su misma capa germinal. Las células madre mesenquimales son las células multipotentes más conocidas. Pueden ser derivadas de varios tejidos, como la médula ósea, el hueso, el tejido adiposo, gelatina de Wharton, sangre del cordón umbilical y sangre periférica.

Normalmente, estas células pueden diferenciarse en tejidos derivados del mesodermo como son el tejido adiposo, el hueso, el cartílago y el músculo, pero recientemente, estas células fueron diferenciadas en el tejido nervioso que es derivado del ectodermo. Esto es un ejemplo de transdiferenciación, es decir, cuando una célula que solo se forma en una capa germinal, en este caso el mesodermo, es diferenciada a células de otra capa germinal, el ectodermo.

- **Células oligopotentes.**

Las células madre oligopotentes son capaces de autorrenovarse y formar 2 o más linajes dentro de un tejido específico. Las células madre hematopoyéticas son un claro ejemplo de células oligopotentes ya que pueden diferenciarse en linajes tanto linfoides como mieloides. En el pulmón, las células de unión del conducto broncoalveolar pueden dar lugar a un epitelio bronquiolar y a un epitelio alveolar.

- **Células unipotentes.**

Las células madre unipotentes pueden autorrenovarse y diferenciarse en un solo tipo específico de célula y formar un único linaje, como las células madre musculares, dando lugar a células musculares maduras y no otro tipo de células.

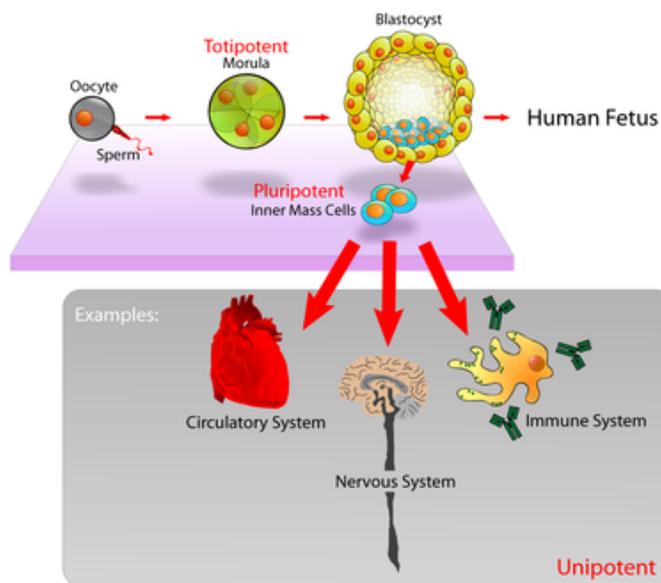


Figura 5. Clasificación células madre según su potencia.

- **Clasificación según su origen**

- **Células madre embrionarias**

Las células madre embrionarias (ESCs) son células pluripotentes derivadas de la parte interna del blastocisto. Estas células pueden diferenciarse en tejidos de las 3 capas germinales primarias, pero también son capaces de mantenerse en un estado de indiferenciación durante un tiempo prolongado en cultivo.

La pluripotencialidad de las ESC las hace ser de gran interés para su uso terapéutico, ya que les confiere la capacidad de diferenciarse hacia cualquier linaje celular. Sin embargo, su utilización clínica puede generar diversos problemas bioéticos debido al uso de embriones para su

obtención y presentan un elevado potencial teratógeno, por lo que su uso se restringe principalmente a la investigación.

La controversia sobre la utilización de embriones humanos para su obtención se ha solucionado con la manipulación de células adultas para generar células con pluripotencialidad inducida (iPSC). (16) Estas células fueron creadas en el 2006, por un grupo de investigadores japoneses que fueron capaces de cambiar el estado estable de células diferenciadas y convertirlas en células madre embrionarias. Estos nuevos tipos de células fueron denominadas células madre pluripotentes inducidas (iPSCs). Este tipo de células tiene la capacidad de dividirse *in vitro* de forma indefinida y diferenciarse en cualquier tipo de célula madura del cuerpo humano, por lo que tienen un gran potencial terapéutico para la terapia celular; ya que podría evitar la falta de tejidos compatibles para los trasplantes de órganos y la necesidad de un tratamiento crónico con inmunosupresores y, además, se pueden obtener de forma autóloga

- Células madre adultas

Este tipo de células son derivadas de tejidos adultos. Algunos ejemplos de células madre adultas son las células madre mesenquimales, las derivadas del tejido placentario o las células del epitelio amniótico. Estas células tienen una capacidad de diferenciación limitada, aunque son capaces de diferenciarse en tejidos de su misma capa germinal *in vitro*. Las células madre adultas tienen la ventaja de que las células autólogas no plantean problemas de rechazo. (15) Al estar más diferenciadas estas células presentan menor potencial tumorigénico y además son inmunomoduladoras, por lo que son ampliamente utilizadas en medicina regenerativa.

4- Medicina regenerativa y terapia celular en la DM

La terapia celular y la medicina regenerativa se han convertido en áreas muy relevantes en la investigación biomédica. La medicina regenerativa tiene como objetivo reparar órganos y tejidos enfermos o dañados a través de diferentes métodos como pueden ser la administración de moléculas biológicamente activas (proteínas y microARN) o la implantación de células aisladas de tejidos adultos, que pueden dar lugar a la regeneración estructural del tejido u órgano afectado. (17)

Por otra parte, la terapia celular incluye la aplicación tanto de células adultas, como de progenitores, así como de células modificadas genéticamente para facilitar la regeneración de células dañadas.

El trasplante de células madre hematopoyéticas (HSCs) para el tratamiento de neoplasias malignas de la médula ósea, fue la primera terapia celular que se utilizó en la práctica clínica y desde su aprobación, se han empleado con éxito durante más de 50 años. (17)

La terapia celular ha sido investigada en casi todos los trastornos degenerativos, con resultados prometedores en estudios preclínicos y ensayos clínicos en varias enfermedades como son la diabetes, la leucemia mieloide crónica, cirrosis, fibrosis pulmonar, enfermedad de Crohn insuficiencia cardíaca y trastornos del sistema nervioso, y los efectos inmunomoduladores de las células madre han sido útiles en varias enfermedades en las que predomina la inflamación. (15)

Las aplicaciones de las células madre las podemos dividir en dos grupos principales: en primer lugar, su potencial de diferenciación permitiría utilizarlas para regenerar tejidos destruidos o dañados, como es el caso de enfermedades neurodegenerativas, diabetes o patología cardíaca; en segundo lugar, las células madre podrían ser empleadas como vehículo terapéutico de genes, como en el caso de enfermedades monogénicas como la hemofilia o incluso como vehículo de terapias antitumorales o antiangiogénicas.(16)

- **Terapia celular de la DM**

En la actualidad no existe un tratamiento curativo de la DM, sino que el tratamiento está enfocado al control de la glucemia mediante la administración de insulina exógena. (14) En los últimos años, han mejorado los sistemas de monitorización de la glucosa y administración de la insulina, pero este sistema no siempre es efectivo produciéndose casos de hipoglucemias e hiperglucemias (4).

En las últimas décadas, se ha prestado mucha atención al desarrollo de métodos para reemplazar el tejido dañado o disfuncional por nuevas células β , en particular para la DM1, una forma autoinmune de destrucción de las células β y para la DM2 dependiente de la insulina. (18)

Recientemente, se han obtenido resultados positivos mediante el trasplante de islotes de páncreas en pacientes diabéticos, por lo que se ha incrementado el interés por utilizar células capaces de producir insulina. El escaso número de islotes y la imposibilidad de expandir dichas células *in vitro*, impide que el trasplante de islotes de cadáver sea factible para un número importante de pacientes. Como sucede en cualquier trasplante de órganos, el trasplante de páncreas o islotes pancreáticos está sometido a la escasez de donantes, rechazo inmunológico, efectos de la terapia inmunosupresora y duración del trasplante, entre otros problemas. Por lo que, teniendo en cuenta el aumento en la prevalencia de la diabetes a nivel mundial y que se estima que este porcentaje se incremente de forma significativa en el futuro, la escasez de donantes es el principal problema al que se enfrenta la terapia celular de esta enfermedad. (4) En este punto, la posibilidad de utilizar células madre con capacidad de diferenciarse en células productoras de insulina se plantea como una estrategia mucho más prometedora. (14)

Existen varios estudios recientes, sobre la generación de células β a través de células madre pluripotentes inducidas, células madre embrionarias y fibroblastos. Estas células pluripotentes pueden ser inducidas a sufrir etapas específicas de diferenciación mediante la exposición de combinaciones definidas de factores de crecimiento y pequeñas moléculas de crecimiento para activar e inhibir las vías del desarrollo pancreático. (18)

Con los descubrimientos de cómo generar células β funcionales a través de iPSCs, la atención se ha centrado ahora en encontrar la mejor manera de trasplantar estas células a los pacientes, en donde hay dos objetivos principales: cómo fabricar células suficientemente puras y potentes para su uso clínico y cómo proteger las células del inmunorrechazo tras el trasplante en un paciente. (18)

Los dos abordajes que se plantean hoy en día para la terapia celular de la DM son la sustitución de las células β dañadas, mediante el uso de células madre diferenciadas *in vitro* y la inducción de la tolerancia inmunológica y la reducción de la inflamación, mediante el trasplante con células T reguladoras y células madre mesenquimales, las cuales tienen propiedades antiinflamatorias, inmunomoduladoras y tróficas. (4)

OBJETIVOS

El objetivo principal de este trabajo es conocer la situación actual del tratamiento de la DM mediante la terapia celular en el páncreas.

Este objetivo general se puede desglosar en los siguientes objetivos específicos:

- Definir y conocer las terapias celulares y sus aplicaciones.
- Describir los avances en la terapia celular para el tratamiento de la Diabetes Mellitus.
- Analizar las perspectivas futuras y retos que plantea el tratamiento de la Diabetes Mellitus.

METODOLOGÍA

Se ha realizado una revisión bibliográfica sobre las terapias celulares basadas en células madre mesenquimales obtenidas de tejido adulto para observar y analizar la situación actual de estas terapias, su posible aplicación clínica, los avances que se han realizado y los retos y perspectivas que se plantean para que estas terapias sean una realidad en el tratamiento de la DM.

La información ha sido seleccionada de la base de datos PUBMED. Las palabras claves utilizadas para la búsqueda de información fueron: “Diabetes mellitus” y “stem cell therapy” encontrando 342 resultados tras utilizar los criterios de inclusión y exclusión. Seguidamente fue añadido “mesenchymal stem cells” reduciéndose a 25 referencias de las cuales 7 son los estudios seleccionados.

Por otro lado, se introdujo como palabra clave “induced stem cells” añadida a “diabetes mellitus” y “stem cell therapy” encontrando 6 resultados de los cuales 1 estaba duplicado respecto a la búsqueda anteriormente comentada y otro no tenía especial relevancia en la búsqueda de información de nuestro tema de estudio.

En total, 7 son los estudios encontrados que se centran en la terapia celular de células madre mesenquimales diferenciadas en Células β para el tratamiento de la DM y 4 son estudios en los que se emplean células madre inducidas para dicho tratamiento.

CRITERIOS DE INCLUSION Y EXCLUSION

INCLUSIÓN	EXCLUSIÓN
<ul style="list-style-type: none">- Ensayo clínico- Ensayo clínico controlado- Ensayo controlado aleatorio- Metaanálisis- Revisión- Revisión sistemática- Estudio clínico- 2013-2021 IPSC y 2016-2021 MSC- Artículos en inglés o español	<ul style="list-style-type: none">- Artículos con texto completo no disponible o de pago- Artículos y estudios que tras revisión no tratan el tema de estudio

RESULTADOS

1. Terapia celular

El uso de la insulina como tratamiento para la DM ha permitido el control glucémico y, por lo tanto, la supervivencia de un gran número de pacientes insulino dependientes a lo largo de los últimos 100 años, pero esto no evita en la mayoría de los casos las complicaciones resultantes de la diabetes.

El trasplante de páncreas y de islotes apareció como tratamientos prometedores de la DM. Sin embargo, la escasez crítica de donantes de páncreas e islotes, las complicaciones asociadas con los trasplantes, el alto costo y la disponibilidad limitada de procedimientos siguen complicando la aplicación generalizada de estas estrategias para el tratamiento de la DM. (19)

Desde el descubrimiento de las células madre, la regeneración de los islotes pancreáticos se ha convertido en el principal objetivo para la aplicación clínica, ya que tiene el potencial de disminuir o eliminar la necesidad de administración de insulina y medicamentos complementarios. (20)

2. Obtención de células madre (20)

- **Células madre embrionarias (ESC)**

Las ESC son capaces de diferenciarse en cualquier tipo de célula en el cuerpo humano por lo que se consideran una opción de tratamiento valiosa en todo tipo de medicina regenerativa. Las características de las ESC más relevantes para la medicina clínica incluyen la pluripotencia de la expresión génica, la capacidad de autorrenovación y la alta capacidad proliferativa. Sin embargo, este tipo celular presenta problemas éticos por la utilización de embriones.

Normalmente, las ESC humanas (hESC) se cosechan por primera vez de la masa celular interna de la blástula 4-5 días después de la fertilización, cuando permanece un alto nivel de actividad de la telomerasa y cuando las células mantienen la capacidad de diferenciarse a tejidos de las tres capas germinales. A continuación, las hESC se diferencian en endodermo definitivo (DE) y luego, a través de una cadena endodérmica de intermediarios, estas células se diferencian en células β funcionales. Las células β maduras se definen como aquellas células capaces de secretar niveles adecuados de insulina respondiendo a la estimulación de la glucosa. La producción de insulina se mide por la concentración sérica de péptido C, un subproducto del procesamiento de insulina y por la proinsulina. Esto permite distinguir la insulina endógena de la insulina absorbida del medio de cultivo en las células hESC diferenciadas a células β *in vitro*.

- **Células madre pluripotentes inducidas (iPSC)**

El uso de iPSCs podría acabar con las restricciones éticas de la terapia regenerativa en la diabetes, pero también plantea sus propios desafíos. La producción de iPSCs a partir de fibroblastos humanos fue demostrada por primera vez mediante la transducción retroviral de cuatro factores de transcripción (Oct-3/4, Sox-2, Klf-4 y c-Myc) en un proceso denominado reprogramación directa, que aportaba la pluripotencialidad y, por lo tanto, la capacidad de generar teratomas a los fibroblastos humanos. Sin embargo, investigaciones adicionales,

demonstraron que las iPSCs podían producirse a partir de células somáticas en ausencia de c-Myc, lo que reduce el alto potencial tumorigénico de la reprogramación directa resultante de la integración del genoma y la activación de la oncogénica c-Myc a expensas de la eficiencia de estas iPSCs.

La administración de factor retroviral ha sido tradicionalmente preferida para la generación de iPSCs por su alta eficiencia. Sin embargo, la integración retroviral y la tumorigénesis asociada a factores protooncogénicos limitan la aplicación clínica de este tipo celular.

- **Células madre de la línea germinal**

Los investigadores han explorado la posibilidad de producir células β a partir de células madre derivadas de oogonia y espermatogonia. Actualmente, hay dos métodos dominantes que involucran oogonia. El primero consiste en utilizar el ovocito para transformar un núcleo somático en una célula pluripotente y el segundo método que involucra oogonia requiere la obtención de células madre de la línea germinal femenina (FGSC) de ovarios murinos y la expansión de estas células en cultivo.

Por otro lado, las células madre de espermatogonia (SSC) han demostrado ser más prometedoras. Estas células se encuentran en la membrana basal de los túbulos seminíferos en los testículos, y dentro de este microambiente se diferencian en gametos masculinos maduros.

- **Células madre mesenquimales (MSC)**

Las MSC se pueden obtener de una amplia variedad de tejidos: médula ósea, tejido adiposo, sangre del cordón umbilical, pulpa dental, músculo liso, esquelético y cardíaco, hígado, bazo, testículos, sangre menstrual, páncreas, periostio, membrana sinovial, dermis, pericitos, hueso trabecular, pulmón, placenta, sangre periférica, ligamento periodontal y líquido amniótico. De todas ellas las más relevantes son la médula ósea, el tejido adiposo y la sangre del cordón umbilical. (24)

Además de su multipotencia para diferenciarse en diferentes tejidos, también se han reportado efectos inmunomoduladores de las MSC, favorables en experimentos *in vitro* con cocultivo de células mononucleares de sangre periférica de pacientes diabéticos tipo 1 con MSC y en ensayos clínicos en humanos con pacientes diabéticos. (20)

Varios grupos, como Bassi et al. (25), Gao et al. (26), Zhao et al. (27) y Kono et al. (28), describen los beneficios de la terapia MSC en la DM1 a través de mecanismos inmunomoduladores indirectos que crean un microambiente en el que las células β son capaces de regenerarse y las células TH1 destructivas se suprimen al menos parcialmente. Aunque todos los grupos discutidos en esta revisión informaron una mejoría en la hiperglucemia, ninguno informó niveles de glucosa en sangre dentro del rango normal. Es probable entonces que las MSC representen una terapia que se utilizará junto con otras estrategias de tratamiento para la DM. La fuerte evidencia histológica apoya el hecho de que las MSC indiferenciadas no dan lugar directamente a nuevas células β . Además, los medios libres de células recolectados del sobrenadante del cultivo de MSC *in vitro*, obtuvieron resultados terapéuticos prometedores tras su inyección en ratones diabéticos. Este método, si se optimiza, podría proporcionar una terapia interesante, que, debido a su naturaleza libre de células, evita los problemas de oncogénesis y autoinmunidad. Si se perfeccionaran las técnicas

de recolección, los medios de cultivo de las MSC podrían usarse junto con la terapia estándar para reducir la dependencia de la insulina o junto con el trasplante de células productoras de insulina derivadas de otras fuentes pluripotentes para el tratamiento de la DM. (20)

3. Diferenciación de las células madre

- **Diferenciación de ESC en IPCs**

Se ha desarrollado una variedad de protocolos de diferenciación *in vivo* e *in vitro* para producir islotes pancreáticos funcionales. El proceso de diferenciación está destinado a imitar el desarrollo embriológico del páncreas.

Las técnicas de diferenciación *in vitro* permiten una manipulación más discreta del entorno celular y la exposición al factor transcripcional, pero investigaciones recientes se han centrado en el trasplante de injertos de hESC antes de la diferenciación completa en células β maduras, como el trasplante de progenitores pancreáticos.

Se encontró que el cotrasplante de hESC indiferenciadas con células embrionarias de páncreas dorsal de ratón, da como resultado células humanas productoras de insulina pancreática diferenciadas y funcionales en el 100% de los casos experimentales estudiados en ratones. En contraste, el trasplante de hESCs con tejido hepático embrionario de ratón no mostró ninguna producción de insulina. Esto sugiere que puede haber señales de diferenciación importantes dentro del microambiente pancreático que actualmente no se han descubierto y que desempeñan un papel crucial en el desarrollo del linaje celular y la función de las células β .

Los resultados preliminares para el tratamiento de la DM a través del trasplante de células productoras de insulina derivadas de hESC son prometedores, aunque todavía existen muchos obstáculos para la aplicación clínica. Además, la evaluación de la seguridad es necesaria, ya que cuando se trasplantan células indiferenciadas, existe el riesgo de oncogénesis y específicamente de formación de teratomas, tumores que contienen células de las tres capas germinales. Los estudios han demostrado que la tasa de formación de teratomas está entre el 33-100% dependiendo del sitio de implantación de hESC indiferenciadas en ratones.

Si bien esta podría ser una gran oportunidad para desarrollar un nuevo tratamiento para las enfermedades que involucran una deficiencia celular, aprovechar el poder de las ESC ha demostrado ser realmente difícil debido a la complicada naturaleza de las estrategias de inducción.

- **Diferenciación de iPSC en IPCs**

Recientemente, varios estudios han informado de la generación de células similares a células β a partir de células madre pluripotentes humanas (hPSCs) *in vitro*, incluyendo, células madre pluripotentes inducidas humanas (hiPSCs) de donantes sin diabetes (ND), hiPSCs de donantes con DM1 y fibroblastos de donantes sin diabetes. Estas células pluripotentes pueden ser inducidas a sufrir etapas específicas de diferenciación mediante la exposición de combinaciones definidas de factores de crecimiento, de pequeñas moléculas de crecimiento y de pequeñas moléculas para activar e inhibir las vías de desarrollo pancreático humano. Estudios anteriores demostraron que, tras el trasplante de estas células pluripotenciales en

roedores, una parte de estas células se diferencian espontáneamente en células de tipo β a través de un mecanismo desconocido. En este ensayo se utiliza un producto alogénico macroencapsulado derivado de hESC conocido como VC-01. (18)

Con el fin de prevenir la mutagénesis insercional asociada con la reprogramación directa, se han propuesto varios métodos de reprogramación sin integración. Los plásmidos episomales son un área de estudio actual y se ha demostrado que son capaces de reprogramar de manera confiable los fibroblastos y las células sanguíneas. Los plásmidos tienen el potencial de producir células de calidad clínica al tiempo que generan tasas de aneuploidía más bajas que la transducción retroviral. Sin embargo, otros reactivos, incluido el virus de Sendai basado en ARN (SeV), permiten una integridad genética aún mayor. Los métodos para la reprogramación de SeV son eficientes y altamente confiables, y a diferencia de los vectores retrovirales, SeV se replica fuera del ciclo celular, evitando así la integración en el ADN del huésped. Sin embargo, la transición clínica se complica por la falta de disponibilidad comercial del virus. De los métodos actualmente en uso, la reprogramación de ARN genera la tasa más baja de aneuploidía de iPSC cuando tiene éxito. Desafortunadamente, la reprogramación de ARN frecuentemente sólo produce un número limitado de iPSC exitosas a partir de fibroblastos y es incapaz de producir iPSC a partir de células sanguíneas. La adición de microARN ha demostrado ser prometedora para mejorar los resultados de los métodos de inducción de pluripotencia basados en ARN.

Típicamente, las hPSC se diferencian a través de diferentes etapas que imitan el desarrollo embrionario, como el endodermo definitivo y el intestino anterior posterior secuencialmente para producir progenitores pancreáticos y endocrinos, con la expresión de un conjunto específico de proteínas reguladoras en cada etapa. (23)

La conversión exitosa de células madre en células pancreáticas productoras de insulina maduras se evalúa por la expresión de muchos factores, pero los más importantes son PDX1 y NKX6-1, que son esenciales para la función de las células β maduras. Los intentos de producir células β humanas a partir de iPSC *in vitro* generaron inicialmente células positivas de insulina incapaces de coexpresar NKX6-1 y PDX1. Estas células diferenciadas expresaron insulina, glucagón y somatostatina simultáneamente, y las células polihormonales mostraron una concentración deficiente de insulina intracelular y una pobre secreción de insulina estimulada por la glucosa. El análisis transcripcional reveló que estas células polihormonales tenían un mayor grado de similitud con las células β fetales en comparación con las células β adultas deseadas. Sin embargo, después de la revisión de los métodos y las señales inductivas solubles del protocolo de diferenciación, Pagliuca et al. generaron réplicas monohormonales de células β adultas (29). Las células β derivadas de iPSC (células SC- β) secretaron insulina en proporción similar a las células de los islotes primarios cadavéricos. (24)

Las pruebas previas *in vivo* de células similares a las células β derivadas de iPSC no replicaron la regulación normal de los islotes en cuanto a los niveles de glucosa en sangre. Sin embargo, Pagliuca et al. demostraron que las células SC- β retienen la producción monohormonal de insulina humana después del trasplante en cápsulas renales de ratones inmunocomprometidos (29). A las dos semanas después del trasplante, los receptores de células SC- β exhibieron una secreción de insulina estimulada por glucosa similar a la de los ratones trasplantados con células de islotes pancreáticos humanos. (24)

Aunque se ha demostrado que las células SC- β son capaces de secretar insulina de manera adecuada para controlar la diabetes en roedores inmunocomprometidos, evitar el rechazo inmunológico de las células trasplantadas representa un gran desafío. La mayoría de los injertos son alogénicos, y mientras que las células SC- β se pueden generar a partir de las propias células somáticas de un paciente, las células trasplantadas siguen siendo vulnerables en la DM1 debido a la autoinmunidad. Para aumentar la longevidad de las células trasplantadas, se han utilizado agentes inmunosupresores sistémicos en modelos animales. Sin embargo, las complicaciones de la inmunosupresión a largo plazo, incluida una mayor susceptibilidad al cáncer y las infecciones, niegan los beneficios de las células SC- β e impiden la aplicación clínica rápida.

Una solución propuesta tiene como objetivo implantar células dentro de un sistema de macroencapsulación artificial para aislar las células trasplantadas de las defensas inmunes del huésped al tiempo que permite el intercambio de moléculas pequeñas, incluidas la glucosa y la insulina. Sin embargo, existe la preocupación de que los dispositivos de encapsulación proporcionen un área de superficie insuficientemente extensa para el intercambio de nutrientes y que la propensión del cuerpo a encerrar cuerpos extraños pueda prevenir aún más la supervivencia del injerto a largo plazo. Para combatir estos desafíos, se han ideado sistemas de microencapsulación que modifican el entorno inmune local.

Tomados en conjunto, estos estudios abordan las preocupaciones éticas y de seguridad que rodean la terapia con iPSC, así como su eficacia potencial en el tratamiento de la DM1.

- **Diferenciación de células madre de la línea germinal en IPCs**

En cuanto al primer método de oogonia anteriormente comentado, se demostró que estas ESC de transferencia nuclear (NT-ESC) son células pluripotentes mediante la expresión de marcadores de superficie y genes, y la capacidad de generar tipos celulares de las tres capas germinales. Además, las NT-ESC podrían diferenciarse en células positivas de insulina que secretan insulina cuando se estimulan *in vitro*.

Aunque se han obtenido células pluripotentes utilizando células madre de la línea germinal femenina, se debe explorar la producción de células β funcionales en modelos *in vivo*. Otro obstáculo en este campo que probablemente dificultaría la aplicación clínica es la disponibilidad y el coste de adquisición de ovocitos humanos.

El segundo método que involucra oogonia requiere la obtención de células madre de la línea germinal femenina (FGSC) de ovarios murinos y la expansión de estas células *in vitro*. Las líneas celulares expandidas se cultivan posteriormente en condiciones específicas de ESC para producir células femeninas similares a las ESC (fESLC). La naturaleza similar de estas células a la de las células madre se ha confirmado demostrando su pluripotencia a través de la expresión de marcadores de superficie, factores de transcripción y formación de teratomas. Si esta estrategia tiene lugar en el tratamiento de la DM, serán necesarios más estudios que demuestren la viabilidad del tratamiento utilizando células humanas que pueden ser inducidas para producir insulina.

En cuanto a la transformación de células madre de espermatogonia (SSC) a células similares a ESC, estas células han sido replicadas en humanos, produciendo células madre embrionarias derivadas de testículos humanos (htESLC). Una vez formadas, las htESLC tienen la capacidad de

diferenciarse en cualquier tejido de las tres capas germinales, incluidas las células endodérmicas pancreáticas capaces de producir insulina *in vitro*. Por lo tanto, los htESLC pueden tener el mismo potencial regenerativo que las ESC sin las implicaciones éticas asociadas. Aunque los resultados con htESLC son prometedores, existe controversia en cuanto a si estas células son realmente pluripotentes. Varios grupos han informado de la formación solo de teratomas pequeños tras la implantación de htESLC en ratones inmunocomprometidos, lo que sugiere un menor riesgo potencial de formación de teratomas que en el caso de las ESC y las iPSC. Por lo tanto, como la formación de teratoma es un medio para medir la pluripotencia, se ha cuestionado si los htESLC son realmente pluripotentes debido a su capacidad limitada para hacerlo.

El papel potencial de los htESLC en la terapia de la diabetes aún no se ha explorado muy a fondo. Si bien varios grupos han demostrado la capacidad de los htESLC para formar células productoras de insulina tras la diferenciación *in vitro*, su capacidad para responder al desafío y la viabilidad de la glucosa en un modelo *in vivo* aún no se ha demostrado. Además, dado que los htESLC derivados de pacientes se producen a partir de testículos, solo sería posible producir células de islotes pancreáticos compatibles para pacientes masculinos.

- **Diferenciación de MSC en IPCs (22)**

Las MSC poseen una plasticidad de desarrollo para adoptar un fenotipo endocrino pancreático. Al principio, se insinuó que este era el mecanismo principal por el cual las MSC podrían utilizarse en el tratamiento de la DM. La diferenciación del compartimento endocrino del páncreas está controlada por factores de transcripción clave como Pdx-1, Ngn-3, NeuroD1, Pax4 y Pax6 (20). Los estudios han demostrado que las MSC de varios tejidos y órganos, como la médula ósea, el tejido adiposo y la gelatina de Wharton dentro de los cordones umbilicales, son capaces de diferenciarse en células similares a los islotes pancreáticos o a IPCs funcionales. Las primeras IPCs incompletamente diferenciadas que expresan insulina y nestina se obtuvieron cultivando MSC derivadas de la médula ósea de rata (BM-MSC) en un medio con una alta concentración de glucosa, nicotinamida y beta mercaptoetano. Sin embargo, los estudios comparativos también han demostrado que las MSC derivadas de la gelatina de Wharton (WJ-MSC) son más fáciles de obtener y cultivar, además su potencial de diferenciación hacia una célula β pancreática madura es superior en comparación con las BM-MSC. La mayor expresión de homeobox 1 pancreático y duodenal (Pdx-1), la secreción de insulina y la expresión de ARNm del péptido C en WJ-MSC diferenciadas, en comparación con las BM-MSC, también demuestra propiedades superiores de secreción de insulina.

Algunas pruebas experimentales contrarrestan la eficacia de este mecanismo en la restauración de la funcionalidad de los islotes pancreáticos. Estos estudios postulan que las IPCs diferenciadas no son la fuente de las células β pancreáticas regeneradas. Ianus et al., descubrieron que a pesar de que había una regeneración significativa de células β adultas en ratones diabéticos después del trasplante de BM-MSCs, solo del 1,7 al 3% de las células β regeneradas eran de médula ósea, lo que indica otra fuente de regeneración de estas células β (30); por lo que la reducción de la hiperglucemia y la restauración de la normoglucemia en modelos diabéticos trasplantados por MSC sigue siendo un tema controvertido, ya que no se sabe si se debe a la diferenciación de MSC en IPCs, o al resultado de otros mecanismos completamente distintos y desconocidos. (22)

Además de la diferenciación de IPCs, las MSC también ayudan a regenerar las células β endógenas de los islotes pancreáticos mediante la secreción de varias citoquinas y factores de crecimiento. Ha sido demostrado que la infusión de MSCs produjo una significativa regeneración de células β endógenas en un modelo de rata diabética. Además, la infusión de MSC mejoró significativamente la sensibilidad a la insulina, como lo demuestran las elevaciones en el sustrato 1 del receptor de insulina fosforilado (IRS-1), la proteína quinasa B (Akt) y la GLUT4 dentro de los tejidos diana de la insulina.

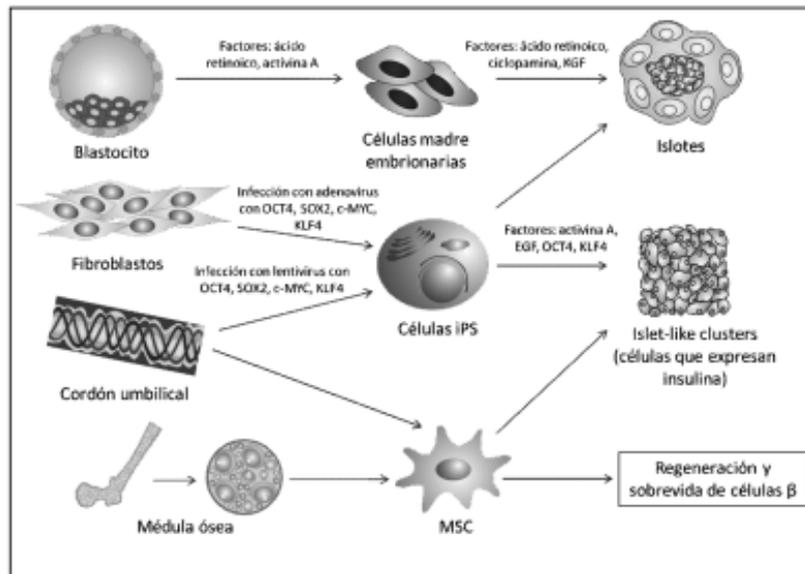


Figura 6. Obtención y diferenciación de células madre para la terapia en DM.

4. Aplicación clínica

- ESC (24)

El endodermo pancreático derivado de ESC humano (hESC) puede ser capaz de madurar hacia células β funcionales *in vivo* y proteger contra la hiperglucemia inducida por estreptozotocina unos meses después de la implantación. Aunque hay varias limitaciones como pueden ser la inducción incompleta del fenotipo secretor de insulina, la detección inadecuada de glucosa, los métodos de diferenciación de baja eficiencia/alto costo para la generación a gran escala y la destrucción alogénica y autoinmune que aparece después del trasplante, es posible que estas puedan superarse, pero el potencial teratogénico / tumorigénico de las hESC sigue siendo una preocupación importante.

Kelly et al. han demostrado la posibilidad de seleccionar células endodérmicas derivadas de ESC utilizando marcadores de superficie celular enriqueciendo la fracción de células endodérmicas pancreáticas utilizando anticuerpos anti-CD142, que tras el trasplante se diferenciaron en todos los linajes pancreáticos, incluidas las células productoras de insulina funcionales (31). Del mismo modo, se ha desarrollado un protocolo de diferenciación de 14 días y cuatro etapas para diferenciar las hESC disponibles comercialmente en una población de células progenitoras pancreáticas Pdx1+ altamente enriquecidas *in vitro*. El trasplante en

ratones diabéticos dio lugar a una maduración funcional y a la restauración de la normogluemia.

Actualmente, se está desarrollando un proceso de fabricación para la generación de progenitores pancreáticos funcionales a partir de hESC en una escala susceptible de entrada clínica. Sin embargo, la necesidad de asegurar la eliminación completa de las células indiferenciadas aún permanece, junto con la posibilidad de que los productos diferenciados puedan volver a un estado pluripotente. Actualmente, se están desarrollando tecnologías como la encapsulación celular que teóricamente podrían permitir que las células productoras de insulina encapsuladas trasplantadas sobrevivan y funcionen sin la necesidad de terapia inmunosupresora crónica y garanticen así la prevención de la diseminación tumoral en caso de que ocurra degeneración maligna.

Es importante tener en cuenta que muchos avances innovadores en el tratamiento de enfermedades previamente consideradas incurables se han dilucidado a través de la investigación con hESC.

- **iPSC (18)**

Con los descubrimientos anteriormente comentados de cómo generar células β funcionales a partir de hPSCs, la atención está puesta actualmente en cómo trasplantar estas células a los pacientes de la mejor forma posible. Existen dos desafíos principales a los que enfrentarse: como fabricar células suficientemente puras y potentes para su uso clínico y como proteger estas células del inmunorrechazo tras el trasplante al paciente. Es por ello, por lo que los científicos del campo de la tecnología de las células madre se han centrado en ello en las últimas décadas. Las principales estrategias para prevenir el inmunorrechazo de los islotes alogénicos de cadáver incluyen la inmunosupresión y la macro o microencapsulación. Otros enfoques para el trasplante de islotes, como la inducción de la tolerancia inmunitaria y la ingeniería genética de las células aún no se han probado en seres humanos, pero puede ofrecer un camino a seguir en el futuro. El posible trasplante de células autólogas puede eliminar este reto de inmunoprotección, pero introduce otros obstáculos únicos.

El trasplante de islotes de cadáver usando inmunosupresores ha sido el enfoque más común y exitoso hasta la fecha. En el 2000, Shapiron et al. generaron un importante entusiasmo al demostrar que la independencia a la insulina fue lograda en 7 pacientes con DM1 mediante el trasplante de islotes combinado con inmunosupresores libres de esteroides (32). En este proceso, los islotes fueron aislados de un páncreas alogénico de cadáver y fueron infundidos en el hígado a través de la vena porta.

Más recientemente, una colaboración multiinstitucional llamada "Collaborative Islet Transplant Registry" ha promovido que los trasplantes de islotes basados en la inmunosupresión pasen a la fase 3 de los ensayos clínicos en EE.UU. Se espera, que estos datos den lugar a la aprobación de una solicitud de licencia biológica que permita ampliar el acceso de los pacientes y el reembolso de esta terapia en los Estados Unidos.

Aunque este enfoque ha proporcionado resultados clínicamente significativos a muchos pacientes con DM1 severa, incluyendo la independencia de la insulina durante más de 6 años en los mejores casos, el objetivo final es proporcionar un reemplazo de células β sin la necesidad de utilizar inmunosupresores de por vida.

Las estrategias de micro y macroencapsulación han proporcionado una barrera física con suficiente permeoselectividad para permitir el intercambio de nutrientes e insulina y al mismo tiempo, evitar que los componentes del sistema inmunitario destruyan los islotes pancreáticos trasplantados. Este enfoque tiene la importante ventaja de que teóricamente puede evitar tanto el rechazo alógeno como el ataque autoinmune. “Living Cell Technologies” y otros, han probado enfoques de microencapsulación basados en alginato en ensayos clínicos con pequeñas cohortes de pacientes con resultados preliminares que sugieren su potencial para la supervivencia y la funcionalidad a largo plazo. Todos estos enfoques se enfrentan a desafíos incluyendo las limitaciones de nutrientes debido a la falta de integración/vascularización del tejido y la posibilidad de fibrosis que recubre el material extraño. Se están desarrollando diseños de dispositivos y materiales innovadores para superar estos obstáculos y permitir el éxito clínico de células β o islotes encapsulados.

Los enfoques biológicos, proporcionan una potente alternativa a las soluciones de ingeniería para prevenir el rechazo alógeno y el ataque autoinmune, pero tienen sus propios retos para la traslación clínica. Los bloqueos de la coestimulación con CTLA4-Ig y anti-CD40L, los cuales son anticuerpos monoclonales, previenen el rechazo de progenitores pancreáticos derivados de hESCs en ratones inmunocompetentes y en ratones humanizados con células mononucleares de sangre periférica. La ingeniería genética de una línea celular universal está siendo liderada por empresas como “Universal Cells” reemplazando el locus del antígeno leucocitario humano (HLA) de clase I por el HLA-E o el HLA-G para imitar la tolerancia del tejido alógeno basada en el embarazo sin desencadenar la destrucción por parte de las células NK y suprimiendo los factores de transcripción necesarios para la expresión del HLA de clase II, aunque todavía no se ha demostrado su eficacia en humanos. Otros enfoques de edición, se han inspirado en el campo del cáncer introduciendo moléculas como PD-L1 y CTLA4, que pueden inducir tolerancia inmunológica. Los retos de estos enfoques incluyen demostrar la efectividad de estas estrategias en modelos animales que predicen de forma pobre los resultados en humanos y establecer la seguridad de una población celular que teóricamente podría albergar virus o tejido maligno de la destrucción inmunitaria. Otra cuestión añadida, trata de que estos modelos, están estudiando el rechazo alógeno y xenogénico y no estudian directamente la autoinmunidad humana. Queda por ver si algún enfoque biológico puede prevenir el rechazo alógeno y xenogénico y además puede prevenir la autoinmunidad.

- **MSC (22)**

Las MSC han sido ampliamente estudiadas por su potencial terapéutico en el tratamiento de la DM1 y la DM2, como resultado de sus capacidades restauradoras endógenas de células β pancreáticas; además de sus propiedades inmunomoduladoras, se ha demostrado que la terapia celular con MSC mejora la hiperglucemia en ensayos con roedores y humanos.

Se han demostrado beneficios cuestionables de la terapia con MSC para el tratamiento de la DM1 a pesar de la capacidad de las MSC para diferenciarse en IPCs e inducir la diferenciación de células Treg (células T reguladoras). Se han mostrado mejoras generales de péptido C, HbA1c y en la dosis diaria de insulina después de la terapia basada en MSC. En DM2 también se han demostrado mejoras después de este tratamiento sobre todo en los requerimientos diarios de insulina de los pacientes.

Las discrepancias en la fuerza y consistencia de los efectos sobre la prueba de glucosa en ayunas y el péptido C resaltan las diferencias potenciales en los mecanismos a través de los cuales las MSC pueden actuar para tratar la DM1 en comparación con la DM2.

A pesar de las mejoras en los biomarcadores diabéticos de ambos tipos, la mayoría de los ensayos clínicos realizados tienen limitaciones similares, ya que estos incluyen tamaños de muestra reducidos, falta de control en algunos casos y métodos inconsistentes en la administración de MSC además de que mucha de las mejoras, volvieron rápidamente al nivel basal y no se mantuvieron longitudinalmente, por lo que es necesario realizar estudios con un número de pacientes más grande y con tiempos de seguimiento más largos.

- **Células madre hematopoyéticas de médula ósea (BM-HSC) (24)**

Couri et al. y Snarski et al. han demostrado el logro de la independencia exógena de la insulina después del trasplante de HSC autólogo no mieloablativo (destrucción células de médula ósea) en pacientes con DM1 de nueva aparición y en adolescentes diabéticos tipo 1 con cetoacidosis diabética en el momento del diagnóstico (33,34). Los niños pequeños generalmente se excluyen en los ensayos clínicos de trasplante de HSC debido a los posibles riesgos para la salud, como la detención o el retraso del crecimiento, las disfunciones endocrinas (por ejemplo, hipogonadismo e hipotiroidismo autoinmune) y la infertilidad potencial, asociada con los regímenes de acondicionamiento.

Aunque las HSC autólogas no parecen diferenciarse en células productoras de insulina, pueden ayudar en la preservación de las células β residuales y promover el aumento de la masa de células β al mejorar la neovascularización, disminuir la apoptosis y/o estimular la proliferación. Pese a que los mecanismos de acción aún no se han aclarado, se ha sugerido un posible logro de tolerancia inmunológica a través del agotamiento clonal, los efectos de las citoquinas y las alteraciones en los repertorios de células inmunes.

Curiosamente, aunque el trasplante alogénico de HSC es capaz de eliminar la insulinitis, aumentar la proliferación residual de células β y revertir la hiperglucemia en ratones diabéticos de nueva aparición, solo se ha observado quimerismo hematopoyético sin enfermedad de injerto contra huésped en animales diabéticos.

Aunque se ha proporcionado una prueba de concepto de que la inmunosupresión en dosis altas junto con el trasplante autólogo de HSC puede actuar sinérgicamente para regular a la baja las células autorreactivas, restablecer el sistema inmunológico a un fenotipo más tolerante y mejorar las redes reguladoras inmunes, presenta varias limitaciones clínicas que dificultan la aplicación generalizada del procedimiento. Estas incluyen, entre otras, el cuestionable potencial de las HSC para diferenciarse directamente *in vivo* en un gran número de células β , los regímenes de acondicionamiento potencialmente dañinos utilizados, una efectividad restringida a la etapa de inicio temprano y recién diagnosticada de la enfermedad antes de la destrucción completa del compartimiento de células β , un procedimiento de alto coste, intensivo en mano de obra y complejo, realizado en instalaciones especializadas de trasplante de médula ósea, la posibilidad de complicaciones potencialmente mortales y mayores tasas de reactivación de la enfermedad.

En conjunto, aunque persisten varios desafíos, el establecimiento de un quimerismo mixto duradero proporcionado por el trasplante autólogo no mieloablativo de HSC en combinación

con terapias inmunomoduladoras y regenerativas de células β puede eventualmente resultar ser un enfoque importante para detener el proceso autoinmune e inducir tolerancia permanente.

5. Futuras perspectivas

Es de esperar, que la terapia celular se convierta en realidad en los próximos años para el tratamiento de la DM incrementando el número de pacientes con gran potencial de mejorar en gran medida su salud y su calidad de vida. Gracias a los nuevos descubrimientos, un gran número de vías se han abierto para lograr este objetivo. La tecnología actual de células madre, por el momento, permite generar células β a partir de hiPSC derivadas de pacientes con diabetes, abriendo la posibilidad de realizar terapias celulares autólogas. Este enfoque, proporciona la primera vía de acceso a la clínica de una terapia celular que no requiere inmunosupresión sistémica o el desarrollo de un dispositivo de encapsulación inmunoprotector eficaz. El desarrollo futuro de protocolos robustos de hiPSC y de células β ; y el establecimiento de métodos eficientes de fabricación y ensayos de células de grado clínico serán los siguientes pasos a seguir. Sin embargo, si estos desafíos pueden ser abordados, las células β derivadas de células ihPSC autólogas pueden proporcionar una prueba fundamental en humanos ya que las células β derivadas de células madre pueden ser una opción de tratamiento para los pacientes con DM. (18)

En cuanto a las MSC, los resultados obtenidos, tanto en ensayos *in vitro* como *in vivo*, han permitido definir las como un medicamento destinado a terapia celular. Del mismo modo, se han fijado los criterios necesarios para su fabricación como producto terapéutico, con el fin de asegurar la calidad del mismo durante este proceso. Este exhaustivo control es importante para mantener inalterable el potencial reparativo de las MSC, cuya eficacia radica en los efectos paracrinos, inmunomoduladores y regeneradores sobre el tejido dañado. Es por todo ello, por lo que las MSC se presentan a día de hoy como una gran alternativa terapéutica para tratar múltiples trastornos como son las enfermedades de origen inmune, degenerativo o traumático. Sin embargo, y a pesar de su seguridad, aún son muchos los diferentes obstáculos que se han de salvar a la hora de utilizar estos tipos celulares como medicamento en terapia celular, debiendo estudiar con mayor profundidad su aplicabilidad, naturaleza y regulación a través de nichos o microambientes, ya que su funcionabilidad puede variar dependiendo de la interacción directa con otras células o de la liberación de factores solubles específicos de cada microambiente. Por todo esto, es importante estudiar el comportamiento de las distintas poblaciones de MSC con relación a nichos particulares y no generalizar su uso terapéutico. (23)

DISCUSIÓN

Como hemos comentado anteriormente en este trabajo, la DM es una enfermedad que afecta a millones de personas alrededor de todo el mundo y que va a aumentar de forma preocupante en los próximos años. El tratamiento principal de la DM actualmente es la administración de insulina exógena, con el único fin de controlar la glucemia. Este control debe de ser diario y de forma crónica, por lo que puede ser complicado para el paciente llevar un control estricto de ello. Por ello, se deben buscar tratamientos alternativos que, en vez de controlar la glucemia, curen la enfermedad por completo o que al menos, disminuyan ese control tan estricto. El trasplante de páncreas y de islotes pancreáticos, es una estrategia prometedora, pero tiene diversas complicaciones, ya que el número de donantes es escaso, hay posibilidad de que haya un inmunorrechazo al trasplante, etc. Es por esto, por lo que los ensayos actuales, se centran en la terapia celular como tratamiento para la DM. Si miramos en ClinicalTrials.gov, la cual es una página web desarrollada por U.S. National Institutes of Health (NIH) (instituto nacional de salud de EEUU), que ofrece regularmente información actualizada sobre ensayos clínicos y que su base de datos la forman más de 96700 estudios de 174 países, actualmente hay 133 estudios registrados que utilizan la terapia celular para el tratamiento de la DM y de estos 63 estudios utilizan células madre para el tratamiento de la DM.

Como hemos visto, existe una amplia diversidad de células madre distintas, que se pueden obtener a partir de diferentes tejidos fuente y mediante diferentes mecanismos y además, cada tipo presenta sus propios beneficios e inconvenientes a la hora de llevarlas a la aplicación clínica.

Las **MSC**, se pueden obtener en una muy amplia variedad de tejidos adultos, destacando la médula ósea, el tejido adiposo y la sangre del cordón umbilical, por lo que no presentan el problema ético que tienen las ESC ya que estas últimas precisan de un embrión para su obtención. Las **iPSCs** tampoco tendrían este problema ético, ya que se obtienen a partir de fibroblastos humanos maduros, aunque, sin embargo, la pluripotencialidad de este tipo celular hace que su aplicación clínica sea limitada debido a la integración retroviral y la tumorigénesis asociada a los factores protooncogénicos. **Las células madre de la línea germinal**, también tienen limitada la aplicación clínica, ya que, en el caso de la oogonia, los ovocitos humanos tienen una baja disponibilidad y un alto coste de adquisición. En el caso de la espermatogonia, no tiene los problemas asociados a la oogenia, pero dado que estas células sólo se producen a partir de testículos, solo serían compatibles para pacientes masculinos.

En cuanto a la diferenciación de las IPCs, se ha demostrado que las ESC pueden ser capaces de madurar hacia células β funcionales tanto *in vitro* como *in vivo*, pero hay varias limitaciones, que se pueden superar mayormente, excepto el potencial tumorigénico, el cual sigue siendo una de las preocupaciones más importantes. Por esto se están desarrollando técnicas como la encapsulación celular que mantiene la viabilidad celular y su funcionalidad sin utilizar inmunosupresores y, además, previene la diseminación tumoral.

En el caso de las iPSC, el principal desafío está en cómo trasplantar estas células al paciente de la mejor forma posible, evitando el inmunorrechazo. Como en el caso anterior, las principales estrategias incluyen la inmunosupresión y la macro o microencapsulación, aunque también está en el aire el uso de células autólogas. Varios ensayos y colaboraciones han proporcionado resultados significativos con este tipo celular, cuyo objetivo final es proporcionar el reemplazo

de las células β sin la necesidad de utilizar inmunosupresores de forma crónica. Debido a su escasa disponibilidad, falta de controversia ética y capacidad para diferenciarse en réplicas funcionales de células β *in vivo*, representan los avances más lejanos en la medicina regenerativa relacionada con la DM hasta la fecha.

Por otro lado, las MSC, tienen un gran potencial terapéutico en el tratamiento de la DM, ya que se han mostrado mejoras con su uso, tanto en el péptido C, la HbA1c y en los requerimientos diarios de insulina de los pacientes a estudio. Este tratamiento ha resultado ser más efectivo en los pacientes con DM1 que en los pacientes con DM2, aunque hace falta realizar estudios con un número de muestra mayor y tiempos de seguimiento más largos.

Por último, el trasplante de HSC, ha demostrado ser eficaz para lograr la independencia exógena de la insulina en pacientes con DM1 de nueva aparición, aunque estas tienen varias limitaciones clínicas como pueden ser, el cuestionable potencial de estas células para diferenciarse *in vivo* en un gran número de células β , un alto coste, complicaciones potencialmente mortales, mayores tasas de reactivación de la enfermedad, etc.

La terapia con células madre podría ser una intervención segura y efectiva para individuos seleccionados con DM, aunque a día de hoy, existen una gran cantidad de limitaciones. Las células pluripotentes derivadas de ESCs y células madre de la línea germinal tienen un papel potencial en la terapia de la DM, pero tienen barreras notables. Si bien investigaciones recientes muestran que las ESC pueden ser inducidas a convertirse en células β sensibles a la glucosa, la disponibilidad de ESC y las preocupaciones éticas que rodean este tipo celular representan un obstáculo significativo. Por todo ello, la mejor opción terapéutica para el tratamiento de la DM, es el uso de MSC. Sin embargo, para hacer de las nuevas estrategias basadas en la terapia celular una realidad clínica, es fundamentalmente necesario identificar tejidos fuentes de MSC que no provoquen ningún conflicto ético. Además, se debe identificar la vía ideal de administración de células madre, ya sean dirigidas o periféricas. Las MSC son las células madre más fáciles de obtener debido a la gran cantidad de tejidos en los que se pueden encontrar y la capacidad de adherencia al plástico en condiciones estándar de cultivo *in vitro*, lo que facilita su obtención y expansión. Por otro lado, las MSC son las células más seguras y las que mejor potencial terapéutico tienen tanto en ensayos *in vivo* como *in vitro*, aunque como hemos comentado anteriormente, todavía hay que superar muchos obstáculos, para que, en un futuro cercano, esto se haga realidad. Del mismo modo, se han fijado los criterios necesarios para su fabricación como producto terapéutico, con el fin de asegurar la calidad del mismo durante dicho proceso. Este control tan exhaustivo es importante para mantener inalterable el potencial reparativo de las MSC, cuya eficacia radica en los efectos paracrinos, inmunomoduladores y regeneradores sobre el tejido dañado.

CONCLUSIONES

Una vez realizada la revisión sobre los distintos tratamientos en terapia celular aplicados a la DM, se concluye:

1. El trasplante de células madre puede ser un enfoque seguro y efectivo para el tratamiento de la DM.
2. La terapia con MSC es la más prometedora para el tratamiento de la DM, sin embargo, para que sea una realidad clínica es fundamental identificar tejidos fuente que no generen conflictos éticos.
3. La mayoría de los ensayos clínicos realizados tienen limitaciones similares: tamaños de muestra reducidos, falta de control y métodos inconsistentes en la administración de MSC. Además, muchos de los resultados obtenidos, volvieron rápidamente al nivel basal y no se mantuvieron longitudinalmente, por lo que es necesario realizar estudios ampliando el número de pacientes y el tiempo de seguimiento.
4. Las terapias con iPSC, debido a su escasa disponibilidad, falta de controversia ética y capacidad para diferenciarse en réplicas funcionales de células β *in vivo*, representan los avances más lejanos en la medicina regenerativa relacionada con la DM hasta la fecha.
5. Con los descubrimientos de cómo generar células β funcionales a través de células madre, actualmente, la atención está centrada en encontrar la mejor manera de trasplantar estas células a los pacientes, en donde hay dos objetivos principales: cómo fabricar células suficientemente puras y potentes para su uso clínico y cómo proteger las células del inmunorrechazo tras el trasplante en un paciente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Diabetes - Federación Española de Diabetes FEDE. (2021). Fedesp <https://fedesp.es/diabetes/>
2. Diabetes. (2021, 10 noviembre). WHO. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>
3. IDF Diabetes Atlas 10th Edition. (2021). International Diabetes Federation. <https://diabetesatlas.org/data/en/>
4. Salguero, C. (2016) *TERAPIA CELULAR DE LA DIABETES MELLITUS: Optimización de los Procedimientos de Diferenciación e Inducción de Tolerancia* (Tesis de doctorado, Universidad Pablo de Olavide, Sevilla). <https://digital.csic.es/handle/10261/166159>
5. Classification and Diagnosis of Diabetes Mellitus and Other Categories of Glucose Intolerance. (1979). *Diabetes*, 28(12), 1039–1057. <https://doi.org/10.2337/diab.28.12.1039>
6. Maturity-onset diabetes of the young: MedlinePlus Genetics. (2020). MedlinePlus. <https://medlineplus.gov/genetics/condition/maturity-onset-diabetes-of-the-young/#uses>
7. Standards of Medical Care in Diabetes—2014. (2013). *Diabetes Care*, 37(Supplement_1), S14-S80. <https://doi.org/10.2337/dc14-s014>
8. Lozano, J. A. (2006, 1 noviembre). *Diabetes mellitus | Offarm. elsevier*. <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-diabetes-mellitus-13095504>
9. González, O. R. (2012). Manejo nutricional en la diabetes mellitus tipo 2 y obesidad. *Revista Médica MD*, 4(1). <https://revistamedicamd.com/cnt/Articulos%20de%20revision/Manejo-nutricional-en-la-diabetes-mellitus-tipo-2-y-obesidad-Nutritional-management-in-type-2-diabetes-mellitus-and-obesity-Unidad-de->
10. Riobo, P. (2018). PAUTAS DIETÉTICAS EN LA DIABETES Y EN LA OBESIDAD. *Nutrición Hospitalaria*, 35(4). <https://doi.org/10.20960/nh.2135>
11. Román, L. D. D. A., Guerrero, B. D., & Luna, G. P. P. (2010). *Dietoterapia, nutrición clínica y metabolismo* (1.a ed.). Ediciones Diaz de Santos.
12. Serna, L. V. (2020). MANEJO NUTRICIONAL DE LAS MADRES CON DIABETES GESTACIONAL. <https://hdl.handle.net/20.500.13064/937>
13. Recomendaciones nutricionales. (2020). Sanoficonladiabetes. <https://www.sanoficonladiabetes.es/dam/jcr:1080adda-1222-4630-85c9-5e985eb84d94/Recomendaciones%20nutricionales.pdf>

14. Prósper, F., Gavira, J. J., Herreros, J., Rábago, G., Luquin, R., Moreno, J., Robles, J. E., & Redondo, P. (2006). Trasplante celular y terapia regenerativa con células madre. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 29. <https://doi.org/10.4321/s1137-66272006000400018>
15. Kolios, G., & Moodley, Y. (2013). Introduction to Stem Cells and Regenerative Medicine. *Respiration*, 85(1), 3–10. <https://doi.org/10.1159/000345615>
16. Ilic, D., & Polak, J. M. (2011). Stem cells in regenerative medicine: introduction. *British Medical Bulletin*, 98(1), 117–126. <https://doi.org/10.1093/bmb/ldr012>
17. Dominguez, L. M., Fiore, E. J., & Mazzolini, G. D. (2020). CÉLULAS MADRE/ESTROMALES MESENQUIMALES. SU POTENCIAL TERAPÉUTICO EN MEDICINA. *Medicina Buenos Aires*, 80.
18. Millman, J. R., & Pagliuca, F. W. (2017). Autologous Pluripotent Stem Cell–Derived β -Like Cells for Diabetes Cellular Therapy. *Diabetes*, 66(5), 1111–1120. <https://doi.org/10.2337/db16-1406>
19. Chen, S., Du, K., & Zou, C. (2020). Current progress in stem cell therapy for type 1 diabetes mellitus. *Stem Cell Research & Therapy*, 11(1). <https://doi.org/10.1186/s13287-020-01793-6>
20. Lilly, M. A., Davis, M. F., Fabie, J. E., Terhune, E. B., & Gallicano, G. I. (2016). Current stem cell based therapies in diabetes. *American journal of stem cells*, 5(3), 87–98.
21. Zhang, Y., Chen, W., Feng, B., & Cao, H. (2020). The Clinical Efficacy and Safety of Stem Cell Therapy for Diabetes Mellitus: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Aging and disease*, 11(1), 141–153. <https://doi.org/10.14336/AD.2019.0421>
22. Cho, J., D'Antuono, M., Glicksman, M., Wang, J., & Jonklaas, J. (2018). A review of clinical trials: mesenchymal stem cell transplant therapy in type 1 and type 2 diabetes mellitus. *American journal of stem cells*, 7(4), 82–93.
23. Guadix, J. A., Zugaza, J. L., & Gálvez-Martín, P. (2017). Características, aplicaciones y perspectivas de las células madre mesenquimales en terapia celular. *Medicina Clínica*, 148(9), 408–414. <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2016.11.033>
24. Chhabra, P., & Brayman, K. L. (2013). Stem cell therapy to cure type 1 diabetes: from hype to hope. *Stem cells translational medicine*, 2(5), 328–336. <https://doi.org/10.5966/sctm.2012-0116>
25. Bassi, N. J., Moraes-Vieira, P. M., Moreira-Sá, C. S., Almeida, D. C., Vieira, L. M., Cunha, C. S., Hiyane, M. I., Basso, A. S., Pacheco-Silva, A., & Câmara, N. O. (2012). Immune Regulatory Properties of Allogeneic Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells in the Treatment of Experimental Autoimmune Diabetes. *Diabetes*, 61(10), 2534–2545. <https://doi.org/10.2337/db11-0844>
26. Gao, X., Song, L., Shen, K., Wang, H., Qian, M., Niu, W., & Qin, X. (2014). Bone marrow mesenchymal stem cells promote the repair of islets from diabetic mice through

- paracrine actions. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 388(1–2), 41–50.
<https://doi.org/10.1016/j.mce.2014.03.004>
27. Zhao, Y., Jiang, Z., Zhao, T., Ye, M., Hu, C., Yin, Z., Li, H., Zhang, Y., Diao, Y., Li, Y., Chen, Y., Sun, X., Fisk, M. B., Skidgel, R., Holterman, M., Prabhakar, B., & Mazzone, T. (2012). Reversal of type 1 diabetes via islet β cell regeneration following immune modulation by cord blood-derived multipotent stem cells. *BMC Medicine*, 10(1).
<https://doi.org/10.1186/1741-7015-10-3>
28. Kono, T. M., Sims, E. K., Moss, D. R., Yamamoto, W., Ahn, G., Diamond, J., Tong, X., Day, K. H., Territo, P. R., Hanenberg, H., Traktuev, D. O., March, K. L., & Evans-Molina, C. (2014). Human Adipose-Derived Stromal/Stem Cells Protect Against STZ-Induced Hyperglycemia: Analysis of hASC-Derived Paracrine Effectors. *Stem Cells*, 32(7), 1831–1842. <https://doi.org/10.1002/stem.1676>
29. Pagliuca, F., Millman, J., Gürtler, M., Segel, M., Van Dervort, A., Ryu, J., Peterson, Q., Greiner, D., & Melton, D. (2014). Generation of Functional Human Pancreatic β Cells In Vitro. *Cell*, 159(2), 428–439. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.09.040>
30. Janus, A., Holz, G. G., Theise, N. D., & Hussain, M. A. (2003). In vivo derivation of glucose-competent pancreatic endocrine cells from bone marrow without evidence of cell fusion. *The Journal of clinical investigation*, 111(6), 843–850.
<https://doi.org/10.1172/JCI16502>
31. Kelly, O. G., Chan, M. Y., Martinson, L. A., Kadoya, K., Ostertag, T. M., Ross, K. G., Richardson, M., Carpenter, M. K., D'Amour, K. A., Kroon, E., Moorman, M., Baetge, E. E., & Bang, A. G. (2011). Cell-surface markers for the isolation of pancreatic cell types derived from human embryonic stem cells. *Nature biotechnology*, 29(8), 750–756.
<https://doi.org/10.1038/nbt.1931>
32. Shapiro, A. M., Lakey, J. R., Ryan, E. A., Korbitt, G. S., Toth, E., Warnock, G. L., Kneteman, N. M., & Rajotte, R. V. (2000). Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen. *The New England journal of medicine*, 343(4), 230–238.
<https://doi.org/10.1056/NEJM200007273430401>
33. Couri, C. E., Oliveira, M. C., Stracieri, A. B., Moraes, D. A., Pieroni, F., Barros, G. M., Madeira, M. I., Malmegrim, K. C., Foss-Freitas, M. C., Simões, B. P., Martinez, E. Z., Foss, M. C., Burt, R. K., & Voltarelli, J. C. (2009). C-peptide levels and insulin independence following autologous nonmyeloablative hematopoietic stem cell transplantation in newly diagnosed type 1 diabetes mellitus. *JAMA*, 301(15), 1573–1579.
<https://doi.org/10.1001/jama.2009.470>
34. Snarski, E., Milczarczyk, A., Torosian, T., Paluszewska, M., Urbanowska, E., Król, M., Boguradzki, P., Jedyński, K., Franek, E., & Wiktor-Jedrzejczak, W. (2011). Independence of exogenous insulin following immunoablation and stem cell reconstitution in newly diagnosed diabetes type I. *Bone marrow transplantation*, 46(4), 562–566.
<https://doi.org/10.1038/bmt.2010.147>