

V CONGRESO DE ESTUDIANTES DE LA UPV/EHU

MI TRABAJO FIN DE GRADO SIRVE PARA TRANSFORMAR EL MUNDO

2022

Título del Trabajo Fin de Grado (TFG)

Vesículas extracelulares derivadas de células madre mesenquimales modificadas genéticamente como sistema de vehiculización de eritropoyetina

Autor/a

Zuriñe Eraña Pérez

Grado

Grado en Farmacia

Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) a los que contribuye

3. Salud y bienestar,
5. Igualdad de género

Resumen

Las vesículas extracelulares (EVs) son nanopartículas derivadas de la membrana celular con un gran potencial para la vehiculización de fármacos, debido a sus propiedades innatas de vectorización, su capacidad para penetrar las barreras biológicas y su elevada biocompatibilidad con el organismo. Uno de los métodos que se plantean para cargar fármacos en su interior se basa en aprovechar su ruta de biogénesis modificando las células parentales genéticamente para que sobreexpresen moléculas que tengan propiedades terapéuticas. De esta forma, las células liberan las EVs al espacio extracelular cargadas con la molécula activa de interés. Para estudiar más en detalle la eficacia de encapsulación de este método, en el presente Trabajo Fin de Grado (TFG) experimental se emplearon células madre mesenquimales (MSCs) modificadas genéticamente para que sobreexpresaran eritropoyetina (EPO). La EPO es una hormona ampliamente utilizada para tratar la anemia renal, sin embargo, actualmente, su empleo terapéutico está asociado a un incremento en el riesgo de la morbimortalidad cardiovascular. Ante esta situación, las EVs derivadas de MSCs (MSC-EVs) podrían ser una opción muy adecuada para vehiculizar la EPO, ya que está demostrado que mantienen las propiedades regenerativas y antiinflamatorias derivadas de sus células parentales. Para realizar los experimentos, en primer lugar, las MSC-EVs se aislaron en dos fracciones distintas, sEVs y m-IEVs, mediante ultracentrifugación diferencial. A continuación, se caracterizaron siguiendo las recomendaciones de la Sociedad Internacional de Vesículas

Extracelulares: evaluación mediante NTA (Nanoparticle tracking análisis) para conocer su distribución de tamaños y su concentración, y análisis de citometría de flujo para examinar los marcadores que presentan en su superficie. Finalmente, se cuantificó la EPO presente en su interior mediante ELISA para analizar cuál es la ruta de biogénesis a través de la cual se carga mayor cantidad de EPO en las MSC-EVs. Los resultados obtenidos indican que la mayoría de las MSC-EVs aisladas presentaron tamaños comprendidos entre 100 y 300 nm, obteniendo poblaciones más homogéneas para las sEVs que para las m-IEVs. Asimismo, todas las MSC-EVs analizadas expresaron las tetraspaninas CD9, C63 y CD81, y los marcadores mesenquimales CD29, CD44 y CD49e en su superficie. De esta forma, se pudo confirmar la naturaleza vesicular de las partículas presentes en las muestras y su origen celular. Con respecto a los resultados del ELISA, solo se detectó EPO en el interior de las m-IEVs. Por tanto, nuestros resultados sugieren que esta proteína se acumula, principalmente, en MSC-EVs formadas por evaginación directa de la membrana celular. Además, estos resultados incentivan el desarrollo de nuevos estudios en EVs, como sistemas de vehiculización de nueva generación. El presente TFG se alinea con los objetivos globales propuestos en la Agenda 2030, que buscan favorecer el desarrollo humano mediante acciones sostenibles. En concreto, en base a sus líneas estratégicas, este TFG se engloba dentro del ODS 3, referido a la Salud y Bienestar, ya que evidencia la importancia de aumentar las inversiones en investigación e innovación y, por tanto, contribuye a impulsar el I+D+i. La investigación es imprescindible para desarrollar nuevos conocimientos y capacidades, y así, avanzar en el ámbito de la salud. Uno de los sectores más comprometidos con la inversión en I+D+i es el sector farmacéutico, cuyos esfuerzos en torno al desarrollo de nuevos medicamentos han contribuido, considerablemente, a la mejora de la esperanza de vida, el estado de salud y, en general, al bienestar social. Además, los medicamentos permiten optimizar los recursos sanitarios, en la medida que consiguen prevenir o tratar diversas enfermedades y, por tanto, evitan hospitalizaciones, pruebas diagnósticas y consultas médicas, facilitando la gestión de los servicios asistenciales. Así pues, las innovaciones terapéuticas también aportan numerosos beneficios económicos a la sociedad. En este contexto, me gustaría destacar la importancia de la innovación incremental, que consiste en mejorar los fármacos ya existentes, con el objetivo de responder a las necesidades y a las demandas tanto de los pacientes como de los médicos. Se trata de realizar variaciones en la formulación de los principios activos que generan numerosas ventajas, como una mayor rapidez de acción, duración de los efectos terapéuticos, facilidad de uso y adherencia del paciente al tratamiento. De hecho, este último es uno de los principales problemas del sistema sanitario. En los países desarrollados, se estima que la adherencia a los tratamientos crónicos es de, aproximadamente, el 50%. En los países en vías de desarrollo esta cifra es aún menor, lo que ha llevado a la Organización Mundial de la Salud (OMS) a definir la falta de adherencia como un problema mundial de gran trascendencia. Asimismo, la innovación incremental contempla el desarrollo de nuevas vías de administración de los medicamentos y mejoras en su eficacia y seguridad, evitando complicaciones futuras y posibles hospitalizaciones. En definitiva, todos estos avances mejoran la calidad de vida de los pacientes. Las investigaciones en el campo de la tecnología farmacéutica han contribuido de forma decisiva a la innovación incremental de numerosos fármacos, ya que han permitido el empleo de nanopartículas como sistemas de vehiculización

de moléculas activas terapéuticamente. Estos sistemas aumentan la biodisponibilidad de los fármacos en sus órganos diana y, por tanto, disminuyen los efectos adversos debidos a la acumulación de fármacos en otros órganos. En este sentido, las vesículas extracelulares (EVs), han demostrado tener una gran capacidad para vehiculizar fármacos con un alto grado de bioseguridad. Mediante las EVs se puede lograr mejorar la eficacia de los fármacos, a la vez que se reducen los efectos secundarios asociados a algunas de las terapias actuales. De esta forma, se mejora el cumplimiento terapéutico y la calidad de vida de los pacientes. En el presente TFG experimental, se estudia si la modificación genética de células parentales puede ser una manera eficiente para cargar proteínas con propiedades terapéuticas en el interior de las EVs. Para ello, se emplea la eritropoyetina (EPO) como fármaco modelo, que es una hormona utilizada en el tratamiento de la anemia renal. Actualmente, el empleo terapéutico de la EPO presenta algunos inconvenientes. Por un lado, su uso está asociado a un incremento en el riesgo de la morbilidad cardiovascular. Las patologías cardiovasculares son responsables de la mitad de los fallecimientos en Europa y la primera causa de muerte en España, lo que justifica la necesidad de investigar en fármacos que reduzcan estas tasas. Por otro lado, algunos pacientes presentan resistencia a la acción de la EPO, lo que conlleva la necesidad de aumentar la dosis, con el consiguiente aumento de los efectos adversos. Con todo, las limitaciones de los tratamientos actuales dejan en evidencia la necesidad de desarrollar nuevas terapias que garanticen la corrección de la anemia en un mayor porcentaje de pacientes con un mejor perfil de seguridad. Para ello, es indispensable fomentar la investigación y la inversión en I+D+i. Los resultados expuestos en este trabajo incentivan el desarrollo de nuevas investigaciones en EVs, ya que pueden ser una herramienta terapéutica muy poderosa para promover el bienestar de todas las personas a todas las edades. Aparte de la clara contribución de este TFG al ODS 3, me gustaría remarcar el valor personal que tiene como vía para la consecución del ODS 5, referido a la Igualdad de Género. Este proyecto ha sido clave en mi decisión de iniciar una carrera investigadora y, con él, me gustaría potenciar la presencia de las mujeres en la ciencia. De acuerdo al informe 'Científicas en Cifras 2021' publicado por el Ministerio de Ciencia e Innovación, a pesar de que ha habido un gran avance en las políticas de igualdad en I+D+i en España, todavía persisten numerosas brechas de género en el ámbito de la ciencia. Actualmente, las mujeres representan el 41% del personal investigador de España, sin embargo, solo hay un 23% en puestos de rectoras y directoras de institutos de investigación. También se observan tasas de éxito inferiores para las mujeres que para los hombres. Las desigualdades en el desarrollo de la carrera investigadora y en el acceso a puestos de responsabilidad justifican la necesidad de implementar medidas de igualdad tanto en el sistema científico, como en los demás ámbitos de la vida política, económica y pública. Mediante mi TFG quiero reivindicar la importancia de fomentar la vocación científica entre las jóvenes y apoyar el talento femenino en la investigación para poner fin al Techo de Cristal. Asimismo, me gustaría que sirviese de herramienta para empoderar a todas las mujeres y las niñas, acabar con la discriminación y lograr la igualdad de género. Fuentes: Weber (2021). El valor del medicamento desde una perspectiva social 2021. Madrid, España: Fundación Weber. Unidad Mujeres y Ciencia (2021). Científicas en Cifras 2021. Madrid, España: Ministerio de Ciencia e Innovación.

Contribución a los ODS de la Agenda 2030

El presente TFG se alinea con los objetivos globales propuestos en la Agenda 2030, que buscan favorecer el desarrollo humano mediante acciones sostenibles. En concreto, en base a sus líneas estratégicas, este TFG se engloba dentro del ODS 3, referido a la Salud y Bienestar, ya que evidencia la importancia de aumentar las inversiones en investigación e innovación y, por tanto, contribuye a impulsar el I+D+i. La investigación es imprescindible para desarrollar nuevos conocimientos y capacidades, y así, avanzar en el ámbito de la salud. Uno de los sectores más comprometidos con la inversión en I+D+i es el sector farmacéutico, cuyos esfuerzos en torno al desarrollo de nuevos medicamentos han contribuido, considerablemente, a la mejora de la esperanza de vida, el estado de salud y, en general, al bienestar social. Además, los medicamentos permiten optimizar los recursos sanitarios, en la medida que consiguen prevenir o tratar diversas enfermedades y, por tanto, evitan hospitalizaciones, pruebas diagnósticas y consultas médicas, facilitando la gestión de los servicios asistenciales. Así pues, las innovaciones terapéuticas también aportan numerosos beneficios económicos a la sociedad. En este contexto, me gustaría destacar la importancia de la innovación incremental, que consiste en mejorar los fármacos ya existentes, con el objetivo de responder a las necesidades y a las demandas tanto de los pacientes como de los médicos. Se trata de realizar variaciones en la formulación de los principios activos que generan numerosas ventajas, como una mayor rapidez de acción, duración de los efectos terapéuticos, facilidad de uso y adherencia del paciente al tratamiento. De hecho, este último es uno de los principales problemas del sistema sanitario. En los países desarrollados, se estima que la adherencia a los tratamientos crónicos es de, aproximadamente, el 50%. En los países en vías de desarrollo esta cifra es aún menor, lo que ha llevado a la Organización Mundial de la Salud (OMS) a definir la falta de adherencia como un problema mundial de gran trascendencia. Asimismo, la innovación incremental contempla el desarrollo de nuevas vías de administración de los medicamentos y mejoras en su eficacia y seguridad, evitando complicaciones futuras y posibles hospitalizaciones. En definitiva, todos estos avances mejoran la calidad de vida de los pacientes. Las investigaciones en el campo de la tecnología farmacéutica han contribuido de forma decisiva a la innovación incremental de numerosos fármacos, ya que han permitido el empleo de nanopartículas como sistemas de vehiculización de moléculas activas terapéuticamente. Estos sistemas aumentan la biodisponibilidad de los fármacos en sus órganos diana y, por tanto, disminuyen los efectos adversos debidos a la acumulación de fármacos en otros órganos. En este sentido, las vesículas extracelulares (EVs), han demostrado tener una gran capacidad para vehiculizar fármacos con un alto grado de bioseguridad. Mediante las EVs se puede lograr mejorar la eficacia de los fármacos, a la vez que se reducen los efectos secundarios asociados a algunas de las terapias actuales. De esta forma, se mejora el cumplimiento terapéutico y la calidad de vida de los pacientes. En el presente TFG experimental, se estudia si la modificación genética de células parentales puede ser una manera eficiente para cargar proteínas con propiedades terapéuticas en el interior de las EVs. Para ello, se emplea la eritropoyetina (EPO) como fármaco modelo, que es una hormona utilizada en el tratamiento de la anemia renal. Actualmente, el empleo terapéutico

de la EPO presenta algunos inconvenientes. Por un lado, su uso está asociado a un incremento en el riesgo de la morbilidad cardiovascular. Las patologías cardiovasculares son responsables de la mitad de los fallecimientos en Europa y la primera causa de muerte en España, lo que justifica la necesidad de investigar en fármacos que reduzcan estas tasas. Por otro lado, algunos pacientes presentan resistencia a la acción de la EPO, lo que conlleva la necesidad de aumentar la dosis, con el consiguiente aumento de los efectos adversos. Con todo, las limitaciones de los tratamientos actuales dejan en evidencia la necesidad de desarrollar nuevas terapias que garanticen la corrección de la anemia en un mayor porcentaje de pacientes con un mejor perfil de seguridad. Para ello, es indispensable fomentar la investigación y la inversión en I+D+i. Los resultados expuestos en este trabajo incentivan el desarrollo de nuevas investigaciones en EVs, ya que pueden ser una herramienta terapéutica muy poderosa para promover el bienestar de todas las personas a todas las edades. Aparte de la clara contribución de este TFG al ODS 3, me gustaría remarcar el valor personal que tiene como vía para la consecución del ODS 5, referido a la Igualdad de Género. Este proyecto ha sido clave en mi decisión de iniciar una carrera investigadora y, con él, me gustaría potenciar la presencia de las mujeres en la ciencia. De acuerdo al informe 'Científicas en Cifras 2021' publicado por el Ministerio de Ciencia e Innovación, a pesar de que ha habido un gran avance en las políticas de igualdad en I+D+i en España, todavía persisten numerosas brechas de género en el ámbito de la ciencia. Actualmente, las mujeres representan el 41% del personal investigador de España, sin embargo, solo hay un 23% en puestos de rectoras y directoras de institutos de investigación. También se observan tasas de éxito inferiores para las mujeres que para los hombres. Las desigualdades en el desarrollo de la carrera investigadora y en el acceso a puestos de responsabilidad justifican la necesidad de implementar medidas de igualdad tanto en el sistema científico, como en los demás ámbitos de la vida política, económica y pública. Mediante mi TFG quiero reivindicar la importancia de fomentar la vocación científica entre las jóvenes y apoyar el talento femenino en la investigación para poner fin al Techo de Cristal. Asimismo, me gustaría que sirviese de herramienta para empoderar a todas las mujeres y las niñas, acabar con la discriminación y lograr la igualdad de género. Fuentes: Weber (2021). El valor del medicamento desde una perspectiva social 2021. Madrid, España: Fundación Weber. Unidad Mujeres y Ciencia (2021). Científicas en Cifras 2021. Madrid, España: Ministerio de Ciencia e Innovación.