

ASOCIACIÓN DE TERAPIA GÉNICA Y CELULAR DEL URUGUAY 2019

Cronograma preliminar

JUEVES 5 SETIEMBRE - 15:00 HS

Sala Florida P3

SIMPOSIO 1

LABORATORIOS DE ALTA COMPLEJIDAD PARA MANEJO DE VIRUS Y CÉLULAS

Coordina: C. Touriño

Expositores:

Gonzalo Moratorio, PhD. - Laboratorio de Virología Molecular, CIN, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. Laboratorio de Inmunovirología, Institut Pasteur de Montevideo, Mataojo 2020, Montevideo 11400, Uruguay.

Laboratorios para manipulación de virus

La aparición cada vez más frecuente de brotes epidémicos debido a la rápida propagación de virus respiratorios y hemorrágicos ha sido motivo para la creación de laboratorios de alto nivel de bioseguridad. Además, estos laboratorios pueden presentar módulos para trabajar con animales de experimentación e importantes vectores como mosquitos. Por consiguiente, en estos pueden realizarse experimentos de transmisión de modo de recrear lo que sucede en la naturaleza. En esta charla discutiremos sobre la implementación de laboratorios de bioseguridad de nivel 3 y 4, así como los patógenos a estudiar en los mismos. Asimismo, compartiré mi experiencia de trabajar en laboratorios, bioterios e insectarios de bioseguridad nivel 3 en el exterior.

.....
QF Daniela Mariño - Facultad de Química - dmarino@fq.edu.uy

Laboratorios para producción de medicamentos. Normas de Correcta Fabricación

Las Normas de Correcta Fabricación (NCF) o también conocidas como Buenas Prácticas de Fabricación (BPF) son un conjunto de pautas y recomendaciones elaboradas con el objetivo de que mediante su aplicación se garantice la calidad, seguridad y eficacia de los medicamentos que se fabrican y comercializan a nivel mundial. Inicialmente fueron desarrolladas por la Food & Drugs Administration (FDA) de los Estados Unidos y luego revisadas y adoptadas por el Comité de Expertos en Preparaciones Farmacéuticas de la Organización Mundial de la Salud (OMS). Las NCF han sido incorporadas como de cumplimiento obligatorio por la mayoría de las autoridades sanitarias en el mundo.

Las NCF se encuentran incluidas dentro del concepto de garantía de calidad y constituyen el factor que asegura que los productos se fabriquen de forma uniforme y controlada, de acuerdo al uso previsto y conforme a las condiciones exigidas para su comercialización.

Abarcan todos los aspectos que influyen individual o colectivamente en la calidad de los medicamentos, estando dirigidas principalmente a disminuir los riesgos inherentes a la mayoría de las producciones farmacéuticas, que por lo general pueden clasificarse en dos grupos: contaminación (incluye contaminación cruzada) y mezcla o confusión.

Estas recomendaciones establecen la manera de controlar los riesgos mencionados a través de la incorporación de un sistema de trabajo adecuadamente administrado que los tenga en cuenta. Dentro de este sistema se encuentran comprendidos el diseño de las instalaciones, la gestión de documentos y registros (procedimientos escritos, ingreso de datos, etc.), calificación de equipos, validación de procesos, requerimientos del personal y su entrenamiento, operaciones productivas y de acondicionamiento, pautas de sanitización e higiene, gestión de materiales, entre otros.



Carmen Kuniyoshi Rebellato PhD (PUCP-BRASIL) -

Es profesora adjunta de la Escuela de Medicina de la Pontificia Universidad Católica de Paraná (PUC-PR), Brasil, Responsable Técnica por el Centro de Tecnología Celular de la PUC-PR y Docente de la Universidad Federal de Paraná (UFPR). Bióloga recibida de la UFPR, con maestría en genética en la UFPR y doctorado en Ciencias de la Salud por la PUC-PR. Tiene experiencia en el área de genética humana y médica y cultivos de tejidos. Actuando principalmente en los siguientes temas: histocompatibilidad, cultivo celular y células tronco.

ADVANCED CELL THERAPY LABORATORY

An Advanced Cell Therapy product is a biological product consisting of human cells or derivatives with therapeutic properties for autologous or allogeneic therapies, which has undergone extensive manipulation and/or perform in the receptor a different function from that in the donor. The Advanced Cell Therapy Laboratory is a GMP (Good Manufacturing Practice) laboratory designed for the production of high quality, safe, cell products for clinical treatment. The laboratory should assure that all government regulations are met and that all defined release criteria, established by the laboratory, are safe for administration to human subjects. The documents, containing all laboratory records, are annually evaluated by Health Regulatory Agency. The staff is composed of a principal investigator, a technical manager, a quality control manager, a nurse and laboratory technologists. All staff is trained to develop their functions. The facilities are arranged to avoid cross-flow of materials, reagents, biological material and waste. They include a complete structure for cell isolation, cell expansion, quality control laboratory (to evaluate cell viability, cell characterization, cytogenetics, microbiological tests and functional tests), cryopreservation room, and a Material and Sterilization Center. The manufacturing suites consist of ISO 8 class cleanrooms (at operation, during manufacturing process) and ISO 8 class ante-rooms for gowning. Each cleanroom is fitted with ISO 5 biosafety cabinets (at operation), microscopes and CO₂ incubators. Critical equipment is continuously

monitored for proper function. Validation of all the procedures and qualification of equipment is required to prove that all critical processes are under control and that the effectiveness of the product is maintained. The Advanced Cell Therapy laboratory is an important tool for perform clinical protocols and translational development of new and complex cellular therapy methods.

JUEVES 5 SETIEMBRE - 17:30 HS

Sala Florida P3

SIMPOSIO 2

CÉLULAS MODIFICADAS GENÉTICAMENTE

Coordina: C. Touriño

Expositores:

Mariela Bollati-Fogolín, Unidad de Biología Celular, Institut Pasteur de Montevideo, mbollati@pasteur.edu.uy

Células madre pluripotenciales inducidas (iPSC): Generación, caracterización y aplicaciones.

En el año 2006 Takahashi y Yamanaka describieron por primera vez la reprogramación de células somáticas de ratón hacia células madre pluripotenciales mediante la introducción simultánea de cuatro genes. Dichas células reprogramadas fueron denominadas células madres pluripotenciales inducidas (iPSCs). Un año después, los mismos autores reportaron que esta aproximación también era aplicable para reprogramar fibroblastos humanos para generar iPSCs humanas.

Así, el desarrollo de la tecnología de reprogramación de células somáticas ha marcado un hito importante tanto en la ciencia básica como en la medicina personalizada. La posibilidad de generar iPSCs específicas a partir de pacientes abrió un nuevo abanico de oportunidades para el modelado de distintas enfermedades, el desarrollo de nuevos fármacos o para aplicaciones en terapia celular regenerativa individualizada.

Durante esta charla se realizará una breve reseña acerca de la obtención y caracterización de iPSCs. Se presentarán los avances logrados durante los últimos años en este campo, con énfasis en el mecanismo molecular de reprogramación, estrategias para mejorar la eficiencia de reprogramación, características y limitaciones de las mismas. Por último se discutirán los progresos realizados en cuanto a las aplicaciones de las iPSCs, ya sea para el modelado de enfermedades, el descubrimiento de nuevos fármacos y en el área de la medicina regenerativa.

Eduardo Osinaga Dept. de Inmunobiología, Facultad de Medicina, Udelar

Laboratorio de Glicobiología e Inmunología Tumoral, Institut Pasteur de Montevideo

Inmunoterapia con linfocitos CAR-T. Fundamentos

Los linfocitos T pueden ser manipulados genéticamente para capacitarlos en el mejor reconocimiento y muerte de células tumorales, en lo que constituye una forma muy innovadora de inmunoterapia del cáncer. Estas células se conocen como CAR-T, por adquirir un receptor quimérico de antígeno (CAR), que es una proteína de fusión compuesta por un sitio extracelular para el reconocimiento de un antígeno, una región transmembrana y un dominio de señalización intracelular. El dominio extracelular para reconocimiento de un antígeno está formado por la región variable de un anticuerpo, generalmente se utiliza un scFv (single-chain variable fragment), con especificidad para reconocer antígenos en la superficie de células tumorales. Los dominios de señalización intracelular (CD28, 4-1BB y OX40) permiten la mayor activación de los linfocitos T y la muerte de las células reconocidas por el receptor CAR. Las células CAR reconocen un antígeno de la forma que lo hace un linfocito B (no requieren de células presentadoras de antígenos y no existe restricción por el Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC), pero tienen los mecanismos efectores de los linfocitos T. La terapia con células CAR-T ha mostrado muy buenos resultados en pacientes con enfermedades hemato-oncológicas, como leucemia linfoblástica aguda, en leucemia linfocítica crónica y en linfomas. Más recientemente se ha evidenciado que con la incorporación de receptores CAR a células asesinas de la inmunidad innata, como las Natural Killer (NK), se pueden generar células CAR-NK, que parecen tener algunas ventajas con respecto a las células CAR-T.

.....

Dra. Sofia Grille, MD, PhD Servicio de Hematología Clínica y Departamento Básico de Medicina. Hospital de Clínicas. Facultad de Medicina. UdeLaR

CÉLULAS CAR-T. APLICACIONES CLÍNICAS EN HEMATO-ONCOLOGÍA

Las células T con receptor de antígeno quimérico dirigidas a blancos específicos antigénicos (CAR-T) están emergiendo como nuevas inmunoterapias para las neoplasias hematológicas y recientemente también para tumores sólidos. La infusión de CAR-T permite una rápida acción citotóxica y un control de la enfermedad a largo plazo debido a la vigilancia inmunológica que determina. Inicialmente la mayoría de los estudios clínicos con CAR-T utilizaban como blanco al CD19 o CD20 y fueron utilizadas en las neoplasias B maduras e inmaduras logrando excelentes resultados en pacientes quimio-resistentes. Estos resultados han determinado un vertiginoso crecimiento en el desarrollo de CAR-T contra diferentes antígenos, tanto para tumores hematológicos como sólidos. La mayoría de los ensayos clínicos que utilizan CAR-T están fase clínica precoz (fase 1-2). Existen datos que evidencian la eficacia y la durabilidad de la respuesta de las células CAR-T anti-CD19 en neoplasias de células B, logrando tasas de respuesta entre 68-93% en LAL, 57-71% en Leucemia Linfocítica Crónica y 64-86% en Linfoma no Hodgkin-B. Por el momento han sido aprobados por la FDA, 2 productos comercialmente disponibles para Leucemia Aguda Linfoblástica (LAL) y para el Linfoma no Hodgkin a grandes células B (DLBCL).

A pesar de que ha comenzado una nueva era en el tratamiento del cáncer, existen numerosos obstáculos por vencer para que estas terapias puedan ser aplicadas en pacientes del “mundo

real". Por un lado, para la mayoría de las neoplasias las células CAR-T no han sido probadas como efectivas. Son tratamientos muy tóxicos, existen demoras en su producción y no están ampliamente disponibles por su elevado costo y/o dificultades en su producción. En esta exposición se revisarán las principales indicaciones, resultados y dificultades en la utilización de las células CAR-T en la práctica clínica.

VIERNES 6 SETIEMBRE - 9:00 HS

Sala Florida P3

SIMPOSIO 3

MODELOS ANIMALES PARA ESTUDIO DE TERAPIAS CELULARES Y GÉNICAS

Coordina: C. Touriño

Expositores:



Daniel Skuk, MD. Centro de Investigación del Centro Hospitalario Universitario de Quebec, Canadá.

Científico uruguayo radicado en Canadá que forma parte del equipo de investigación del Dr. Jacques P. Tremblay, especializado en terapias celulares y génicas de miopatías de origen genético. El Doctor Skuk es Profesor asociado del Departamento de Medicina Molecular, Facultad de Medicina, Universidad Laval, Quebec, Canadá. Se ha dedicado a la investigación en terapia celular y medicina regenerativa en el músculo esquelético. Ha realizado estudios en varios modelos animales (ratones, perros y monos) y estudios clínicos en pacientes con distrofia muscular, siendo el único investigador a nivel mundial que utilizó primates no humanos para estudios de terapia celular y medicina regenerativa en el músculo esquelético. También ha participado en ensayos clínicos de terapia celular en pacientes con distrofia muscular de Duchenne, siendo los resultados de los ensayos clínicos los más significativos alcanzados hasta ahora con una terapia celular en el músculo esquelético.

Terapia celular en miopatías: Del modelo animal al ensayo clínico.

La terapia celular es una estrategia experimental para el tratamiento de miopatías genéticas y/o degenerativas. Las células deben tener al menos una de las siguientes propiedades para ser útiles en esta estrategia: (1) fusionar con las fibras musculares preexistentes para inducir la expresión de proteínas terapéuticas, (2) formar nuevas fibras musculares y (3) formar nuevas células satélites. Para diseñar un protocolo aplicable a pacientes, hemos enfocado nuestros estudios en primates no humanos. Estos son especialmente importantes en la investigación en trasplantes dado que comparten estrechas similitudes inmunitarias con los humanos, en contraste con las diferencias entre humanos y ratones. Además, el tamaño de los músculos y las características de la regeneración muscular, proporcionan una mejor base para probar

técnicas de administración celular. Nuestros estudios en primates del género *Macaca* permitieron llevar a cabo un ensayo clínico de aloinjerto de mioblastos normales en 9 pacientes con Distrofia muscular de Duchenne. La administración celular se realizó por matrices de alta densidad de micro-inyecciones, en pacientes inmunosuprimidos con tacrolimus. En las biopsias realizadas en los sitios tratados, 4 semanas más tarde, se observó: (1) expresión de la distrofina normal del donante en 3,5% a 26% de fibras musculares, (2) evidencia de neoformación de fibras musculares pequeñas y (3) evidencia potencial de células satelitales derivadas del injerto. Posteriormente, el mismo tratamiento se aplicó en un paciente de 26 años que pudo mantenerse en estudio por 18 meses. Se determinó que 27,5% de las fibras musculares expresaron la distrofina del donante 1 mes después del trasplante y 34,5% 17 meses más tarde. Estos resultados son prometedores, si bien consideramos que nuestro protocolo de terapia celular se beneficiaría de mejoras adicionales en la metodología de administración celular y en el control del rechazo agudo para una aplicación clínica más eficiente.

.....

Dra. Cristina Touriño, MD, PhD. Hospital de Clínicas - Facultad de Medicina UDELAR

Modelos ovinos para estudio de terapia celular y génica en cardiopatía isquémica

La principal etiología de la cardiopatía isquémica está relacionada con la patología aterosclerótica. A pesar de los avances en el tratamiento farmacológico, intervencionista y/o quirúrgico, existen algunas limitaciones claras que determinan la progresión de la enfermedad y es por ello que se buscan alternativas terapéuticas. La terapia angiogénica cardiovascular tiene como finalidad aumentar la densidad capilar, restaurar la perfusión de los sistemas coronarios no revascularizados y/o evitar la pérdida de cardiomiocitos. En ese sentido, se han desarrollado diferentes estrategias de revascularización biológica vinculadas a la terapia celular y/o génica que requieren ser evaluadas en modelos animales antes de ser aplicadas al ser humano. Entre las estrategias con células existen distintas opciones que varían en relación al tipo de célula utilizado; a la fuente celular; al procedimiento para su obtención; a la vía, la dosis y la frecuencia de administración y a la etapa de la enfermedad en la cual se administran las células. Asimismo, existe gran controversia en cuanto al mecanismo de acción de estas terapias. Por otro lado, la terapia génica se ha centrado en la administración de factores angiogénicos, especialmente el VEGF, utilizando tanto vectores virales, como plásmidos. Se han utilizado diferentes animales para el desarrollo de modelos de patología isquémica pero los modelos en grandes animales son considerados mejores, ya que se acercan más al humano, tanto en aspectos anatómicos, como funcionales. Los grandes animales más utilizados para estos estudios son monos, cerdos y ovejas. Los modelos animales de infarto de miocardio pueden ser desarrollados mediante diferentes métodos: crioblación, isquemia permanente o isquemia-reperfusión. Estos últimos son considerados de mayor relevancia para la valoración de esquemas terapéuticos en agudo ya que simulan la situación clínica habitual. Nuestro grupo ha desarrollado diferentes modelos de isquemia/infarto en ovejas para evaluar distintas estrategias de terapia con células y génica (VEGF).

.....

Kevin Yaneselli, Agustina Algorta, Jacqueline Maisonnave
ykevin05@gmail.com Facultad de Veterinaria, Área Inmunología.

Actualización sobre las propiedades inmunológicas de las células madre mesenquimales

Desde el descubrimiento de las células madre mesenquimales (CMM) se ha dado gran importancia a su potencial terapéutico y además a su característica de ser “inmunoprivilegiadas”. Posteriormente, las evidencias mostraron que en realidad las CMM eran rechazadas cuando se implantaban de manera alogénica en un donante incompatible pero paradójicamente ellas conseguían modular la respuesta del receptor. Estos hallazgos llevaron a plantear que realmente las CMM no eran inmunoprivilegiadas, sino que eran “inmuno-evasivas” cambiando el paradigma inicialmente planteado. Recientemente, se ha propuesto que existen dos perfiles marcados de las CMM, de los cuales se puede discriminar, uno de ellos sería del tipo pro-inflamatorio denominado CMM 1 y el otro sería un perfil anti-inflamatorio denominado CMM 2. Estos perfiles definidos se clasifican según su fenotípico y del tipo de citoquinas secretadas. Asimismo, se han encontrados divergencias en la literatura sobre si existen realmente dos perfiles definidos de CMM con propiedades inmunológicas distintas. Por último, el objetivo de la presente disertación es abarcar y actualizar las diferentes evidencias científicas sobre las propiedades inmunológicas de las CMM y difundir la línea de investigación que se está desarrollando a nivel nacional en medicina veterinaria.

.....

Agustina Algorta, Kevin Yaneselli, Jacqueline Maisonnave
agustinaalgorta@gmail.com Facultad de Veterinaria, Área Inmunología.

Terapia con Células Madre Mesenquimales aplicada a Gingivoestomatitis crónica canina.

La Gingivoestomatitis crónica canina es una patología dolorosa caracterizada por la inflamación local o difusa de la mucosa oral que puede ulcerarse e incluso necrosarse. El tratamiento de esta patología suele ser frustrante para el clínico veterinario e incluye terapia inmunosupresora y a veces más radical con extracción total de las piezas dentales del paciente. Se desconoce su etiología exacta pero se considera una respuesta inmune exacerbada a los antígenos orales. Las Células Madre Mesenquimales presentan características que las hacen atractivas para uso terapéutico. Estas son su capacidad de multidiferenciación, capacidad angiogénica, efecto antimicrobiano y últimamente los estudios se centran en sus propiedades inmunomoduladoras tanto en medicina humana como veterinaria. Esto las hace potencialmente utilizables como terapia en patologías inmunomediadas. Existen reportes anteriores de uso de Células Madre mesenquimales (CMM) para tratamiento de una patología similar que afecta los felinos con resultados alentadores. El Área de inmunología de facultad de Veterinaria cuenta con un Biobanco de CMM de varias especies. Se han utilizado CMM caninas derivadas de tejido adiposo para tratamiento local y recientemente intravenoso de Gingivoestomatitis canina. El objetivo de esta charla es exponer los resultados obtenidos en casos de caninos tratados con CMM.