

13° Congreso Argentino de Pediatría Social y Derechos del Niño
8° Congreso Argentino de Lactancia Materna
Ciudad de Buenos Aires
12, 13, y 14 de Agosto de 2015

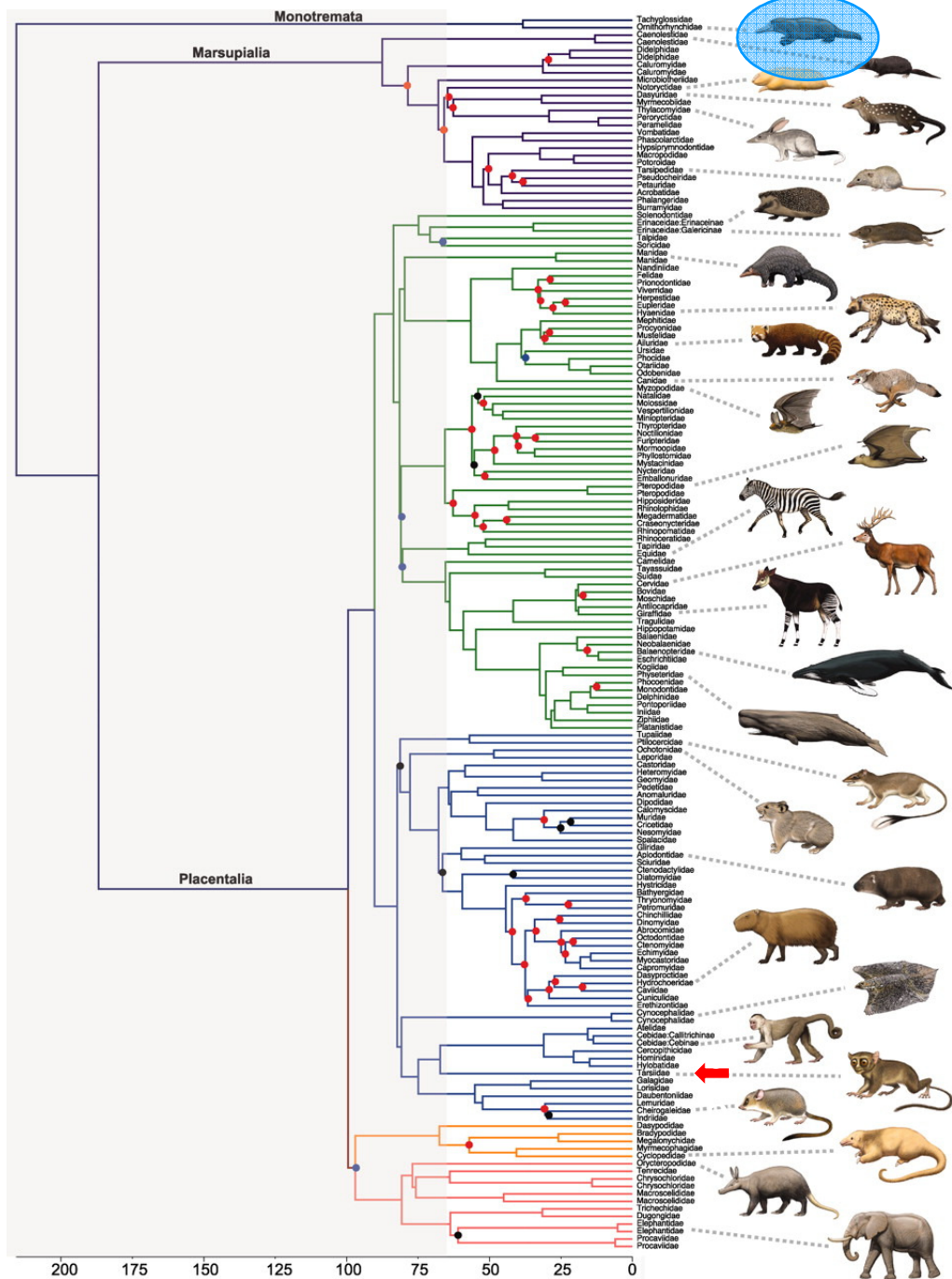
Mesa Redonda
Investigación en Leche Humana. Nuevas Evidencias
14 de Agosto 15:30-17:30

“Células madre en leche humana”

Luz Amaranta Avendaño Vázquez

Bióloga, Dra. en Ciencias

It's alive!



La lactancia evolucionó en el Período Triásico tardío.

La clase Mammalia aparece hace 200 MA

Nuestra rama, la Familia Hominidae, tiene alrededor de 25 MA

La especie *Homo sapiens* aparece hace aproximadamente 2.5 MA

Impacts of the Cretaceous Terrestrial Revolution and KPg extinction on mammal diversification.

Meredith RW *et al. Science*. 2011 Oct 28;334(6055):521-4

La leche de los mamíferos contiene células

Una gota de
fórmula láctea

Una gota de leche
materna

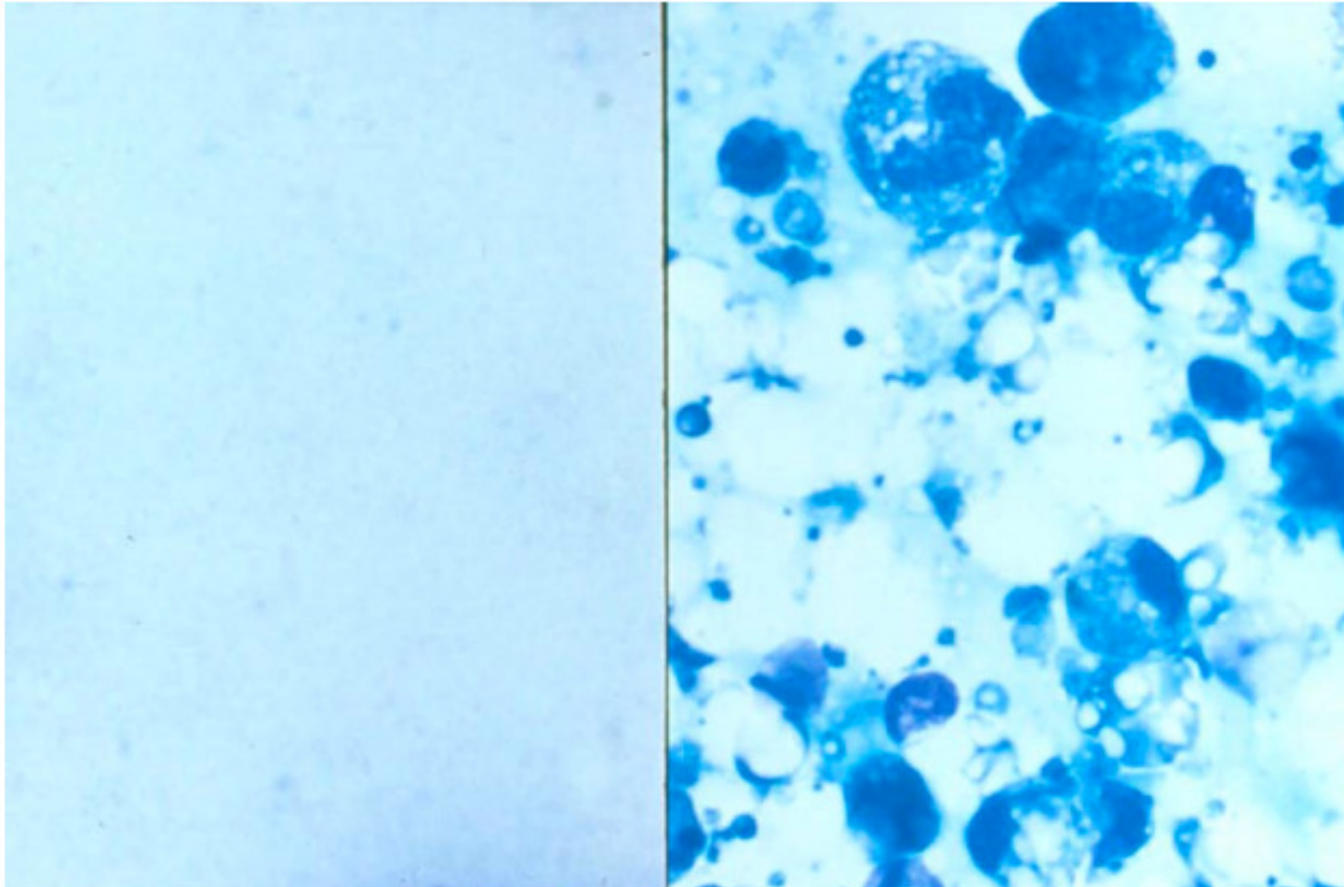
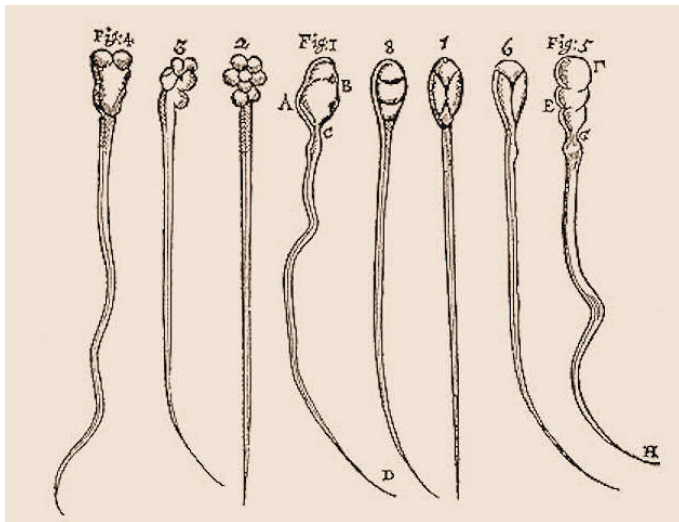
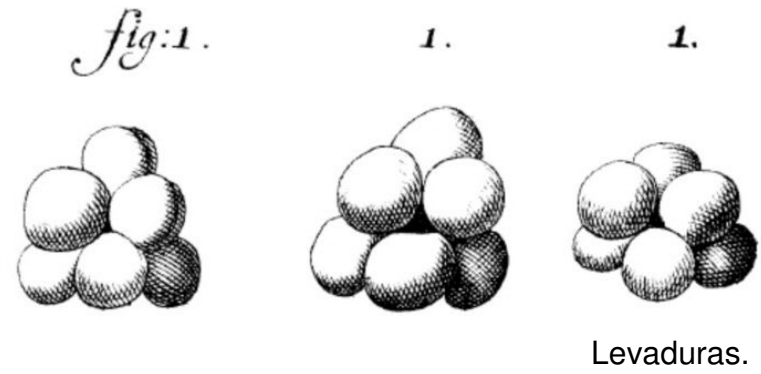


Imagen modificada: Rebecca Behre, RNC, IBCLC. Gritman Medical Center, Moscow. Idaho.



(1632-1723)



Esperma de conejos y perros, 1678.



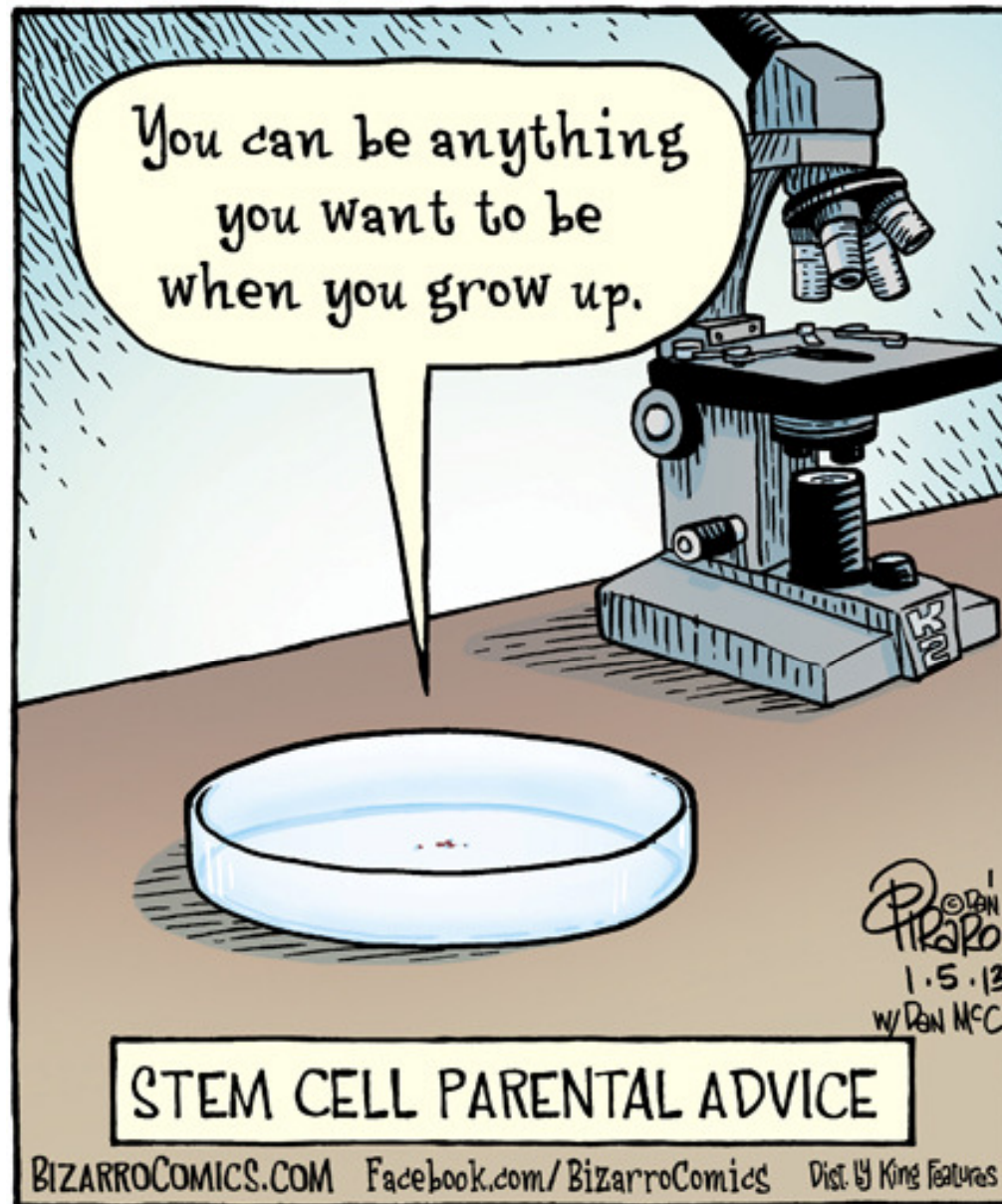
La leche humana contiene células madre

¿Qué es una Célula Madre (SC)?

Las células madre (SC) tienen dos propiedades que las definen:

- Son capaces de autorreplicarse indefinidamente .
- Generan linajes especializados de células.





“Puedes ser lo que quieras cuando seas grande”

Células Madre Embrionarias (ESCs)



- Las ESC se originan en la masa interna de células del blastocisto.
- Autorrenovación.
- Pluripotenciales.
- Generación de ratones quimera
- Generación de 254 tipos de células que dan origen a los tejidos adultos.

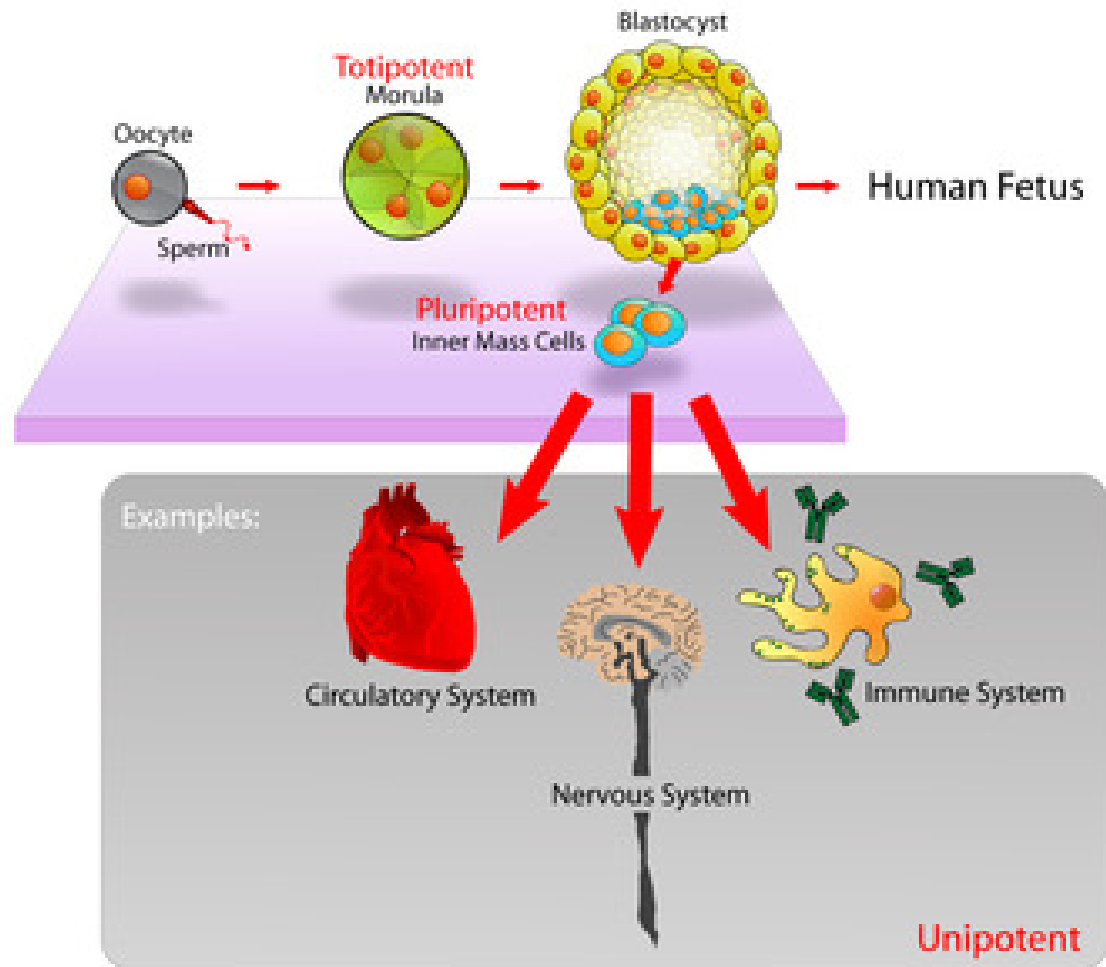
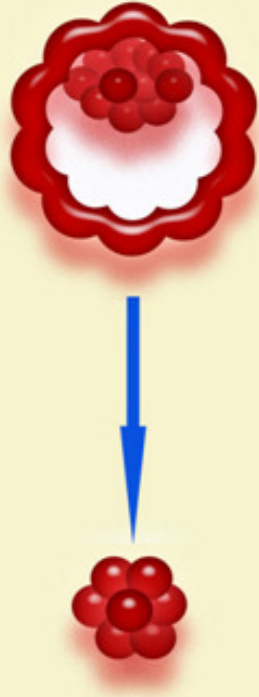


Imagen 1: Modificada de **Stem cells and neurological diseases**. Orlacchio A, et. al. *Discov Med*. 2010 Jun;9(49):546-53.
Imagen 2: "Stem cells" diagrama de Mike Jones From Englis Wikipedia.

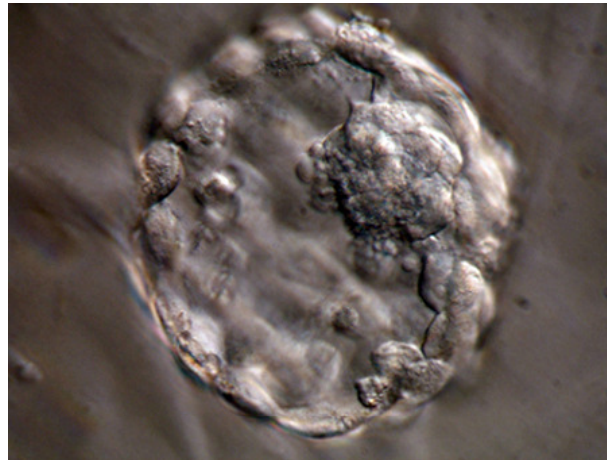
Células Madre Embrionarias (ESCs)



- Las ESC se originan en la masa interna de células del blastocisto.
- Autorrenovación.
- Pluripotenciales.
- Generación de ratones quimera
- Generación de 254 tipos de células que dan origen a los tejidos adultos.

Fuentes de ESCs

Fertilización *in vitro*

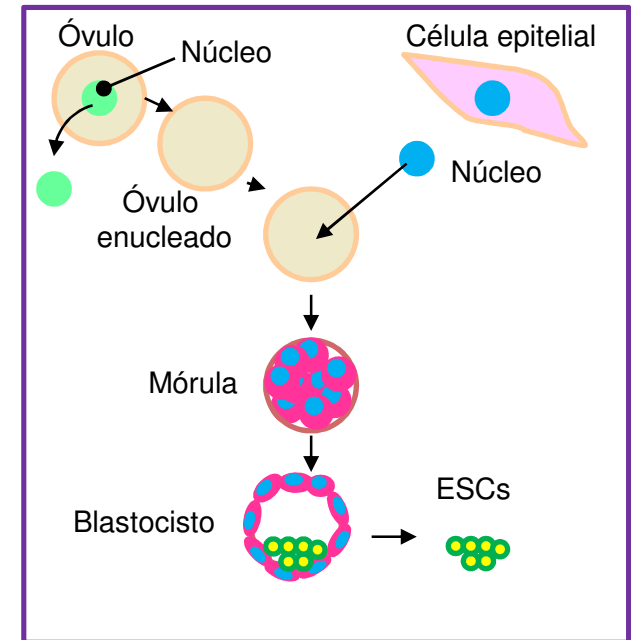


- Blastocistos residuales de los procedimientos de FIV.

Consentimiento informado o no.

- Blastocistos para el estudio de una enfermedad en particular. Ejem.: Gametos de donadores con Fibrocis quística.

Transferencia nuclear



- Las ESCs son clones de la célula adulta. Poseen el mismo material genético.

- Clonación experimental no es Clonación reproductiva.



Dolly, 1996-2003

Imágenes modificadas de:

Stem cells and neurological diseases.

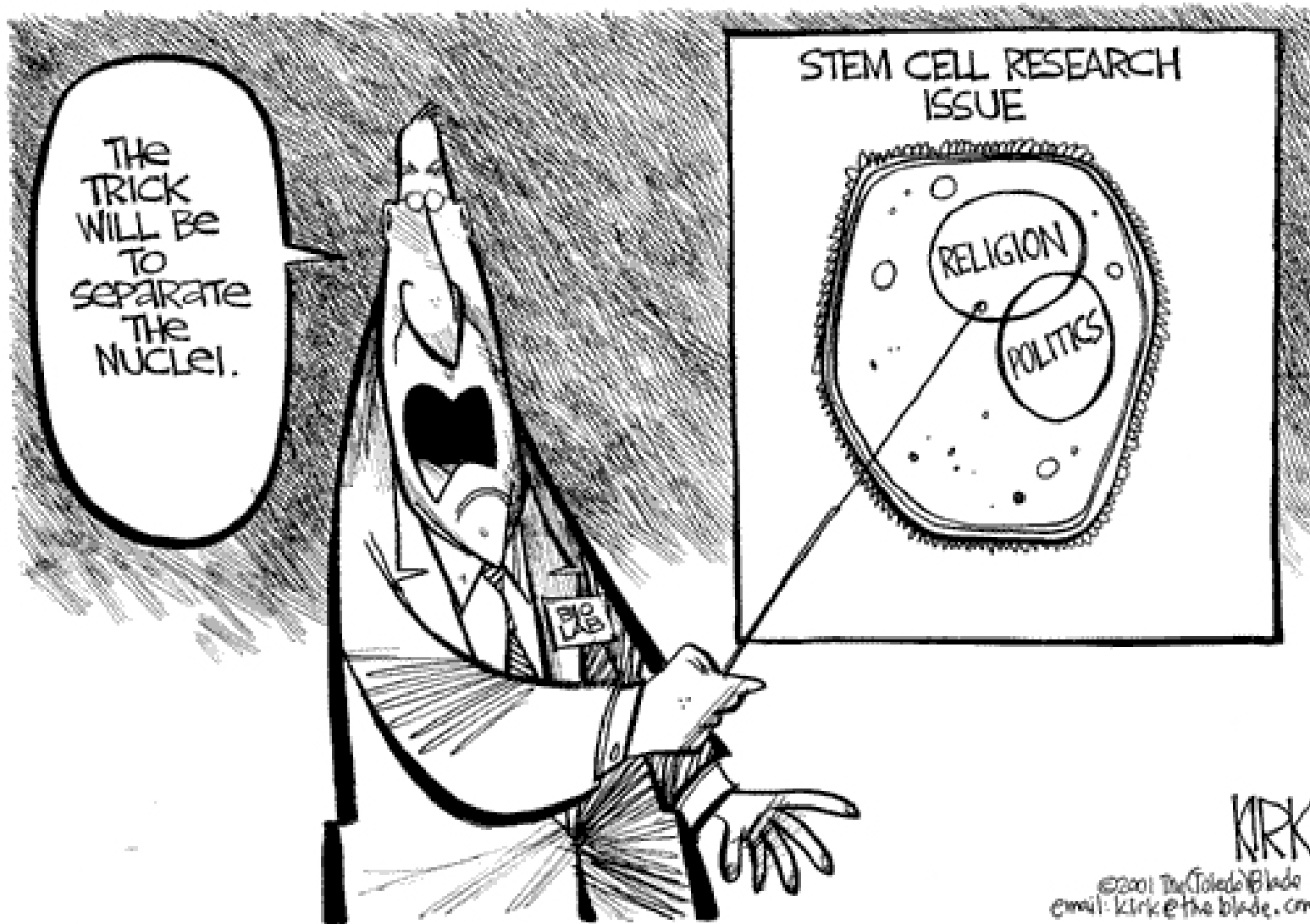
Orlacchio A, et al. *Discov Med.* 2010 Jun;9(49):546-53.

¿Humanos de diseño?



En 2006 investigadores koreanos reportaron haber obtenido hESCs (Células madre embrionarias humanas) mediante transferencia nuclear. Posteriormente se retractaron.

La Academia Nacional de EEUU, concluye: “La clonación reproductiva humana no debe practicarse. Es peligrosa y puede fracasar”.



“El truco será separar los núcleos”

2001

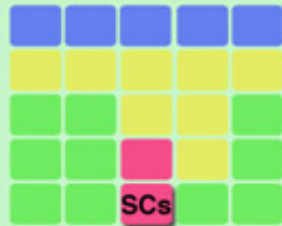


ADAM ZYGUS
WWW.ADAMZYGUS.COM
THE BUFFALO NEWS
©2006 7/20

IT'S MY MORAL DUTY TO
VETO THIS TOOL OF MURDER...



Células Madre Adultas (ASCs)



- Las ASC se originan durante la ontogenia y persisten dentro del nicho en la mayoría de los tejidos/órganos adultos.
- Autorrenovación.
- Multipotencialidad.
- Mantenimiento de la homeostásis en condiciones fisiológicas y patológicas.

Cerebro

Ojos

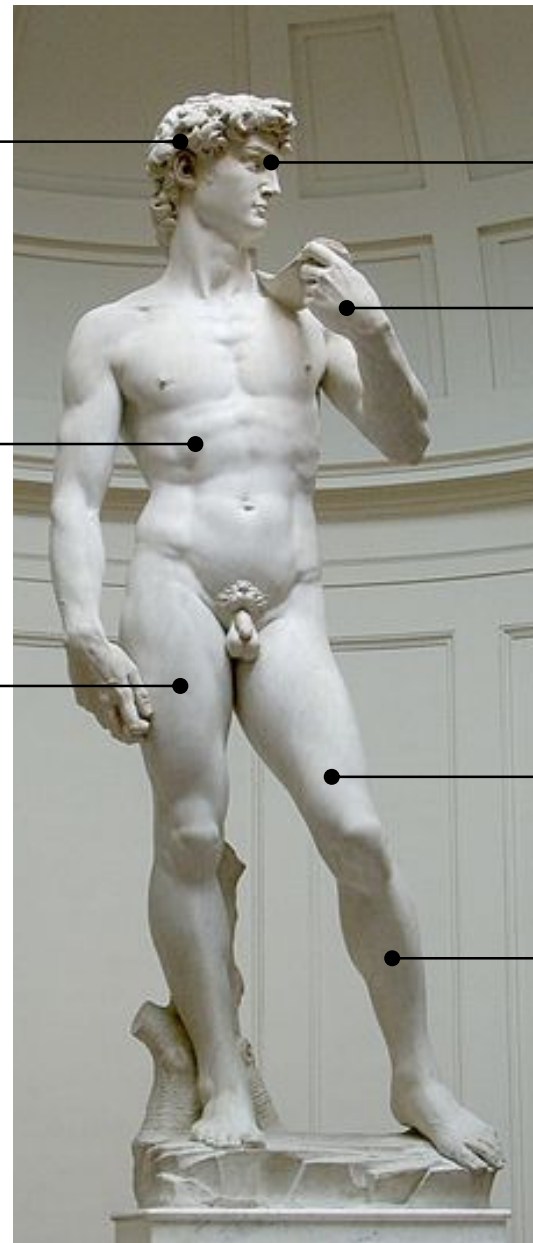
Sangre
(cordón
umbilical)

Hígado

Músculo

Médula ósea

Piel



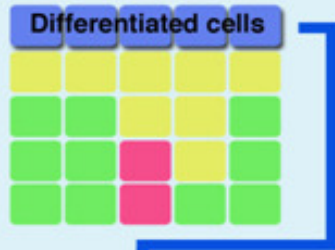
Imágenes modificadas de:

Stem cells and neurological diseases.

Orlacchio A, *et. al. Discov Med.* 2010 Jun;9(49):546-53.

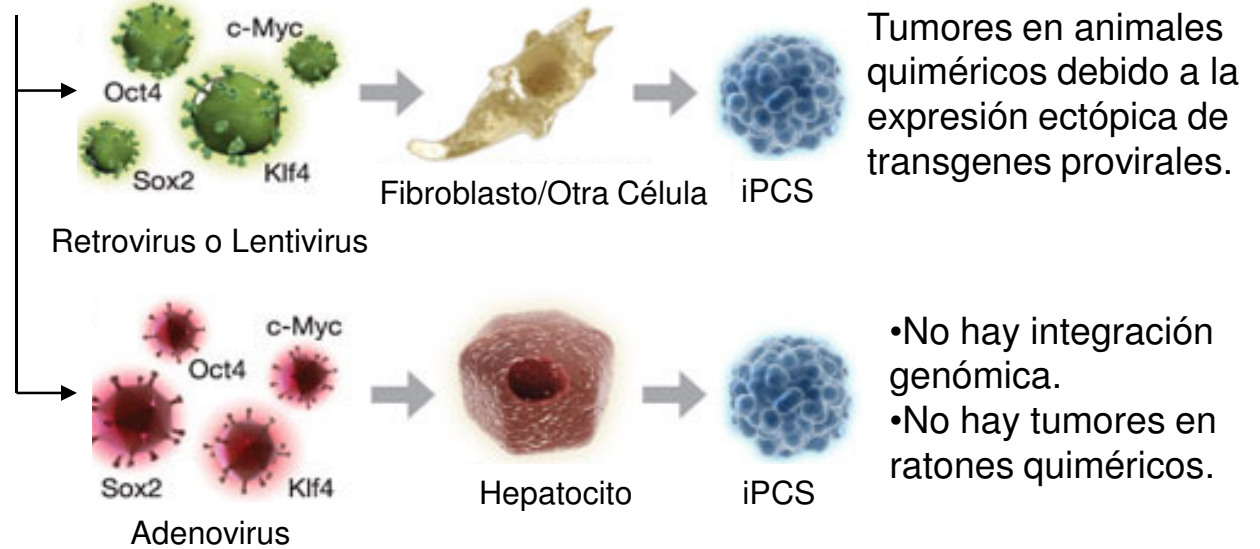
Introducción de genes para la generación de iPSCs

Células Madre inducidas (iPSCs)

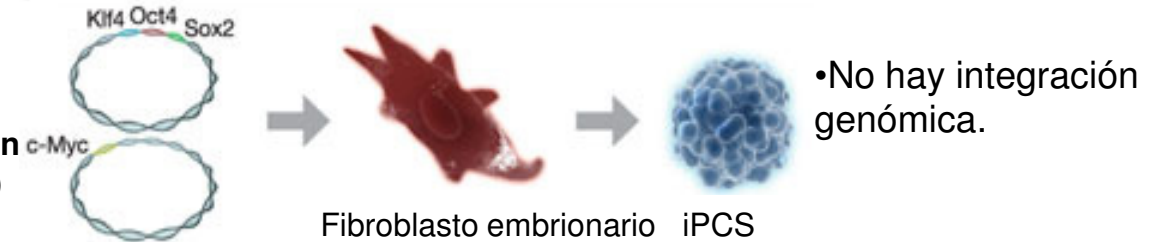


- Las iPSC se originan a partir de células somáticas diferenciadas transfectadas con cMyc, Klf-4, Oct-3/4 y Sox-3.
- Autorrenovación.
- Pluripotencialidad.
- Generación de ratones quimera.
- **Células madre paciente específicas.**

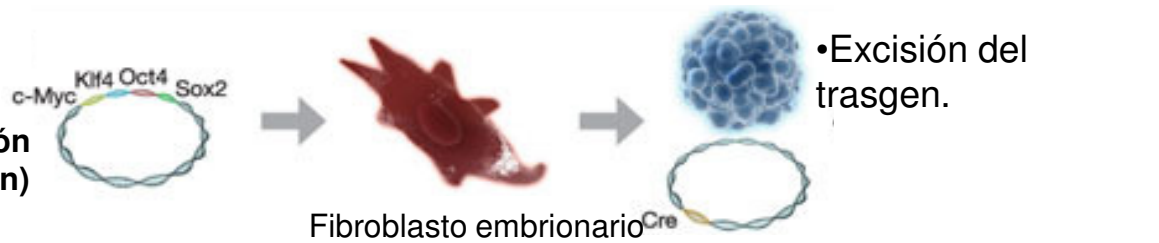
Transducción



Transfección (plásmido)



Transfección (transposon)



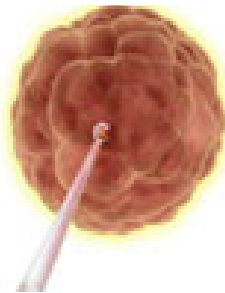
Imágenes modificadas de:

Stem cells and neurological diseases. Orlacchio A, *et. al.* *Discov Med.* 2010 Jun;9(49):546-53.

<http://www.sabiosciences.com/pathwaymagazine/pathways9/induced-pluripotent-stem-cells-quick-facts.php>

Evaluación de las iPSCs

ECs son inyectadas en un blastocisto



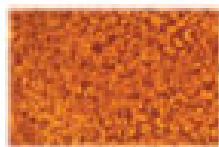
Los blastocistos son implantados dentro de madres adoptivas



Ratones quimera



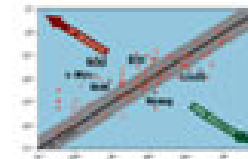
Morfología



Histología



Metilación



Expresión
génica



¿Qué es un ratón quimera?

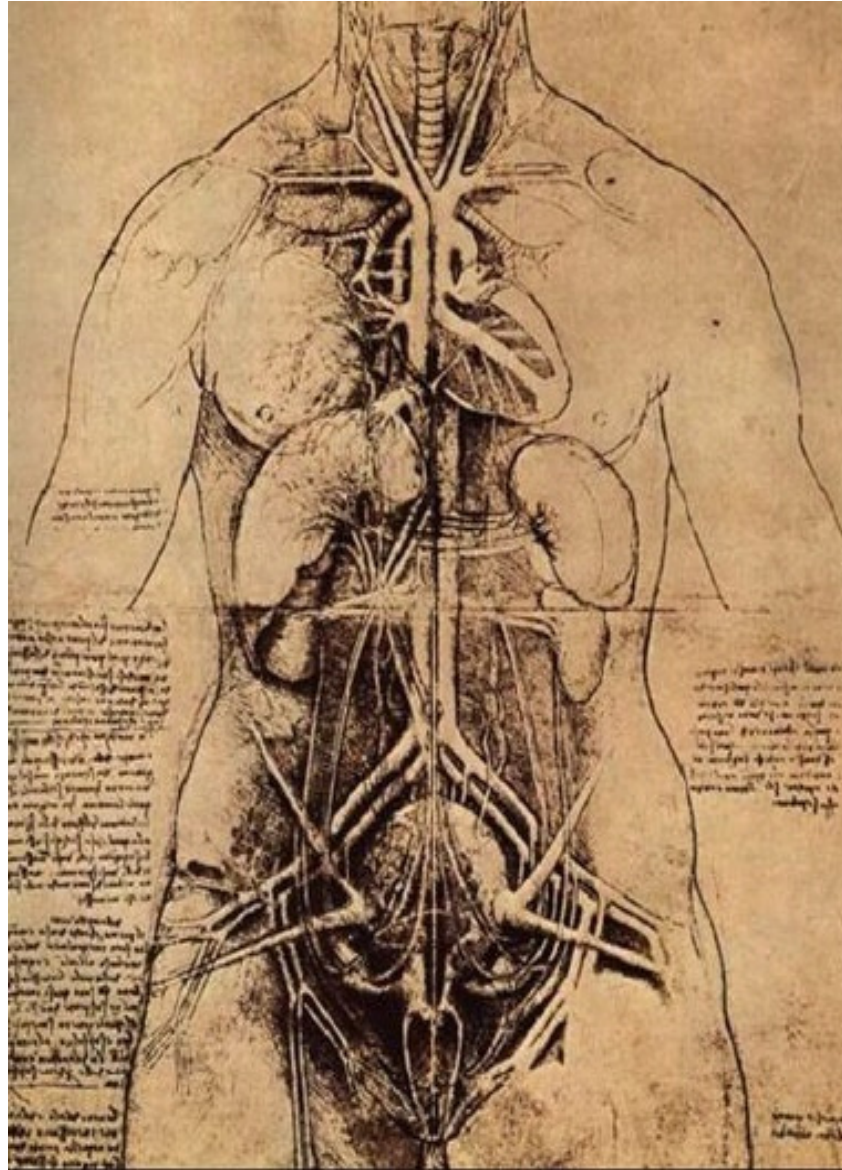
Organismos que contienen células o tejidos de la misma o de diferente especie son llamados quimeras.

Los ratones quimera, que se usan en numerosos trabajos de investigación con iPCSs, poseen células o tejidos de origen humano.



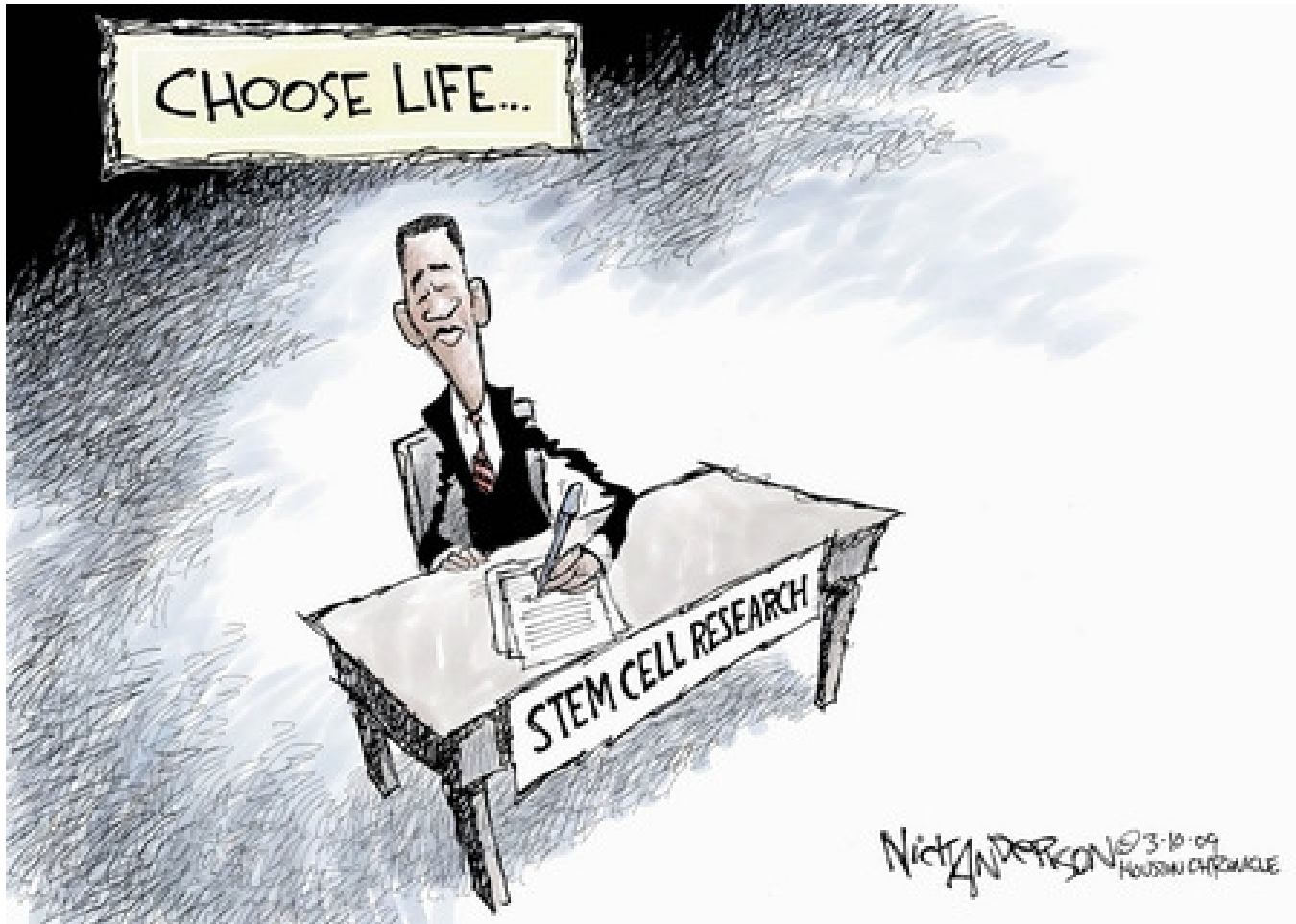
Usos potenciales de las células madre

- Accidente cerebrovascular
- Lesiones cerebrales
- Enfermedad de Alzheimer
- Enfermedad de Parkinson
- Pérdida de piezas Dentales
- Cicatrización
- Transplante de médula Ósea (Ya se practica)
- Lesiones de la médula espinal
- Osteoartritis
- Artritis reumatoide



- Calvicie
- Ceguera
- Sordera
- Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA)
- Infarto de Miocardio
- Distrofia muscular
- Diabetes
- Cáncer (Diversos)
- Enfermedad de Crohn
- Infertilidad
- Usos cosméticos

2009



"Apoyaremos vigorosamente a los científicos que realicen estos experimentos"

"Cuando el Gobierno no hace este tipo de inversiones, se pierden oportunidades, se dejan de explorar caminos prometedores. Algunos de nuestros mejores científicos se van a otros países porque allí patrocinan su trabajo, y esos países pueden llevarnos la delantera en los avances que transforman nuestras vidas"

Fuentes alternativas de SCs

Human breast milk is a rich source of multipotent mesenchymal stem cells.

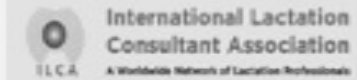
Patki S1, Kadam S, Chandra V, Bhonde R.

Hum Cell. 2010 May;23(2):35-40. doi: 10.1111/j.1749-0774.2010.00083.x.

Review

Cells in Human Milk: State of the Science

Foteini Hassiotou, PhD¹, Donna T. Geddes, PhD¹,
and Peter E. Hartmann, PhD¹

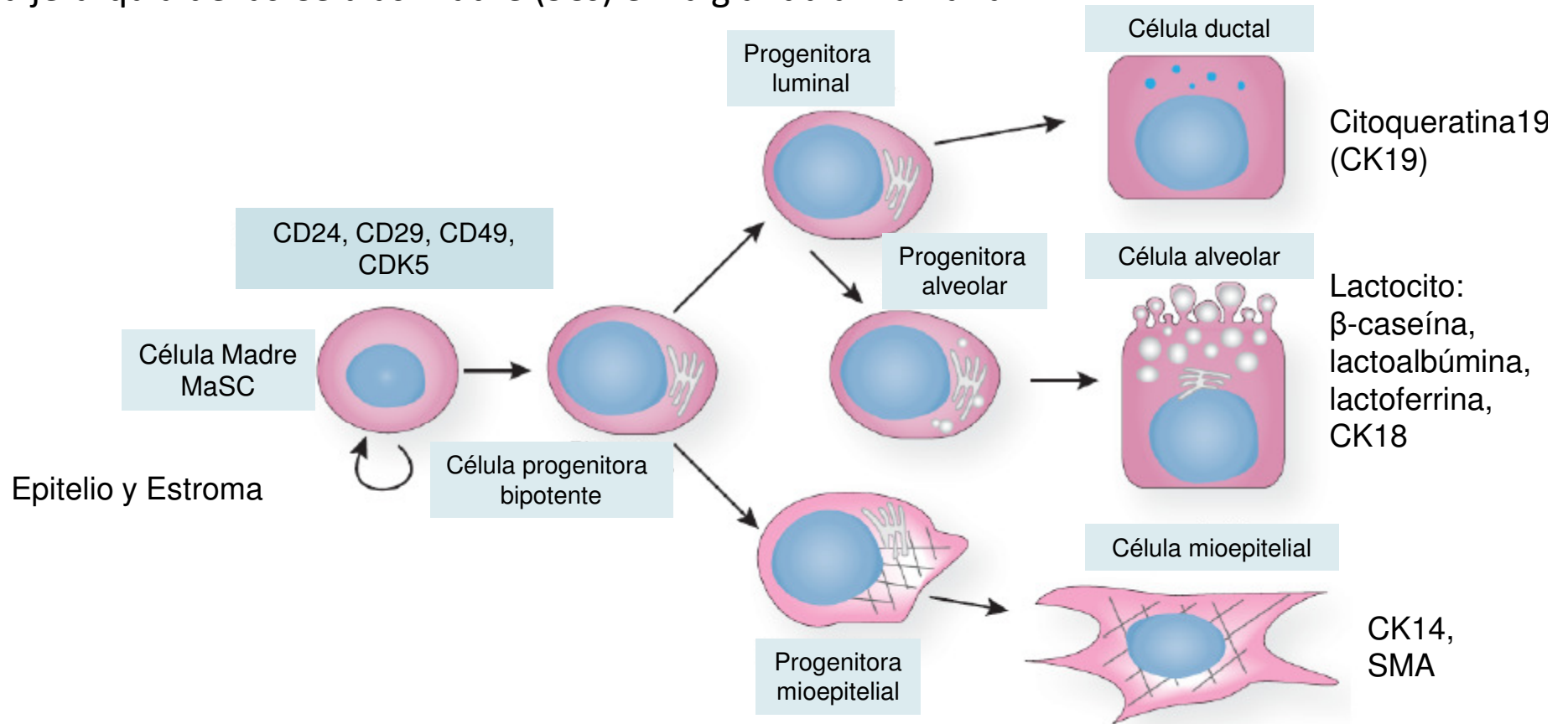


Journal of Human Lactation
29(2) 171–182
© The Author(s) 2013
Reprints and permission:
sagepub.com/journalsPermissions.nav
DOI: 10.1177/0890334413477242
jhl.sagepub.com
The SAGE logo is positioned at the bottom of the journal information block, consisting of a stylized 'S' inside a circle followed by the word "SAGE".

“Como reflejo de millones de años de adaptación y optimización, la leche es única para la especie que la produce y para las crías a las cuales está destinada. Grandes variaciones existen en las estrategias de lactancia y la composición de la leche entre las diferentes especies de mamíferos. A pesar de esto, la leche tiene la función consistente de proporcionar alimento, protección y programar el desarrollo de la cría, a corto y largo plazo. Entre sus componentes, que confieren estas funciones, la leche materna contiene células maternas, desde leucocitos hasta células epiteliales en diferentes etapas de desarrollo, lo cual incluye células madre, células progenitoras, lactocitos y células mioepiteliales”.

Células madre (SCs) en el desarrollo y funcionamiento de la glándula mamaria

La jerarquía de las Células Madre (SCs) en la glándula mamaria.

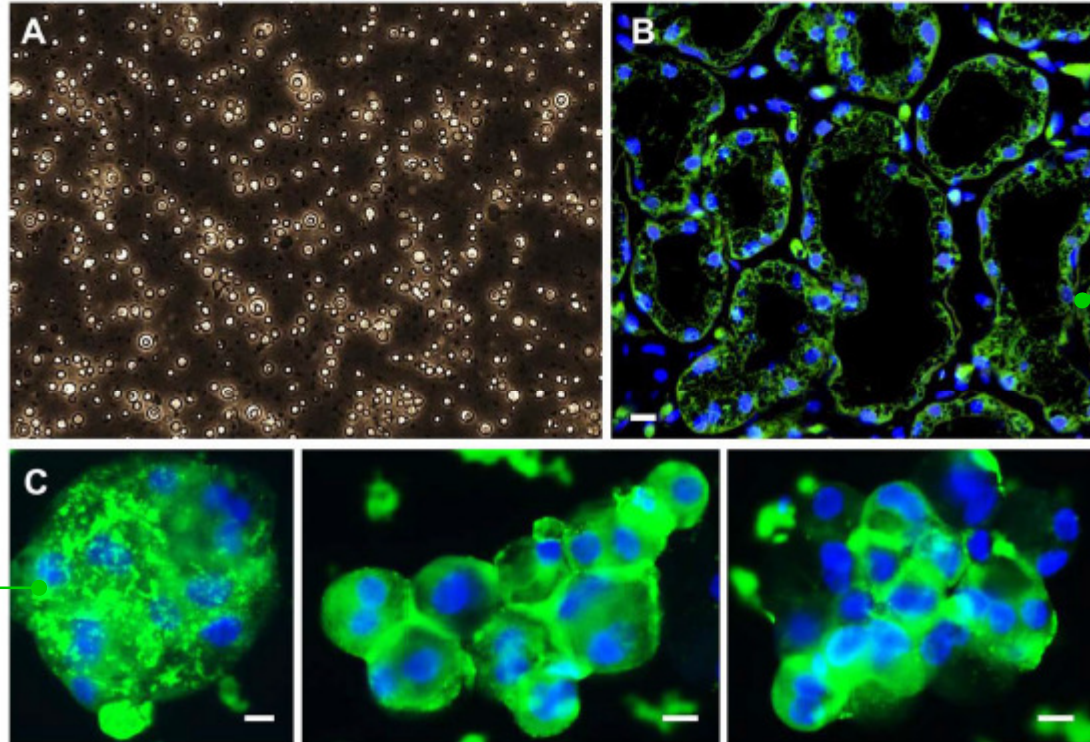


Algunas de las células madre y progenitoras presentes en las leche materna, provienen de otros órganos y terminan en el pecho a través de la circulación sistémica. De acuerdo con esta hipótesis, una pequeña población de células expresan marcadores de células madre hematopóyéticas: CD34 y CD133.

Mammary gland development.

Macias H y Hinck L. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol.* 2012 Jul-Aug;1(4):533-57.

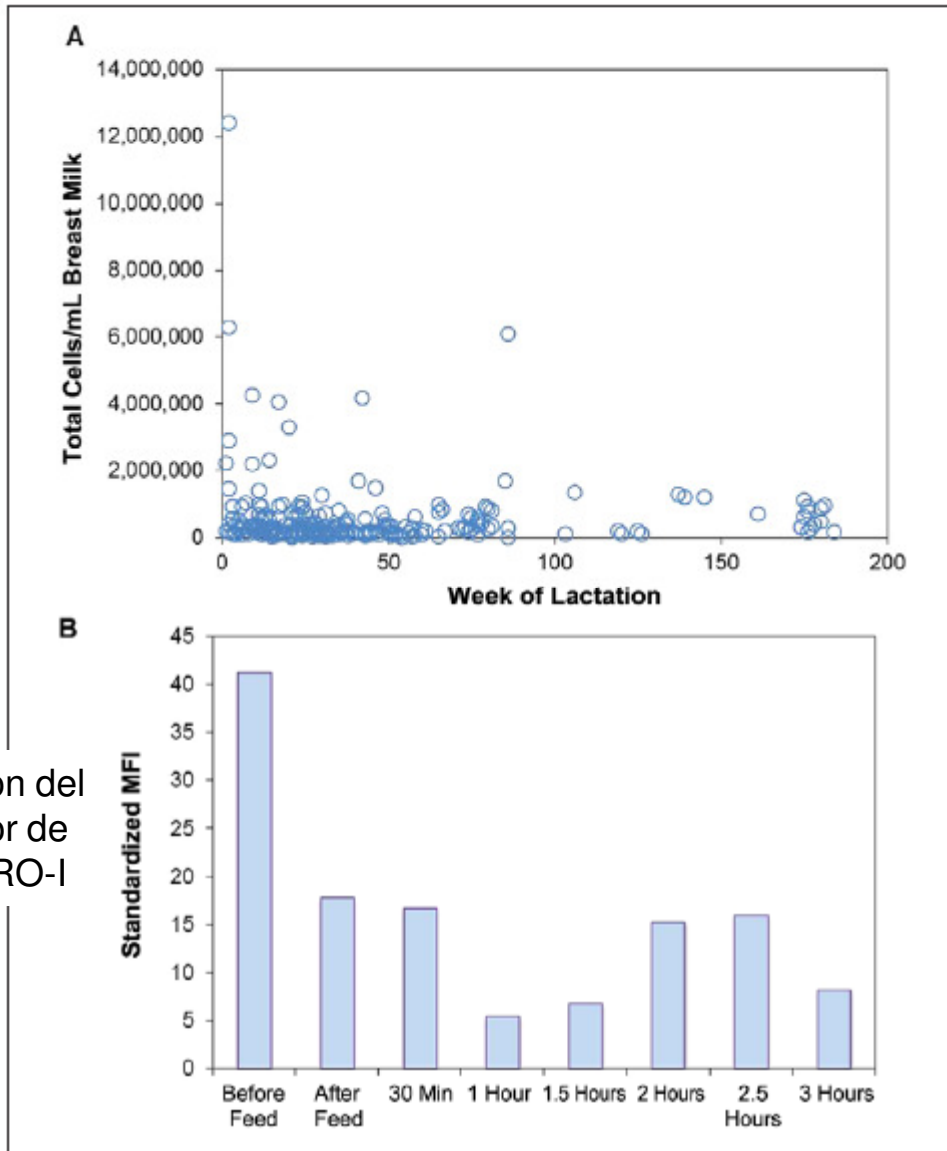
Origen del epitelio mamario



CD14, marcador de SC en el alveolo.

β -caseína, producida en la mamósfera

Contenido celular de la leche humana



Expresión del marcador de SCs STRO-1

10 000-13 000 000 cels/ml

- Variación entre mujeres y en una misma mujer.

- Variación en el tipo celular: mayor cantidad de leucocitos en el calostro (13-70%) y más células epiteliales en la leche madura.

- Variación en el estado de salud de la diada, mamá-bebé. Por ejemplo: los leucocitos que son entre el 0-2% de las células en la leche madura, cuando hay enfermedad se elevan.

Monotreme Lactation Protein Is Highly Expressed in Monotreme Milk and Provides Antimicrobial Protection

Ashwantha Kumar Enjapoori^{1,*}, Tom R. Grant², Stewart C. Nicol³, Christophe M. Lefèvre¹, Kevin R. Nicholas^{1,4}, and Julie A. Sharp^{1,5}



Ornithorhynchus anatinus

Gestación: 15-21 días

Incubación: 10-12 días

Lactancia: 114-145 días



Gestación: 21 días

Incubación: 10-10.5 días

Lactancia: 160-210 días



Tachyglossus aculeatus Equidna pico corto

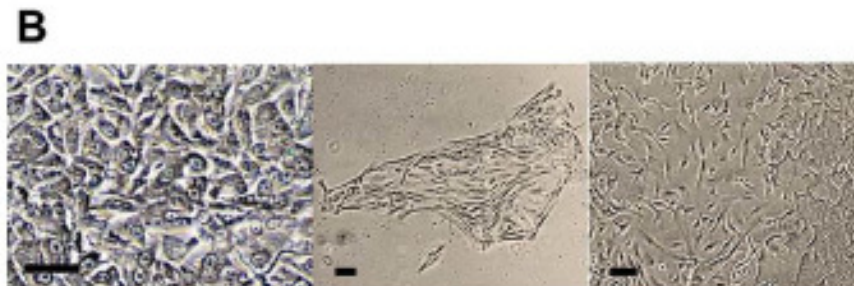
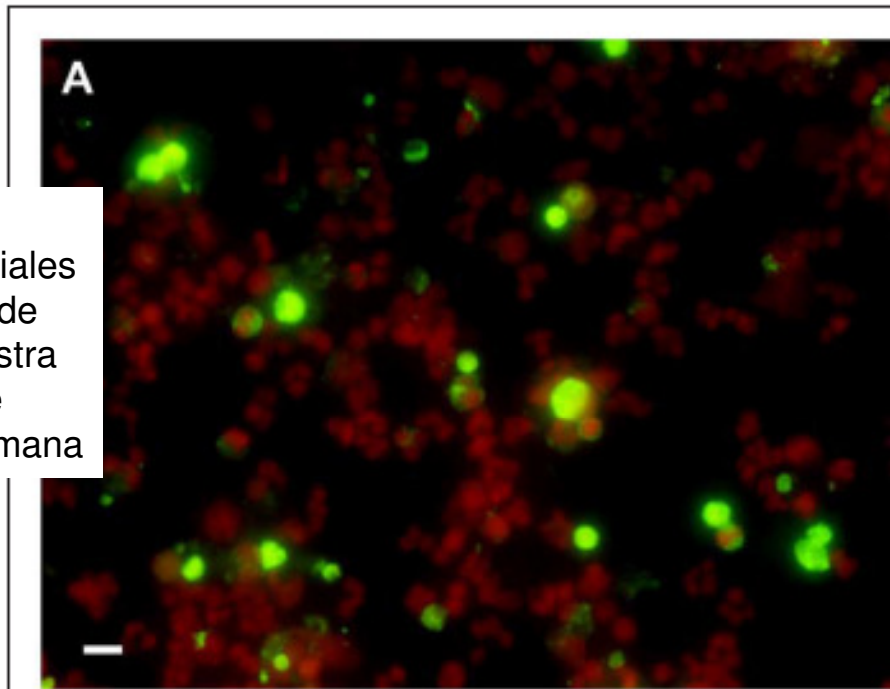


Zaglossus spp. Equidna pico largo

Monotreme lactation protein is highly expressed in monotreme milk and provides antimicrobial protection.
Enjapoori AK, et. al. *Genome Biol Evol.* 2014 Sep 22;6(10):2754-73.
Imágenes: www.zoo.org.au y www.google.com

Heterogeneidad de células en la leche humana y presencia de células madre pluripotenciales

Células mioepiteliales aisladas de una muestra fresca de leche humana

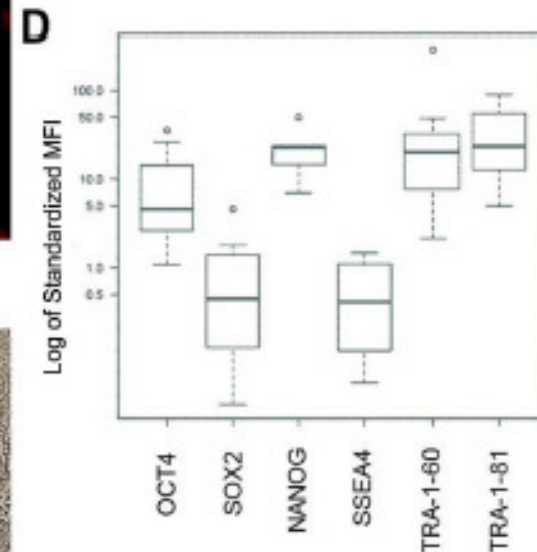
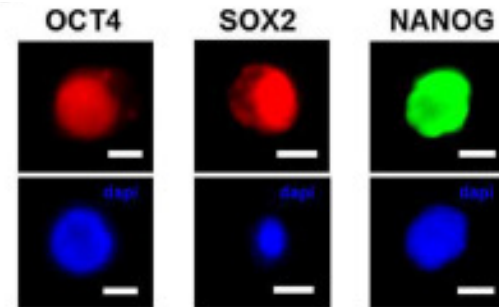


Colonia "luminal"

Colonia "mioepitelial"

Colonia mixta

Células aisladas de leche humana expresan marcadores de pluripotencialidad



¿Del pecho al cerebro?

Special Report

From Breast Milk to Brains: The Potential of Stem Cells in Human Milk

Alecia-Jane Twigger, BSc (Hons)¹, Stuart Hodgetts, PhD¹, Luis Filgueira, MD²,
Peter E. Hartmann, PhD³, and Foteini Hassiotou, PhD³



International Lactation
Consultant Association
A Worldwide Network of Lactation Professionals

Journal of Human Lactation
29(2) 136–139

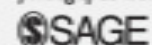
© The Author(s) 2013

Reprints and permission:

sagepub.com/journalsPermissions.nav

DOI: 10.1177/0890334413475528

jhl.sagepub.com



Hindawi Publishing Corporation
Neurology Research International
Volume 2014, Article ID 807896, 8 pages
<http://dx.doi.org/10.1155/2014/807896>

Research Article

Differentiation of Human Breast-Milk Stem Cells to Neural Stem Cells and Neurons

**Seyed Mojtaba Hosseini,^{1,2,3} Tahere Talaei-khozani,⁴
Mahsa Sani,^{1,2,3} and Bahareh Owrangi^{1,2}**

¹*Student Research Committee, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran*

²*Cell and Molecular Student Research Group, Medical Faculty, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran*

³*Stem Cell Laboratory, Department of Anatomy, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran*

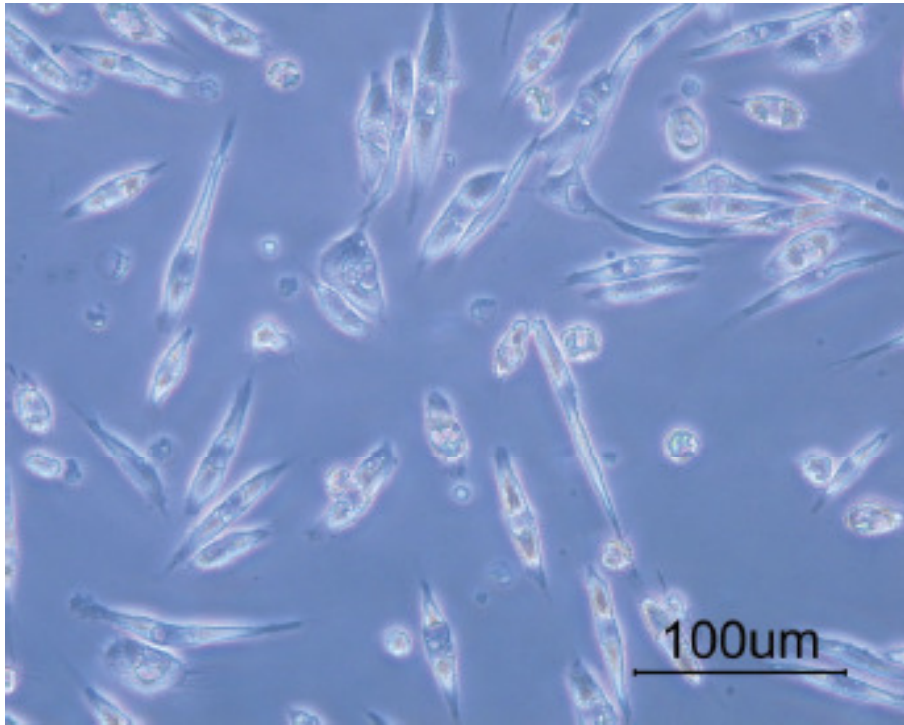
⁴*Department of Anatomy, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran*

Correspondence should be addressed to Seyed Mojtaba Hosseini; hoseini2010m@gmail.com

Received 7 July 2014; Revised 8 October 2014; Accepted 20 October 2014; Published 25 November 2014

Differentiation of human breast-milk stem cells to neural stem cells and neurons.
Hosseini SM1, Talaei-Khozani T2, Sani M1, Owrangi B3.

Neurol Res Int. 2014;2014:807896. doi: 10.1155/2014/807896. Epub 2014 Nov 25.



Mujeres amamantando donaron
5-200 ml de leche madura.

Las células aisladas de leche materna
se adhirieron a las placas de cultivo y
su morfología era similar a las células
mioepiteliales del pecho.

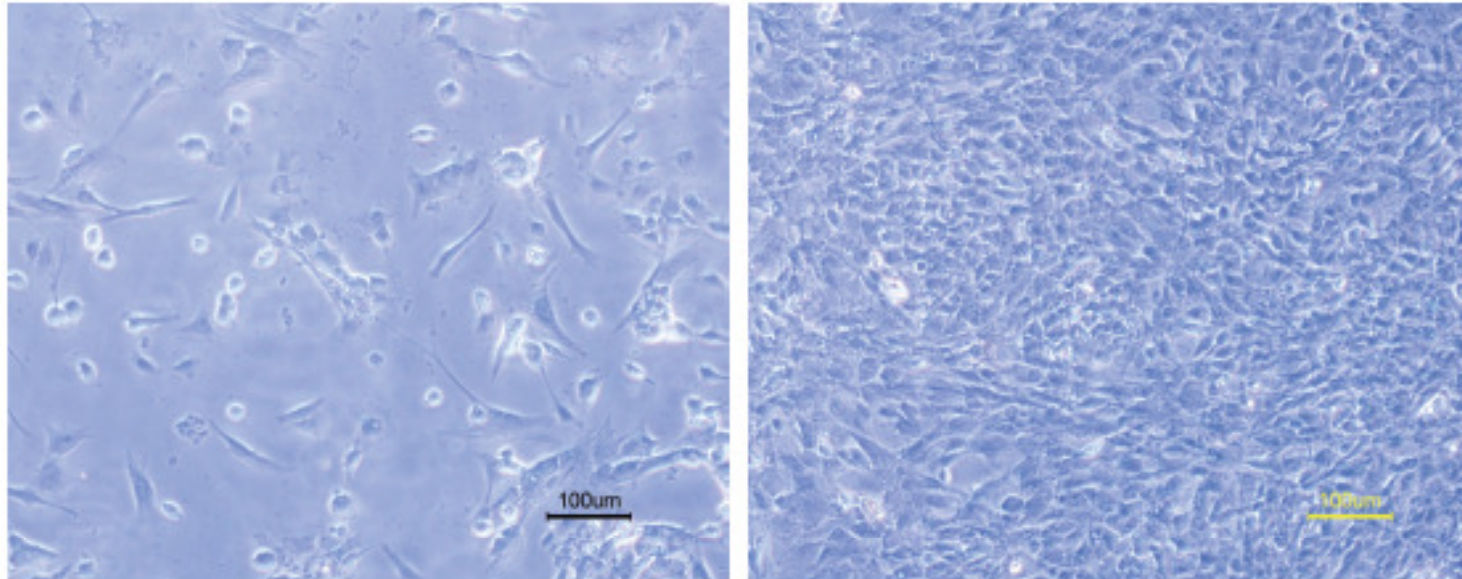
Porcentaje de células aisladas de Leche Materna que expresan varios marcadores característicos de células madre

CD44	CD105	CD90	CD106	SOX2	Nanog	OCT4/3	Nestin	CD133
67% ± 10.7	68.3% ± 3.91	19.7% ± 3.74	8.4% ± 2.36	57.3% ± 7.74	66.2% ± 6.52	42.9% ± 6.99	7.4% ± 3.30	2.76% ± 1.93

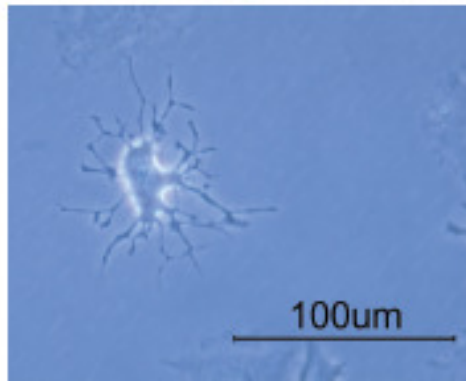
Marcadores de células madre embrionarias: Nanog, Sox2

Marcadores de células madre mesenquimales: CD44, CD105, CD106 y CD133.

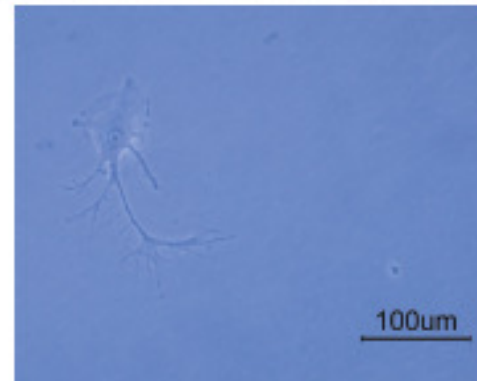
Marcadores de Células madre neurales: Nestina y CD133



(a) Neuron



(b) Oligodendrocyte



(c) Astrocyte

Differentiation of human breast-milk stem cells to neural stem cells and neurons.
Hosseini SM, *et. al. Neurol Res Int.* 2014;2014:807896.

Dada la abundancia de células en la Leche Humana 10 000-13 000 000 cels/ml

Si pensamos que un bebé consume entre 470-1350 ml de leche diariamente.
Podemos estimar que un bebé ingiere diariamente entre 5×10^6 y 17×10^9 células de la leche.

Considerando la abundancia de los marcadores de pluripotencialidad se podría estimar que cerca de <1% al 30% del total de células de la leche son células madre.

Un bebé consume, entonces, miles de millones de células madre (hBSCs) diariamente.

¿Cuál es el rol de las hBSCs en el lactante?

Anat Histol Embryol. 2012 Dec;41(6):461-8. doi: 10.1111/j.1439-0264.2012.01157.x. Epub 2012 May 23.

Confocal imaging of trans-epithelial trafficking by immune and umbilical cord stem cells in the neonatal porcine intestine.

Miller D¹, Packthongsuk K, Rathbun T, Boyle D, Troyer D, Davis DL.

Se ha demostrado que en cerditos, leucocitos ingeridos con la leche, pasan a través de la mucosa intestinal y entran a la circulación sistémica, alcanzando varios órganos donde contribuyen a la protección y al desarrollo inmunológico de la cría.

STEM CELLS®

EMBRYONIC STEM CELLS/INDUCED PLURIPOTENT STEM CELLS

Breastmilk Is a Novel Source of Stem Cells with Multilineage Differentiation Potential

FOTEINI HASSIOTOU,^{a,b} ADRIANA BELTRAN,^c ELLEN CHETWYND,^d ALISON M. STUEBE,^d ALECIA-JANE TWIGGER,^b PHILIPP METZGER,^{b,e} NAOMI TRENGOVE,^a CHING TAT LAI,^a LUIS FILGUEIRA,^b PILAR BLANCAFORT,^{b,c} PETER E. HARTMANN^a

“Las hBSCs entran en el sistema sanguíneo, para ser transportados a los distintos órganos. Esto puede resultar en micro quimerismo, mediante el cual las células madre maternas se integran a los órganos infantiles y contribuye a la homeostasis del tejido, su reparación y / o regeneración. Este fenómeno de intercambio de células madre se ha observado antes en la díada madre-cría de manera recíproca en el útero. Sugerimos que este proceso puede continuar después del nacimiento a través de la lactancia materna. El sistema inmunológico del lactante parece ser tolerante para antígenos maternos”.



Además de células, regulación...

[Theor Biol Med Model.](#) 2012 Jun 7;9:20. doi: 10.1186/1742-4682-9-20.

Integration of maternal genome into the neonate genome through breast milk mRNA transcripts and reverse transcriptase.

[Irmak MK¹](#), [Oztas Y](#), [Oztas E](#).

[BMC Genomics.](#) 2014 Nov 23;15:1012. doi: 10.1186/1471-2164-15-1012.

Differential temporal expression of milk miRNA during the lactation cycle of the marsupial tammar wallaby (*Macropus eugenii*).

[Modepalli V¹](#), [Kumar A](#), [Hinds LA](#), [Sharp JA](#), [Nicholas KR](#), [Lefevre C](#).

[Silence.](#) 2010 Mar 1;1(1):7. doi: 10.1186/1758-907X-1-7.

microRNA as a new immune-regulatory agent in breast milk.

[Kosaka N¹](#), [Izumi H](#), [Sekine K](#), [Ochiya T](#).

[Orv Hetil.](#) 2012 Oct 21;153(42):1647-50. doi: 10.1556/OH.2012.29463.

[Potential role for microRNAs in inter-individual and inter-species communication].

[Article in Hungarian]

[Igaz P¹](#), [Nagy Z](#), [Vásárhelyi B](#), [Buzás E](#), [Falus A](#), [Rác K](#).

[Genet Mol Biol.](#) 2013 Dec;36(4):465-74. doi: 10.1590/S1415-47572013005000040. Epub 2013 Oct 25.

microRNAs and the mammary gland: A new understanding of gene expression.

[Gigli I¹](#), [Maizon DO²](#).

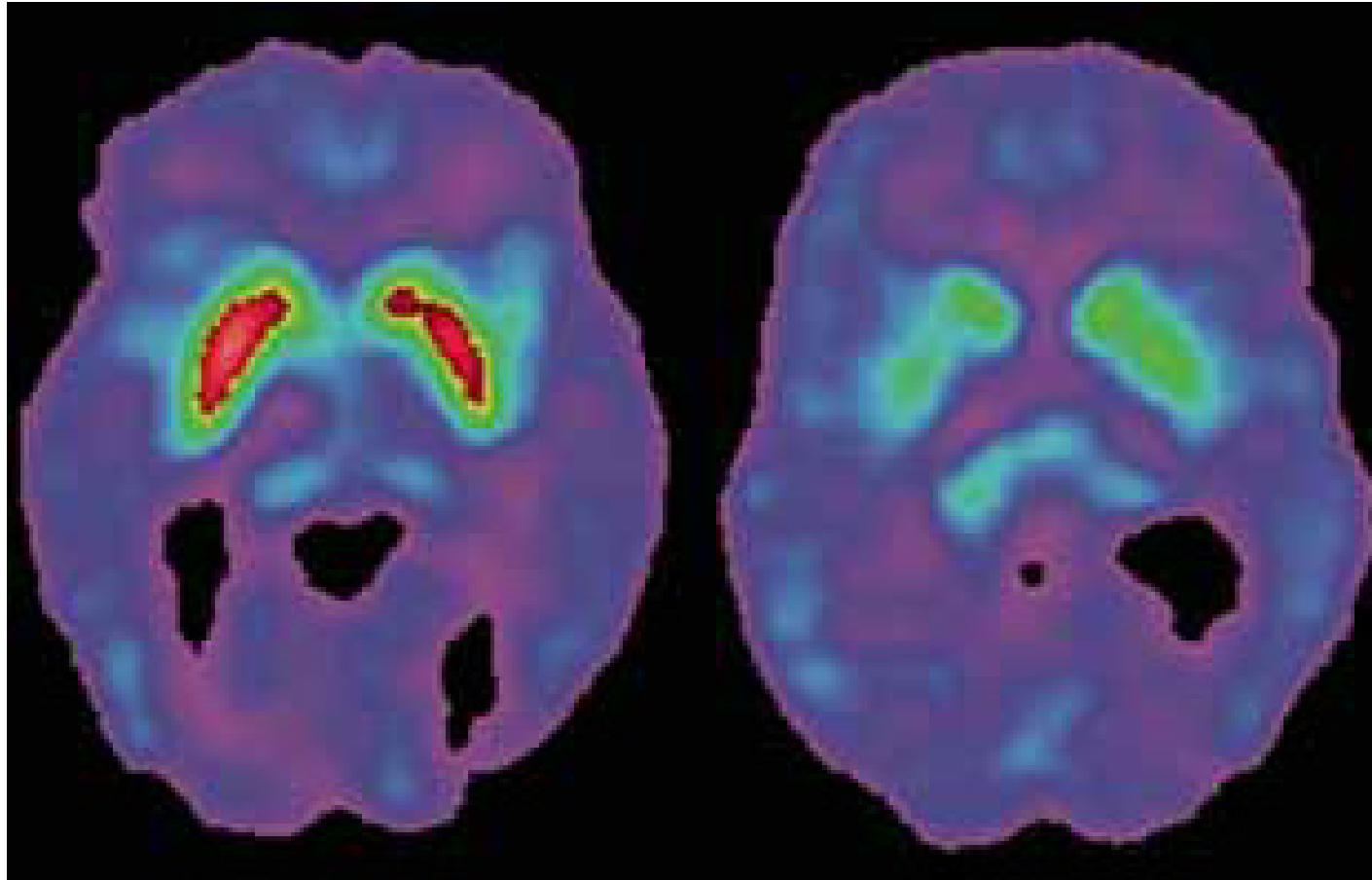
Usos potenciales de las células madre

- **Accidente cerebrovascular**
- **Lesiones cerebrales**
- **Enfermedad de Alzheimer**
- **Enfermedad de Parkinson**
- **Pérdida de piezas Dentales**
- **Cicatrización**
- **Transplante de médula ósea**
- **Lesiones de la médula espinal**
- **Osteoartritis**
- **Artritis reumatoide**



- **Calvicie**
- **Ceguera**
- **Sordera**
- **Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA)**
- **Infarto de Miocardio**
- **Distrofia muscular**
- **Diabetes**
- **Cáncer (Diversos)**
- **Enfermedad de Crohn**
- **Infertilidad**
- **Usos cosméticos**

¿Son realistas las promesas de la terapia con SCs?



Individuo sano

Paciente con Enfermedad de Parkinson

Imagen: Understanding stem cells. *National Academy of Science*. <http://www.nap.edu>
Cortesía de Dr. David A. Rottenberg, Professor of Neurology and Radiology, University of Minnesota.

Turismo de Células Madre



HGH & STEM CELL
Medical Clinic

Physician Prescribed - Medically
Supervised, Human Growth
Hormone Therapy

The Easy Way To Achieve
Health & Body Harmony

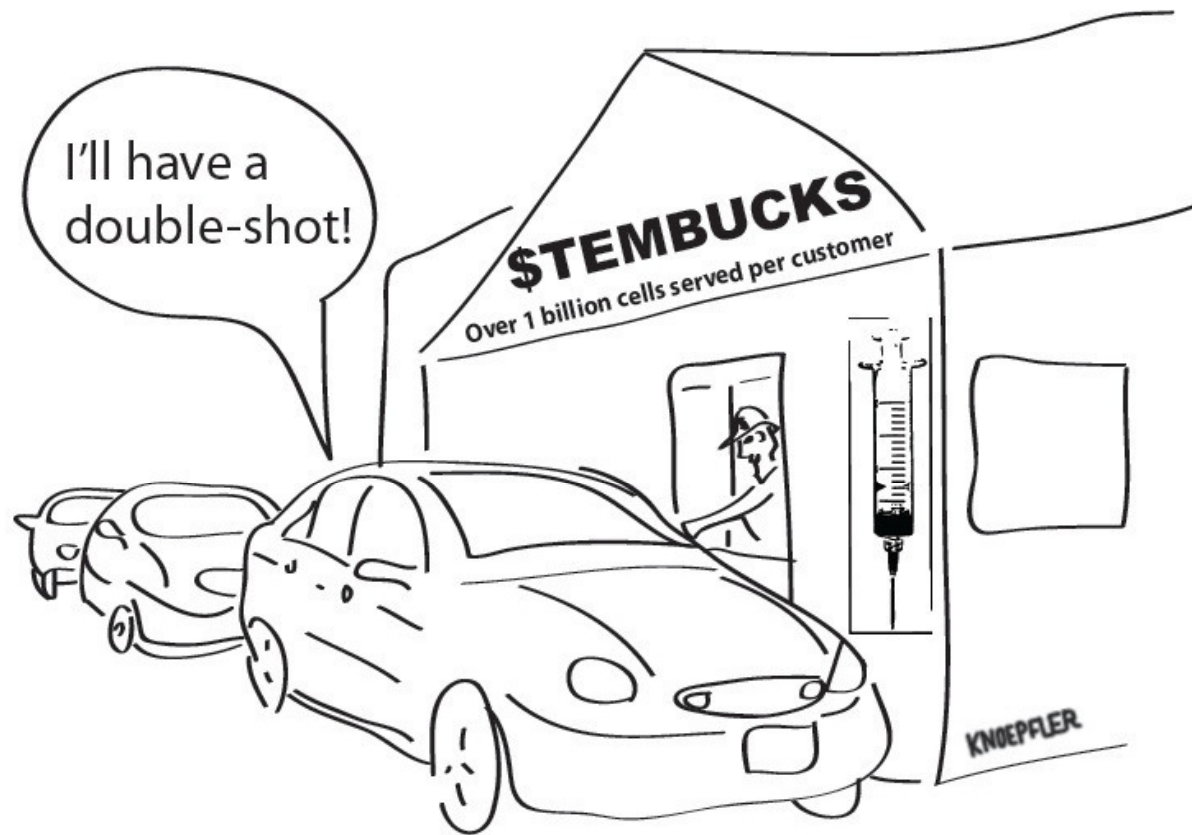
Stem-Cell Transplantation
Utilizing Pluripotent, Monopotent
& Neural Stem Cells



 **MEDIVET**
Biologics
Advanced Cellular Solutions

*Treat the Cause, Not Just the
Symptoms with MediVet
Stem Cell Therapy*

*On your next visit ask our staff
about stem cell therapy!*



“¡Voy a pedir un ‘Doubleshot!’”



APROXIMACIÓN A LAS CÉLULAS MADRE HUMANAS

En la investigación sobre Células Madre se deben tratar de conciliar tres aspectos:

“El respeto a la libertad de pensamiento del investigador quien debe considerar los límites que la sociedad espera para su actividad, los derechos de los enfermos que desean atenuar su sufrimiento y sus esperanzas de curación y, sobre todo, el respeto a la dignidad y al cuerpo humanos”.

“La legislación argentina, como se observará, regula puntualmente las células madre (progenitoras) hematopoyéticas, a través del Instituto Nacional Central Único Coordinador de Ablación e Implante (INCUCAI)”.



Ministerio de
Salud



Presidencia
de la Nación

“Actualmente se observa con frecuencia la divulgación y promoción de supuestos tratamientos realizados con células madre en nuestro país y en el extranjero, que generan falsas expectativas y son potencialmente peligrosos para la salud. El INCUCAI recuerda que cualquier uso de células madre que no sea el trasplante de Células Progenitoras Hematopoyéticas debe considerarse experimental y su práctica debe ser expresamente aprobada por las autoridades sanitarias”.

“La única práctica con células madre que ha demostrado seguridad y eficacia científica, la cual se realiza con éxito en miles de pacientes en nuestro país y en el mundo es el trasplante de Células Progenitoras Hematopoyéticas (CPH) en casos de enfermedades onco-hematológicas. Fuera de este tratamiento no existe evidencia clínica, ni tratamientos establecidos a nivel nacional e internacional, que hayan demostrado la eficacia del uso de células madre para curar otras enfermedades”.



"The cure to your disease came from stem cell research. Sign here if you wish to refuse treatment for moral, religious or ideological reasons."

“La cura para su enfermedad proviene de la investigación con células madre. Firme aquí si desea rechazar el tratamiento por razones morales, religiosas o ideológicas”.