

UNIVERSIDAD DE CIENCIAS MÉDICAS
SANTIAGO DE CUBA
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MORFOLÓGICAS
FACULTAD DE MEDICINA No. I



Jornada Científica Estudiantil



*Estado actual de la
terapia con células
madre en el
tratamiento de las
cardiopatías*

Autores: Rubén Eheser Díaz Samada

Estudiante de 2do Año de Medicina

Alumno Ayudante de Cirugía General

Saylín de las M. Casín Rodríguez

Estudiante de 2do Año de Medicina

Alumna Ayudante de Neurocirugía

Tutor: Lic. Alex Domínguez Fabars

Licenciado en Biología

Profesor Asistente de Embriología Humana

2016

"Año 58 de la Revolución"

RESUMEN

La aplicación de la medicina regenerativa en pacientes con enfermedades cardiovasculares, ha sido objeto de numerosas investigaciones en los últimos años. Los primeros intentos se iniciaron en el laboratorio con células embrionarias, después se comenzaron a inyectar miocitos autólogos, obtenidos del músculo esquelético y cultivado antes de su inyección, más recientemente surgió la célula madre hematopoyética adulta de la médula ósea y aún se siguen ampliando las opciones de terapia a través de estas células. Por lo que se realizó una revisión bibliográfica con el objetivo de profundizar acerca de la utilización de esta terapia en el tratamiento de cardiopatías. Para lo cual se consultaron 56 artículos. Se constató que este tratamiento es más económico y menos limitado que otras variantes como el trasplante y los dispositivos mecánicos ventriculares, además rompió con el dogma de que el miocardio no tenía posibilidades de regenerarse después de un daño celular.

Palabras clave: células madre, cardiopatía, medicina regenerativa, reparación miocárdica

INTRODUCCIÓN

El término cardiopatía se refiere a las enfermedades propias de las estructuras del corazón. Prácticamente hasta el siglo XVIII, estas afecciones eran desconocidas, no se hablaba de ellas en los tratados de Medicina, e incluso se negaba su existencia. Hipócrates (Cos, 460 a.n.e - Tesalia 370 a.n.e) tenía ideas muy rudimentarias del corazón, plasmadas en el famoso Corpus Hipocrático (en latín, Corpus Hippocraticum) que es una colección de unas setenta obras médicas de la antigua Grecia escritas en griego jónico y que ha sido traducida a muchos idiomas y dividido en volúmenes de acuerdo a los temas que abordan los documentos, en dos de ellos se habla del corazón. Por otra parte Galeno (Pérgamo 130 d.n.e – Roma 200 d.n.e) cuya doctrina predominaría a través de los tiempos, tenía un concepto más cercano a la realidad, pero presentaba grandes lagunas en sus conocimientos.⁽¹⁾

Esto se mantuvo así por muchos años y solo personalidades como Miguel Servet o Andrés Vesalio en 1543, cuando publicó en Basilea su obra en siete volúmenes "De humanicorporis fábrica", y dedica el quinto al corazón y los órganos que le auxiliaban, se atreverían a contradecir los antiguos dogmas anatómicos. ⁽¹⁾

A pesar de múltiples intentos por científicos de la época de dar respuestas a problemas relacionados con afecciones cardíacas no es hasta el siglo XIX que comienza un auge en las ciencias, particularmente en las ciencias médicas y con este desarrollo aparecen nuevos descubrimientos que van a permitir sentar las bases científicas del conocimiento de la cardiología, entre ellos tenemos: el estetoscopio que sirvió para mejorar la calidad de la auscultación inventado por René Théophile Hyacinthe Laënnec, un médico francés que es considerado el padre de la neumología; la descripción de los soplos de corazón y el descubrimiento de los rayos X por el físico Wilhelm Conrad Roentgen en 1895, que más tarde le permitió ganar el Premio Nobel de Física en 1901 y del electrocardiograma por Willem Einthoven, gracias a este hallazgo le fue otorgado el Premio Nobel de Fisiología y Medicina en 1924.⁽²⁾

Luego hubo una etapa en la que la mayoría de las alteraciones en el funcionamiento cardíaco eran corregidas a través de la cirugía, ya que esta había alcanzado un gran auge a través de la invención de la máquina de circulación extracorpórea y la utilización de la hipotermia profunda en las prácticas quirúrgicas. ⁽³⁾

No es hasta la década de 1950, específicamente en 1957 donde comienza el gran avance en el tratamiento clínico de las cardiopatías liderado en gran parte por la creación del marcapasos, en este año el ingeniero Earl Bakken de Minneapolis, Minnesota, construyó el primer marcapasos externo que podía llevarse puesto para un paciente del doctor C. Walton Lillehei. Luego en 1958 ocurre la primera implantación clínica de un marcapasos interno en un humano fue hecha por el cirujano Åke Senning en el Instituto Karolinska en Solna, Suecia, usando un marcapasos diseñado por Rune Elmquist. ⁽⁴⁾

En años siguientes se comenzó a hablar de la utilización de las células madre en la terapia regenerativa miocárdica, ya que era muy común que luego de un infarto del miocardio o en ocasiones de una cirugía cardíaca el corazón no tuviera una remodelación normal, quedando algunas veces restos de lesión que a largo plazo producían afectaciones. Hubo varios médicos de la época, en especial cardiólogos y cirujanos cardiovasculares que introdujeron en el tratamiento de cardiopatías las células madre, principalmente autólogas, entre estos se destacó el argentino Federico Benetti, considerado el padre de la cirugía coronaria sin bomba de circulación extracorpórea y pionero mundial en la implantación de células madres en pacientes con insuficiencia cardíaca, este mostró un estudio multicéntrico de 50 pacientes que recibieron cirugía de bypass coronario y a los que también se le implanto células madres autólogas, es decir del mismo paciente, provocando en ellos un mejoramiento en su función cardiovascular a través de la aplicación directa de las células autólogas al corazón, solo que surgieron controversias en cuanto al uso de este método y su aplicación decayó notablemente. ⁽⁵⁾

Estos antecedentes propiciaron que en los años siguientes se produjeran grandes avances en el tratamiento de las cardiopatías, tanto farmacológicos como quirúrgicos, pero a pesar del enorme progreso de la terapia farmacológica, la masificación de la angioplastia primaria y la incorporación de nuevos dispositivos, las cuales tienen un positivo efecto sobre el pronóstico y la calidad de vida ampliamente reportada; las tasas de hospitalización y mortalidad cardiovascular han permanecido elevadas y representan considerables costos de salud.⁽⁶⁾ Además las enfermedades cardiovasculares representan actualmente la primera causa de muerte en el mundo por sobre el cáncer y las enfermedades infecciosas.⁽⁷⁾

Su incidencia ha presentado un significativo incremento, incluso a edades tempranas, fenómeno asociado a la mayor prevalencia de factores de riesgo cardiovascular.⁽⁸⁾

Las cardiopatías llamadas por muchos “el azote de la vida moderna”, constituyen en la actualidad la primera causa de muerte en los países desarrollados. Sin embargo en los subdesarrollados no constituyen un fenómeno despreciable. Datos disponibles reportados por la Organización Mundial de la Salud (OMS) refieren que Finlandia es el país con mayor incidencia de enfermedades coronarias, con 835 por cada 100 000 habitantes entre los hombres y el Reino Unido 265 por cada 100 000 habitantes entre las mujeres.⁽⁷⁾

De acuerdo con datos publicados en la sección de noticias sobre enfermedades cardiovasculares de la Organización Mundial de la Salud, en Internet, se reportaron 7.1 millones de muertes por cardiopatías en todo el mundo en 2009; la Organización Mundial de la Salud estima que en el 2020 esta entidad sea la causa de alrededor 11.1 millones de muertes anuales. Según el sexo se observa una mayor mortalidad masculina, más evidente para la cardiopatía isquémica aguda; en España los hombres mueren más que las mujeres por Infarto Agudo del Miocardio, a razón de 3:1 y la prevalencia es de 7 por 1 000 habitantes en

mayores de 15 años y su incidencia en el 2011 fue de 1,7 por 1 000 habitantes mayores de 15 años, con una letalidad alarmante de 65,2 %.⁽⁸⁾

La mortalidad extrahospitalaria constituye el 62,1 %. Se produce la mayor cantidad de muertes entre los mayores de 65 años, que aportan alrededor del 85% de los fallecidos por esta enfermedad. En América Latina las enfermedades cardiovasculares constituyen la primera causa de muerte en 31 de los 35 países que reportan causas de mortalidad; siendo Argentina, Canadá, Estados Unidos, Trinidad Tobago y Uruguay los primeros en este indicador. ⁽⁸⁾

Desde hace más de 40 años las enfermedades del corazón encabezan las estadísticas cubanas de salud como principal causa de muerte, con ligera disminución hacia finales de la década de los 90; entre ellas, la cardiopatía isquémica es la primera causa de muerte, responsable de una de cada cuatro que ocurren en el país y representa casi el 80 % de todas las defunciones por enfermedades cardiacas en ambos sexos. ⁽⁸⁾

Según el Anuario Estadístico del MINSAP en el 2011 el número de fallecimientos por enfermedades isquémicas del corazón fue 15 402, con una tasa de mortalidad de 137.1 por cada 100 000 habitantes y en el 2014 hubo 23 626 defunciones a causa de las cardiopatías con una tasa de mortalidad de 211.6 por cada 100 000 habitantes.⁽⁹⁾

En cuanto a la afectación en la parte pediátrica la reducción de la tasa de mortalidad por cardiopatías en niños menores de un año y que la mayoría de estos arriben a la edad adulta, confirman la validez de la Red Nacional de Cardiopediatría en Cuba durante sus 30 años de existencia. La doctora Herminia Palenzuela, coordinadora de la mencionada red, refirió la calidad lograda en el archipiélago en la atención al paciente cardiópata gracias al programa que, con carácter sistémico, se desarrolla en la Isla y en el que intervienen tanto el nivel primario como el secundario de salud.

La remisión inmediata al cardiocentro William Soler, en La Habana, de pequeños con cardiopatías críticas y de anatomía compleja ha salvado muchas vidas en Cuba, aseguró la profesora Palenzuela. Agregó la especialista que también se cumplen satisfactoriamente los protocolos de traslado hacia la capital, de las embarazadas con fetos portadores de anomalías severas en el corazón.⁽¹⁰⁾

Los doctores Pedro Hernández y Enrique Balea plantean en su investigación: Medicina regenerativa. Células madre embrionarias y adultas, que a pesar de las políticas de salud en cuanto a programas de educación sanitaria, desarrollo de la atención primaria y mejoras en la atención secundaria a los pacientes con cardiopatía isquémica, las tasas de mortalidad se mantienen elevadas, por lo que se continúa incrementando el arsenal terapéutico para luchar contra esta entidad.⁽⁹⁾

Los autores hemos podido observar con la investigación que el arsenal terapéutico disponible no ha logrado revertir en su totalidad los cambios mal adaptativos del miocardio, producto de la isquemia u otras injurias, lo cual conduce a un remodelamiento patológico del miocardio, pérdida progresiva de la función contráctil y el desarrollo de insuficiencia cardíaca.

Estos importantes resultados epidemiológicos y clínicos han impulsado el desarrollo de nuevas formas de tratamiento de las enfermedades cardiovasculares y sus complicaciones, como es el caso de la terapia con células madre, basada fundamentalmente en los nuevos conocimientos sobre las células madre y en su capacidad de convertirse en células de diferentes tejidos.⁽⁹⁾

La aplicación de la medicina regenerativa en pacientes con enfermedades cardiovasculares, ha sido objeto de numerosas investigaciones en los últimos años, tanto en procesos agudos como el infarto del miocardio, crónicos como la cardiopatía isquémica, o ambas situaciones. Diferentes fuentes de células se han utilizado. Los primeros intentos se iniciaron en el laboratorio con células embrionarias, después se comenzaron a inyectar miocitos autólogos, obtenidos del músculo esquelético y cultivado antes de su inyección. Más recientemente surgió

como una nueva alternativa ya bien conocida célula madre hematopoyética adulta de la médula ósea. Se ha hecho evidente que las células de la médula ósea tienen la capacidad de diferenciarse hacia cardiomiocitos. El mecanismo por lo que esto ocurre no está aún bien dilucidado; se plantea que se debe a la plasticidad de estas células, cuando son inyectadas directamente en el área isquémica durante una cirugía de derivación o bien por vía intracoronaria, por vía transendocárdica o por vía sistémica. Lo que sí es una realidad es que esta terapia ha tenido grandes resultados en su aplicación por todo el mundo. En toda la literatura a nivel mundial se han comunicado varios estudios al respecto. En ellos se ha demostrado la factibilidad, eficiencia e inocuidad del proceder.⁽⁸⁾

La introducción de esta alternativa terapéutica en Cuba también ha transitado por diferentes etapas, y gradualmente se han ido incorporando los adelantos tecnológicos y la experiencia internacional en este campo. Aunque los antecedentes de esta terapia datan de varios años antes, es en 1985 cuando realmente se introducen en nuestro país con los requisitos científico-técnicos adecuados, al realizarse ese año el primer trasplante alogénico en el Instituto de Hematología e Inmunología y el primero autólogo en el Hospital Clínico Quirúrgico "Hermanos Ameijeiras" . Luego se ha extendido este tratamiento a lo largo del país, principalmente en los centros especializados y ha demostrado tener efectos beneficiosos a corto y largo plazo y además gran aceptación por los pacientes.⁽¹¹⁾

En su disertación del tema el profesor Hernández Ramírez indicó que la terapia celular ha sido introducida ya en 14 provincias, mientras, suman 9 124 los casos a los cuales se les aplicó el promisorio método en la Mayor de las Antillas, desde febrero del 2004 hasta el cierre del pasado año, fundamentalmente en las especialidades de angiología, ortopedia y traumatología, aunque ha comenzado su aplicación en la cardiología. Igualmente el doctor en Ciencias José Armando Galván Cabrera, especialista de segundo grado en Bioquímica Clínica del Instituto de Hematología e Inmunología, resaltó que, si bien la terapia con células madre adultas ofrece un futuro esperanzador en la solución de complejas enfermedades,

habrá que determinar, sin exceso de optimismo ni pesimismo, la verdadera dimensión de su utilidad.⁽¹²⁾

Un total de 1 612 nuevos pacientes cubanos fueron tratados con células madre durante el 2015, cifra que sitúa a nuestro país dentro del reducido grupo de naciones del mundo que han comunicado una tasa de más de cien casos atendidos mediante la también llamada terapia celular por diez millones de habitantes. Así lo informó el doctor en Ciencias Porfirio Hernández Ramírez, coordinador del Grupo de Medicina Regenerativa y Terapia Celular del Ministerio de Salud Pública, durante una conferencia magistral impartida en la recién efectuada Convención Ibero-Latinoamericana de Ciencias Básicas Biomédicas 2016, que reunió en la Escuela Latinoamericana de Medicina (ELAM) a profesores, investigadores y estudiantes de Estados Unidos, España y Cuba.⁽¹²⁾

En el Centro de Investigaciones Médicoquirúrgicas (CIMEQ) se trataron 7 pacientes con un primer infarto Q de 1 a 7 días de evolución. Cinco enfermos rebasaban el año de seguimiento. La lesión culpable se localizó en la arteria descendente anterior en 4 pacientes, en la coronaria derecha en 2, y en la circunfleja en 1. Al ingreso, la mayoría estaba en un grado \geq II según Killip-Kimbal.⁽¹³⁾

En los enfermos con infarto agudo se colocó un *stent* liberador de droga en la lesión culpable y se estimuló la médula ósea con factor estimulante de colonias de granulocitos, y se implantaron por vía intracoronaria las células mononucleares obtenidas mediante aféresis realizadas con el separador automático de células. En los enfermos con infarto del miocardio previo e insuficiencia cardiaca, las células aspiradas de la médula ósea y separadas por gradiente de densidad con Ficoll, se inyectaron directamente en la pared miocárdica durante el acto quirúrgico realizado para una derivación vascular, o a través de un catéter balón colocado en la arteria relacionada con el infarto durante una angioplastia coronaria. Se obtuvo una mejoría de la función ventricular demostrada por los métodos evaluados, sin eventos cardiovasculares mayores.⁽¹⁴⁾

A esto puede sumarse la aplicación de algo más de 1 000 componentes plaquetarios como aporte de proteínas bioactivas. Como reconocimiento a esta actividad se ha señalado que Cuba es una de las pocas naciones en desarrollo que están introduciendo terapias regenerativas adecuadas a las necesidades y la capacidad de sus sistemas de atención a la salud.⁽¹⁵⁾

Justificación de la investigación:

Las cardiopatías constituyen actualmente un grave problema de salud tanto a nivel nacional como internacional, siendo consideradas como un punto priorizado del MINSAP. Durante los últimos años se ha incrementado la incidencia de estas enfermedades, así como de sus complicaciones, secuelas y su elevada mortalidad. Unido a la necesidad evidente de optimizar el tratamiento de los pacientes con esta enfermedad a través de técnicas menos invasivas, más eficaces y seguras se ha implementado durante la última década la utilización de células madre en el tratamiento de las cardiopatías, esta opción terapéutica se ha convertido en una gran alternativa para pacientes con dicha entidad ya que este tratamiento ayuda a disminuir la morbimortalidad por esta causa mejorando los indicadores de funcionamiento cardíaco y la calidad y expectativa de vida de los pacientes intervenidos, además no se han reportado efectos adversos graves producidos por su uso en los estudios realizados. Pero a pesar de los beneficios ofrecidos por esta técnica, por su novedad aun no existen suficientes materiales de consulta acerca de este novedoso método terapéutico lo cual nos llevó a realizar la presente investigación.

Problema Científico:

¿Cuál es el estado actual de la utilización de células madre en el tratamiento de las cardiopatías?

OBJETIVO

- ✚ Profundizar acerca de la utilización de la terapia con células madre en el tratamiento de cardiopatías.

DESARROLLO

Una célula madre es una célula que tiene la capacidad de autorrenovarse mediante divisiones mitóticas o bien de continuar la vía de diferenciación para la que está programada y, por lo tanto, producir células de uno o más tejidos maduros, funcionales y plenamente diferenciados en función de su grado de multipotencialidad. Por ende estas células tienen la capacidad de dividirse sin perder sus propiedades y pueden diferenciarse en otras células. La mayoría de los tejidos de un individuo adulto poseen una población específica propia de células madre que permiten su renovación periódica o su regeneración cuando se produce algún daño tisular. Para su estudio pueden ser clasificadas según su función, origen anatómico u embriológico, así como por sus marcadores celulares de superficie, factores de transcripción o proteínas características. Quizá la división más clara para su agrupación es el origen embrionario, (Véase Anexo 1) que las divide en dos grupos principales, células madre embrionarias y adultas.⁽¹²⁾

Las células madre adultas pueden ser derivadas de médula ósea, circulantes o específicas de tejido. En la médula ósea encontramos la subpoblación de células madre hematopoyéticas, células madre mesenquimatosas, células progenitoras endoteliales, células adultas progenitoras multipotenciales. Otras poblaciones de células madre adultas incluyen aquellas de origen fetal y de cordón umbilical, mioblastos esqueléticos, del tejido adiposo, las células residentes progenitoras cardíacas, además de una novedosa población pluripotente que puede ser inducida a partir de fibroblastos⁽¹⁷⁾, a través de reprogramación nuclear utilizando genes ectópicos.⁽¹⁸⁾

Células madre embrionarias

Son células pluripotenciales con la mayor capacidad de regeneración tisular, ya que se puede obtener una cantidad indeterminada de cardiomiocitos a partir de estas células. Se derivan del blastocisto y son capaces de diferenciarse a

cualquier tipo celular del organismo, incluyendo cardiomiocitos. Su ventaja radica en una menor inmunorreactividad, debido a la menor cantidad de proteínas de superficie antigénicas. Un creciente volumen de evidencia preclínica, avala su gran potencial patología de índole cardíaca. ⁽¹⁹⁾

Existen sin embargo, dudas razonables respecto a su eventual efecto tumorigénico y/o inmunogénico, lo que ha dificultado por ahora su traslado a la clínica, además su uso se ha visto limitado por causas de tipo ético. ^(20,21)

Células madre adultas o multipotenciales

Las células madre multipotenciales son capaces de diferenciarse a un espectro más limitado de tipos celulares maduros, dentro de un mismo linaje germinal. ⁽²²⁾

Se encuentran en prácticamente todos los órganos de organismos multicelulares, independiente de su tasa de recambio celular en condiciones fisiológicas, confinadas en microambientes o nichos que regulan su actividad. ⁽²³⁾

Si bien se presume que las células multipotenciales tendrían función y diferenciación específica para cada tejido, evidencias recientes sugieren que bajo ciertas condiciones pueden reprogramarse y diferenciarse a células de otros tejidos, capacidad conocida como plasticidad o transdiferenciación celular. ⁽²⁴⁾

Esto permite obtener células madre de fuentes con una mayor cantidad de células madre y más fácilmente asequibles. Adicionalmente, estas células pueden ejercer un efecto paracrino mediante la secreción de citoquinas y factores de crecimiento. ⁽²⁵⁾

- **Células madre hematopoyéticas:**

Las células madre hematopoyéticas son identificadas por sus marcadores de superficie CD34⁺ y CD133⁺, son utilizadas para el tratamiento de las enfermedades hematológicas. Pueden distinguirse diversas subpoblaciones de

estas células según sus marcadores de superficie. Tienen capacidad de diferenciarse a células endoteliales. Estas han sido investigadas como posibles poblaciones candidatas en reparación cardíaca. ⁽²⁶⁾

Estas poblaciones de células hacen que se movilicen la circulación usando agentes farmacológicos como el factor estimulante de las colonias de granulocitos. ⁽²⁷⁾

Las células de CD34⁺ contienen más células determinadas por el linaje endotelial y han sido evaluadas anteriormente tanto en la angina refractaria como en el Infarto Agudo de Miocardio. ⁽²⁸⁾

- **Células mesenquimales:**

Representan una rara población celular en los tejidos del adulto con fenotipo CD34⁻ CD133⁻, CD90⁺, CD105⁺, CD166⁺, y que pueden diferenciarse a osteocitos, condrocitos, cardiomiocitos, células endoteliales, adipocitos y músculo liso. Pueden obtenerse de la médula ósea y sangre periférica y han sido aisladas en diversos tejidos adultos (médula ósea, tejido adiposo, cordón umbilical, placenta), presentando diferentes morfologías, capacidades de diferenciación y expresión génica según la fuente de origen. ⁽²⁹⁾

Estas células como ya se mencionó anteriormente pueden diferenciarse a cardiomiocitos, previniendo la remodelación y mejorando la movilidad miocárdica, además de incorporarse a la neovasculatura con forma de células endoteliales y de músculo liso. ⁽³⁰⁾

Estas células se han manipulado genéticamente mediante transducción con vectores, con fines de mejorar la anidación celular y la supervivencia postransplante, por lo que representan una de las líneas celulares más estudiadas y más prometedoras en la actualidad. ⁽³¹⁾

Dada su baja inmunogenicidad, las células madre mesenquimales pueden ser implantadas en pacientes de edad avanzada o con patologías crónicas. Esta propiedad alogénica, resulta particularmente útil considerando que la efectividad de la terapia celular depende de la capacidad proliferativa de las células administradas, capacidad afectada negativamente por la edad, los factores de riesgo cardiovascular y patologías crónicas.⁽³²⁾

- **Células progenitoras endoteliales:**

Normalmente radican en la médula ósea y puede ser liberadas a la circulación, después del daño miocárdico. Expresan las moléculas CD133+, CD34+ y VEGFR-2, poseen la capacidad de incorporarse a los sitios de neovascularización y diferenciarse a células endoteliales. Han demostrado aumentar la neovascularización, disminuir la dilatación ventricular y preservar la función sistólica post-infarto. Una de sus limitantes es el número restringido de células, que se pueden obtener de cada paciente.⁽³³⁾

- **Células de cordón umbilical y origen fetal:**

La sangre del cordón umbilical fue entrando en escena muy gradualmente en el año 1988, cuando a un joven que padecía de anemia de Fanconi se le realizó el primer trasplante con células de sangre del cordón umbilical. El primer trasplante con células sanguíneas del cordón umbilical entre personas que no poseían ninguna clase de parentesco se llevó a cabo en el año 1993 en la Universidad Duke. En el año 1999 se llevó a cabo otro impresionante descubrimiento científico; cuando un grupo de científicos manipularon por primera vez células de ratón para poder generar células especiales—proceso conocido con el nombre de diferenciación. El año 2001 pudo ser testigo privilegiado de la transformación de una célula madre en una célula sanguínea. En la actualidad, se realizan cada año aproximadamente 500 trasplantes utilizando sangre del cordón umbilical.⁽³⁴⁾

Los autores constataron en la investigación que estas células poseen gran plasticidad dado su origen prenatal.

Sin embargo, a pesar de que han demostrado tener potencial proliferativo y de diferenciación, los resultados en estudios animales han sido contradictorios con respecto a la mejora en la función ventricular izquierda. En el primer estudio de este tipo, los investigadores encontraron que las células madre fetales de la placenta podían trasladarse al corazón de la madre particularmente al lugar donde ocurrió una lesión, como un ataque al corazón. Una vez trasladadas las células madre luego se reprograman para ayudar a las células madre cardíacas en su reparación.⁽³³⁾

Los científicos también imitaron esta reprogramación in vitro, y demostraron que las células fetales superaban a las células del corazón en el cultivo celular, que tiene amplias implicaciones de largo alcance en el tratamiento de las enfermedades del corazón. Estudios previos han documentado un fenómeno en el que la mitad de las mujeres con un tipo de insuficiencia cardíaca conocida como la miocardiopatía periparto vio su condición recuperarse espontáneamente en los meses después del embarazo.⁽³³⁾ (Véase Anexo 2).

Basándose en esta evidencia, el equipo de científicos querían determinar si las células madre fetales desempeñan un papel en la recuperación de la madre. Utilizando la proteína verde fluorescente en los fetos de ratones etiquetaron las células madre fetales derivadas de la placenta, y encontraron que las células madre de color verde fluorescían en los corazones heridos de sus madres, cuando eran injertadas en el tejido dañado y eran capaz de diferenciarse en células de músculo liso, en células de los vasos sanguíneos y en cardiomiocitos.⁽³³⁾

Con una comprensión más amplia del papel de las células madre fetales, aislaron las células fetales que se había injertado en el corazón de la madre y volvieron a crear el ambiente in vitro. Hasta ahora, los investigadores han tenido un éxito limitado en descubrir el potencial regenerativo de las células madre en

enfermedades del corazón. Esta investigación ha encontrado que las células fetales pueden ser potencialmente un agente terapéutico viable. Estos hallazgos tienen implicaciones más allá de las enfermedades cardiovasculares. Las células madre fetales sólo viajó a la zona de la lesión en el corazón dañado, y no a otros órganos en buen estado, es decir, la investigación sobre los beneficios de estas células en los órganos dañados por otras enfermedades sería beneficioso.⁽³⁵⁾

Los autores coinciden con doctores como Julien Rina y Paolla Bollicon que esta investigación demuestra que las células madre fetales juegan un papel importante en la inducción de reparación cardíaca materna. Una contribución emocionante que tiene amplias posibilidades terapéuticas en la medicina regenerativa cardiovascular.

- **Mioblastos esqueléticos:**

Son células que se encuentran en las fibras musculares, pueden ser utilizadas como precursores celulares para formar nuevos miocitos. Se obtienen mediante biopsia muscular, lo cual facilita su trasplante autólogo. Tienen una mayor resistencia a la isquemia, lo que permite su integración a tejidos con pobre irrigación sanguínea como en los pacientes con cardiopatía isquémica. Han demostrado disminuir la disfunción ventricular izquierda y mejorar la función sistólica, aumentando la capacidad de ejercicio.⁽³⁶⁾

También han sido probadas como fuente celular para la reparación cardíaca, tienen la ventaja de que pueden obtenerse a partir de biopsias musculares esqueléticas del propio paciente y de que son resistentes a la isquemia, favoreciendo su supervivencia e injerto en áreas poco perfundidas, por lo que pueden dificultar la conductividad del tejido cardíaco. En Europa y Estados Unidos se han iniciado ensayos clínicos, en los que se ha observado mejora en la mayoría de los pacientes; aunque en algunos casos se han detectado arritmias debido, en parte, al incorrecto acoplamiento entre las células trasplantadas y las del tejido objetivo.⁽³⁷⁾

- **Células residentes progenitoras cardíacas:**

Estas células han sido aisladas en el tejido cardíaco. Sus características principales son el carácter autólogo y la posibilidad de expansión *in vitro*. Pueden diferenciarse a células endoteliales, de músculo liso y cardiomiocitos, además de poder integrarse funcionalmente al tejido miocárdico local. Messina y colaboradores han descrito acúmulos celulares denominados "cardioesferas", derivados de cultivos de células de origen atrial o ventricular de corazones adultos de humanos, estos acúmulos demostraron marcadores de células progenitoras y vasculares. Además, tienen propiedades de células madre cardíacas y se diferencian en cardiomiocitos y células vasculares. ⁽³⁸⁾

Los autores están de acuerdo con que la identificación de estas como células endógenas del miocardio, rompe un paradigma de la fisiopatología cardiovascular, al demostrar que el corazón si es un órgano post mitótico incapaz de auto-renovarse. Es posible aislarlas y expandirlas desde biopsias miocárdicas realizada mediante un procedimiento mínimamente invasivo o quirúrgico.

Tendrían un mayor compromiso de diferenciación hacia cardiomiocitos, células musculares lisas y células endoteliales, manteniendo un importante componente paracrino. Aún es motivo de investigación si subpoblaciones de estas células (diferenciadas por marcadores moleculares) poseen distintos efectos terapéuticos. ⁽³⁹⁾

- **Células madre de tejido adiposo:**

El tejido adiposo ha adquirido en los últimos años un importante potencial en la medicina regenerativa, debido a las características reparadoras de las células madre mesenquimales que se extraen de la grasa. En el ámbito de las patologías cardiovasculares, ha sido en la enfermedad cardíaca coronaria y, en concreto, en el infarto de miocardio, donde estas células madre han demostrado seguridad y eficacia, según varios ensayos preclínicos y los primeros resultados en estudios

clínicos. Un artículo de revisión publicado en Revista Española de Cardiología(REC), cuya primera firmante es la Dra. Lina Badimón, vicepresidenta de la Sociedad Española de Cardiología (SEC) y del Centro de Investigación Cardiovascular, CSIC-ICCC, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau de Barcelona, pone en relieve el potencial de estas células en la enfermedad isquémica coronaria y, tras analizar los ensayos clínicos fases I y II, es decir, aún iniciales, concluye que su uso preserva la función cardíaca, mejora la perfusión cardíaca y reduce el tamaño de las cicatrices del tejido dañado: *¿Cómo logran las células madre derivadas del tejido adiposo estos resultados? "Al tratarse de células metabólicas muy activas, cumplen un papel clave en la revascularización de los tejidos cardíacos dañados, evitan la muerte celular y secretan factores angiogénicos, es decir, aquellos que promueven la formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de otros preexistentes"*, explica la Dra. Badimón.⁽⁴⁰⁾

En los primeros estudios que se realizaron con modelos animales, se comprobó que las células madre derivadas del tejido adiposo tienen capacidad de generar cardiomiocitos (células del miocardio o músculo cardíaco) y células vasculares. Así, en un modelo de rata con daño cardíaco inducido al que se inyectaron las células madre en la cavidad del ventrículo izquierdo, no solo se observaron marcadores específicos de célula cardíaca, sino también la mejora significativa de la función cardíaca global, así como una mayor densidad capilar en la zona que rodea la lesión, comparado con los animales que no recibieron este tipo de terapia celular. Los buenos resultados en estudios experimentales han acelerado el inicio de ensayos clínicos que están en marcha en pacientes que han sufrido un infarto de miocardio, o que presentan cardiopatía isquémica crónica o cardiomiopatía de origen no isquémico. Aunque los resultados comienzan a ser esperanzadores y replican lo observado en modelos animales, su uso en la práctica clínica aún no es una realidad. Como destacan las autoras del estudio, hay una corriente de investigadores que no dudan que, en pocos años, se utilizarán las células madre derivadas del tejido adiposo como terapia para la reparación del daño cardíaco; pero, por otro lado, existen algunas incógnitas que aún se deben resolver antes de

utilizarlas.⁽⁴⁰⁾

En este sentido, aún hay que determinar si la zona anatómica de la que se extraen (si son células del tejido adiposo visceral o subcutáneo periférico), puede influir en el efecto de esta terapia celular. Además, la presencia de otras enfermedades y la edad o el sexo del paciente y del donante son aspectos que también requieren mayor evidencia. Como destaca la Dra. Badimón, *"se ha comprobado que la presencia de factores de riesgo cardiovascular, como la hipertensión, la diabetes, la obesidad o la enfermedad coronaria reduce la funcionalidad de las células madre mesenquimales derivadas del tejido adiposo, por lo que cabe plantearse si se deben utilizar las células autólogas, del propio paciente, o será más adecuado células alogénicas, de donante"*.⁽⁴⁰⁾

En cuanto a los ya mencionados estudios experimentales en animales han demostrado mejorar la función y perfusión miocárdica, a través de un incremento en la neovascularización del tejido infartado, estudios como APOLLO y PRECISE, evalúan su aplicación en la clínica con resultados prometedores.⁽⁴⁰⁾

Cabe mencionar que aún y cuando existen diferencias significativas entre las poblaciones y subpoblaciones de células madre, y se ha demostrado en un modelo animal de infarto del miocardio, que las mesenquimales poseen mayor capacidad de proliferación y diferenciación comparadas con las hematopoyéticas, la mayor parte de los estudios clínicos se han realizado utilizando hematopoyéticas.⁽⁴¹⁾

Recientemente se ha centrado la atención en las células residentes progenitoras cardíacas y las de tejido adiposo, en estas últimas por su relativa abundancia y fácil obtención. Se sugiere que dichas poblaciones muestran una mayor capacidad de diferenciación. Sin embargo, hasta hoy no se cuentan con estudios adecuados que permitan asegurar la superioridad de alguna de las diferentes poblaciones de células madre.⁽⁴¹⁾

Mecanismos de acción de células madre en el corazón patológico

Dependiendo de su potencialidad, estudios *in vitro* e *in vivo* han demostrado la capacidad de las células madre de transdiferenciarse en células similares a cardiomiocitos, capaces de formar sarcómeros y expresar marcadores moleculares de estos (miosina, actinina alfa, troponina, conexina-43).⁽⁴²⁾

La capacidad de transdiferenciarse en células endoteliales y músculo liso vascular, explicaría parcialmente el aumento en la densidad capilar, así como en el aumento de vasos colaterales descritos en modelos animales de Infarto Agudo de Miocardio y miocardiopatía dilatada sometidos a terapia celular. Como mecanismo alternativo a la transdiferenciación, algunos autores han planteado una fusión de las células infundidas con cardiomiocitos residentes. Las células madre ejercen además un importante efecto paracrino, sintetizando y secretando una amplia variedad de factores de crecimiento y citoquinas con efectos antiapoptóticos (bFGF, IGF-1), proangiogénicos (VEGF) y antifibróticos (TNF α , metaloproteinasas). El efecto de estas citoquinas explicaría parcialmente la inhibición de apoptosis y fibrosis, la neovascularización y la mejoría del remodelamiento ventricular, reportado en modelos experimentales.⁽⁴²⁾(Véase Anexo 3).

Otros autores sugieren que mediante la secreción de citoquinas, las células madre exógenas pueden inducir la activación, migración y diferenciación de células madre cardíacas intrínsecas o estimular la proliferación de cardiomiocitos residentes. Las células madre han demostrado un considerable efecto inmunorregulatorio, pudiendo inhibir la producción de citoquinas proinflamatorias (TNF- α , IL-1, IL-6) y estimular la expresión de otras antiinflamatorias (IL-10). Esto cobra relevancia para pacientes cardiopatas, pues niveles plasmáticos elevados de TNF- α e IL-6 se asocian a mayor daño miocárdico.⁽⁴²⁾

Vía de administración

Un objetivo principal en el empleo de las células madre, es que se administre el mayor número de células posibles en el sitio isquémico y que permanezcan ahí, ya que la neovascularización y anidación tienen relación directa con la dosis y la vía de administración, que se emplea para llevar las células al tejido miocárdico.⁽³⁵⁾

Existen diferentes vías de administración, entre las que se encuentran:

- **Infusión intracoronaria:** Por esta vía se administran las células mediante el empleo de un catéter con balón, el cual se insufla durante la administración de las células para incrementar el tiempo durante el cual éstas permanecen en el tejido isquémico, incrementando la posibilidad de distribución de una manera homogénea, a diferencia de la distribución que se obtiene por la vía intramiocárdica, en la cual la distribución celular es en "islas". Se desconoce el tiempo exacto de retención para lograr un mayor número de anidación celular en el tejido isquémico, y disminuir la isquemia inducida por la oclusión arterial, esta técnica es relativamente sencilla en las manos de un operador experimentado. Esta vía de implante es la más frecuentemente utilizada en ensayos clínicos, sin embargo, existen reportes de una mayor tasa de reestenosis intrastent en pacientes pretratados con factores estimulantes de colonias de granulocitos.⁽⁴³⁾

- **Inyección intramiocárdica:** Esta técnica implica la inyección directa de las células en el tejido miocárdico, ofreciendo la ventaja de una menor cantidad de células inyectadas para lograr la anidación, además de que pueden ser utilizadas en zonas con baja producción de señales de anidación, como es el tejido cicatrizado en sitios con oclusiones arteriales no accesibles por cateterismo, como en la cardiopatía isquémica crónica. Se prefiere esta vía de aplicación para la administración de células de mayor tamaño como los mioblastos y las células mesenquimatosas, es la utilizada en protocolos diseñados para administración en cirugía cardíaca. La inyección intramiocárdica mediante catéter endoventricular o durante cirugía cardíaca, permite una administración dirigida hacia el área afectada, con el objetivo de aumentar la eficacia de la terapia celular, sin causar

obstrucción vascular, reestenosis ni formación de ateroma. Es técnicamente más compleja, costosa y conlleva el riesgo de perforación miocárdica. ⁽⁴⁴⁾

- **Inyección transendocárdica:** Se utiliza un catéter con una aguja especial, la cual se introduce a través de la válvula aórtica y se adosa a la pared endocárdica inyectando las células directamente. Esta técnica requiere un estudio de viabilidad miocárdica previo para delimitar el tejido viable, cicatricial e isquémico. La distribución de las células no siempre es homogénea, lo cual puede causar discinesia miocárdica al mejorar de manera heterogénea la contractilidad regional. Se considera una posibilidad atractiva ya que su aplicación es sencilla y práctica, sin embargo, para una administración precisa de las células en la región de interés, requiere del uso de navegadores que realizan una reconstrucción tridimensional del ventrículo izquierdo o mapeo electromecánico. ⁽⁴⁵⁾

Existen otras vías de administración como: la transvenosa sistémica que es una estrategia menos invasiva, simple y segura que permite la infusión una mayor cantidad de células, todas las veces que se requiera. Algunos autores sostienen que esta vía puede ser tan efectiva como la infusión intracoronaria en pacientes infartados reperfundidos, y además la venosa retrógrada, a través del seno coronario. Actualmente, la forma de administración más utilizada es la infusión intracoronaria. ⁽⁴⁵⁾

Problemas de sobrevivencia e injerto

Se ha avanzado mucho en el terreno del manejo celular *in vitro* de células madre y su inducción para diferenciarlas de una gran diversidad de tipos celulares; esto es indudable; pero ahora, ante los escasos resultados de su transferencia a modelos animales, existe un problema que radica en el número de células y su viabilidad al momento de trasplantarlas, ya que muchas de ellas mueren en las primeras horas después de haber sido administradas. ⁽⁴⁵⁾

Cuando las células son inyectadas en el corazón, la eficiencia es muy variable, con rangos entre 0 y 90%, promedio de 45% en ratas y aproximadamente de 10% en cerdos. Aunado a esto, sabemos que la mayoría de las muertes celulares, en un trasplante, ocurre durante la primera semana. La fracción de células que sobrevive depende del tipo celular, el número de células inyectadas y el estado en el que se encuentra el tejido receptor (isquémico, inflamado, etc.) que lo puede convertir en un tejido más hostil en comparación con el miocardio normal. Hay estudios en los cuales sólo 7% de los mioblastos sobrevive durante tres días después de haber sido trasplantados a corazón infartado de ratón. ⁽⁴⁶⁾

Otros grupos han encontrado que 28% de una preparación de cardiocitos neonatos (que también incluyen no-miocitos), sobreviven durante una semana después de ser injertados en corazones normales de rata; cuando se utilizan células de músculo liso 15% sobreviven una semana y 9% un mes después de ligar permanentemente la arteria coronaria descendente anterior en ratas; suele haber 6% de sobrevivencia después de tres días en caso de células no fraccionadas de médula ósea en ratas infartadas y menos de 5% de células madre mesenquimales después de haber sido trasplantadas en corazones infartados de cerdo, el modelo animal que más se aproxima al hombre. ⁽⁴⁶⁾

Principales causas de muerte celular

Dentro de las causas de muerte celular durante el trasplante, tres son predominantes. La primera es el proceso de apoptosis y anoikis. Los mecanismos de muerte celular por apoptosis son regulados por redes de señales que evolutivamente han sido preservadas desde gusanos hasta el propio ser humano. El resultado de la apoptosis es la activación de caspasas que pone en marcha la enzima Poly ADP (*Ribosepolymerase*) (PARP) la cual origina un corte del DNA en fragmentos pequeños. ⁽⁴⁷⁾

El estrés al que se ven sometidas las células antes de su trasplante activa un mecanismo de muerte celular conocido como anoikis, inducida por la pérdida de

componentes de la matriz, ya que normalmente se cultivan *in vitro* adheridas a un sustrato y al levantarlas por medio de enzimas y mantenerlas en suspensión, carecen de los elementos que constituyen la matriz extracelular, a diferencia de los miocitos cardíacos que son extremadamente resistentes a la activación de programas de muerte celular.⁽⁴⁷⁾

Los cardiomiocitos normalmente están rodeados de una lámina basal, la cual está unida vía integrinas a otros receptores, estos receptores traducen señales de sobrevivencia, mediada en parte a través de la vía de NF-kB que si se ve interrumpida, automáticamente se activan los programas de muerte celular mediada por caspasas. La segunda causa es la isquemia, las células llegan a un fragmento de tejido donde son forzadas a entrar a espacios intersticiales entre cardiocitos y elementos de tejido conectivo no vascularizado, los nutrientes no son suficientes sólo por difusión, sino que deben ser proveídos por tejido vascular o angiogénesis de novo. La tercera causa es la inflamación; la zona infartada del corazón y el tejido que la rodea es un tejido altamente inflamado, en un ambiente donde predomina la respuesta celular innata; durante los primeros días hay abundancia de neutrófilos y posteriormente presencia de macrófagos.⁽⁴⁸⁾

Los autores concuerdan en el criterio de que estos leucocitos producen radicales libres y una citocinesis inflamatoria que pueden dañar directamente la membrana de las células trasplantadas o inducir la activación de vías de señalización de caspasas.

Posibles soluciones

Algunas de las acciones que se han tomado para aumentar la sobrevivencia celular incluyen choque térmico, sobreexpresión de proteínas y péptidos antiapoptóticos, sequestradores de radicales libres, terapia antiinflamatoria y uso de moléculas de matriz extracelular.⁽⁴⁹⁾

Si bien es cierto que el uso de manera independiente o combinada de estas estrategias ha dado buenos resultados en un aumento en la supervivencia celular, una vez que están en el tejido, el problema de muerte celular sigue siendo bastante significativo, ya que juega un papel fundamental en las células a transferir para la exitosa regeneración en un corazón infartado. Bajo este contexto, varias estrategias de ingeniería genética han sido aplicadas; por ejemplo, sobreexpresión de genes como factor de crecimiento fibroblástico (FGF2), AKT, Hsp20, EA1, homoxigenasa, 1 survivina y algunos antiapoptóticos como BCL2 con el objetivo de mejorar la supervivencia y la resistencia a la apoptosis.⁽⁵⁰⁾

Terapia celular en cardiopatías crónicas

Ensayos recientes han demostrado algunas mejoras clínicas y de función ventricular en pacientes con miocardiopatías de distintas etiologías. Por ejemplo, el estudio STAR-heart publicó su experiencia con el trasplante intracoronario de células madre hematopoyéticas en pacientes con cardiopatía isquémica crónica con Fracción de Eyección Ventricular Izquierda < 35% con seguimiento prolongado. La terapia celular mejoró la función ventricular, la calidad de vida y la supervivencia, sugiriendo que la terapia puede ser eficaz aun a distancia de un evento coronario agudo.⁽⁵¹⁾

Terapia celular en infarto agudo al miocardio

A la fecha, numerosos estudios experimentales han señalado que el trasplante de células madre autólogas o alogénicas, es capaz de mejorar la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI), disminuir el tamaño del infarto y prevenir el remodelamiento ventricular patológico. En el ámbito clínico, el impacto de terapias celulares con células madre hematopoyéticas sobre la función ventricular y la prevención del remodelamiento patológico han sido evaluadas por más de 50 estudios clínicos entre estudios de cohorte y ensayos clínicos fase 1-2.⁽⁵²⁾

El efecto terapéutico de las células mesenquimales también ha sido explorado en pacientes con Infarto Agudo al Miocardio(IAM).La mayoría de estos estudios han empleado células autólogas, menos regenerativas en el caso de los pacientes cardiopatas, infundidas por vía intracoronaria o intramiocárdica.⁽⁵³⁾

El proceso de remodelamiento miocárdico comienza tempranamente post IAM, por lo que una infusión temprana de células madre pudiera tener un mayor impacto en frenar este proceso patológico. Esta interrogante ha sido evaluada por dos ensayos clínicos controlados, que estudiaron la respuesta a la terapia celular administrada en cortes temporales distintos. Estos estudios no reportaron con este tipo celular, diferencias entre el tratamiento precoz y tardío, sobre la función ventricular.⁽⁵⁴⁾

Pero es imposible hablar de este tema sin mencionar el proyecto CARE-MI, financiado con 11,3 millones de euros por la Unión Europea y coordinado por el Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares (CNIC). Seis meses después de que los 55 participantes en el ensayo clínico CAREMI recibieran el tratamiento con AlloCSC-01 –un nuevo producto basado en células madre cardiacas aisladas del corazón de donantes–, se han dado a conocer los primeros resultados.Según el Dr. Antonio Bernad, coordinador de este proyecto europeo e investigador del Centro Nacional de Biotecnología del CSIC (CNB-CSIC), “CAREMI es el primer ensayo clínico en humanos para evaluar la eficacia de un tratamiento con células AlloCSC-01 contra el infarto de miocardio extenso. Los resultados iniciales indican que el tratamiento es seguro para los pacientes, pero, hasta el año que viene, no tendremos los resultados definitivos de eficacia y seguridad”. En el ensayo clínico han participado ocho centros, liderados por el Prof. Francisco Fernández-Avilés del Hospital Universitario Gregorio Marañón, y el Prof. Stefan Janssens del Hospital Universitario de Leuven (Bélgica).⁽⁵⁵⁾

El infarto agudo de miocardio es uno de los grandes retos de salud a nivel mundial. Gracias a la rapidez de intervención y a los eficaces tratamientos actuales se ha conseguido reducir la tasa de mortalidad. Sin embargo, continúa

siendo responsable de gran parte de los casos de insuficiencia cardiaca crónica subyacente.

“Las terapias actuales son incapaces de regenerar –explica Bernad–. Necesitamos un tratamiento nuevo que favorezca la recuperación del tejido perdido y reduzca el remodelado patológico del corazón”. AlloCSC-01 es un producto basado en células madre cardiacas alogénicas (que provienen de un paciente donante) y que se administran por vía intracoronaria de manera sencilla y segura. Los investigadores esperan que esta terapia celular sea efectiva para controlar la enfermedad cardiaca en pacientes que han sufrido un infarto extenso.

El ensayo se enmarca dentro del proyecto europeo CARE-MI (del inglés CardioRepairEuropeanMultidisciplinaryInitiative) cuyo objetivo central es avanzar en el desarrollo de terapias celulares contra el infarto de miocardio. Este proyecto ha sido financiado por el VII Programa Marco de la Unión Europea y coordinado desde el Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares (CNIC). El equipo del proyecto ha trabajado durante seis años en el desarrollo de esta terapia basada en reforzar la capacidad natural de regeneración del corazón. El producto celular resultante, AlloCSC-01, ha sido generado por la empresa Coretherapix/Tigenix. Ahora, los primeros resultados del ensayo clínico en fase I/II indican que el producto es seguro en la fase aguda (un mes tras la inyección) y a largo plazo (6 meses tras el tratamiento). Los datos sobre la eficacia no son aún concluyentes, y se conocerán en 2017.⁽⁵⁵⁾

Terapia con células madre de Cardiopatías Congénitas

En cuanto al tratamiento de las cardiopatías congénitas también las células madre han tenido activa participación, principalmente con células madre amnióticas. Por ejemplo durante el Congreso Clínico celebrado entre el 6 y el 10 de Octubre en Washington D.C., organizado por el American College of Surgeons, un equipo de investigadores de la Universidad de Michigan ha presentado sus resultados en relación con el uso de las células madre del líquido amniótico para el tratamiento de los defectos cardiacos congénitos. Aunque se encuentran en fases muy

iniciales, ello soslayaría el controvertido uso de las células madre embrionarias y posibilitaría igualmente ayudar algún día a miles de bebés que nacen cada año con una Cardiopatía Congénita. ⁽⁵⁶⁾

Los investigadores obtuvieron muestras de líquido amniótico de ocho mujeres embarazadas y de allí extrajeron un tipo de células llamadas células mesenquimales del estroma, que son el tipo más común de células en el líquido amniótico. El siguiente paso fue transformar esas células en células madre pluripotentes inducidas con la composición genética exacta del feto. Después de tres semanas de cultivo celular, Dr. Kunisaki y su equipo observaron que las células madre amnióticas se transformaban en células del músculo cardíaco. Y, como señala el investigador, “podíamos ver cómo latían en las placas de cultivo”. ⁽⁵⁶⁾

En el futuro Kunisaki prevé poder transferir las células madre amnióticas a los bebés con cardiopatías congénitas después del parto. Explica que las células regenerarían el tejido dañado para desarrollar un corazón sano. Kunisaki piensa que lo ideal sería, una vez que se diagnostican los defectos cardíacos en las 20 semanas de gestación, tener un plazo de cinco meses, más o menos, para generar células cardíacas que se utilizarían nada más nacer. El siguiente paso es hacer un ensayo en animales, para poder llegar a los humanos en el futuro. ⁽⁵⁶⁾

Controversias en la utilización de las células madre

En realidad, los problemas éticos o morales que se asocian a estas terapias no se derivan de las células madre en sí ni de su función reparadora, sino de la forma en que éstas se obtienen. Nadie cuestiona la legitimidad del tratamiento de un enfermo con células madre extraídas de su médula ósea o de la experimentación con células del cordón umbilical, pero cuando el origen de las células es un embrión engendrado expresamente para la obtención de estas células que posteriormente va a ser destruido, la cosa cambia sustancialmente. ⁽⁵⁶⁾

Se constató por los autores que muchos investigadores se posicionan a favor de este tipo de investigaciones por su gran potencial médico, pero estas prácticas chocan frontalmente con muchas religiones y sistemas éticos que consideran que la vida comienza en el acto de la fecundación. Finalmente, hay que mencionar en este apartado que existe un gran temor a que la experimentación descontrolada con embriones humanos derive hacia experimentos genéticos y clonaciones humanas no autorizadas.

Avances en el desarrollo de esta terapia

Los autores pudieron corroborar que entre los avances en este campo tenemos la creación de válvulas cardíacas a partir de células madre de la sangre del cordón umbilical, estas podrían ayudar a los médicos a crear nuevas válvulas cardíacas para los niños que nacen con defectos de la válvula cardíaca.

Las válvulas fabricadas mediante ingeniería de tejidos tienen la ventaja de que crecerán con el niño, señalaron investigadores alemanes inmersos en la labor. "Si reemplazamos una válvula en un niño, éste necesitará someterse varias veces a cirugía a lo largo de su vida, porque los dispositivos no crecen, así que el objetivo final es tener una pieza que sea capaz de crecer con el niño de modo que la cirugía se realice sólo una vez", subrayó el autor del estudio, el Dr. Ralf Sodian, cirujano cardíaco del Hospital Universitario de Múnich.⁽⁵⁷⁾

"Si es posible, mientras más temprano, mejor". En la presentación de las sesiones científicas de la American Heart Association en Nueva Orleans, Sodian informó que su equipo recopiló las muestras de células madre del cordón umbilical, las almacenó durante 12 semanas, y luego las cultivó directamente encima de ocho andamiajes que imitaban la forma de las válvulas cardíacas. Las células madre luego formaron una capa de tejido que incluía varias características de la "matriz extracelular", o la sección del tejido exterior de las células. Las válvulas fabricadas mediante ingeniería tenían casi 78% colágeno como el tejido humano de las válvulas cardíacas pulmonares; 85% tanto glicosaminoglicano como el tejido

humano; y 67% de elastina. El colágeno y la elastina son proteínas del tejido conectivo, y el glicosaminoglicano es un carbohidrato del tejido conectivo.⁽⁵⁷⁾

Las válvulas también contenían otras proteínas encontradas en el cuerpo humano. "La idea de crear un andamiaje es única", aseguro el Dr. Russell V. Luepker, profesor de epidemiología y salud comunitaria de la Universidad de Minnesota de Minneapolis. "Generalmente implantamos células progenitoras en el corazón y tratamos de que desarrollen células musculares, por lo que se quedan en medio de otras células". "Pero construir un andamiaje que se parezca a una válvula cardíaca, luego esperar y anticipar que las células del cordón umbilical asimilen este papel y se diferencien, es algo innovador", agregó. Aún así, la investigación aún está muy lejos de la práctica clínica. "No creo que nadie tenga una idea de si estas válvulas pueden crecer", dijo Luepker. "No lo sabremos hasta que no lo implantemos en un niño y éste crezca. Obviamente hay muchos obstáculos que superar". ⁽⁵⁷⁾

Los niños con un defecto de nacimiento en una válvula cardíaca que no puede repararse quirúrgicamente deben recibir una de repuesto de origen animal, de tejido humano o de otros materiales artificiales. Debido a que estas válvulas no crecen con el niño, éste necesita más cirugías para la colocación de nuevas válvulas. También existe la posibilidad de que el cuerpo del niño rechace la válvula artificial, aunque esto no es tan común, dijo Luepker. Una cuestión más importante es el increíble trabajo que debe realizar una válvula cardíaca. "El estrés sobre una válvula cardíaca es enorme", apuntó Luepker. "Tiene que contener la sangre con cada latido. El desgaste natural que observamos en las válvulas de metal y plástico es un problema, y estas son sustancias bastantes resistentes". ⁽⁵⁷⁾

Por otra parte las últimas investigaciones apuntan hacia la obtención de órganos completos para trasplantes a partir de las células madre del propio afectado. Estos órganos serían 100% compatibles con el receptor, descartando la posibilidad de un rechazo por parte de su organismo y todos los inconvenientes que tiene un

trasplante de otro donante. De hecho, podrían ser la solución definitiva para la mayor parte de las cardiopatías congénitas. Siguiendo esta técnica experimental, científicos de la Universidad de Minnesota, en Estados Unidos, han conseguido recientemente crear un corazón humano a partir de células madre. Para ello han partido de un órgano extraído a un donante, del que han retirado sus células, dejando sólo una estructura de fibras de colágeno. Posteriormente, se le han inyectado células madre del potencial receptor cultivadas en laboratorio para repoblar el nuevo corazón. ⁽⁵⁶⁾ (Véase Anexo 4)

Lo más sorprendente de la aplicación de esta técnica en humanos es que, en teoría, al retirarse todas las células del órgano donado, el donante podría ser incluso un animal. De hecho, se está experimentando ya con corazones de cerdo. El éxito de esta línea de investigación podría marcar un antes y un después en los trasplantes, suponiendo una 'Barra libre' de órganos para todos en vez de la angustiada espera de donante que de momento hay que sufrir. ⁽⁵⁶⁾

Terapias adjuntas para mejorar la diferenciación de las células madres

Como un derivado de la terapia celular, se han comunicado dos nuevas maneras de encarar la reparación cardíaca.

Timosina b4

Uno de los adelantos más interesantes en la medicina regenerativa en los últimos dos años fue la identificación de la “fuente de progenitoras miocárdicas bien intencionada” (células derivadas del epicardio) que pueden ser inducidas por la timosina b4 para diferenciarse en miocardiocitos. ⁽⁵⁸⁾

Este estudio emblemático de Smart y colaboradores representa un paso muy importante para la identificación de una fuente viable de células madre o progenitoras que pudieran contribuir a la formación de nuevo músculo en casos de cardiopatía isquémica y de infarto agudo de miocardio (IAM). Demostraron que el corazón adulto contiene una población de células progenitoras residentes, con el

potencial de transformarse en miocardiocitos diferenciados tras un infarto agudo de miocardio (IAM). Se cebaron las células progenitoras con un péptido denominado timosina b4, que indujo la reprogramación embrionaria inducida que determina la movilización de esta población y su ulterior diferenciación para dar lugar a miocardiocitos *de novo*. (58)

Luego del IAM inducido experimentalmente, se demostró que estas células migraban al lugar de la lesión, para luego diferenciarse, sin ninguna evidencia de fusión celular con miocardiocitos estructural y funcionalmente activos. (58)

Estos miocardiocitos mostraron evidencia de la formación de uniones comunicantes con las células adyacentes, pasajes sincrónicos de calcio y la formación de un aparato contráctil operativo. A pesar de que la fracción total de estas células que se encuentra presente a nivel de la lesión es baja, y que la eficiencia global de la diferenciación es relativamente mala, las imágenes seriadas de resonancia magnética (RMN) revelaron mejoras importantes de la fracción de eyección, los volúmenes cardíacos y el tamaño de la cicatriz, en comparación con animales que recibieron tratamientos simulados. El pretratamiento con timosina b4 fue crucial para tales efectos, y puede sugerir una nueva estrategia para promover la reparación del miocardio en humanos. (58)

MicroARN

Los MicroARN (ARN pequeños no codificantes) juegan un papel crucial en la diferenciación y autorenovación de las células madre pluripotentes, así como en la diferenciación de células del linaje cardiovascular. Como resultado, han surgido los microARN como potenciales moduladores de la diferenciación de células madre; específicamente, se ha comunicado que miR-1 juega un papel integral en la regulación de la diferenciación de las células progenitoras de músculo cardíaco. (59)

Un estudio publicado en 2011 llevó el estudio un paso más allá, y evaluó si la sobre-expresión de miR-1 en las células ES (células miR-1-ES) mejora la diferenciación de los miocitos luego del trasplante en el miocardio infartado. En este estudio, los modelos murinos de IM tenían células miR-1-ES, células ES o medio de cultivo (control) trasplantados en la zona del borde del corazón infartado.⁽⁶⁰⁾

La sobreexpresión de miR-1 en las células ES trasplantadas protegió al miocardio huésped de la apoptosis inducida por el IM, a través de la activación de p-AKT e inhibición de caspasa-3, fosfatasa y homólogo de tensina, y la producción de superóxido. Se cuantificó una importante reducción de la fibrosis intersticial y vascular en células miR-1-ES comparado con el IM de control. Finalmente, los ratones que recibieron células miR-1-ES tuvieron una función cardíaca significativamente mejorada comparado con los controles respectivos.⁽⁶⁰⁾

Esto sugeriría que miR-1 impulsa la diferenciación de los miocitos cardíacos de las células ES trasplantadas e inhibe la apoptosis post IAM; sin embargo, con respecto a la fibrosis es importante destacar que no se observó ninguna significación estadística entre los grupos de células miR-1-ES y los grupos de células ES, sugiriendo que se necesitan más estudios en esta área. Recientemente se publicó una revisión de la actual evidencia del papel de los microARN en células progenitoras o células madre y la reparación cardiovascular.⁽⁶¹⁾

En Cuba las células madre en el tratamiento de cardiopatías también tienen un papel protagónico, al ser de gran utilidad y aceptación por parte de los pacientes, nuestro país aparte de poseer centros especializados para el empleo de esta terapia también cuenta con el arsenal científico e investigativo necesario para continuar con el desarrollo de esta opción terapéutica.⁽⁶¹⁾

La terapia celular en la cardiopatía es sin duda uno de los temas de mayor interés a nivel mundial, es un fascinante campo de la ciencia moderna no sólo para el

investigador básico sino también para el clínico. Actualmente nos encontramos lejos de saber, si el futuro de la terapia celular se encuentra en la regeneración celular mediada por la infusión celular o en la modulación tisular de la respuesta a la lesión isquémica. Lo que sabemos es que el lograr entender el sustrato molecular de los mecanismos de lesión celular, apoptosis y de autorregeneración tisular será de vital importancia para el futuro terapéutico de la cardiopatía isquémica.⁽⁶²⁾

Los autores están de acuerdo en que hasta el momento no se ha establecido cual es el mecanismo exacto relacionado con el beneficio de la terapia celular, se desconoce la cantidad exacta de células necesarias para obtener el máximo beneficio, así como el grupo específico de pacientes que tiene una mejor respuesta a este tratamiento.

A pesar de que estudios clínicos han evaluado el acoplamiento y migración periférica de las células madre posterior a la infusión por las diversas vías de administración, no se ha establecido una vía que ofrezca mejores resultados clínicos. El método de evaluación de la respuesta mecánica y funcional del miocardio no ha sido homogéneo en los ensayos clínicos. Sin embargo, hoy sabemos que el perfil de seguridad de la terapia celular es adecuado a corto y largo plazo y que la mejoría en la fracción de eyección ventricular izquierda (FEVI) y volúmenes ventriculares es consistente en los ensayos clínicos realizados, con beneficios evaluados hasta por cinco años.⁽⁶²⁾

La modificación genética de las células madre estimulando la miocardiogénesis y la producción de citocinas proangiogénicas que mejoren la anidación y función de las células entregadas, se postula como una medida que modifique de manera favorable los resultados clínicos con el empleo de las células madre, sin embargo, esto no se ha comprobado clínicamente.^(63,64)

Lo que sí es un hecho es que el camino por recorrer en cuanto al desarrollo de este tratamiento es largo y aún está empezando, los autores coincidimos en que

este es solo el comienzo de las bondades que pueden ofrecer las células madres y de que este es el futuro de la medicina a nivel mundial, ahora, el horizonte de la células madre es muy amplio y solo con el tiempo se irá revelando convirtiéndose en una alternativa de más fácil acceso a todos los pacientes.

CONCLUSIONES

La medicina regenerativa mediante el uso de células madre ha tenido un rápido desarrollo en el ámbito de la investigación cardiovascular. Estas células poseen la capacidad de diferenciarse hacia otros tipos celulares maduros, sugiriendo la posibilidad de regenerar, reparar o sustituir el tejido dañado con el objetivo de restaurar su función. Esta técnica ha demostrado tener gran eficacia en el tratamiento de las cardiopatías pues se ha comprobado que es más económica y menos limitada que otras variantes como el trasplante y los dispositivos mecánicos ventriculares, además este tratamiento rompió con el dogma de que el miocardio no tenía posibilidades de regenerarse después de un daño celular. Por lo que esta alternativa terapéutica se ha convertido en un tratamiento muy utilizado en nuestro país y a nivel internacional.

RECOMENDACIONES

- ✚ Facilitarle el acceso a esta revisión u otras relacionadas con el tema a los estudiantes de las Ciencias Médicas, al personal de la salud y a todas las personas interesadas en este tema.
- ✚ Realizar investigaciones posteriores con pacientes sometidos a tratamientos con células madre.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Arch K.C. On penetrating cardiac injuries and cardiac suturing, [s.l], [s.n] 2011: 79-83.
2. Cirugía Cardiovascular. En línea (2015) [Consultado 10 diciembre 2015] Disponible en: <http://www.ecured.cu/>
3. Hernández R. Importancia de la Maquina de Circulación Extracorpórea en la Cirugía Cardiovascular. En línea (2012) [Consultado el 2 de diciembre de 2015]. Disponible en :<http://es.slideshare.net/ailempatricia/equipacion-cardiovascular>
4. López A. Desarrollo de la Cirugía Cardiovascular. En línea (2012) [Consultado 2 de diciembre del 2015] Disponible en: <http://es.slideshare.net/basmedblog/1-historia-de-la-cirugia>
5. Células madre, una nueva esperanza en las cirugías cardiovasculares. En línea (2016) [Consultado 3 enero 2016]. Disponible en: <http://www.sld.cu/sitios/medregenerativa/>
6. Vigen R, Maddox TM, Allen LA. Aging of the United States population: impact on heart failure. *Curr Heart Fail Rep.* 2012; 9 (4): 369-374.
7. Rosamond W, Flegal K, Friday G, Furie K, Go A. Heartdisease and stroke statistics 2007 update: a reportfromthe American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation.* 2012; 115 (5): 69-171.
8. Pearson TA, Blair SN, Daniels SR, EckelRH, Fair JM. AHA Guidelines for Primary Prevention of Cardiovascular Disease and Stroke: 2012 Update: Consensus Panel Guide toComprehensiveRiskReductionforAdultPatientsWithoutCoronaryorOtherAtherosclerotic Vascular Diseases. American Heart Association Science Advisory and Coordinating Committee. *Circulation.* 2012; 106 (3): 388-391.

9. Hernández P, Balea E. Medicina regenerativa. Células madre embrionarias y adultas. Rev Cubana HematolInmuno Hemoter.2014; 20 (3): 22-33.
10. Baja tasa de mortalidad por cardiopatías en niños cubanos menores de 1 año. En línea (2016). Disponible en: <http://www.escambray.cu/category/titulares/>
11. Hernández P, Balea E. Logros y perspectivas del trasplante de células hematopoyéticas en Cuba. Rev Cubana HematolInmunoHemoter.2012; 28 (2):12-14.
12. Terapia con células madre llega a catorce provincias. En línea (1 junio 2016). Disponible en: <http://www.granma.cu/salud/>
13. Peix A, Hidalgo J, Dorticós E, Llerena L, Cabera LO, Hernández P. Cardiología nuclear en la evaluación del trasplante de células madre derivadas de médula ósea en insuficiencia cardíaca crónica de etiología isquémica. Cuatro años de seguimiento. Rev Cubana HematolInmunolHemoter. 2009;25. [Consultado 1 marzo 2016] Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/hih/vol25_04_09/hih02409.htm
14. Obregón A, Wilford M, Ysla R, Aroche R, Figueredo Y, Luna C. Seguridad y eficacia de la implantación por vía coronaria de células madre hematológicas de sangre periférica obtenidas por aféresis en el infarto agudo del miocardio. Rev Cubana HematolInmunolHemoter [serie en internet]. 2009;25. [Consultado 1 marzo 2010] Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/hih/vol25_04_09/hih02409.htm
15. Hernández-Ramírez P. Reflexiones sobre la introducción y desarrollo de la terapia celular en Cuba. Rev Cubana HematolInmunolHemoter. 2013 Sep;29(3):304-6.
16. Mauritz C, Martens A, Rojas SV, Schnick T. Induced pluripotent stem cell (iPSC)-derived Flk-1 progenitor cells engraft, differentiate, and improve heart function in a mouse model of acute myocardial infarction. Eur Heart J. 2011; 32 (21): 2634-2641.

- 17.** Efe JA, Hilcove S, Kim J. Conversion of mouse fibroblasts into cardiomyocytes using a direct reprogramming strategy. *Nat Cell Biol.* 2011;13: 215-222.
- 18.** Mandel Y, Weissman A, Schick R, Barad L. Human embryonic and induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes exhibit beat rate variability and power-law behavior. *Circulation.* 2012; 125 (7): 883-893.
- 19.** Yu T, Miyagawa S, Miki K, Saito A, Fukushima S. In vivo differentiation of induced pluripotent stem cell derived cardiomyocytes. *Circ J.* 2013; 77 (5): 1297-1306.
- 20.** Wang D, Chen M, Yang B, Zhang F, Cao K. Intramyocardial transplantation of undifferentiated rat induced pluripotent stem cells causes tumorigenesis in the heart. *PLoS One.* 2011; 6 (4): 1012.
- 21.** Díez Villanueva P, Sanz-Ruiz R, NúñezGarcía A. Functional multipotency of stem cells: what do we need from them in the heart? *Stem Cells Int.* 2012; 20(12): 81-87.
- 22.** Hernández P, Balea E. Medicina regenerativa. Células madre en enfermedades del corazón. *Rev Cubana HematolInmunoHemoter.* 2012; 22 (1):12-19.
- 23.** Monti M, Perotti C, Del Fante C, Cervio M, Redi C. Stem cells: sources and therapies. *Biol Res.* 2012; 45 (3): 207-214.
- 24.** Strauer BE, Steinhoff G. 10 years of intracoronary and intramyocardial bone marrow stem cell therapy of the heart: from the methodological origin to clinical practice. *J Am CollCardiol.* 2011; 58 (11): 1095-1104.
- 25.** Oh Y, Wei H, Ma D. Clinical applications of patient-specific induced pluripotent stem cells in cardiovascular medicine. *Heart.* 2012;98:443-449.

- 26.** Okita K, Nagata N, Yamanaka S. Immunogenicity of induced pluripotent stem cells. *Circ Res.* 2011;109: 720-721.
- 27.** Losordo DW, Henry TD, Davidson C. Intramyocardial, autologous CD34+ cell therapy for refractory angina. *Circ Res.* 2011;109:428-436.
- 28.** Chih S, Macdonald PS, McCrohon JA. Granulocyte colony stimulating factor in chronic angina to stimulate neovascularization: a placebo controlled crossover trial. *Heart.* 2012;98:282-290.
- 29.** Gaebel R, Furlani D, Sorg H, Polchow B, Frank J, Bieback K. Cell origin of human mesenchymal stem cells determines a different healing performance in cardiac regeneration. *PLoS One.* 2011; 6 (2): 152-156.
- 30.** Armiñán A, Gandía C, García-Verdugo J. Mesenchymal stem cells provide better results than hematopoietic precursors for the treatment of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2011;55:2244-2253.
- 31.** Yi T, Song SU. Immunomodulatory properties of mesenchymal stem cells and their therapeutic applications. *Arch Pharm Res.* 2012; 35(2):213-221.
- 32.** Williams AR, Hare JM. Mesenchymal stem cells: biology, pathophysiology, translational findings, and therapeutic implications for cardiac disease. *Circ Res.* 2011; 109 (8): 923-940.
- 33.** Losordo D, Dimmeler S. Therapeutic angiogenesis and vasculogenesis for ischemic disease. Part I: Angiogenic cytokines. *Circulation.* 2014;109:2487-2491.
- 34.** Rina J, Bolli P. Fetal Cells Traffic to Injured Maternal Myocardium and Undergo Cardiac Differentiation. *Circulation Research.* 2011,200:122-123.
- 35.** Hare JM, Traverse JH, Henry TD. The myoblast autologous grafting in ischemic cardiomyopathy (MAGIC) trial: first randomized placebo controlled study of myoblast transplantation. *Circulation.* 2012;117:1189-1200.
- 36.** Pouzet B, Vilquin JT, Hagege AA, Scorsin M. Factors affecting functional outcome after autologous skeletal myoblast transplantation. *Ann Thorac Surg.* 2011; 71: 844-850.
- 37.** Chimenti I, Ruckdeschel R, Li Tao-sheng. Relative roles of direct regeneration versus paracrine effects of human cardiosphere-derived cells transplanted into infarcted mice. *Circ Res.* 2014; 106:971-980.

- 38.** Leri A, Kajstura J, Anversa P. Role of cardiac stem cells in cardiac pathophysiology: a paradigm shift in human myocardial biology. *Circ Res.* 2011; 109 (8): 941-961.
- 39.** Huang YL, Kuang J, Hu YZ, Song YB, Qiu RF. Bone marrow stromal cell transplantation combined with angiotensin-converting enzyme inhibitor treatment in rat with acute myocardial infarction and the role of insulin-like growth factor-1. *Cytotherapy.* 2012; 14 (5): 563-569.
- 40.** Las células madre de la grasa prometen repararla función cardiaca. En línea (28 julio 2015). Disponible en: <http://secardiologia.es/comunicacion/notas-de-prensa/notas-de-prensa-sec/>
- 41.** Hatzistergos KE, Quevedo H, Oskouei BN, Hu Q, Feigenbaum GS, Margitich IS, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells stimulate cardiac stem cell proliferation and differentiation. *Circ Res.* 2015; 107 (7): 913-922.
- 42.** Kang HJ, Kim HS, Zhang SY, Park KW, Cho HJ, Koo BK, et al. Effects of intracoronary infusion of peripheral blood stem-cells mobilised with granulocyte-colony stimulating factor on left ventricular systolic function and restenosis after coronary stenting in myocardial infarction: the MAGIC cell randomised clinical trial. *Lancet.* 2014; 363 (9411): 751-756.
- 43.** Rolf A, Assmus B, Schachinger V, Rixe J, Mollmann S, Mollmann H, et al. Maladaptive hypertrophy after acute myocardial infarction positive effect of bone marrow-derived stem cell therapy on regional remodeling measured by cardiac MRI. *Clin Res Cardiol.* 2011; 100 (11): 983-992.
- 44.** Quyyumi AA, Waller EK, Murrow J, Esteves F, Galt J. CD34(+) cell infusion after ST elevation myocardial infarction is associated with improved perfusion and is dose dependent. *Am Heart J.* 2011; 161 (1): 98-105.
- 45.** Xu Y. Efficient commitment to functional CD34+ progenitor cells from human bone marrow mesenchymal stem-cell-derived induced pluripotent stem cells. *PLoS One.* 2012; 7: 324-331.
- 46.** Wong SS, Bernstein HS. Cardiac regeneration using human embryonic stem cells: producing cells for future therapy. *Regen Med.* 2016; 5: 763-775.

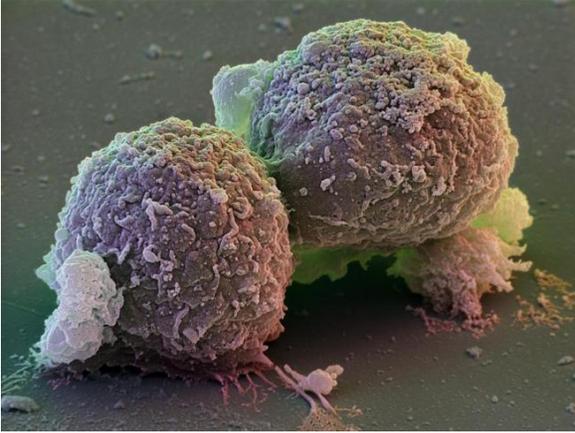
47. Nahrendorf M, Swirski FK, Aikawa E, Stangenberg L et al. The healing myocardium sequentially mobilizes two monocyte subsets with divergent and complementary functions. *J Exp Med*. 2016; 204: 3037-3047.
48. Deng J, Han Y, Yan C, Tian X. Overexpressing cellular repressor of E1A-stimulated genes protects mesenchymal stem cells against hypoxia- and serum deprivation-induced apoptosis by activation of PI3K/Akt. *Apoptosis*. 2015; 15: 463-473.
49. Chin SP, Poey AC, Wong CY, Chang SK. Intramyocardial and intracoronary autologous bone marrow-derived mesenchymal stromal cell treatment in chronic severe dilated cardiomyopathy. *Cytotherapy*. 2011; 13: 814-821.
50. Strauer BE, Yousef M, Schannwell CM. The acute and long-term effects of intracoronary Stem cell Transplantation in 191 patients with chronic heart failure: the STAR-heart study. *Eur J Heart Fail* 2016; 12 (7): 721-729.
51. Wollert KC, Meyer GP, Lotz J, Ringes-Lichtenberg S. Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomised controlled clinical trial. *Lancet*. 2014; 364 (9429): 141-148.
52. Bolli R, Chugh AR, D'Amario D, Loughran JH, Stoddard MF, Ikram S. Cardiac stem cells in patients with ischaemic cardiomyopathy (SCIPIO): initial results of a randomised phase 1 trial. *Lancet*. 2011; 378 (9806): 1847-1857.
53. Makkar RR, Smith RR, Cheng K, Malliaras K. Intracoronary cardiosphere-derived cells for heart regeneration after myocardial infarction (CADUCEUS): a prospective, randomised phase 1 trial. *Lancet*. 2012; 379 (9819): 895-904.
54. Terapia con células madre. En línea (2011) [Consultado 4 marzo 2016]. Disponible en: <http://www.corazonyvida.org/>
55. Los primeros resultados del ensayo con células madre cardíacas CAREMI demuestran la seguridad del tratamiento. En línea (28 junio 2016). Disponible en: <http://www.cnb.csic.es/index.php/es/cultura-cientifica/noticias/itemlist/category/45-ultimas-noticias/>

- 56.** Crean válvulas cardíacas a partir de células del cordón. En línea (2014) [Consultado 20 febrero 2016]. Disponible en: <http://www.sld.cu/sitios/medregenerativa/>
- 57.** Vieira JM, Riley PR. Epicardium-derived cells: a new source of regenerative capacity. *Heart*. 2011;97:15-19.
- 58.** Smart N, Bollini S, Dube KN. De novo cardiomyocytes from within the activated adult heart after injury. *Nature*. 2011;474:640-644.
- 59.** Glass C, Singla DK. MicroRNA-1 transfected embryonic stem cells enhance cardiac myocyte differentiation and inhibit apoptosis by modulating the PTEN/Akt pathway in the infarcted heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011; 301: 2038-2049.
- 60.** Jakob P, Landmesser U. Role of microRNAs in stem/progenitor cells and cardiovascular repair. *Cardiovasc Res*. 2012;93:614-622.
- 61.** Behfar A, Yamada S, Crespo-Diaz R. Guided cardiopoiesis enhances therapeutic benefit of bone marrow human mesenchymal stem cells in chronic myocardial infarction. *J Am CollCardiol*. 2012;56:721-734.
- 62.** Terzic A, Nelson T. Regenerative medicine advancing health care 2020. *J Am CollCardiol*. 2012;55:2254-2257.
- 63.** Jakob P, Landmesser U. Role of microRNAs in stem/progenitor cells and cardiovascular repair. *Cardiovasc Res*. 2012;93:614-622.

ANEXOS

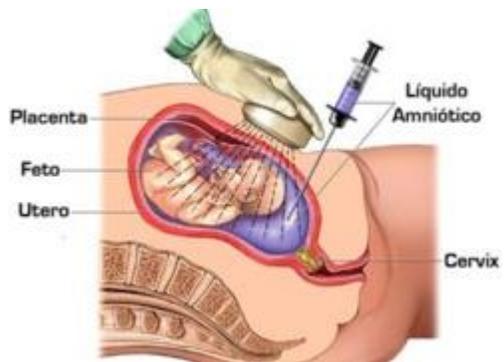
Anexo1

Células madre embrionarias



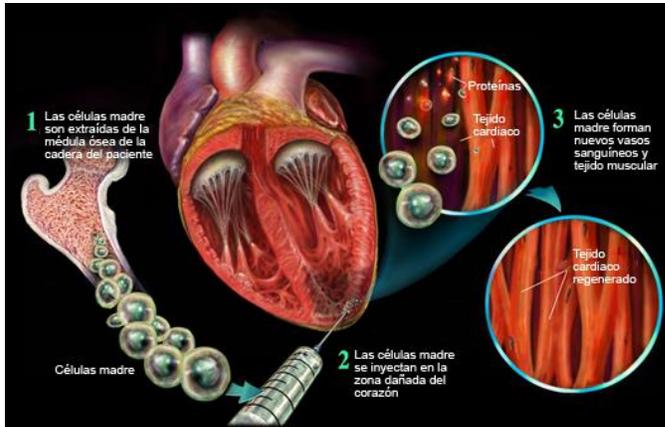
Anexo 2

Células madre de origen fetal



Anexo 3

Mecanismo de acción de células madre adultas



Anexo 4

Creación de musculo cardiaco a partir de células madre

