



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**POSIBLES MECANISMOS DE REGENERACIÓN DE TEJIDOS TRAS
EL USO DE TERAPIA CELULAR AUTÓLOGA EN ENFERMEDADES
CARDIOVASCULARES**

TRABAJO ESCRITO VÍA CURSOS DE EDUCACIÓN CONTINUA

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

PRESENTA

DEJANIRA ESQUIVEL MACEDO



MÉXICO, D.F.

2013



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: RODOLFO PASTELIN PALACIOS

VOCAL: Profesor: JESUS FERNANDO MONTIEL AGUIRRE

SECRETARIO: Profesor: EVA DELIA CALDERON GARCIDUEÑAS

1er. SUPLENTE: Profesor: ENRIQUE GOMEZ MORALES

2° SUPLENTE: Profesor: JORGE RAFAEL MARTINEZ PENICHE

ASESOR DEL TEMA: EVA DELIA CALDERON GARCIDUEÑAS

SUSTENTANTE: DEJANIRA ESQUIVEL MACEDO

ÍNDICE

Introducción.....	1
Generalidades.....	2
Fisiopatología.....	2
Proceso biológico de reparación tisular tras un IAM.....	4
Insuficiencia cardíaca.....	5
Consecuencias patológicas del infarto agudo al miocardio.....	5
Cambios en la circulación después de un IAM.....	6
Las células madre.....	6
Las células madre adultas derivadas de la médula ósea (CMO).....	7
Método de obtención y separación de CMN-MO.....	8
Homing y biodistribución de CMN-MO autólogas tras aplicación terapéutica.....	9
Fracción de eyección ventricular (FEVI).....	12
¿Son las células madre derivadas de médula ósea las apropiadas en el infarto agudo al miocardio.....	12
Angiogénesis.....	15
¿Porqué una terapia celular?.....	17
Terapia celular como prevención de enfermedades cardiovasculares.....	21
Terapia celular en infarto agudo al miocardio: Ensayos clínicos publicados.....	22
Efectos paracrinos/autocrinis de las células madre.....	26
Protección miocárdica.....	31

Metabolismo miocárdico.....	33
Efectos de la inyección intracoronaria de células madre derivadas de médula ósea.....	35
Análisis.....	37
Conclusiones.....	40
Bibliografía.....	42

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) son la primera causa de muerte en el mundo. Además la incidencia de la ECV a una edad más temprana aumenta a medida que se incrementa la prevalencia de los factores de riesgo, tales como hipertensión, diabetes y obesidad.

Aproximadamente 1 millón de infartos de miocardio (IM) se producen por año en los Estados Unidos con una tasa de mortalidad del 25%, a los 3 años aproximadamente 5 millones de pacientes tiene insuficiencia cardíaca, con una tasa de mortalidad del 20% anual.

A pesar de los importantes avances en el tratamiento médico y la estrategia de intervención, el pronóstico de millones de pacientes con infarto agudo de miocardio (IAM) y cardiopatía isquémica sigue siendo sombrío.

Numerosos estudios en humanos han documentado que la terapia celular tras un infarto agudo de miocardio (IAM) y cardiopatía isquemia (CI), genera una mejoría de la función cardíaca en general, una reducción en el tamaño del infarto y la cicatriz, un aumento de la fuerza de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) y la perfusión, mediante mecanismos de acción que las células madre ejercen como la liberación de factores solubles que actúan de forma paracrina, así como factores de crecimiento y citocinas que inducen cardioprotección, neovascularización y regeneración endógena por la activación de células madre residentes. El trasplante autólogo de células de médula ósea (CMO) en pacientes con IAM y con enfermedad cardíaca isquémica ha generado resultados alentadores.

Sin embargo, los estudios en seres humanos son heterogéneos en su metodología y han arrojado resultados contradictorios, además que han incluido un número muy pequeño de pacientes, por lo que la medida en que el trasplante de CMO mejora los resultados en pacientes con ECV no está totalmente clara.

Por lo tanto, se realizó una revisión sistemática de la literatura y para evaluar críticamente y resumir el potencial terapéutico y los beneficios del trasplante de CMO en la reparación cardíaca en pacientes con IAM.

GENERALIDADES

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) son la primera causa de muerte en el mundo. De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS), se estima que 17.3 millones de personas murieron por enfermedades cardiovasculares en 2008, para 2030 el número de muertes estimadas es de 23.6 millones. Además la incidencia de la ECV a una edad más temprana aumenta a medida que se incrementa la prevalencia de los factores de riesgo, tales como hipertensión, diabetes y obesidad.

Aproximadamente 1 millón de infartos de miocardio (IM) se producen por año en los Estados Unidos, con una tasa de mortalidad del 25% a los 3 años, aproximadamente 5 millones de pacientes tiene insuficiencia cardíaca, con una tasa de mortalidad del 20% anual.

El corazón humano no posee la capacidad clínicamente significativa de regenerarse en respuesta a una lesión, tal como en el infarto al miocardio. [13]

FISIOPATOLOGÍA

El infarto agudo de miocardio (IAM) se produce a través de los procesos de necrosis y apoptosis celular iniciada por la isquemia (y reperfusión).

El infarto agudo de miocardio representa la manifestación más significativa de la cardiopatía isquémica, que se presenta cuando se produce una necrosis del músculo cardíaco como consecuencia de una isquemia severa. La isquemia se presenta por una oclusión coronaria aguda de origen trombótico que se produce tras la ruptura de una placa de ateroma vulnerable, fenómeno que depende de la relación sinérgica de diferentes factores [9]:

1. Relacionados con la misma placa: superficie y profundidad de la ruptura, tipo de colágeno contenido en la placa, presencia de material lipídico, niveles de tromboplastina tisular.
2. Relacionados con la coagulación: hipercoagulabilidad sanguínea (niveles de fibrinógeno o factor VII elevados, aumento de la agregación plaquetaria).

3. Relacionados con la pared del vaso y el flujo sanguíneo. [9]

Muchos infartos agudos de miocardio se producen en pacientes con aterosclerosis coronaria, y más del 90% se asocian con un trombo luminal superpuesto, con mayor frecuencia por ruptura de la placa y, con menor frecuencia, por erosión de la placa.

Desde un punto de vista fisiopatológico el proceso se inicia cuando una placa blanda sufre de erosión o fisuración con la consiguiente exposición del material subyacente constituido por lípidos, células inflamatorias como linfocitos, monocitos, macrófagos, musculares lisas, que son activadas a través de mediadores del tipo de tromboxano A₂, ADP (adenosin difosfato), FAP (factor de activación plaquetaria), trombina, factor tisular, y radicales libres; lo que lleva a la activación del proceso de coagulación con adhesión y agregación de plaquetas, y generación de un trombo oclusivo con fibrina y abundantes glóbulos rojos, que provoca isquemia hacia el vaso distal comprometido, en caso de no existir circulación colateral.

En el proceso de erosión están involucradas algunas citocinas que inhiben el proceso de formación de la capa fibrosa que cubre la placa aterosclerótica haciéndola más susceptible de ruptura por la acción de enzimas generadas por los macrófagos tales como metaloproteinasa del tipo de colagenasa, gelatinasa, elastasa, etc. [9]

La isquemia generada lleva al proceso de necrosis del tejido distal, a la obstrucción con los consiguientes cambios estructurales de la membrana celular y de su estructura fibrilar, que llevan a la pérdida de capacidad contráctil y que dependiendo de la extensión del compromiso, puede llevar a la falla cardiaca irreversible. [9]

La arteria coronaria que causa con mayor frecuencia un infarto es la arteria descendente anterior izquierda (aproximadamente, la mitad), seguido de la arteria coronaria derecha (30-45%).

Otra causa de infarto agudo al miocardio es la microembolización coronaria, la cual se ha asociado con arritmias, disfunción contráctil, microinfartos y reducción de la reserva coronaria.

La frecuencia de microembolización coronaria es muy alta (79%) en los infartos agudos de miocardio.

PROCESO BIOLÓGICO DE REPARACIÓN TISULAR TRAS UN IAM

El proceso natural de curación del infarto comienza poco después de un IAM con la liberación de citocinas y quimiocinas que atraen a los leucocitos circulantes, neutrófilos y monocitos en concreto, en la zona del infarto. Los monocitos se diferencian en macrófagos en el tejido infartado. En el transcurso de días a semanas, los neutrófilos y los macrófagos sirven para eliminar las células muertas y los desechos necróticos, además los macrófagos liberan factores que contribuyen a la formación de tejido de granulación, así como iniciar la proliferación de células endoteliales y la angiogénesis, proporcionando el flujo sanguíneo necesario para apoyar el proceso de cicatrización de la herida. A continuación, los fibroblastos proliferan y generan proteínas de matriz extracelular incluyendo el colágeno para reforzar mecánicamente la región infartada. Con el tiempo, la red vascular disminuye, los fibroblastos experimentan apoptosis, y la región inicial de la lesión se sustituye con una delgada, pero densa, cicatriz colagenosa. También, durante el período de curación del infarto y adelgazamiento de la pared, se dilata el ventrículo izquierdo (VI) y la remodelación adversa se presenta. Dado este proceso de curación del infarto complejo y multifacético, existe ampliamente la hipótesis de que existen oportunidades para nuevas terapias que conduzcan a una cicatriz más pequeña y más fuerte, y, en última instancia, la reducción de estrés de la pared y la remodelación total. [15]

INSUFICIENCIA CARDÍACA (IC)

Es una secuela asociada tras un infarto agudo al miocardio.

La IC es un síndrome complejo en el que la alteración de la función cardíaca da por resultado, o incrementa el riesgo de, síntomas y signos clínicos de bajo gasto cardíaco o de congestión pulmonar o sistémica.

En otros términos, el corazón no alcanza a cubrir las demandas metabólicas del organismo. [14]

CONSECUENCIAS PATOLÓGICAS DEL INFARTO AGUDO AL MIOCARDIO RUPTURA DE MIOCARDIO

Los factores asociados con la ruptura cardíaca (que es más frecuente en la pared del ventrículo izquierdo), incluyen sexo femenino, edad mayor de 60 años, hipertensión y primer infarto agudo al miocardio. Otros factores de riesgo incluyen enfermedad aterosclerótica de múltiples vasos, ausencia de hipertrofia ventricular, poco flujo colateral, infarto transmural que afecta como mínimo al 20% de la pared y la localización del infarto en la pared medio-anterior o lateral del ventrículo izquierdo. Una remodelación cardíaca defectuosa, en la que participan metaloproteinasas de la matriz y la matriz extracelular, pueden predisponer a la ruptura cardíaca. [8]

La ruptura cardíaca suele producirse en los primeros días (1-4 días) después del infarto, cuando la necrosis, la coagulación y la infiltración neutrofílica son máximas y han debilitado la pared del ventrículo izquierdo. Sin embargo, por lo menos del 13 al 28% de los casos de ruptura se producen en las 24 horas siguientes al inicio del infarto, cuando la inflamación y la necrosis no son importantes. Los infartos con ruptura tienen una inflamación más extensa, y es más probable que muestren eosinófilos en comparación con los infartos sin ruptura. [8]

CAMBIOS EN LA CIRCULACIÓN DESPUÉS DE UN IAM

A pocas horas de haber ocurrido el infarto hay un incremento en la circulación de las células progenitoras que contribuyen a la reparación del miocardio, incluyendo células endoteliales, mesenquimales, hematopoyéticas y células muy pequeñas similares a las embrionarias, las cuales son células pluripotentes que expresan marcadores tempranos de diferenciación a cardiomiocitos. Muchas de estas células expresan CD34, c-kit, c- met, CXCR4, que participan en la reparación del tejido isquémico en parte por una respuesta al gradiente de factor de crecimiento endotelial vascular- 2R (VEGF), factor de crecimiento de hepatocitos- 1(HGF) y factor derivado del estroma 1 (SDF-1).

Lo anterior sugiere un efecto sinérgico entre la administración intracoronaria y las células progenitoras presentes en circulación. [11]

Las células madre poseen un receptor específico para quimiocina, el CXCR4 (CXC- chemoquine receptor 4), que mediante un sistema de “llave-cerradura” se une con la quimiocina SDF-1. [22]

Las células C-kit+ (células aisladas originalmente de corazón adulto de rata), han sido reportadas como células que adoptan linajes celulares miogénicos, endoteliales, de músculo esquelético *in vitro* y se diferencian en cardiomiocitos, células de músculo esquelético y endotelio vascular cuando injertan en el miocardio isquémico [13]

LAS CÉLULAS MADRE

Son células no especializadas que tienen la capacidad de autorenovarse, dividirse y también de adquirir un compromiso celular para finalmente diferenciarse para reemplazar las células que se pierden o mueren.

Las células madre se definen como células pluriptotenciales, (pueden dar origen a todos los tipos de células del organismo) o multipotenciales (pueden dar origen a

múltiples tipos de células, pero no a todos), que pueden replicarse de manera indefinida.

Las células progenitoras son células madre que han empezado a madurar *in vivo* o *in vitro*, capaces de replicarse un número limitado de veces y es característico que tengan menos flexibilidad en cuanto a compromiso y maduración, y carecen de capacidad de auto-renovación. [3, 12]

Poseen marcadores como CD133, el cual es un marcador prematuro, en lugar indiferenciado, de células madre y progenitoras de linaje comprometido que se pierde pronto durante la diferenciación, mientras que la expresión de CD34 se mantiene para las etapas posteriores. [12]

Lo habitual es que la terapia celular se realice con células madre multipotenciales o células progenitoras (antes de que se produzca el compromiso o la diferenciación). [3]

LAS CÉLULAS MADRE ADULTAS DERIVADAS DE LA MÉDULA ÓSEA (CMO)

Se conoce que la médula ósea además de células madre hematopoyéticas (CMH), también contiene otros tipos celulares como células progenitoras endoteliales (CPE), células madre mesenquimales (CMM) y las células mononucleares (CMN), las cuales pueden verse como portadoras de un “coctel” de diversas células madre adultas.

Las células madre derivadas de médula ósea, con reconocida plasticidad y capacidad proliferativa, pueden circular en la sangre periférica y migrar a diferentes tejidos distantes, en los que pueden asentarse y contribuir a la regeneración de sitios dañados. [22]

Las células madre adultas muestran más limitada su capacidad de diferenciación. La médula ósea ejemplifica una fuente de células madre adultas, que contiene diferentes poblaciones celulares con la capacidad de migrar y transdiferenciarse en células de diversos fenotipos. La medida en que estas células pueden diferenciarse en cardiomiocitos es incierto, y los resultados de los

estudios en animales no han sido replicados consistentemente. Existen subconjuntos principales de células de médula ósea, (CMH), CMM y las CMN, las cuales pueden clasificarse en subpoblaciones y diferenciarse por la expresión de marcadores de superficie celular. [3]

Las células de médula ósea se pueden aislar por aspirado directo de médula ósea o se puede obtener a partir de la circulación periférica después de la movilización con citocinas. [3]

MÉTODO DE OBTENCIÓN Y SEPARACIÓN DE CMN-MO

La extracción de médula ósea se realiza mientras los pacientes están bajo sedación, se aspiran máximo de 80-100 mL de médula ósea de la cresta ilíaca posterior, el producto se deposita en bolsas especiales de recolección de médula ósea con heparina; posteriormente las células se aíslan mediante gradiente de densidad con *Ficoll-SEPAX (Biosafe)*. [22]

Se indica el volumen aproximado a la máquina 50 mL (30 a 120 mL, la cámara de separación puede procesar hasta 210 ml volumen total sangre y ficoll), el volumen de *Ficoll* que se debe agregar es de 100mL, la solución de lavado es una solución isotónica con 2.5% de albúmina (500 mL para dos ciclos de lavado o 1000 mL para tres ciclos de lavado), en caso de requerir un medio de resuspensión se colocan 50 mL de este medio en su respectiva bolsa, posteriormente se remueven los residuos de glóbulos rojos (GR), se enjuaga la bolsa, las células se lavan dos o tres veces para remover el *Ficoll*, finalmente se realiza una resuspensión utilizando la solución de lavado o un buffer.

Para obtener una sedimentación razonable, la cantidad de sobrenadante en el producto inicial debe ser suficiente. El protocolo de gradiente de densidad ha sido desarrollado para procesar productos que poseen ciertas características fisiológicas y en general existen criterios a seguir por regla general:

- Volumen celular total (CNT and GR) no deben exceder el 60 % del volumen inicial

-La cuenta inicial de células nucleadas totales no debe exceder $100 \cdot 10^6$ / mL. [26]
Una pequeña fracción de la suspensión se emplea para el recuento celular, la determinación de la positividad CD34⁺, la viabilidad celular mediante la tinción con azul tripán y para el control microbiológico.

Se consideran células mononucleares a los linfocitos, monocitos, células monocitoides y linfocitoides, mieloides inmaduras, proeritroblastos y eritroblastos. [22]

HOMING Y BIODISTRIBUCIÓN DE CMN-MO AUTÓLOGAS TRAS APLICACIÓN TERAPÉUTICA

Se ha estudiado el homing y destino de diferenciación de las células mononucleares de médula ósea trasplantadas por inyección intracoronaria, 30 días después del infarto agudo al miocardio en ratas, donde las células mononucleares migran a la zona cicatricial en la que se diferencian en fibroblastos y miofibroblastos. Las células mononucleares no se diferencian en cardiomiocitos, células del endotelio de músculo liso o células vasculares, aunque la estimulación de la angiogénesis y la reparación del miocardio se observa en estas condiciones. [10]

El homing y la biodistribución de CMO autólogas después de la aplicación terapéutica en pacientes post-IAM, son mecanismos posibles de monitorear con radiomarcaje con 2-[¹⁸F]-fluoro-2-deoxy-D-glucosa (¹⁸F-FDG) y con imágenes en 3D PET (Tomografía por emisión de positrones en 3ª dimensión).

Después de la isquemia miocárdica, los neutrófilos y los monocitos son reclutados como parte de una respuesta inflamatoria mediada por células, lo que sugiere que el *homing* miocárdico de las CMO no seleccionadas marcadas con ¹⁸F-FDG, pueden reflejar, el *homing* de ciertos tipos de células diferenciadas. [25]

Se ha comprobado que sólo una pequeña fracción (1.3% al 2.6%) de las CMO no seleccionadas, inyectadas vía intracoronaria son retenidas en el miocardio

infartado, mientras que la mayoría de las células hacen *homing* en el hígado y en el bazo 1 hora después de la inyección intracoronaria. Debido a que el porcentaje de CMN-MO que hace *homing* es muy bajo, existen datos que sugieren que la capacidad de *homing* de las células hematopoyéticas es casi 7 veces mayor en comparación con las CMN no fraccionadas, después del procedimiento en pacientes con infarto de miocardio. [28]

Las células CD34⁺ muestran una mayor retención en la zona cercana al infarto que las CMO no seleccionadas (Figura 1).

Notablemente, la transferencia intracoronaria de CMO aumenta la contractilidad del VI principalmente en segmentos del miocardio adyacentes a la zona infartada, lo cual es consistente con la idea de que el *homing* de CMO/ CD34⁺ corresponde a una mejora funcional tardía.

Lo anterior indica que la transferencia intracoronaria podría ser la ruta más adecuada de entrega de las CMO/CD34⁺ en pacientes post-IAM. [25]

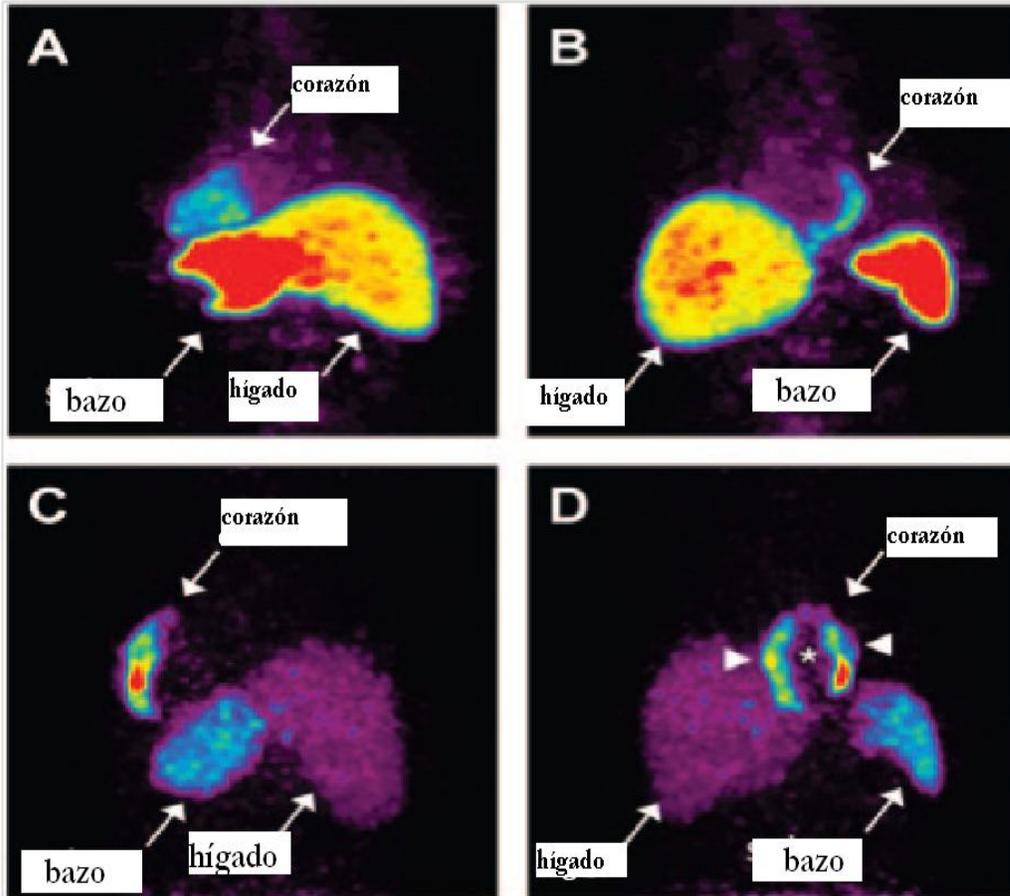


Figura 1. El *homing* miocárdico y la biodistribución de las células marcadas con ^{18}F -FDG. (A) y (B) Imágenes de pecho y abdomen superior de paciente tratado con CMO sin seleccionar en la arteria coronaria circunfleja izquierda, 65 minutos después de la inyección. El *homing* de las CMO es detectable en pared lateral del corazón (zona del infarto y zona cercana al infarto), hígado y bazo. (C) y (D) Imágenes de pecho y abdomen superior de paciente tratado con CMO enriquecidas con CD34, 70 minutos después de la inyección. El *homing* de las células CD34 es detectable en la pared anteroseptal del corazón, pero más prominente en la zona cercana al infarto (puntas de flecha) y no en la zona del infarto (asterisco). [25]

Es importante destacar que, la liberación de factores proangiogénicos por algunos subconjuntos de células hematopoyéticas maduras, puede cooperar con las células madre o progenitoras trasplantadas o células cardíacas residentes a aumentar su capacidad de reparación de los tejidos después de una lesión isquémica. [25]

FRACCIÓN DE EYECCIÓN VENTRICULAR (FEVI)

La disminución en la fracción de expulsión del ventrículo izquierdo es el principal factor pronóstico de mortalidad después de un infarto de miocardio. La FEVI es el porcentaje de sangre expulsada por el ventrículo izquierdo en cada latido y mide el funcionamiento cardíaco. Este valor, expresado en porcentaje, mide la disminución del volumen del ventrículo izquierdo del corazón en sístole, con respecto a la diástole, por lo que una fracción de eyección del 50% significa que el corazón, al contraerse, reduce el volumen de su ventrículo izquierdo a la mitad, con respecto a su posición relajada. Los valores normales de fracciones de eyección están entre 60%-75%. Valores entre 40% y 50% pueden significar un principio de insuficiencia cardíaca. Valores menores de 30% indican una insuficiencia moderada. [29]

¿SON LAS CÉLULAS MADRE DE MÉDULA ÓSEA (CMO) LAS APROPIADAS EN EL INFARTO AGUDO AL MIOCARDIO?

El empleo de células de médula ósea para una terapia celular post-infarto es más común debido a que ningún otro tipo celular las ha superado en cuanto a potencia, para regenerar la función ventricular (Figura 2). Esto se ha comprobado con diversos estudios como el LateTIME que demostró junto con otras investigaciones que la terapia con CMO mejora la FEVI, también un meta-análisis confirmó una pequeña pero significativa mejoría en FEVI. [12]

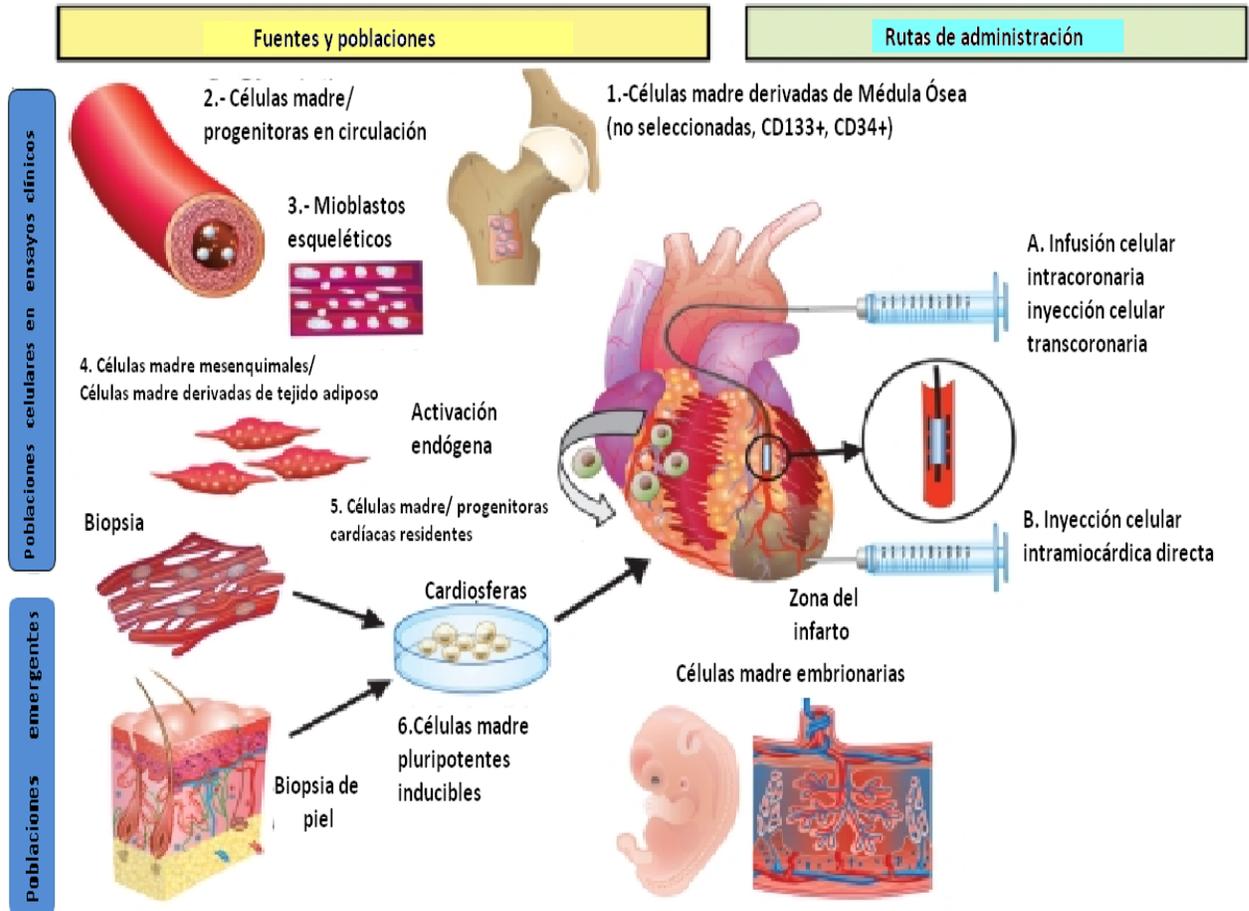


Figura 2. Distintas poblaciones y vías de administración de células madre para el tratamiento de infarto agudo al miocardio. [12]

Muchos estudios han demostrado que las células madre de médula ósea mejoran la función del ventrículo izquierdo, sin embargo, es bien conocido que las propiedades reparativas de las células madre y progenitoras endógenas de la médula ósea son influenciadas negativamente por diversos factores, tales como la edad, diabetes y otras condiciones cardiovasculares. [12]

La habilidad de las células derivadas de médula ósea autólogas para mejorar la función cardíaca después de un infarto al miocardio ha sido analizada en diversos estudios donde las CMO fueron administradas en las arterias coronarias de los pacientes; el estudio REPAIR-AMI mostró un 3% de incremento en FEVI, el estudio ASTAMI no mostró ningún efecto benéfico sobre FEVI. [13]

Estos resultados contradictorios suponen que las CMO no son un tipo celular prometedor como se pensaba, por lo que está en investigación el empleo de otros tipos celulares incluyendo células madre mesenquimales, células derivadas de tejido adiposo, progenitoras adultas multipotentes, o incluso productos obtenidos de donadores jóvenes sanos. [12-13]

Tras los resultados de los estudios BOOST [11] y REPAIR-AMI [12], se observó que a mayor deterioro en la función ventricular, mayor beneficio del tratamiento intracoronario.

La transferencia intracoronaria de células autólogas de médula ósea promueve la mejora de la función sistólica del ventrículo izquierdo en pacientes después de IAM. [19]. La administración intracoronaria de CMN-MO elimina la correlación entre la FEVI deprimida después de la terapia de reperfusión y la expansión del ventrículo izquierdo (VI) durante el seguimiento y, en consecuencia, anula la remodelación temprana del VI tras el IAM. [20]

Se sabe que después de la infusión intracoronaria las células anidan efectivamente en el miocardio, pero también se ha comprobado que dicho anidamiento afecta a una proporción tanto mayor, cuanto más alta es la proporción de progenitores de la solución inyectada [9].

Curiosamente, también se sabe que el uso de algunas subpoblaciones medulares, como CD133⁺, se asocia con un riesgo de reestenosis mayor del esperado tras la angioplastia con *stent* en el infarto reciente. Asimismo, se observa un incremento de la reestenosis esperable si se administran factores de crecimiento previos a la inyección intracoronaria [24]. A pesar del alto riesgo de reestenosis, la inyección intracoronaria de células CD133⁺ aumenta notablemente la FEVI, incrementa la contractilidad y disminuye el defecto de perfusión [28].

ANGIOGÉNESIS

La angiogénesis se define como el crecimiento y la formación de nuevos vasos sanguíneos de la vasculatura preexistente. Se produce naturalmente después del IAM y suministra al infarto de cicatrización con el flujo de sangre, oxígeno y nutrientes necesarios para apoyar los procesos de limpieza de desechos necróticos a la formación de la cicatriz de colágeno. Además, las terapias para mejorar la angiogénesis han mostrado potencial para reducir la remodelación del ventrículo izquierdo post-IAM, y para apoyar tratamientos de reparación y de regeneración, tales como células madre. [15]

Un proceso biológico importante influenciado de forma positiva por las células madre de forma paracrina es la neovascularización. A pesar de las evidencias que las células madre derivadas de médula ósea o progenitoras se incorporan en las estructuras vasculares, varios estudios sugieren que sólo un pequeño número de vasos contienen células del donante. Los procesos moleculares que conducen a la angiogénesis y la arteriogénesis implican mediadores tales como óxido nítrico, factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), factor de crecimiento de fibroblastos básico (b-FGF), factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), la angiopoyetina y otros (Figura 3). Estas moléculas conducen a la migración y proliferación de las CE y VSMC, y por lo tanto a la ampliación del vaso, y a la maduración y síntesis de matriz extracelular. Como se describió anteriormente, se ha demostrado que las CMO pueden expresar moléculas proangiogénicas, en consecuencia se ha planteado la hipótesis de que la liberación de factores proangiogénicos puede desempeñar un papel importante en la determinación del aumento de la densidad capilar y el desarrollo de tejidos colaterales a los tejidos isquémicos de los animales tratados con células madre. Por ejemplo, se ha informado que la inyección de CMN-MO en una zona de corazón isquémico porcino (hecho por ligadura coronaria) resulta en un aumento significativo del flujo sanguíneo regional y la densidad capilar en 3 semanas. Los autores mostraron que las CMN-MO inyectadas expresan bFGF, VEGF y angiopoyetina-1 y que los niveles cardíacos de estos ligandos angiogénicos estaban significativamente

aumentados 3 semanas después de la inyección de células madre en comparación con los controles. Además, los niveles cardiacos de interleucina-1 β (IL-1 β) y factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) se incrementaron significativamente después de la administración de CMN-MO.

Puesto que también IL-1 β y TNF- α muestran tener actividad angiogénica, los autores concluyeron que los factores liberados probablemente contribuyen a estimular la angiogénesis en animales tratados con CMN-MO. [21]

Las células madre adultas están involucradas en la vasculogénesis postnatal que abarca 3 diferentes mecanismos: el primero es la vasculogénesis postnatal que consiste en la formación de nuevos vasos por la fusión y diferenciación de células precursoras endoteliales provenientes de la médula ósea. El segundo es la angiogénesis, que consiste en el brote de nuevos vasos de los vasos preexistentes, y el tercero es el engrandecimiento colateral y muscularización, la arteriogénesis (Figura 3). [21]

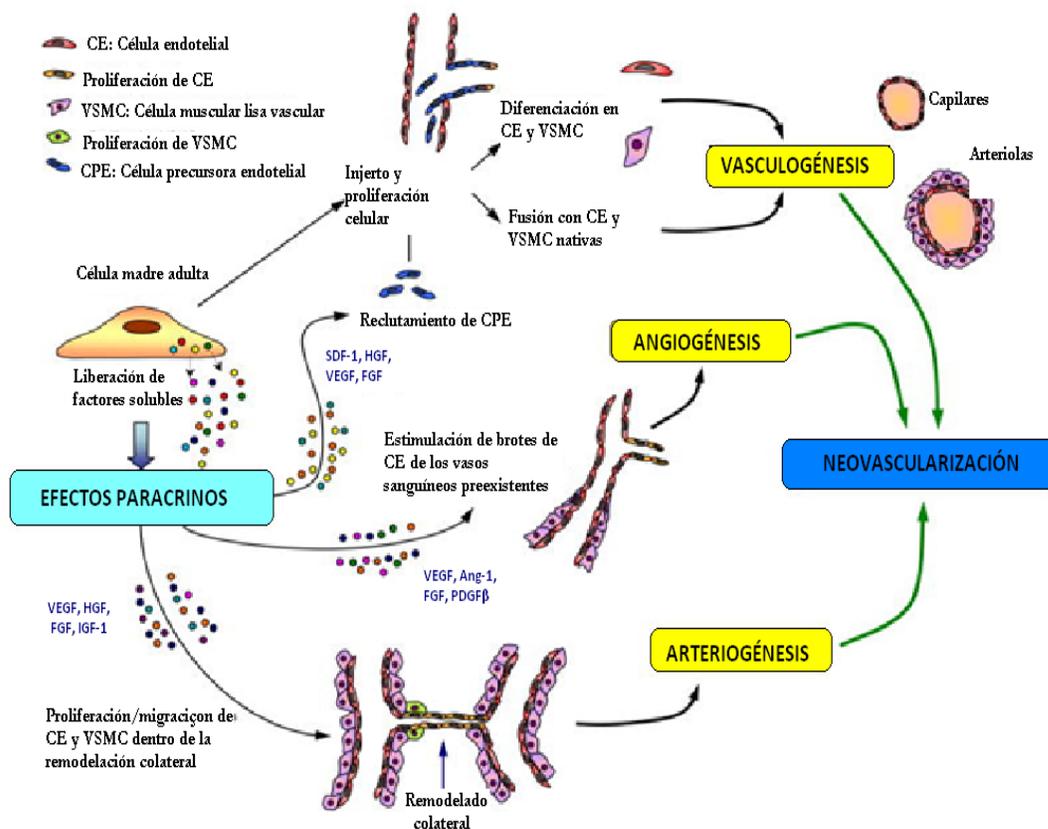


Figura 3. Mecanismos involucrados en la neovascularización. Los vasos del corazón adulto están quiescentes, sólo cuando se encuentran bajo estrés o en presencia de condiciones patológicas, como el infarto al miocardio, el lecho vascular coronario se expande. [21]

¿POR QUÉ UNA TERAPIA CELULAR?

La terapia celular basada en células madre es una gran alternativa para la regeneración del daño al miocardio y atenuar la enfermedad isquémica, sin embargo, el tipo celular óptimo no ha sido establecido todavía.

La reparación de tejidos se realiza como un proceso normal durante toda la vida, sin embargo esa capacidad se ve reducida con la edad y culmina cuando aparecen enfermedades como la ECV.

El proceso de reparación es un equilibrio entre la lesión y la reparación del tejido, éste se mantiene gracias a una fina interacción entre señales proinflamatorias y antiinflamatorias junto con las células madre endógenas. [3]

Cuando se presenta un evento masivo como es el caso de un infarto agudo al miocardio, las células madre no son suficientes o no se movilizan las necesarias para compensar la lesión, es decir, las células madre cardíacas residentes no son suficientes para compensar la lesión en un infarto agudo al miocardio.

En este caso aportar células madre directamente en la lesión constituye un tratamiento novedoso. [3]

Este proceso de reparación está mediado, en parte, por reserva de células madre o progenitoras que se encuentran dentro de la mayoría de los órganos, pero principalmente en la médula ósea. Se sabe que con el envejecimiento, el número y/o la capacidad funcional de reparación de estas células madre disminuye. Dicho de otra manera, como un individuo envejece y se produce una lesión, la reparación ineficaz permite la progresión de la enfermedad.

Se podría decir que la integridad del tejido representa un equilibrio entre la lesión y la reparación (Figura 4). [2]

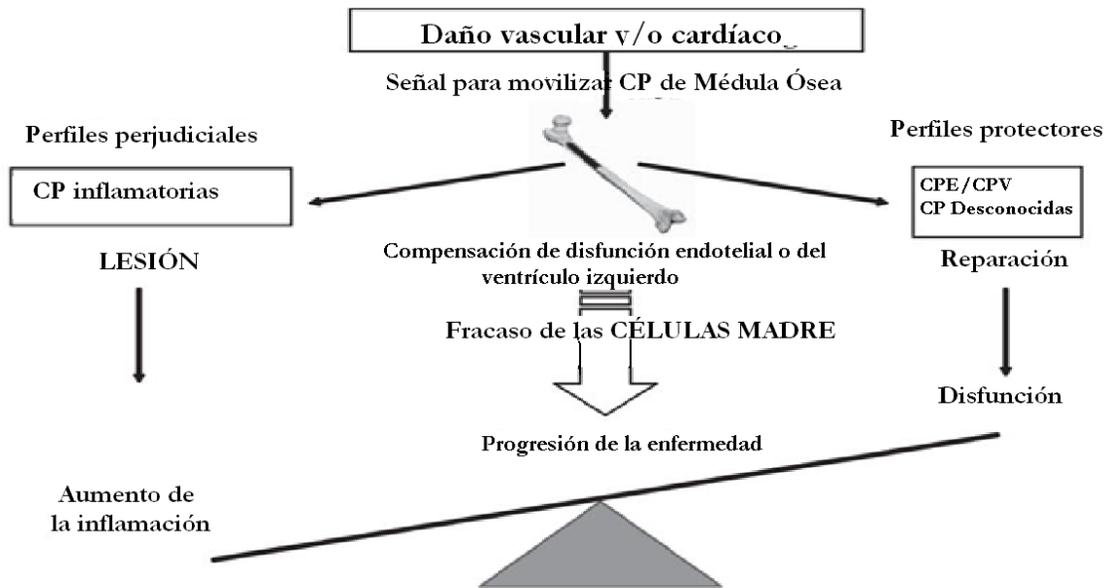


Figura 4. Vemos a la enfermedad como un proceso continuo de reparación endógena que en última instancia falla, ya sea el número o la calidad de las células 'protectoras' disminuye o las 'perjudiciales' predominan. Por lo tanto, para identificar, diagnosticar y atenuar el proceso de la enfermedad la atención debería centrarse en el equilibrio de los perfiles celulares que conducen a la reparación frente a la progresión de la enfermedad. [2]

Si el reclutamiento de células es suficiente y adecuado, se produce la reparación, la inflamación se extingue y la integridad del tejido es, al menos parcialmente, restaurado.

Parece ser que hay un compromiso progresivo de las Células Madre Hematopoyéticas (CMH) en la generación de progenitores multipotentes pasando por varios estadios de diferenciación que implican cambios funcionales irreversibles y que caracterizan el proceso de maduración celular.

A medida que las CMHs maduran, progresivamente van perdiendo su potencial de auto-renovarse pero se vuelven mitóticamente más activas, es decir, que las células progenitoras poseen muy poca capacidad de auto-renovación y una alta actividad mitótica.

La dinámica que regula cuáles células se auto-renuevan para mantener la población, y cuáles proliferan y llegan a comprometerse para producir células diferenciadas, aún no es clara, aunque se cree que las citocinas, producidas por

las células, pueden tener un papel decisivo importante en la regulación de la activación de las CMH. Esta activación, conlleva una serie de cambios celulares que inducen el paso de fase G0 a fase G1 indicando el inicio de la división celular y conduciendo la expresión de CD34 y a una pérdida gradual de la multipotencialidad con las sucesivas divisiones celulares.

En el caso del tejido sanguíneo el proceso de auto-renovación es crucial para que las células madre persistan a lo largo de la vida de los individuos y se mantengan en el número adecuado, y el proceso de diferenciación es necesario para que se mantenga el número de células sanguíneas requeridas para el correcto funcionamiento del organismo. Estos dos procesos deben estar equilibrados, de lo contrario puede surgir enfermedad. [33]

Con la lesión, la demanda de CP sobrepasa la capacidad del cuerpo para responder con un número suficiente de éstas, resultando en un fracaso del tejido para repararse. Esta falta de reparación endógena va acompañada de un proceso de reparación secundaria que a menudo resulta en cicatrización con escara fibrosa no contráctil, un fallo de la integridad del tejido y una sostenida respuesta proinflamatoria, que a su vez exacerba la lesión permitiendo la progresión de la enfermedad [2]

Si el infarto es bastante grande el resto del miocardio sufre una descompensación que lleva a la insuficiencia cardíaca. [3]

La reparación cardíaca puede ser considerada como el resultado de 3 procesos principales: la sustitución (trasplante de tejido), rejuvenecimiento o restauración (activación de células madre cardíacas residentes u otras células madre a través de mecanismos autocrinos o paracrinos, modulación de la apoptosis, inflamación, angiogénesis, o el metabolismo), y la regeneración (injerto de células madre que forman miocitos diferenciados). Estas entidades diferentes pueden estar interrelacionadas con que la modulación de la lesión miocárdica también puede beneficiar a la terapia posterior dirigida a la regeneración miocárdica. [1]

En estudios preclínicos y clínicos, una variedad de células han sido consideradas como candidatos para la terapia celular de reparación (Figura 5). Las células difieren marcadamente en cuanto a su lugar de origen, a su anatomía y función, por los marcadores de superficie, factores de transcripción y proteínas expresadas, así como también difieren en su capacidad para formar uno o más tipos de células diferenciadas.

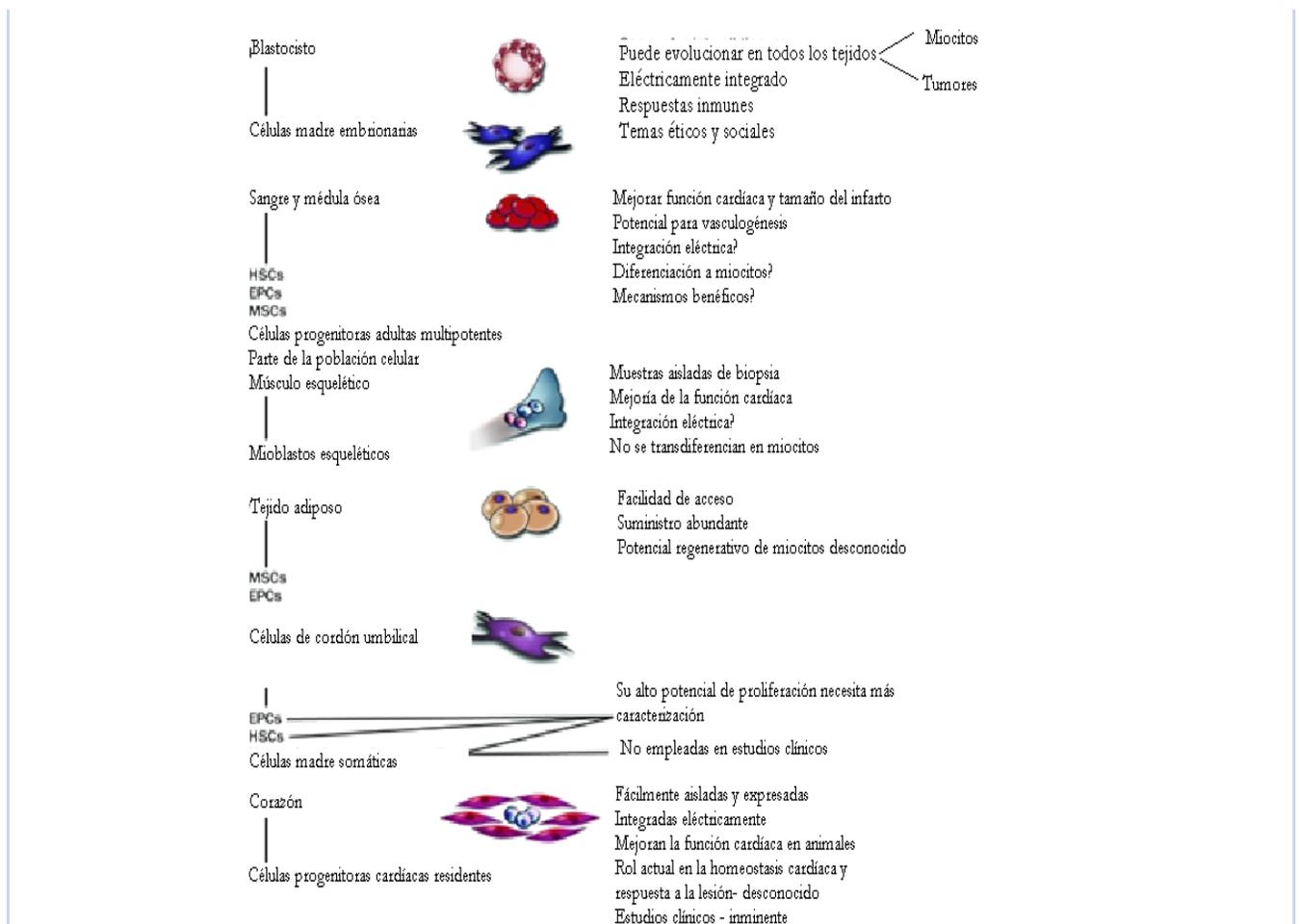


Figura 5. Poblaciones y fuentes celulares candidatas para terapia celular. [1]

La localización de una fuente de células apropiadas en un individuo que envejece o enferma se convierte en un desafío. Actualmente, las dos fuentes autólogas de células más prevalentes son la médula ósea y tejidos, aunque la sangre periférica y sangre de cordón umbilical son evaluadas más recientemente. Los tejidos que

han servido como una fuente de células para la reparación cardiovascular en animales, incluyen el músculo esquelético, corazón y grasa, de la médula ósea, varias poblaciones celulares por ejemplo, células mononucleares y subconjuntos de las mismas: CD34⁺, células progenitoras endoteliales (CPE) y células madre mesenquimales (CMM) / células estromales se han utilizado para el trato continuo de la ECV, los mioblastos esqueléticos (SKMBs) también se han utilizado en pacientes con insuficiencia cardiaca o después de IAM.

TERAPIA CELULAR COMO PREVENCIÓN DE ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES

El uso de poblaciones específicas de CP para tratar el corazón antes de una lesión aguda o fulminante se basa en su papel recién descrito como mediadores de la reparación endógena en curso en la pared del vaso y/o tejido miocárdico. Por ejemplo, los factores de riesgo cardiovascular, criterios indirectos de valoración de imagen de aterosclerosis (es decir, el grosor de la íntima-media carotídea) y los principales eventos cardíacos adversos mayores (MACE) han sido relacionados con CPE circulantes en sangre definidas (o de la médula ósea), las células que expresan combinaciones de CD133 (AC133), CD34, VEGF-R2, CD31 y CD14 de vez en cuando. Los pacientes con niveles reducidos de CPE tienen elevados índices de riesgo (en base a los criterios del Framingham que tienen una sensibilidad del 100% y una especificidad del 78% para identificar personas con insuficiencia cardiaca congestiva definitiva) [32], el espesor de la íntima-media mayor y una supervivencia más corta (mayor MACE) tras un primer IAM.

Del mismo modo, una pérdida en el número de CPE circulantes y un defecto en su capacidad de migrar (es decir, la capacidad funcional) se muestra en los pacientes con mayor riesgo de enfermedad cardiovascular, incluyendo el IAM. [2]

La capacidad de las CMN-MO de revertir la carga de la placa existente es una respuesta correlacionada con un aumento en tres poblaciones celulares

principales (CD34, CD45, AC133/CD34) en la médula ósea, pero no en el colesterol total en suero.

La reducción de la carga de la placa se asocia a aumentos del tipo Th1 (proinflamatorios) y disminuciones del tipo Th2 (antiinflamatorios), también a cambios en las citocinas hematopoyéticas/reguladoras en sangre periférica.

Por lo anterior se ha planteado que la reparación vascular mediante células requiere un grado de inflamación para reclutar las células reparadoras procedentes de la médula ósea que producen la digestión de las lesiones causadas por la placa de ateroma y la anidación de células progenitoras endoteliales (CPE) para regenerar el endotelio. [3]

TERAPIA CELULAR EN INFARTO AGUDO AL MIOCARDIO: ENSAYOS CLINICOS PUBLICADOS

La idea de utilizar un aspirado de médula ósea - un "cóctel" de las células - para acelerar la reparación cardíaca tras un IAM se ha ganado el entusiasmo general entre los investigadores clínicos. La traducibilidad fácil de protocolos de hematología a la cardiología y la administración intracoronaria de médula ósea a través de un catéter han llegado a representar una modalidad terapéutica atractiva. Hoy en día, más de 1000 pacientes han sido tratados con células de médula ósea en estudios en fase I y II.

Los ensayos realizados hasta la fecha se han centrado en el uso de CMN-MO, CPE, células mesenquimales y otras células durante todo el proceso de ECV, con la mayoría de los pacientes tratados después de IAM. Tres recientes meta-análisis sugieren que el proporcionar CMN-MO tiene un beneficio estadísticamente significativo pero pequeño (en términos clínicos) cuando se administra después de IAM.

Existen discrepancias en el contexto de la enfermedad, la población de pacientes, tipo celular y de la dosis o algunos otros factores que quedan por resolver.

Las CMN-MO reducen sustancialmente los episodios de angina de pecho por semana, en una medida mayor que la ranolazina, un nuevo agente antianginoso,

además de la mejora sintomática correlacionado con el aumento de la perfusión miocárdica.

Desafortunadamente las CMN-MO en IAM con stent no son tan beneficiosas, aunque una reducción del tamaño del infarto se observa, no se produce una mejoría funcional. Esta falta de efecto puede ser debido a la pronta restauración del flujo coronario basada en células de reparación innecesarios. Cuando la reperfusión y la colocación de stents no se aplican de manera uniforme, las CMN-MO y otras células (AC133 + CPE y CMM) mejoran la viabilidad miocárdica, el movimiento de la pared, el flujo coronario y la fracción de eyección ventricular izquierda (FEVI). Es posible que el éxito de CMN-MO reside en la administración de células no fraccionadas, permitiendo interacciones célula-célula y célula-tejido *in vivo*, característica ausente cuando una población celular aislada se administra. En otras palabras, las CMN-MO no fraccionadas tienen progenitores maduros e inmaduros, y es probable que una combinación de estas células sea la mejor opción.

La administración de aproximadamente 236×10^6 CMN-MO en pacientes con IAM, ha dado lugar a una mayor supervivencia libre de eventos a 1 año comparado con grupos control o placebo aunque para garantizar el injerto se recomienda una dosis de $4-6 \times 10^8$ CMN-MO.

El REPAIR-AMI fue el primer estudio aleatorizado de fase II (95 pacientes recibieron CMN-MO y 92 pacientes recibieron placebo), que muestra que las CMN-MO exógenas participan en la reparación del tejido y puede soportar la prueba rigurosa de los criterios de valoración clínicamente recorridos. Se observó el efecto de la administración intracoronaria de CMN-MO, 7 días después de que los pacientes recibieron el tratamiento, sin embargo, es necesario que haya un suficiente grado de lesión de los tejidos para que las células muestren una eficacia: aquellos pacientes que tuvieron una FEVI basal $\leq 48,5\%$ resultan más beneficiados de la terapia celular, y aquellos por encima de este valor no muestran ningún beneficio. [2]

Estudios varios han mostrado mejoría en la función ventricular izquierda después de inyección intracoronaria de células autólogas derivadas de médula ósea en la fase aguda del infarto de miocardio. [4]

Un estudio donde 47 pacientes fueron sometidos a inyección intracoronaria de CMN-MO 6 días después de un infarto de miocardio, se evaluó el cambio promedio de la FEVI, medida con el uso de Tomografía Computarizada por Emisión de Positrones (SPECT), entre el valor inicial y 6 meses después del infarto, obteniendo para todos los pacientes un aumento de 7,6%. [4]

Otro estudio donde 191 pacientes se sometieron a terapia intracoronaria de CMN-MO, durante más de 3 meses hasta 5 años después del tratamiento intracoronario se observó una mejoría significativa en la hemodinámica en reposo y con ejercicio (por ejemplo, la FEVI, el índice cardíaco), la capacidad de ejercicio, consumo de oxígeno y la contractilidad del ventrículo izquierdo; es importante destacar que hubo una disminución significativa en la mortalidad en los pacientes tratados con CMN-MO en comparación con el grupo control. [5]

Takahashi y sus colegas inyectaron CMN-MO en corazones infartados agudamente, observaron aumento de la densidad capilar, reducción del tamaño del infarto y mejora de la función cardíaca en comparación con los controles.

El Latetime sometió a 87 pacientes con disfunción significativa del VI ($FEVI \leq 45\%$) a la infusión intracoronaria de $150 \cdot 10^6$ CMN-MO autólogas, donde se observaron cambios en la FEVI global y en el movimiento de la pared del VI en la zona del infarto y la zona cercana a éste, comparando la línea basal y a los 6 meses mediante resonancia magnética cardíaca.

La infusión intracoronaria CMN-MO autólogas comparada con la infusión intracoronaria de placebo, 2 a 3 semanas después de la ICP (intervención

coronaria percutánea), no mostró mejoría en la función global o regional a los 6 meses. [11]

El BOOST mostró que la FEVI global basal (determinada 3,5 días después de ICP) fue de 51,3% en los controles y 50,0% en los pacientes tratados con CMO. Después de 6 meses, la FEVI media tuvo un aumento de 0,7% en el grupo control y 6,7 % en el grupo con CMO. La transferencia de las células de médula ósea mejora la FEVI principalmente en segmentos adyacentes a la zona infartada en función del miocardio. La transferencia celular no aumenta el riesgo de eventos clínicos adversos, reestenosis intra-stent, o los efectos proarrítmicos. [19]

En el sub-estudio FINCELL-INSIGHT el cual incluyó 80 pacientes, se evaluaron los cambios en la perfusión, metabolismo, inervación y volumetría cardíaca que ocurren tras la infusión intracoronaria de CMN-MO poco después de la elevación aguda del segmento ST en infarto al miocardio, donde los efectos principales de las células pueden resumirse de la siguiente forma: una tendencia a disminuir en el tamaño del miocardio desnervado; un aumento en el metabolismo de la glucosa en el área de riesgo (aumento en el consumo de glucosa en la zona infartada), efecto potencialmente positivo sobre la remodelación del VI, y leve efecto negativo en el tamaño de la cicatriz y la reserva de perfusión miocárdica en el área en riesgo. La cicatriz disminuyó más en el grupo control que en el grupo tratado con CMN durante 6 meses de seguimiento, posiblemente debido a que una cicatriz más grande permite mayor recuperación durante el seguimiento; con respecto a la FEVI solo se obtuvo una mejora de 0.5%. [30]

Cochrane recopiló datos para comparar un grupo de 1765 pacientes diagnosticados con IAM tratados con células madre progenitoras autólogas contra un grupo control sin éstas, donde no se observaron cambios significativamente estadísticos en la incidencia de mortalidad y morbilidad después del tratamiento con células progenitoras. A corto plazo se observa una mejoría en la FEVI, la cual se conserva a largo plazo (12 a 61 meses). [7]

A largo plazo, en determinados momentos, el tratamiento con células madre reduce la presión sistólica final del ventrículo izquierdo y los volúmenes diastólico y sistólico finales (VTS y VTD), además del tamaño del infarto significativamente.

Existe una correlación positiva entre la dosis de células mononucleares infundidas y el efecto de la FEVI medida por resonancia magnética.

Hay una correlación entre el momento del tratamiento con células madre y el efecto de la FEVI medida por angiografía del ventrículo izquierdo. [7]

EFFECTOS PARACRINOS/AUTOCRINOS DE LAS CÉLULAS MADRE

Se sabe que las CMN-MO administradas mediante inyección intracoronaria autóloga en ratas con infarto, migran a la zona dañada y sólo en el tejido cicatricial muestran un fenotipo de fibroblastos, además de la proliferación activa de células no musculares, maduración y formación de fibras de colágeno después de la administración de las células; la cicatriz y el índice de dilatación del ventrículo izquierdo se mantienen; el número y volumen de vasos sanguíneos en la zona dañada aumenta.

Los principales mecanismos subyacentes que han sido propuestos a la acción terapéutica de las células derivadas de médula ósea son la transdiferenciación en cardiomiocitos y en células de linaje vasculares. [21]

El trasplante de CMN-MO conduce al engrosamiento y fortalecimiento de la pared cicatricial, estimula la angiogénesis, y mejora la contractilidad miocárdica global. [6]

Independientemente si las células madre se transdiferencian o no, se ha demostrado que el número de cardiomiocitos generado es bajo para explicar la mejoría funcional, por lo que se cree que los beneficios funcionales observados después de la transferencia de células madre en una lesión cardiaca podría estar relacionado con la secreción de factores solubles que, actuando de una forma

paracrina, protegen el corazón, atenúan el remodelado ventricular patológico, inducen neovascularización y promueven la regeneración. [21]

En consecuencia, los 3 principales mecanismos de acción establecidos de las células madre adultas en la reparación del corazón son: regeneración de cardiomiocitos, vasculogénesis y acciones paracrinas (Figura 6).

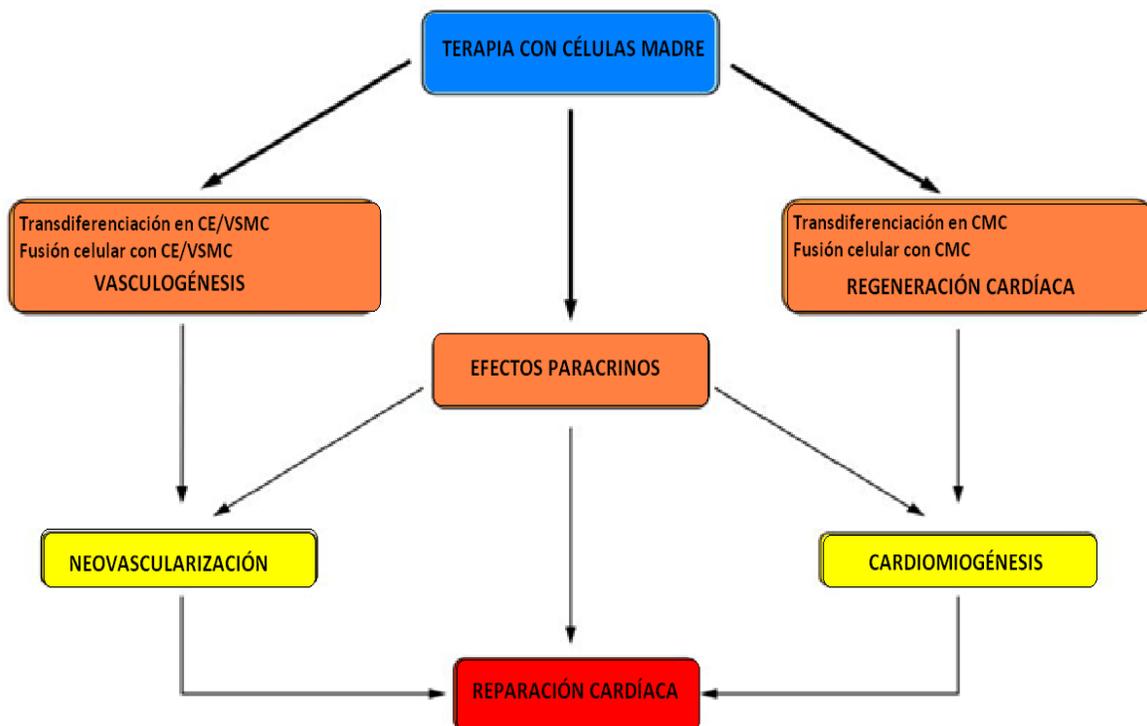


Figura 6. Mecanismos de acción propuestos de las células madre adultas en reparación cardíaca. La transdiferenciación y fusión celular de las células madre trasplantadas producen la regeneración cardíaca y vasculogénesis. [21]

Las células madre adultas secretan una gran cantidad de citocinas, quimiocinas y factores de crecimiento que pueden relacionarse potencialmente con la reparación cardíaca, además de que el estrés hipóxico aumenta la producción de varios de estos factores. Las concentraciones tisulares de las proteínas tales como el VEGF, b-FGF, HGF, factor de crecimiento de insulina I (IGF-I) y adrenomedulina, entre otras, están significativamente aumentados en corazones lesionados tratados con células madre pluripotentes humanas de MO. Los efectos paracrinos pueden influenciar positivamente muchos procesos, entre ellos la cardiomiogénesis y la

neovascularización. La regeneración cardíaca, vasculogénesis y efectos paracrinos inducen la reparación cardíaca.

Se ha propuesto que las células madre adultas, cuando se inyectan en el miocardio lesionado, pueden proliferar y transdiferenciarse en cardiomiocitos o fusionarse con los cardiomiocitos residentes y así regenerar el miocardio perdido. Se ha propuesto recientemente una interesante hipótesis adicional: el trasplante de células madre exógenas puede activar las células madre cardíacas residentes y / o estimular la replicación de los cardiomiocitos a través de la acción paracrina, lo que permite la regeneración cardíaca endógena (Figura 7). De hecho, es concebible que algunos de los factores liberados por las células madre adultas trasplantadas pueden aumentar la proliferación, la movilización, diferenciación, supervivencia y función de células progenitoras endógenas cardíacas o incluso la restauración de nichos de células madre.

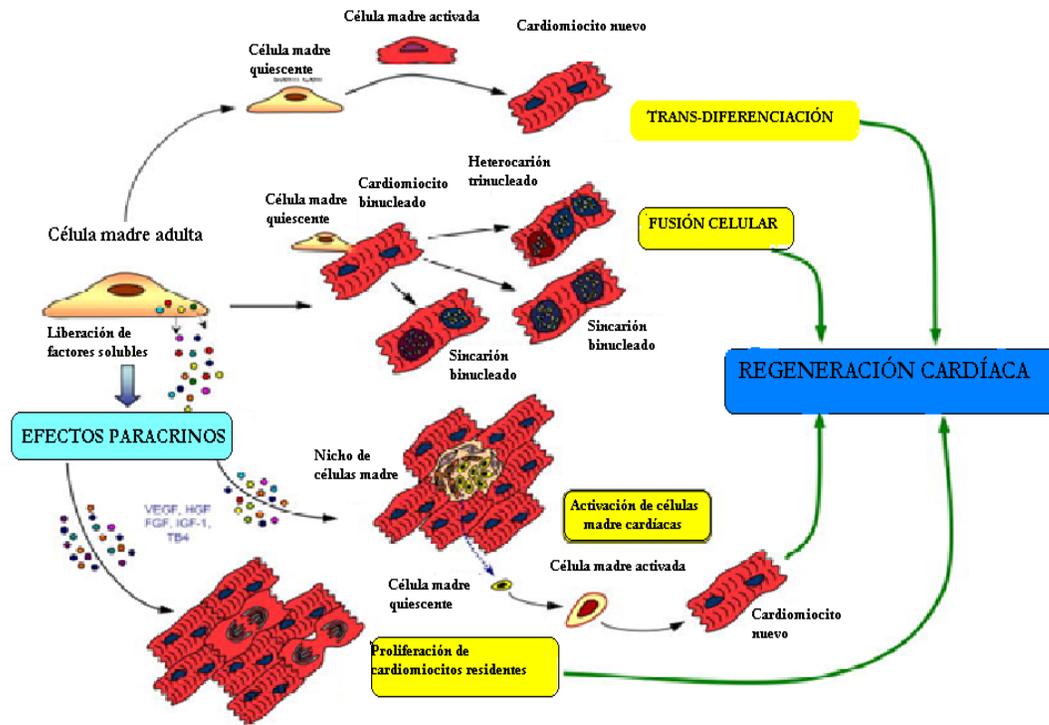


Figura 7. Mecanismos envueltos en la regeneración cardíaca. Potencialmente, las células madre adultas inducen la regeneración cardíaca por diferentes mecanismos. La transdiferenciación en cardiomiocitos recién formados ha sido la primera vía propuesta. La fusión celular de las células madre con los cardiomiocitos residentes es una segunda posibilidad pero el significado biológico de este evento sigue siendo poco claro. Finalmente, los factores solubles paracrinos liberados por las células madre pueden inducir activación, migración y diferenciación de las células madre cardíacas y/o intensificar la proliferación de los cardiomiocitos residentes.

Los factores paracrinos pueden influir en las células adyacentes y ejercer sus acciones a través de varios mecanismos. Además, los procesos de post infarto inflamatorios y fibrogénicos, metabolismo cardíaco, la contractilidad cardíaca, y / o la regeneración cardíaca endógena también pueden ser influenciados positivamente de forma paracrina. Es probable que los mediadores paracrinos se expresen o liberen de una forma temporal y espacial para ejercer efectos diferentes dependiendo del microambiente después de la lesión. Estos factores influyen en el microambiente ejerciendo acciones paracrinas en diferentes tipos celulares que inducen la protección de los tejidos, la reparación y la regeneración. Los factores también pueden ejercer acciones autocrinas modulando la biología de las células madre, incluyendo su auto-renovación y proliferación.

Así los factores liberados pueden tener acciones autocrinas sobre la biología de las células madre en sí, por lo tanto, la hipótesis paracrina / autocrina (Figura 8) amplía el concepto tradicional del nicho de células madre para incluir la influencia de los factores liberados por las células madre en el microambiente modulando la biología de células madre y la respuesta tisular.

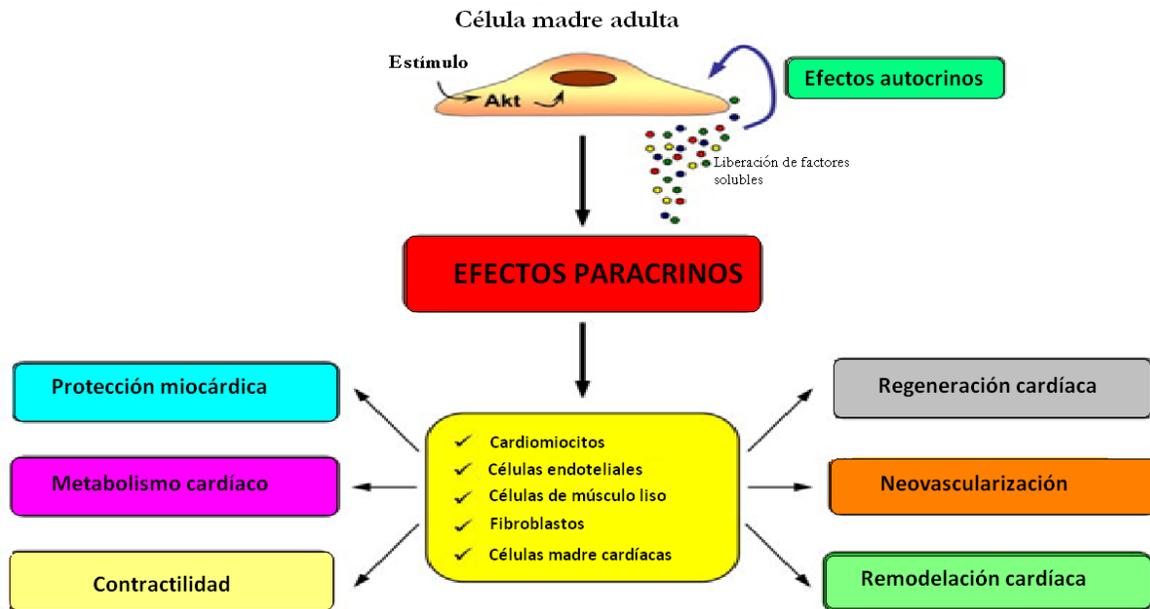


Figura 8. Mecanismos paracrinosa/autocrina en la señalización y la terapia de las células madre. Las células madre adultas liberan sustancias biológicamente activas de forma espacial y temporal en respuesta a estímulos específicos del microambiente como la isquemia. [21]

PROTECCIÓN MIOCÁRDICA

Las células madre en un microambiente isquémico liberan, como efecto paracrino inmediato, moléculas citoprotectoras que incrementan la supervivencia de los cardiomiocitos. Los efectos citoprotectores son extremadamente mejorados con la sobreexpresión *in vitro* del gen Akt-1, el cual es un factor de supervivencia, se activa por el factor de crecimiento derivado de plaquetas, a través de la fosfatidilinositol 3-quinasa (PI-3K). Los factores de supervivencia pueden suprimir la apoptosis de una manera independiente de la transcripción mediante la activación de la serina/treonina quinasa AKT1, que al fosforilarse inactiva componentes de la maquinaria apoptótica.

En modelos animales el tamaño del infarto y el índice de cardiomiocitos apoptóticos disminuyen después de la administración de células madre adultas, lo cual demuestra que las células madre (en este caso mesenquimales), ejercen un efecto cardioprotector a través de la liberación de factores paracrinos y la activación de la vía Akt (figura 9) que mejora notablemente la producción de dichas moléculas.

METABOLISMO MIOCÁRDICO

El corazón, para mantener su función contráctil, requiere un suministro continuo y abundante de energía, transformando la energía química almacenada en la glucosa, cuerpos cetónicos y ácidos grasos libres de cadena corta (AGLs) en energía mecánica, empleada en la interacción actina/miosina a nivel de las miofibrillas. El corazón sintetiza, diariamente, 70 veces su peso en ATP, unos 30 kilogramos, transformando apenas 25% de esta producción en trabajo. Hoy en día existe evidencia que una alteración del metabolismo energético del miocardio juega un papel clave en el desarrollo y progresión de la insuficiencia cardíaca.

En el metabolismo energético de los cardiomiocitos la glucosa, el lactato y los ácidos grasos son la fuente primaria para la producción de energía en el corazón adulto, siendo la principal vía metabólica de la glucosa, la glucólisis. [31]

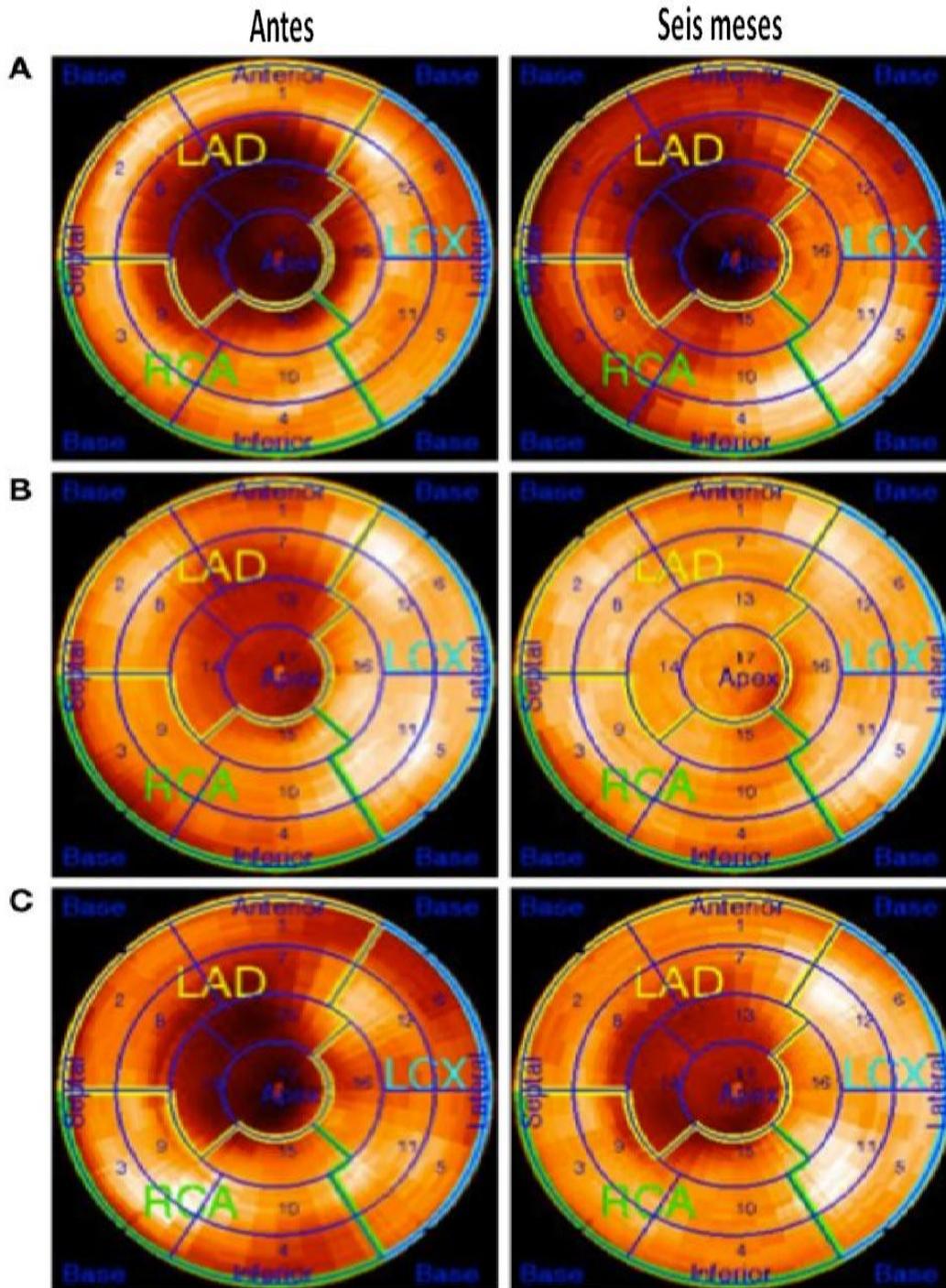


Figura 10. Parcelas polares de $[^{18}\text{F}]$ FDG-PET estudios en 1-2 semanas y 6 meses después de placebo o terapia BMC. (A) El paciente con el tratamiento con placebo tiene un defecto grande en la región de LAD. El tamaño del defecto se reduce ligeramente (34-27%) a los 6 meses, (B) un paciente con la terapia de BMC tiene un defecto de tamaño moderado en la región de LAD en día 10-15 punto de tiempo, y el tamaño del defecto se redujo claramente en 6 meses de seguimiento (21-2%), y (C) de un paciente con la terapia de BMC tiene un defecto de tamaño moderado en la región de LAD y ningún cambio evidente en el tamaño del defecto (26-22%) se observó a los 6 meses de seguimiento.

EFFECTOS DE LA INYECCIÓN INTRACORONARIA DE CÉLULAS MADRE DERIVADAS DE MÉDULA ÓSEA

Los efectos más favorables reportados son sobre la función del ventrículo izquierdo, que se han observado a los 5 - 7 días post-infarto, sin embargo no se ha determinado el tiempo óptimo de administración de las células.

En los primeros días después del infarto existe una respuesta inflamatoria excesiva junto con infiltración de neutrófilos y otras células que poseen la capacidad de incrementar las citocinas, tales como TNF- α , IL-1 y especies reactivas de oxígeno que pueden influenciar de forma adversa las células administradas.

En la terapia de células madre cardíacas en los seres humanos, ni el número de células trasplantadas, ni el tipo de células (derivadas de médula ósea mononucleares vs mesenquimales o circulante progenitor periférico) tienen un efecto significativo sobre los cambios en el tamaño del infarto. Curiosamente, en un estudio reciente en animales se propuso que las CMN-MO sobreviven mejor en un medio isquémico en comparación con las células madre mesenquimales.

El momento de la administración celular post-IAM puede tener una mayor influencia en el efecto del tratamiento y puede contribuir a efectos negativos, ya que seguidos del infarto, ocurren significativos cambios temporales en el miocardio y en la médula ósea que pueden afectar el injerto y la retención de las células.

Una obstrucción microvascular en la zona infartada puede perjudicar la entrada de nutrientes y oxígeno y con esto, la supervivencia de las células madre. Esto se contrarresta con un incremento en la expresión de factor derivado del estroma-1 en los primeros días después del infarto que puede incrementar la llegada de células madre, y por lo tanto, el injerto. [11]

Durante las siguientes 1 o 2 semanas hay una transición de una fase inflamatoria a una fase proliferativa en la cual la matriz extracelular es formada y la neovascularización se incrementa.

El efecto neto de los cambios puede influenciar negativamente el potencial de los efectos benéficos de las células administradas.

Efectos en tanto el tamaño del infarto y la FEVI son mayores cuando se administran dosis de CMN-MO $>10^8$ en menos de siete días después del infarto, en pacientes con grandes infartos o menor FEVI basal; sin embargo en pacientes tratados con las células en más de siete días posteriores al infarto, aún con dosis mayores a 10^8 , no existe reporte de cambios significativos. [16,18]

La administración anticipada de CMN-MO no fraccionadas a pacientes que han sufrido de IAM puede reducir el tamaño del infarto y reducir los daños durante la remodelación ventricular, para prevenir o retrasar la aparición de la insuficiencia cardíaca. El requisito de una dosis más grande de CMN-MO para reducir el tamaño del infarto y mejorar la FEVI se puede explicar por las bajas tasas de retención de células en el corazón después de la infusión de CMN-MO. Esto apoya la idea de que el tratamiento puede tener un efecto paracrino. [11]

Tomados en conjunto, estos datos indican que el momento de trasplante de CMN-MO tras un IAM, la dosis de CMN a administrar y la FEVI basal son factores que pueden contribuir a la heterogeneidad clínica observada entre los estudios [16].

La terapia celular intracoronaria también se asocia con una reducción significativa en la recurrencia nominalmente de IAM y con tendencias reducidas hacia la muerte, rehospitalización por insuficiencia cardíaca y revascularización. Meta-regresión sugieren la existencia de una relación dosis-respuesta entre el volumen de la célula inyectada y el cambio FEVI. [17]

ANÁLISIS

Las células no seleccionadas de médula ósea representan una población mixta de varias células madre y progenitoras, células estromales y células hematopoyéticas en varios estadios de maduración. Por otro lado las células CD133⁺ están caracterizadas por su gran potencial pluripotente y angiogénico.

El radiomarcaje de leucocitos es un procedimiento médico nuclear para localizar áreas de infección e inflamación en pacientes, el marcaje con ¹⁸F-FDG seguido del empleo de PET-3D, puede ser utilizado para monitorear el *homing* y la biodistribución de las células de médula ósea después de su aplicación terapéutica en pacientes post-infarto.

La evaluación de la FEVI con fines de diagnóstico es de suma importancia, ya que es el indicador más confiable de la futura evolución del paciente con cardiopatía isquémica y es muy utilizada para determinar la función cardíaca y contráctil.

Aunque la plasticidad de las células madre adultas permanece en debate, muchos datos de modelos animales indican que las CMO son capaces de diferenciarse en células cardíacas y de linaje vascular.

Las CMM, CMN-MO y CPE han mostrado la capacidad de diferenciarse *in vitro* e *in vivo*.

Sólo una pequeña fracción de las células es retenida en el miocardio después de la inyección, es decir, el número de células que sobreviven después del trasplante es relativamente bajo para explicar sus beneficios terapéuticos, por lo que un incremento en los niveles de diversos factores de crecimiento y citocinas con efectos proangiogénicos explica la neovascularización, la regeneración y la reparación cardíaca, que mediante mecanismos paracrinos y la estimulación de las células residentes por el estrés hipóxico generado en el infarto y por las células madre exógenas, se aumenta la producción de dichos factores solubles y se sinergiza su acción. A pesar de que las condiciones hipóxicas favorecen la

producción de citocinas, los beneficios de la inyección de CMO en los primeros días después de IAM pueden verse en peligro por la inflamación local que hace del miocardio un ambiente hostil para las células inyectadas. La expresión del SDF-1 puede contrarrestar lo anterior, favoreciendo la llegada de células madre al sitio de lesión.

Las células trasplantadas secretan una gran variedad de factores de crecimiento y citocinas, mejorando así la supervivencia de los miocitos después de una lesión isquémica y facilitando la migración de células madre cardíacas residentes al sitio de lesión y activar su actividad reparativa. La reducción del tamaño del infarto con terapia con CMO puede deberse a la formación de nuevos miocitos, la preservación superior de miocitos existentes, o ambos después del trasplante.

Es concebible que algunos de los factores liberados por las células madre trasplantadas pueden inducir la proliferación, la movilización, diferenciación, supervivencia y función de células endógenas cardíacas o incluso la restauración de nichos celulares.

La transferencia coronaria de CMO mejora la contractilidad del VI en segmentos del miocardio adyacentes a la zona infartada, lo que explica que el *homing* de las células CD34⁺ genera una mejoría funcional tardía. [25]

La administración de CMN-MO muestra efectos en el aumento del metabolismo de glucosa en la zona infartada, lo que sugiere una recuperación de la función contráctil de dicha zona [31]; en la remodelación del VI, en el tamaño de la cicatriz y en la perfusión miocárdica en el área infartada; aunque la mejoría en la FEVI no es notablemente beneficiada, dichas células mejoran otros parámetros cardíacos asociados al infarto.

A pesar de que las células mononucleares tienen la capacidad de sobrevivir en un medio isquémico, hasta ahora la mayoría de las células trasplantadas mueren dentro de 1-2 meses después del trasplante, lo que concuerda con la falta de

grandes cambios en los parámetros cardíacos detectados durante el seguimiento en los pacientes tratados con terapia celular comparados con los controles, por lo que el patrón de supervivencia pobre hace imposible la repoblación y también limita la acción protectora paracrina de las células. La muerte celular podría ser causada por el microambiente isquémico, el cual es carente de nutrientes y oxígeno, acoplado con la disminución de la señalización de supervivencia de la matriz y de las interacciones célula-célula.

Aunque varios estudios clínicos han sugerido los efectos benéficos de las CMN-MO en la reparación cardíaca, se deben analizar algunos factores; primero, a pesar de la potencial ventaja de utilizar múltiples progenitores, la función de varios tipos celulares de la fracción mononuclear después del injerto en el miocardio lesionado se desconoce. El número de progenitores con función conocida como las mesenquimales, CD34⁺ y CD133⁺ es muy poco. Múltiples progenitores pueden competir para el injerto durante el paso transendotelial y pueden reducir el *homing* de las células con efectos conocidos. Finalmente, no está claro si los progenitores inflamatorios, principalmente presentes en la fracción mononuclear, son beneficiosos o si nublan la mejora funcional. [28]

Las dosis del orden de 10⁶ han mostrado resultados favorables como la supervivencia libre de eventos 1 año después del tratamiento, sin embargo las dosis de orden mayor a 10⁸ de CMN-MO durante los primeros días post-infarto, mejora notablemente la función del VI, además de que disminuye el tamaño del infarto y asegura el injerto de las células.

Los parámetros óptimos tales como el número de CMO (la dosis celular), el tiempo y la ruta de administración, así como el tipo celular, son mecanismos difíciles de estandarizar, aunque sería la opción más prometedora para realizar la terapia celular en humanos de una forma segura y efectiva.

CONCLUSIONES

Los resultados indican que el trasplante de CMO puede mejorar la FEVI, disminuir el tamaño del infarto y el volumen sistólico final del VI, sin embargo los mecanismos que explican éstos beneficios, resultan inciertos. [27]

La terapia celular intracoronaria tras la intervención coronaria percutánea (ICP) en el IAM parece proporcionar beneficios estadística y clínicamente relevantes en la función y remodelación cardiaca. [17]

La experiencia clínica de los primeros 1000 pacientes (aproximadamente) que han recibido terapia con células madre en todo el mundo, indica un perfil de seguridad favorable con mejoría moderada de la función cardíaca y la remodelación estructural en el contexto de un infarto agudo al miocardio o insuficiencia cardíaca crónica. [1]

Las CMN-MO sobreviven mejor en un ambiente isquémico, por ello la elección de éstas en un gran número de ensayos.

La secreción de factores solubles que actúan de forma paracrina, protege el corazón, atenúa la remodelación patológica ventricular, induce neovascularización y promueve regeneración

Las células madre mejoran la neovascularización, además de la vasculogénesis directa de los tejidos isquémicos mediante efectos paracrinos, proangiogénicos y proarteriogénicos. La angiogénesis es un mecanismo que contribuye a la recuperación funcional.

La terapia intracoronaria de CMN-MO mejora la función ventricular, la calidad de vida y la supervivencia en pacientes con insuficiencia cardíaca, efectos que estaban presentes cuando las CMN-MO se administraron, además de los regímenes terapéuticos estándar. No se han observado efectos laterales. [5]

Cuando la terapia estándar ofrece una sobrevida limitada, una terapia alternativa como la administración de células mononucleares de médula ósea autólogas, de la cual ya se sabe su seguridad y factibilidad, puede ser la opción para ofrecer mayor tiempo de vida libre de enfermedad.

El trasplante de CMO en pacientes con cardiopatía isquémica es aparentemente seguro y conduce a beneficios moderados más que las logradas con la revascularización y la farmacoterapia convencional.

BIBLIOGRAFÍA

1. **La terapia celular cardiaca Reparación: Una perspectiva clínica** Bernard J. Gersh , MBChB, DPhil, FRCP, Robert D. Simari , MD, PhD, Atta Behfar , MD, PhD, Carmen M. Terzic , MD, PhD, y Andre Terzic , MD, PhD. Mayo Clin Proc 2009 Octubre, 84 (10) : 876-892

2. Taylor DA, Zenovich AG, **Cardiovascular cell therapy and endogenous repair**. Diabetes Obes Metab. 2008;10 Suppl 4:5-15.

3. Doris. A. Taylor, Matthew J. Robertson. **Fundamentos de la terapia celular para el tratamiento de las enfermedades cardiovasculares: no hay una célula adecuada para todo**. Rev. Esp. Cardiol. 2009;62 (9): 1032-44.

4. Lunde K , S Solheim , Aakhus S , H Arnesen , Abdelnoor M , T Egeland. **Intracoronary injection of mononuclear bone marrow cells in acute myocardial infarction**. Department of Cardiology, Rikshospitalet University Hospital, Oslo, Norway. 2006 Sep 21; 355 (12):1199-209.

5. 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**. Department of Medicine, Division of Cardiology, Pneumology and Angiology, Heinrich-Heine-University of Düsseldorf, Moorenstr 5, 40225 Düsseldorf, Germany 2010 Jul;12(7):721-9.

6. Baikova YP, Fatkhudinov TKh, Bol'shakova GB, Bukharova TB, Slashcheva GA, Khokhlova OV, Murashev AN, Gol'dshtein DV. **Reparation of the myocardium after transplantation of mononuclear bone marrow cells**. Institute of Human Morphology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russia. 2011 Feb;150(4):522-9.

7. Clifford DM , Fisher SA , Brunskill SJ , Doree C , Mathur A , S Watt , Martin-Rendon E .StemCell Research Lab, Nuffield. **Tratamiento de células madre para el infarto agudo de miocardio.** Department of Science Clinical Laboratory Oxford University, Oxford, Reino Unido. Cochrane Database Syst Rev. 2012 Feb 15; 2: CD006536
8. Allen P. Burke, MD*, y Renu Virmani, MD. CVPath **Fisiopatología del infarto agudo de miocardio.** Institute, 19 Firstfield Road, Gaithersburg, MD 20878, USA. Med Clin N Am 91 (2007) 553 – 572
9. Dr. Jorge Aguilar Benavides; Dra. Rosario D. **Infarto agudo de miocardio.** Rev Paceaña Med Fam 2008; 5(8): 102-114
10. **Pathways of bone marrow mononuclear cell differentiation after transplantation into postinfarction heart.** Baikova JP, Fatkhudinov TKh, Bolshakova GB, Buharova TB, Dubovaya TK, Kaktursky LV, Goldshtein DV. Bull Exp Biol Med. 2011 Nov; 152(1):128-32. English, Russian.
- 11.-. Jay H. Traverse, MD, Timothy D. Henry, MD, Stephen G. Ellis, MD, Carl J. Pepine, MD, et.al **Effect of Intracoronary Delivery of Autologous Bone Marrow Mononuclear Cells 2 to 3 Weeks Following Acute Myocardial Infarction on Left Ventricular Function.** JAMA, Published online November 14, 2011
- 12.- **Stem and progenitor cell-based therapy in ischaemic heart disease: promise, uncertainties, and challenges.** Jörn Tongers, Douglas W. Losordo, and Ulf Landmesser. Eur Heart J. 2011 May; 32(10): 1197–1206.
13. David C. Gajzer & Jerome Balbin & Hina W. Chaudhry **Thymosin β 4 and Cardiac Regeneration: Are We Missing a Beat?** Stem Cell Rev and Rep. 25 may 2012.

14. Gimeno Graciela, Diez Mirta. **Fisiopatología de la Insuficiencia cardiaca.** PROSAC, Fascículo 1º, 2007.

15.. Naresh NK, Ben-Mordechai T, Leor J, Epstein FH. **Molecular Imaging of Healing After Myocardial Infarction.** Department of Biomedical Engineering, University of Virginia, 2011 Feb 1;4(1):63-76.

16. David M. Clifford, Sheila A. Fisher, Susan J. Brunskill, Carolyn Doree, Anthony Mathur, Mike J. Clarke, Suzanne M. Watt, and Enca Martin-Rendon. . **Long-Term Effects of Autologous Bone Marrow Stem Cell Treatment in Acute Myocardial Infarction: Factors That May Influence Outcomes.** PLoS ONE. 2012; 7 (5) : e37373.

17. Lipinski MJ, Biondi-Zoccai GG, Abbate A, Khianey R, Sheiban I, et al. **Impacto de la terapia celular intracoronaria en la función ventricular izquierda en el contexto de un infarto agudo de miocardio: un estudio de colaboración sistemática y meta-análisis de ensayos clínicos controlados** J Am Coll Cardiol.2007; 50 :1761-1767.

18. Martin Rendon E, SJ Brunskill , CJ Hyde , SJ Stanworth , A Mathur , SM Watt . **Autologous bone marrow stem cells to treat acute myocardial infarction: a systematic review.** Eur Heart J.2008; 29:1807-1818.

19. Wollert KC, Meyer GP, Lotz J, Ringes-Lichtenberg S, Lippolt P, Breidenbach C, et al. **Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomised controlled clinical trial.** Lancet. 2004;364:141-8.

20. Schachinger V, Erbs S, Elsasser A, Haberbosch W, Hambrecht R, Holschermann H, et al. **Intracoronary bone marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction.** N Engl J Med. 2006;355:1210-21.

21. Massimiliano Gnecci, Zhiping Zhang, Aiguo Ni, Victor J. Dzau. **Paracrine mechanisms in adult stem cell signaling and therapy.** Circ Res. 2008 Noviembre 21; 103 (11) : 1204-1219.
22. Hernández Ramírez Porfirio, Alfonso-Simón Amel, Aparicio-Suárez José L., et.al. **Cuban experience with the therapeutic use of adult stem cells.** Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter v.27 n.1 Ciudad de la Habana; 2011.
23. 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. 2004;363:751-6.
24. Pedro L. Sánchez y Francisco Fernández-Avilés **Terapia celular en el infarto agudo de miocardio extenso.** Servicio de Cardiología. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. España Rev Esp Cardiol. 2007;60(4):346-348.
25. Hofmann M, Wollert KC, Meyer GP, Menke A, Arseniev L, Hertenstein B, et al. **Monitoring of bone marrow cell homing into the infarcted human myocardium.** Circulation. 2005;111:2198-202.
26. Biosafe SEPAX. **Cell Processing System Operator's Manual.** OM-114-EN 17 enero 2008.
27. Ahmed Abdel-Latif, MD; Roberto Bolli, MD; Imad M. Tleyjeh, MD **Adult Bone Marrow-Derived Cells for Cardiac Repair. A Systematic Review and Meta-analysis** ARCH INTERN MED/VOL 167, MAY 28, 2007 American Medical Association.

28. Jozef Bartunek, Marc Vanderheyden, Bart Vandekerckhove, Samer Mansour, et. al. **Intracoronary Injection of CD133-Positive Enriched Bone Marrow Progenitor Cells Promotes Cardiac Recovery After Recent Myocardial Infarction : Feasibility and Safety.** Circulation. 2005;112:I-178-I-183
29. Hernández Trejo, Tania;Puente Barragán, Adriana;Mendoza Pérez, Liliana;Jiménez Mejía, Lizbeth;Aceves Chimal, José Luis. **Función ventricular izquierda en pacientes con cardiopatía isquémica: fracción de expulsión del ventrículo izquierdo determinada por Gated-Spect.** Revista de Especialidades Médico-Quirúrgicas Volumen 13, Núm. 2, abril-junio, 2008.
30. Maija T. Mäki , Juha W. Koskenvuo , Heikki Ukkonen , Antti Saraste , Helena Tuunanen ,et.al. **Cardiac Function, Perfusion, Metabolism, and Innervation following Autologous Stem Cell Therapy for Acute ST-Elevation Myocardial Infarction. A FINCELL-INSIGHT Sub-Study with PET and MRI.** Department of Clinical Physiology and Nuclear Medicine, Turku University Hospital Turku, Finland. 2012;3:6. Epub 2012 Jan 30.
31. Pablo Castro, Luigi Gabrielli, Hugo Verdejo, Douglas Greig, Rosemarie Mellado, Roberto Concepción, et. al. **Metabolismo energético del corazón y sus proyecciones en el tratamiento de la insuficiencia cardíaca.** Departamento de enfermedades cardiovasculares, Hospital Clínico. Pontificia Universidad católica de Chile. Rev Med Chile 2010; 138: 1028-1039.
32. McKee PA, Castelli WP, McNamara PM, Kannel WB. **The natural history of congestive heart failure: the Framingham study.** N Engl J Med. 1971 Dec 23;285(26):1441-6
33. Claudia Mera Reina, Angélica Roa Lara, Sandra Ramírez Clavijo. **Células madre hematopoyéticas, generalidades y vías implicadas en sus mecanismos de auto-renovación.** Rev. Cienc. Salud. Bogotá (Colombia) 5 (1): 67-89, abril-junio de 2007.