Artículo seleccionado
Rev Urug Cardiol 2013; 28:157-166

Almanac 2012. Las revistas de las sociedades europeas presentan una selección de la investigación que ha llevado a avances recientes en la cardiología clínica

Terapia celular en la enfermedad cardiovascular

Daniel A Jones[1,2,3], Fizzah Choudry[1,3], Anthony Mathur[1,2,3]

Resumen

El rápido pasaje del laboratorio a la cabecera del paciente que se ha constatado en la aplicación de la medicina regenerativa en cardiología ha llevado a nuevos avances muy interesantes en nuestra comprensión de algunos de los mecanismos fundamentales de la biología humana. La primera generación de células usadas en ensayos fases I y II (fundamentalmente células mononucleares de la médula ósea) están ingresando ahora en ensayos clínicos fase III con la meta de obtener una terapia celular que pueda cambiar el desenlace de la enfermedad cardíaca. La terapia celular de primera generación parece haber considerado inquietudes sobre la seguridad del tratamiento, además de demostrar su 'actividad' en numerosos metaanálisis que han sido publicados. Considerando lo que se sabe hasta la fecha, la investigación está apuntando a la siguiente generación de células: las células sometidas a 'proceso de ingeniería' para hacer que presenten un fenotipo que mejore aun más el proceso de reparación o rescate del miocardio. Esta revisión del anuario cubre la investigación básica más reciente pasible de aplicación en humanos en el corto plazo, así como los resultados de los últimos ensayos clínicos.

Actualización sobre la terapia celular para el tratamiento de la enfermedad cardiovascular

La terapia celular es una de las principales nuevas áreas de investigación de la enfermedad cardiovascular. Ofrece nuevas oportunidades para desarrollar terapéuticas que puedan revolucionar la manera que tratamos a los pacientes, y un campo de investigación que combina una mayor comprensión de la fisiopatología de la enfermedad cardiovascular con algunos de los conceptos biológicos más básicos relacionados a la embriología. El aumento resultante de la investigación preclínica en el sistema cardiovascular y la rápido aplicación en humanos ha redundado en beneficios para toda la biología humana. El conocimiento en este campo está avanzando rápidamente; en este número presentamos desarrollos clave de los últimos 2 años. Para reflejar la sinergia entre la investigación básica y la translacional, se divide esta revisión en dos secciones.

Actualización de ciencias básicas en terapia celular en la enfermedad cardiovascular

Nuevos modelos que mejoran nuestra comprensión de la regeneración: pez cebra

Existe una larga trayectoria de investigación sobre la regeneración cardíaca anfibia, siendo el modelo

1. Departamento de Cardiología, London Chest Hospital, Londres, RU.
2. Departamento de Farmacología Clínica, William Harvey Research Institute, Queen Mary University, Londres, RU.
3. NIHR Cardiovascular Biomedical Research Unit, London Chest Hospital, Londres, RU.
Correspondencia: Profesor Anthony Mathur, Departamento de Cardiología, London Chest Hospital, Bonner Road, Bethnal Green, Londres E2 9JX, RU; a.mathur@qmul.ac.uk
Recibido el 19 de marzo de 2012; Revisado el 7 de junio de 2012; Aceptado el 8 de junio de 2012.
Traducción: Dra. Trinidad Ott

más adoptado el del pez cebra, dada su importante capacidad regenerativa y las posibilidades que ofrece para la manipulación genética. El corazón del pez cebra se regenera totalmente tras la amputación quirúrgica de la punta cardíaca, es decir, de una lesión que corresponda a una pérdida de aproximadamente 20% de la masa ventricular total[1]. Los experimentos iniciales sugerían que en el pez cebra la principal fuente de los nuevos miocardiocitos que se regeneran serían células madre indiferenciadas; sin embargo, hay dos estudios recientes de mapeo genético que demuestran claramente que en realidad la principal fuente está constituida por miocardiocitos preexistentes dedicados a ello[2,3]. De forma independiente, estos dos grupos generaron peces cebra transgénicos en los que el promotor *cmlc2* específico de los miocardiocitos (conocido también como *myl7*) promueve la expresión de la recombinasa Cre, que es inducible por el tamoxifeno. A su vez, se cruzó a estos animales con una línea reporter en la que la exéresis mediada por Cre de una secuencia de detención flanqueada por sitios *loxP* induce la expresión constitutiva de la proteína verde fluorescente (GFP, por sus siglas en inglés). En la cría de esta cruza, el tratamiento con tamoxifeno indujo a todos los miocardiocitos preexistentes y sus progenies a expresar GFP. Por ende, si el miocardio regenerado hubiera surgido de células madre indiferenciadas, la nueva punta ventricular debería ser GFP^-. Empero, lo que ambos grupos encontraron fue que la gran mayoría de los miocardiocitos recién regenerados eran GFP^+, lo que sugiere que la regeneración del corazón en los peces cebra es mediada principalmente por la proliferación de los miocardiocitos ya existentes. Esto contradice la antigua creencia de que la generación de nuevos miocardiocitos sería obra de células madre.

Ratones contra peces cebra

Después del nacimiento los corazones de mamífero carecen de esa capacidad de regeneración de la que goza el corazón del pez cebra, pero aun así, sus miocardiocitos también sufren un cierto grado de renovación tanto durante el envejecimiento normal como durante los procesos patológicos. Un estudio[4] reciente demostró que es posible que las diferencias entre los corazones de mamífero y de pez no se apliquen necesariamente en las etapas tempranas del desarrollo. Usando el modelo de pez cebra, los autores extirparon la punta de ventrículo izquierdo (VI) de ratones recién nacidos de 1 día de vida y observaron una pronta respuesta regenerativa, similar a la del pez cebra adulto. Tres semanas después de la lesión, el defecto había sido sustituido por tejido miocárdico normal que mostró función contráctil normal para las 8 semanas. Estudios en que se mapeaba el destino genético indicaron que esta regeneración era mediada por la proliferación de los miocardiocitos ya existentes, al igual que ocurre en el pez cebra. Es de destacar que esta capacidad regenerativa no se observó en los ratones de 7 días de vida, sugiriendo que su pérdida puede coincidir con la binucleación de los miocardiocitos y una reducción de la actividad de los ciclos celulares. Sin embargo, este estudio indica que los mecanismos regenerativos del tipo del que se observa en el pez cebra están latentes en los corazones de mamífero. También ofrece un modelo que de manejo genético que permitirían desentrañar estos disecar los bloques a estos mecanismos en el mamífero adulto.

Fuentes alternativas de miocardiocitos: nuevos conceptos y adelantos en la comprensión

Los fibroblastos como fuente de miocardiocitos

En los últimos tiempos se ha demostrado que en los infartos los fibroblastos podrían potencialmente reprogramarse directamente hacia miocardiocitos. Hace quince años, los investigadores demostraron que los fibroblastos podrían diferenciarse a músculo esquelético *in vitro* o en el corazón lesionado, sobreexpresando el gen que codifica el factor de transcripción miogénico MyoD. Sin embargo, a pesar del intenso trabajo realizado, nunca se halló un gen maestro comparable para el músculo cardíaco, por lo que se fue debilitando el interés por la reprogramación. Acicateados por el descubrimiento de las células madres pluripotentes inducidas (iPSCs), los científicos han retomado ahora el trabajo en este campo, usando combinaciones de factores de transcripción para reactivar las redes cruciales de transcripción de los tipos celulares deseados. En los dos últimos años, dos grupos han hecho avances en esa dirección. El primer grupo[5] cribó un total de 14 factores de transcripción cardíaca, hallando que una combinación específica de tres factores de transcripción, Gata4, Mef2c y Tbx5, alcanzaba para generar miocardiocitos funcionantes que laten, obtenidos directamente de fibroblastos cardíacos o dérmicos murinos postnatales y que los miocardiocitos inducidos estaban reprogramadas globalmente para adoptar un perfil de expresión genética tipo miocardiocito. Estos factores activaron el transgen en 20% de los fibroblastos, de los que aproximadamente 4% de las células expresaban proteínas sarcoméricas endógenas como la troponina T cardíaca, con ~ 1% que mostraban propiedades funcionales como latidos espontáneos. Por lo tanto, la mayoría de las células estaba reprogramadas solo parcialmente, aunque sus patrones generales de expresión génica

se hubieran desplazado marcadamente de fibroblastos a miocardiocitos.

El segundo grupo[6] utilizó un método diferente para reprogramar los fibroblastos de embrión de ratón a miocardiocitos. Utilizaron los "factores Yamanaka" — OCT4 (conocidos también como POU5F1), SOX2, KLF4 y c-MYC — para iniciar la reprogramación, pero luego bloquearon la señalización a través de la vía JAK — STAT, algo necesario para la pluripotencia en el ratón, y agregaron el factor cardiogénico BMP4. Estas modificaciones dieron lugar a una generación mínima de iPSC, pero en vez, activaron el programa de progenitores cardíacos, y en 2 semanas generaron un importante número de colonias que latían. Para el día 18 después de la inducción, aproximadamente 40% de las células expresaban troponina T cardíaca. Es de destacar que en este estudio se emplearon fibroblastos embrionarios murinos, al tanto que Leda y colaboradores [5] usaron fundamentalmente fibroblastos cardíacos de ratón nacido. Es atractiva la idea de reprogramar los fibroblastos que forman cicatriz a miocardiocitos, particularmente si se puede hacer directamente en el infarto. Para que esto sirva en la clínica, debemos saber el grado de normalidad de estos miocardiocitos reprogramados, y el proceso tendrá que ser mucho más eficiente y libre de transgenes.

Células madre pluripotenciales inducidas

Un informe reciente en esta revista llamó la atención a la gran promesa de iPSC (células somáticas reprogramadas) como una fuente renovable de células autólogas[7]. Estas células fueron descubiertas hace tan solo 5 años por Takahashi y Yamanaka[8] luego de la introducción de genes dentro de células murinas adultas, reprogramándolas para que se asemejen a células madre embrionarias (ES, por sus siglas en inglés). Dado que el ADN de dichas células es idéntico al del paciente, se supone que no serían atacadas por el sistema inmunitario, si bien su inmunogenicidad no ha sido examinada exhaustivamente. Sin embargo, un estudio[9] publicado en Nature en 2011 mostró que en un modelo de trasplante de ratón, algunas células iPS son efectivamente inmunogénicas, despertando inquietud sobre su potencial uso terapéutico. Este estudio examinó la inmunogenicidad de las células iPS de ratón, usando un ensayo de formación de teratoma. Inyectaron células iPS a ratones que eran ya sea inmunocomprometidos o genéticamente compatibles con las células de los donantes. Esto normalmente desencadena la formación de tumores benignos denominados teratomas, que están conformados por muchos tipos de células diferenciadas. El enfoque fue validado usando una línea de células ES genéticamente compatible (autólogas) que dieron lugar a teratomas, mientras que una línea de células ES incompatibles fueron rechazadas antes de producir teratomas. El transplante de células iPS autólogas derivadas de fibroblastos fetales en ratones compatibles provocó el rechazo de los teratomas, independientemente del abordaje usado para generar las células IPS, indicando que, en este ensayo, las células iPS compatibles son más inmunogénicas que las células ES compatibles.

El estudio también identificó a los antígenos que pueden haber provocado un rechazo inmunitario de las células iPS, descubriendo un grupo de nueve genes que estaban expresados a niveles anormalmente altos. Al inducir la expresión de tres de estos genes (Hormadl, Zgl6 y Cyp3a11) en las células ES no inmunogénicas se ocasionó un deterioro importante de la capacidad de las células de formar teratomas al transplantarse a ratones genéticamente compatibles. Este estudio plantea más preguntas que respuestas, y presenta muchas limitaciones en relación con los estudios clínicos; sin embargo, pone de relieve que todavía queda mucho por comprender sobre los mecanismos básicos de reprogramación celular y las similitudes y las diferencias inherentes entre las células ES y las células iPS.

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)[10] que pueden ser inducidas por la timosina b4 para diferenciarse en miocardiocitos. Este estudio emblemático de Smart y colaboradores [11] 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 en un modelo murino el corazón adulto contiene una población de células progenitoras residentes, con el potencial de transformarse en miocardiocitos diferenciados tras un IM. Se cebaron las células progenitoras con un péptido denominado timosina β4, que indujo la reprogramación embrionaria inducida que determina la movilización de esta población y su ulterior diferenciación para dar lugar a

miocardiocitos *de novo*. Luego del IM 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. 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 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 â4 fue crucial para tales efectos, y puede sugerir una nueva estrategia para promover la reparación del miocardio en humanos.

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. Un estudio publicado en 2011[12] 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 transplante 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. 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. Esto sugeriría que miR- 1 impulsa la diferenciación de los miocitos cardíacos de las células ES trasplantadas e inhibe la apoptosis post IM; sin embrago, 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[13] de la actual evidencia del papel de los microRNA en células progenitoras o células madre y la reparación cardiovascular.

Actualización clínica sobre la terapia celular en la enfermedad cardiovascular

El derrotero translacional desde la observación preclínica hasta el desarrollo del nuevo tratamiento puede llevar muchos años, inclusive décadas. Diez años después de la primera aplicación clínica de las células madre en cardiopatías[14], se han encarado muchas preguntas sobre los tipos celulares y su administración, y actualmente los investigadores comprenden mejor esta área de investigación y los retos que plantea la medicina translacional.

Si bien existen muchos tipos de células candidatas para la reparación miocárdica, en las primeras etapas clínicas[15], los ensayos clínicos han utilizado enfoques pragmáticos que emplean células mononucleares autólogas de médula ósea (BMMNCs) y algunos tipos de células que son parte componente (células madre hematopoyéticas, células madre mesenquimatosas (MSCs) y células endoteliales progenitoras). En los últimos años se han hecho varios ensayos clínicos fase I y II de trasplante de BMMNC en enfermedad cardíaca, probando su seguridad y factibilidad, mientras que los informes de su eficacia, si bien menos consistentes, justifican que se siga investigando en esa dirección.

Desarrollos recientes en el uso de bmmncs autólogas

Los últimos 2 años se ha visto que algunos de los mayores ensayos que estudian las BMMNCs en el IAM describen resultados a largo plazo que confirman la seguridad a los 3-5 años. Es tranquilizador ver que metaanálisis recientes que analizaron estos estudios, nuevamente confirman una 'actividad' pequeña pero importante de la terapia celular, en el mejoramiento de diversos parámetros sustitutos de función cardíaca[16,17].

El primer ensayo controlado aleatorizado de terapia de células progenitoras en el IAM fue el ensayo BOOST (BOne marrOw transfer to enhance ST-elevation infarct regeneration), que comunica un aumento de 6,7% de la fracción de eyección global del ventrículo izquierdo (FEVI) en el grupo de tratamiento, comparado con un aumento del 0,7% en el grupo control a los 6 meses; esto se atribuyó a una mejora de la motilidad sistólica regional de la

pared en la zona del infarto[18]. Los datos de seguimiento de 5 años[19] mostraron una declinación de FEVI y aumento de los volúmenes del VI en ambos grupos, sin ninguna diferencia en la mortalidad o las variables evaluables clínicas entre los grupos. Es interesante destacar que los análisis de subgrupos sugirieron que en los infartos más severos, definidos como de mayor dimensión transmural, la terapia celular confirió un beneficio significativo en FEVI y la dimensión de VI comparado con control.

El ensayo REPAIR-AMI "Reinfusión de células progenitoras enriquecidas y remodelación del infarto en el infarto miocárdico agudo"* es el ensayo controlado aleatorizado de mayor tamaño en la terapia de reparación cardíaca con células madre realizado hasta la fecha. El estudio original que registró 204 pacientes con IAM demostró una mejora significativamente mayor en la FEVI absoluta en pacientes tratados con BMMNCs comparado con los controles a los 4 meses. Tal como se observa en BOOST, los pacientes con infartos de mayor tamaño fueron los que más se beneficiaron. Si bien el estudio no tenía poder suficiente como para ese propósito, son los primeros datos disponibles de variables evaluables clínicas en gran escala, que muestran el beneficio que confiere la administración intracoronaria de células progenitoras en cuanto a mortalidad y morbilidad[20]. Esto fue confirmado a los 2 años con reducciones significativas en las variables evaluables clínicas combinadas y aumentos de la motilidad de la pared del VI al evaluar a los pacientes que habían recibido BMMNCs con RMN[21]. La información de seguimiento a los 5 años, presentada en las Sesiones Científicas de 2011 de la Asociación Americana del Corazón (AHA)[22], incluyó 100 pacientes en cada brazo de tratamiento. Si bien hubo solo una tendencia hacia la mejora en mortalidad, hubo una reducción significativa de la variable evaluable combinada de muerte, recurrencia de IM y revascularización, conferida por una única infusión intracoronaria de células.

* REPAIR-AMI: Reinfusion of Enriched Progenitor cells And Infarct Remodeling in Acute Myocardial Infarction

Los datos de seguimiento a largo plazo de 100 pacientes registrados en el ensayo ASTAMI* (Trasplante de células madre autólogas en infarto agudo al miocardio) mostró una mejora significativa en la capacidad de hacer ejercicio en la cohorte tratada a los 3 años, si bien no hubo una diferencia significativa en FEVI entre los brazos de tratamiento y placebo[23]. El seguimiento a los 5 años para el estudio BALANCE ** (Beneficio clínico y desenlace a largo plazo tras el trasplante autólogo intracoronario de células de médula ósea en pacientes con infarto agudo de miocardio) mostró una mejora significativa y sostenida de la función del VI y reducción de la mortalidad en 62 pacientes tratados, comparado con 62 pacientes control. Si bien esto sugiere un importante beneficio en términos de la mortalidad, cabe destacar que este estudio no fue aleatorizado[24]. Recientemente se publicó también otro ensayo de gran tamaño (HEBE) con 200 pacientes[25], que no mostró ninguna mejora significativa de la función del VI en pacientes tratados con BMMNC comparado con placebo hasta los 4 meses; sin embargo, los efectos a largo plazo de la terapia celular de este estudio todavía no ha sido comunicados.

* ASTAMI: Autologous Stem-cell Transplantation in Acute Myocardial Infarction.

** Clinical Benefit and Long-Term Outcome After Intracoronary Autologous Bone Marrow Cell Transplantation in Patients With Acute Myocardial Infarction

La mayoría de estos estudios se dan en el contexto de la administración de células entre 5 y 8 días luego del IAM. Todavía es preciso definir el momento óptimo para la transferencia de células en relación con la injuria isquémica. Es concebible que la inconsistencia observada en la mejora de la función del VI y el desenlace que se observa entre los ensayos pueda depender del momento en que se hace la transferencia de las células, ya que en el postinfarto, el miocardio tiene un medio inflamatorio cambiante. Un estudio reciente, el LateTIME[26] analiza un punto de tiempo más tardío – 2 a 3 semanas después del IAM. Aquí, los autores hallaron que en 87 pacientes aleatorizados o bien a recibir BMMNCs o como control, el tratamiento con BMMNC en el punto de tiempo dado no mejoró la FEVI global ni la motilidad regional de la pared a los 6 meses. Si bien la probabilidad es que los días 5 a 7 sean el tiempo óptimo para la terapia celular tras un IAM, no se han investigado todos los puntos de tiempo. Los ensayos TIME[27] y SWISS-AMI[28] que se encuentran en curso, buscan aclarar cuál sería el momento más apropiado para la inyección. Al momento, el único punto de tiempo que no ha sido considerado es la fase muy temprana (<12 h post revascularización). El ensayo clínico REGENERATE-AMI (EUDRACT 2007—002144—16) en el que se transfirieron las BMMNCs aproximadamente 6 h después del procedimiento de intervención coronaria (PCI) ha registrado ya más de la mitad de los pacientes y se espera que sus resultados sean comunicados en 2013.

En este momento es preciso definir quiénes serían los pacientes que se beneficiarían de la terapia celular. Los resultados del seguimiento a los 5 años de los ensayos BOOST y REPAIR-AMI sugieren que si se utiliza la fracción de eyección como variable evaluable sustituto, el efecto general puede ser

modesto para "la totalidad de los que ingresan" (all-comers), mientras que los subgrupos con un gran déficit funcional a nivel de base sí presentan incrementos clínicamente significativos en su FEVI. Esto se ve sustanciado por el subestudio FINCELL[29] en el que 78 pacientes recibieron o bien BMMNCs o placebo post trombolisis y PCI por IAM. Aquí, se observó una mejora significativamente mayor asociada a BMMNC en la función del VI en pacientes con FEVI basal por debajo de la mediana para el grupo.

A pesar de la heterogeneidad de los resultados de los ensayos descritos, el mayor metaanálisis a la fecha que comprende 1765 pacientes y 33 ensayos controlados aleatorizados demuestra una mejora modesta pero de importancia en FEVI de 2,87% en el seguimiento a largo plazo, con una mejora sostenida de la FEVI de 3,75% después de un seguimiento de 1 año[16], sugiriendo que el tratamiento adjunto con células progenitoras en IAM ofrece una mejora con respecto a la terapia convencional. Estos efectos, si bien modestos, son comparables con los observados en estudios señeros de angioplastia primaria, inhibidores de la ECA o β-bloqueantes[30] y sugieren que se puede alcanzar un beneficio adicional similar en la mortalidad. La mayoría de los ensayos en este campo a la fecha usan FEVI como variable evaluable sustituta, sin comprenderse mucho la relación entre este parámetro con el desenlace.

Recientemente se publicaron dos ensayos de BMMNCs en el IAM, en un intento por explorar variables evaluables sustitutas alternativas. La finalidad del ensayo BONAMI* fue evaluar el efecto sobre la variabilidad miocárdica a los 3 meses, registrando 101 pacientes con mala función del VI post IAM para recibir BMMNCs o placebo. La variabilidad miocárdica mejoró de forma significativa en el grupo tratado, comparado con el control[31]. En otro ensayo[32], se evaluó FEVI paralelamente a la perfusión miocárdica en una cohorte similar de pacientes durante hasta 12 meses. Se observó una pequeña mejora de la perfusión miocárdica en el grupo de BMMNC comparado con control; hubo empero una incidencia significativamente inferior de eventos cardíacos adversos mayores combinados en el grupo de tratamiento, destacando nuevamente una relación mal definida entre posibles marcadores sustitutos y medidas duras de desenlaces clínicos.

* Bone Marrow in Acute Myocardial Infarction

Uno del desarrollo más importante a la fecha es el pasaje de los ensayos clínicos fase II a fase III. La mayoría de los ensayos clínicos actuales han sido diseñados como para evaluar solo la seguridad y factibilidad, y no tienen el poder suficiente como para evaluar la eficacia de la tecnología usan marcadores sustitutos tales como FEVI para evaluar la actividad. Para abordar este asunto, el programa de fondos de financiación de la EU recientemente otorgó €6 millones a un consorcio compuesto por 17 centros clínicos distribuidos por Europa, para diseñar y conducir el estudio de resultados definitivos de BMMNC en IAM (BAMI; http://www.bami-fp7.eu). BAMI registrará 3000 pacientes con la variable evaluable primaria como mortalidad por todas las causas, haciéndolo uno de los desarrollos más interesantes en el campo en varios años. Sus resultados serán comunicados dentro de 5 años.

Terapia celular para la enfermedad crónica del VI

El estudio STAR-heart, que constituye la mayor experiencia comunicada de BMMNCs en casos de insuficiencia cardíaca isquémica, comunicó sus datos de seguimiento a los 5 años en 2010[33]. El estudio no aleatorizado registró 391 pacientes con una FEVI de 35% o menos, a los que se ofreció la administración intracoronaria de BMMNCs autólogas. En total, 191 pacientes recibieron terapia celular y 200 pacientes recibieron solo el mejor tratamiento médico. En el seguimiento de 5 años, hubo mejoras significativas en la FEVI, contractilidad, captación de oxígeno y tolerancia al ejercicio en pacientes tratados con BMMNCs, junto a algo que resulta tal vez más interesante, como ser una tasa de muertes significativamente menor. Esto requiere confirmación en un estudio aleatorizado doble ciego. El ensayo FOCUS-HF[34] es un ensayo controlado aleatorizado de 30 pacientes, diseñado para evaluar los efectos de la colocación transendocárdica de BMMNCs en pacientes con insuficiencia cardíaca isquémica crónica sin opción de una nueva revascularización. A los 6 meses, si bien no hubo diferencia en la FEVI entre los grupos tratado y placebo, se halló que la terapia celular mejoraba significativamente la puntuación de los síntomas y la calidad de vida y la captación de oxígeno en el análisis de subgrupo en pacientes de 60 años y menores. Otro estudio reciente[35] valoró el efecto de la terapia celular como un adjunto a la cirugía de reperfusión coronaria (CABG, por sus siglas en inglés) en pacientes con insuficiencia cardíaca isquémica sometidos a CABG. En el seguimiento a los 6 meses se comunicó un aumento notorio en la FEVI y reducción de las dimensiones de VI en el grupo de BMMNC.

Los datos a largo plazo del primer ensayo controlado aleatorizado de BMMNCs en el ensayo ABCD en miocardiopatías dilatadas (ABCD*) fueron comunicados en 2010.[36] En los 41 pacientes seguidos hasta 3 años, hubo una mejora significativa en la FEVI en el grupo de tratamiento, mayor en pa-

cientes con síntomas clase 3 de la NYHA** (Asociación del Corazón de Nueva York) comparado con la clase 4 NYHA sugiriendo que la mejora en los pacientes era mayor en aquellos cuyo miocardio muestra un daño menos severo. También se acompañó de una mejora de los síntomas, pero no se demostró ningún beneficio en la mortalidad. Hay ensayos de BMMNCs en miocardiopatía no isquémica que se encuentran en curso.

* Autologous Bone marrow Cells in Dilated cardiomyopathy

** New York Heart Association.

Translado de otros tipos celulares a la clínica

Otro desarrollo importante en los últimos 2 años ha sido apuntar a la translación clínica de diferentes poblaciones celulares y la búsqueda del tipo óptimo de células para la reparación cardíaca con una serie de ensayos realizados por primera vez en humanos.

Las células progenitoras hemopoyéticas circulantes/movilizadas, identificadas en general por los marcadores CD34 y CD133 han sido investigadas como posibles poblaciones candidatas en reparación cardíaca. Estas poblaciones de células pueden fraccionarse de las BMMNC o haciendo que se movilicen a la circulación usando agentes farmacológicos como el factor estimulante de las colonias de granulocitos (G-CSF). 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 IAM. Los investigadores del ensayo ACT-CMI* dieron un informe recientemente sobre un gran ensayo fase II que evaluaba la inyección intramiocárdica de terapia celular autóloga con CD34 que se moviliza a la periferia a bajas y altas dosis, comparado con placebo en 167 pacientes con angina refractaria. Se halló una mejoría significativa en la mejora de la frecuencia de las anginas y la tolerancia al ejercicio en el grupo de baja dosis, comparado con el placebo a los 6 y 12 meses. También hubo un aumento de la mortalidad en el brazo placebo[37]. Por el contrario, Chih y colaboradores informan que a pesar de la movilización de células CD34 y CD34/CD133 por medio de G-CSF, no se observó mejora de la angina o perfusión miocárdica en pacientes con enfermedad cardíaca isquémica crónica[38]. También aquí, esta discrepancia en los hallazgos de estos estudios sugiere que se debe hacer una cuidadosa consideración del método de administración y que en este tipo de pacientes es posible que la administración intramiocárdica sea más efectiva.

* Autologous Cellular Therapy CD34 in Chronic Myocardial Ischemia

Las MSCs son capaces de liberar una amplia gama de factores paracrinos cardioprotectores y de transdiferenciarse en una serie de tipos celulares que intervienen en la reparación cardíaca, por lo que se las utiliza cada vez más en ensayos clínicos, demostrando resultados promisorios. Otra ventaja de las MSCs es la facilidad logística de su acceso, pudiéndose obtener de la médula ósea y del tejido adiposo.

Recientemente se informaron los resultados de 6 meses del primer ensayo controlado aleatorizado realizado por primera vez en humanos, con 14 pacientes, usando células regeneradoras y derivadas del tejido adiposo autólogo (ADRC, por su sigla en inglés) para IAM: el ensayo de células progenitoras derivadas del tejido adiposo en el tratamiento (APOLLO*)[39]. Todos los pacientes recibieron terapia celular o placebo dentro de las 24 horas de la intervención percutánea coronaria primaria (o PCI, por sus siglas en inglés). Se trataba de pacientes con un primer IM y con una FEVI entre 35% y 50%. A los 6 meses, hubo una mejora significativa de la formación de cicatriz miocárdica y del defecto de perfusión, una reducción casi significativa del tamaño del infarto, y mejora en la fracción de eyección estimada con terapia celular comparado con los controles; se probó además que el tratamiento fue seguro. Los datos a los 18 meses se presentaron en el Simposio Internacional de 2011 sobre Terapia con células progenitoras e innovación cardiovascular*** y mostraron beneficios sostenidos. El próximo paso, un estudio mayor denominado ADVANCE, que registró 375 pacientes aumentará el poder estadístico. Si bien los resultados a los 18 meses de PRECISE, un ensayo similar realizado por primera vez en humanos sobre el uso de ARDCs para insuficiencia cardíaca izquierda, todavía no han sido publicados, los resultados sí han sido presentados en las Sesiones Científicas de la AHA 2010[40]. En ese estudio se aleatorizaron 27 pacientes a recibir ADRCs por vía transendocárdica o placebo. Los resultados a los 6 meses mostraron una reducción significativa del tamaño del infarto en el grupo de tratamiento mostraron comparado con los controles, pero sin diferencia en la FEVI. Hasta los 18 meses, la terapia celular resultó ser segura, sin diferencias en los desenlaces adversos entre los dos grupos, y se mostró que mejoraban significativamente tanto los síntomas de la clase NYHA como de la Sociedad Cardiovascular Canadiense (CCS), los equivalentes metabólicos y el consumo pico de oxígeno, en el grupo de tratamiento.

* Adipose-derived stem cells in the treatment of patients with ST-elevation myocardial Infarction

** 2011 International Symposium on Stem Cell Therapy & Cardiovascular Innovation

En los últimos tiempos también se evaluaron las MSC alogénicas en vez de autólogas, como una posible estrategia terapéutica novedosa, que daría la posibilidad de un método fácil desde el punto de vista logístico, fácil de aplicar. Las MSCs son capaces de evadir la detección inmunológica, lo que significa que estos pacientes no requieren inmunosupresión. El estudio fase I controlado aleatorizado realizado por primera vez en humanos comparando MSCs alogénicas con placebo en pacientes con un primer IAM y disfunción del VI registró 53 pacientes[41]. Es importante destacar que el estudio no demostró ninguna diferencia en cuanto a eventos adversos, rehospitalización o arritmia entre los grupos. A los 18 meses, el grupo de tratamiento mostró una mejoría significativa en la FEVI en relación con los controles. En las Sesiones Científicas de la Academia Americana del Corazón (AHA) 2011 se presentaron los resultados preliminares de un ensayo controlado, aleatorizado fase II que evaluaba MSCs alogénicas en condiciones de insuficiencia cardíaca isquémica[22]. El estudio consistió en 60 pacientes con un período de seguimiento de 12 meses, y confirmó la seguridad de la tecnología. Si bien no hubo diferencia en la FEVI entre los dos grupos, en el grupo tratado hubo una incidencia significativamente menor de eventos cardíacos adversos mayores, mortalidad y síntomas, apoyando el concepto de que FEVI no sería una marcador sustituto de utilidad para medir desenlaces.

Al descubrir que el corazón adulto contiene su propio reservorio de células progenitoras se vio una atractiva oportunidad de explotar las células madre cardíacas (CSC) capaces de hacer volver a proliferar tejido cardíaco sano. Se han descrito dos poblaciones de CSC principales: la población kitC+ y las células derivadas de cardioesferas, que son una mezcla natural de subpoblaciones de células de origen cardíaco que incluyen MSCs cardíacas c-kit+/CD90- y MSCs c-kit-/CD90. Si bien es incierto si éstas serán más ventajosas que otros tipos de células madre, particularmente si actúan de manera paracrina, en la clínica se estudiaron ambas poblaciones.

El ensayo SCIPIO (células madre cardíacas en pacientes con miocardiopatía isquémica) recién publicado, es un ensayo fase I, primero en humanos, que evalúa el valor de CSC c-kit+ en la insuficiencia cardíaca isquémica después de CABG[42]. En este estudio se aíslan y amplían células autólogas c-kit+ de la orejuela auricular en el momento del procedimiento de reperfusión coronaria y se re infundieron 3 a 4 meses después de la cirugía. Es importante destacar que no hubo diferencia en la tasa de eventos adversos entre los brazos de tratamiento y control. A los 8 meses, hubo una mejoría significativa en el tamaño del infarto y FEVI en pacientes tratados. El ensayo CADUCEUS* (Células madre autólogas derivadas de cardiosfera para disfunción ventricular inversa) evaluó el impacto de la infusión intracoronaria de células madre autólogas de cardiosfera cosechadas de biopsias endomiocárdicas en pacientes 2 y 3 meses después de un IAM en un ensayo clínico fase I[43]. En este estudio, la FEVI mejoró significativamente a los 12 meses comparado con controles y hubo una reducción importante de la masa cicatricial en la resonancia magnética cardíaca (RMC) en el grupo tratado y no en el grupo control. No hubo diferencia en los desenlaces adversos entre los grupos. Es importante destacar que es uno de los primeros ensayos de terapia celular que sugiere que los beneficios observados en relación con la reparación miocárdica se explican por un proceso regenerativo. Se está a la espera de los resultados de un ensayo fase II.

* Cardiosphere-derived autologous stem cells to reverse ventricular dysfunction

Si bien la meta última de la terapia celular es restaurar la función cardíaca, y con ello mejorar la calidad de vida y la sobrevida, el mecanismo por el cual eso se logra valiéndose de la terapia celular sigue siendo tema de debate, dependiendo del tipo celular usado. Sin embargo, esta área de investigación nos ha ayudado a comprender mejor cómo se puede hacer para que las células se diferencien *in vitro* en un fenotipo que pueda mejorar la reparación cardíaca. Recientemente se publicaron los primeros resultados de este enfoque en humanos. En el ensayo C-Cure, los investigadores encauzaron la diferenciación de BMMNCs hacia células progenitoras cardíacas de un linaje específico, usando proteínas de cardiogénesis antes de la transferencia de células por la vía transendocárdica[44] a 45 pacientes con insuficiencia cardíaca isquémica. A los 6 meses de seguimiento, hubo una mejora significativa en la FEVI y reducción de los volúmenes del VI, así como una importante mejoría de los síntomas comparado con el grupo control, reflejada en la prueba de la caminata de 6 minutos. No hubo diferencias significativas en cuanto a desenlaces adversos. La segunda fase de este ensayo se encuentra en curso.

Resumen

La investigación de terapia celular ofrece la posibilidad de considerar un enfoque terapéutico completamente nuevo en cardiología. En los últimos dos años se ha visto un pasaje sistemático desde los ensayos clínicos fase I a los de fase II usando tipos celulares establecidos, junto con el surgimiento de nuevos tipos celulares en estudios fase I, que se han hecho

factibles gracias a la investigación impulsada por la traslación temprana a humanos. Para el enfoque pragmático de la terapia derivada de médula ósea, un metaanálisis reciente nuevamente confirma el posible beneficio, lo que ahora se va a analizar en un estudio de resultados fase III, que también normalizará la técnica del procesamiento y la administración de células. Se tendrá que seguir un camino de investigación similar con otros tipos celulares, y no hay duda que los ensayos de células derivadas de médula ósea fijarán los patrones contra los cuales se juzgarán los diferentes tipos celulares y las diferentes técnicas.

Agradecimientos: Unidad de Investigación Biomédica Cardiovascular de NIHR - Bartshealth NHS Trust.

Han contribuido: DJ y FC contribuyeron por igual a la redacción de este manuscrito. El concepto y la idea, así como la edición, estuvieron a cargo de AM.

Competencia de intereses: Ninguna.

Proveniencia y examen por pares: Encargado; arbitrado internamente por colegas.

Bibliografía

1. **Poss KD, Wilson LG, Keating MT.** Heart regeneration in zebrafish. Science 2002;298:2188—90.
2. **Jopling C, Sleep E, Raya M, et al.** Zebrafish heart regeneration occurs by cardiomyocyte dedifferentiation and proliferation. Nature 2010;464:606—9.
3. **Kikuchi K, Holdway JE, Werdich AA, et al.** Primary contribution to zebrafish heart regeneration by gata4(+) cardiomyocytes. Nature 2010;464:601—5.
4. **Porrello ER, Mahmoud AI, Simpson E, et al.** Transient regenerative potential of the neonatal mouse heart. Science 2011;331:1078—80.
5. **Ieda M, Fu JD, Delgado-Olguin P, et al.** Direct reprogramming of fibroblasts into functional cardiomyocytes by defined factors. Cell 2010;142:375—86.
6. **Efe JA, Hilcove S, Kim J, et al.** Conversion of mouse fibroblasts into cardiomyocytes using a direct reprogramming strategy. Nat Cell Biol 2011;13:215—22.
7. **Oh Y, Wei H, Ma D, et al.** Clinical applications of patient-specific induced pluripotent stem cells in cardiovascular medicine. Heart 2012;98:443—9.
8. **Takahashi K, Yamanaka S.** Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. Cell 2006:126:663—76.
9. **Okita K, Nagata N, Yamanaka S.** Immunogenicity of induced pluripotent stem cells. Circ Res 2011;109:720—1.
10. **Vieira JM, Riley PR.** Epicardium-derived cells: a new source of regenerative capacity. Heart 2011;97:15—19.
11. **Smart N, Bollini S, Dube KN, et al.** De novo cardiomyocytes from within the activated adult heart after injury. Nature 2011;474:640—4.
12. **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 :H2038—49.
13. **Jakob P, Landmesser U.** Role of microRNAs in stem/progenitor cells and cardiovascular repair. Cardiovasc Res 2012;93:614—22.
14. **Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al.** Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. Nature 2001;410:701—5.
15. **Lovell MJ, Mathur A.** Cardiac stem cell therapy: progress from the bench to bedside. Heart 2010;96:1531—7.
16. **Clifford DM, Fisher SA, Brunskill SJ, et al.** Stem cell treatment for acute myocardial infarction. Cochrane Database Syst Rev 2012;2:CD006536.
17. **Martin-Rendon E, Brunskill SJ, Hyde CJ, et al.** Autologous bone marrow stem cells to treat acute myocardial infarction: a systematic review. Eur Heart J 2008;29:1807—18.
18. **Wollert KC, Meyer GP, Lotz J, et al.** Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomised controlled clinical trial. Lancet 2004;364:141—8.
19. **Meyer GP, Wollert KC, Lotz J, et al.** Intracoronary bone marrow cell transfer after myocardial infarction: 5-year follow-up from the randomized-controlled BOOST trial. Eur Heart J 2009;30:2978—84.
20. **Schachinger V, Erbs S, Elsasser A, et al.** Intracoronary bone marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction. N Engl J Med 2006;355:1210—21.
21. **Assmus B, Rolf A, Erbs S, et al.** Clinical outcome 2 years after intracoronary administration of bone marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction. Circ Heart Fail 2010;3:89—96.
22. **2011 AHASS.** Late-breaking clinical trial/clinical science: special reports abstracts. Circulation 2011;124:2365—75.
23. **Beitnes JO, Hopp E, Lunde K, et al.** Long-term results after intracoronary injection of autologous mononuclear bone marrow cells in acute myocardial infarction: the ASTAMI randomised, controlled study. Heart 2009;95:1983—9.

24. **Yousef M, Schannwell CM, Kostering M, et al.** The BALANCE Study: clinical benefit and long-term outcome after intracoronary autologous bone marrow cell transplantation in patients with acute myocardial infarction. J Am Coll Cardiol 2009;53: 2262—9.

25. **Hirsch A, Nijveldt R, van der Vleuten PA, et al.** Intracoronary infusion of mononuclear cells from bone marrow or peripheral blood compared with standard therapy in patients after acute myocardial infarction treated by primary percutaneous coronary intervention: results of the randomized controlled HEBE trial. Eur Heart J 2011;32:1736—47.

26. **Traverse JH, Henry TD, Ellis SG, et al.** Effect of intracoronary delivery of autologous bone marrow mononuclear cells 2 to 3 weeks following acute myocardial infarction on left ventricular function: the LateTIME randomized trial. JAMA 2011;306:2110—9.

27. **Traverse JH, Henry TD, Vaughan DE, et al.** Rationale and design for TIME: a phase II, randomized, double-blind, placebo-controlled pilot trial evaluating the safety and effect of timing of administration of bone marrow mononuclear cells after acute myocardial infarction. Am Heart J 2009;158:356—63.

28. **Suarder D, Schwitter J, Moccetti T, et al.** Cell-based therapy for myocardial repair in patients with acute myocardial infarction: rationale and study design of the SWiss multicenter Intracoronary Stem cells Study in Acute Myocardial Infarction (SWISS- AMI). Am Heart J 2010;160:58—64.

29. **Miettinen JA, Ylitalo K, Hedberg P, et al.** Determinants of functional recovery after myocardial infarction of patients treated with bone marrow-derived stem cells after thrombolytic therapy. Heart 2010;96:362—7.

30. **Reffelmann T, Konemann S, Kloner RA.** Promise of blood- and bone marrow-derived stem cell transplantation for functional cardiac repair: putting it in perspective with existing therapy. J Am Coll Cardiol 2009;53:305—8.

31. **Roncalli J, Mouquet F, Piot C, et al.** Intracoronary autologous mononucleated bone marrow cell infusion for acute myocardial infarction: results of the randomized multicenter BONAMI trial. Eur Heart J 2011;32:1748—57.

32. **Grajek S, Popiel M, Gil L, et al.** Influence of bone marrow stem cells on left ventricle perfusion and ejection fraction in patients with acute myocardial infarction of anterior wall: randomized clinical trial: impact of bone marrow stem cell intracoronary infusion on improvement of microcirculation. Eur Heart J 2010;31:691—702.

33. **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 2010;12:721—9.

34. **Perin EC, Silva GV, Henry TD, et al**. A randomized study of transendocardial injection of autologous bone marrow mononuclear cells and cell function analysis in ischemic heart failure (FOCUS-HF). Am Heart J 2011;161:1078—87.e3.

35. **Hu S, Liu S, Zheng Z, et al.** Isolated coronary artery bypass graft combined with bone marrow mononuclear cells delivered through a graft vessel for patients with previous myocardial infarction and chronic heart failure: a single-center, randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. J Am Coll Cardiol 2011;57:2409—15.

36. **Seth S, Bhargava B, Narang R, et al.** The ABCD (Autologous Bone Marrow Cells in Dilated Cardiomyopathy) trial a long-term follow-up study. J Am Coll Cardiol 2010;55:1643—4.

37. **Losordo DW, Henry TD, Davidson C, et al.** Intramyocardial, autologous CD34+ cell therapy for refractory angina. Circ Res 2011;109:428—36.

38. **Chih S, Macdonald PS, McCrohon JA, et al.** Granulocyte colony stimulating factor in chronic angina to stimulate neovascularisation: a placebo controlled crossover trial. Heart 2012;98:282—90.

39. **Houtgraaf JH, den Dekker WK, van Dalen BM, et al.** First experience in humans using adipose tissue-derived regenerative cells in the treatment of patients with ST- segment elevation myocardial infarction. J Am Coll Cardiol 2012;59:539—40.

40. **Perin EC SPL, Ruiz R, Perez-Cano R, et al.** Abstract 17966: first in man transendocardial injection of autologous adiPose-derived stem cells in patients with non revascularizable ischemic myocardium (PRECISE). Circulation 2010;122: A17966.

41. **Hare JM, Traverse JH, Henry TD, et al.** A randomized, double-blind, placebo- controlled, dose-escalation study of intravenous adult human mesenchymal stem cells (prochymal) after acute myocardial infarction. J Am Coll Cardiol 2009;54:2277—86.

42. **Bolli R, Chugh AR, D'Amario D, et al.** Cardiac stem cells in patients with ischaemic cardiomyopathy (SCIPIO): initial results of a randomised phase 1 trial. Lancet 2011;378:1847—57.

43. **Makkar RR, Smith RR, Cheng K, et al.** Intracoronary cardiosphere-derived cells for heart regeneration after myocardial infarction (CADUCEUS): a prospective, randomised phase 1 trial. Lancet 2012;379:895—904.

44. **Bartunek J, Wijns W, Dolatabadi D, et al.** C-CURE Multicenter trial: lineage specific bone marrow derived cardiopoietic mesesnchymal stem cells for treatment of ischaemic cardiomyopathy. J Am Coll Cardiol 2011;57:E200.