

Universitat  
de Lleida



# TERAPIAS BASADAS EN TECNOLOGÍA DE CÉLULAS MADRE PARA EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES DEL CORAZÓN

TRABAJO FINAL DE GRADO  
Grado en Biotecnología

**Autora:** Sandra García Carpi  
**Tutor:** Dr. Daniel Sanchis Morales

**Curso académico:** 2021/2022

## ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	2
<b>3. METODOLOGÍA</b> .....	3
<b>4. RESULTADOS DE LA BÚSQUEDA BIBLIOGRÁFICA</b> .....	4
<b>5. CONTENIDO DE LA REVISIÓN</b> .....	6
<b>5.1. Regeneración cardíaca</b> .....	6
<b>5.2. Células utilizadas en terapia celular</b> .....	8
5.2.1. Células madre pluripotentes.....	8
5.2.1.1. Células madre embrionarias (ESCs).....	8
5.2.1.2. Células madre pluripotentes inducidas (iPSCs).....	9
5.2.2. Células madre multipotentes y progenitoras adultas.....	10
5.2.2.1. Mioblastos esqueléticos.....	10
5.2.2.2. Células derivadas de la médula ósea.....	11
5.2.2.3. Células mesenquimales (MSC).....	12
5.2.2.4. Células madre cardíacas (CSC).....	12
<b>5.3. Mecanismos de acción</b> .....	13
5.3.1. Diferenciación.....	13
5.3.2. Efectos paracrinos.....	14
5.3.2.1. Factores de crecimiento y citoquinas.....	14
5.3.2.2. Exosomas.....	15
5.3.3. Inmunomodulación.....	15
<b>5.4. Desafíos actuales</b> .....	16
5.4.1. Supervivencia y retención celular.....	16
5.4.2. Rechazo inmune.....	18
5.4.3. Potencial tumorigénico.....	19
5.4.4. Integración electromecánica del injerto.....	19
<b>5.5. Estrategias de mejora de la terapia celular</b> .....	20
5.5.1. Aplicación de biomateriales.....	20
5.5.2. Preacondicionamiento celular.....	22
5.5.2.1. Pretratamiento hipóxico.....	22
5.5.2.2. Pretratamiento farmacológico.....	23
5.5.2.3. Pretratamiento con factores de crecimiento y citoquinas.....	23
5.5.3. Modificaciones genéticas.....	24

5.5.3.1. Sobreexpresión de proteínas mediante el suministro de ADN.....	24
5.5.3.2. Modificación genética basada en miARN.....	25
<b>6. DISCUSIÓN.....</b>	<b>25</b>
<b>7. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>28</b>

## LISTA DE SIGLAS Y ACRÓNIMOS

**Ang:** angiogenina

**Ang-1:** angiopoyetina-1

**ARNm:** ARN mensajero

**BMMNC:** células madre mononucleares derivadas de la médula ósea

**BMP:** proteína morfogenética ósea

**cCFU-F:** unidades formadoras de colonias de fibroblastos residentes en el corazón

**CCL2:** ligando 2 de quimiocina (motivo CC)

**CCR5:** receptor de quimiocinas C-C tipo 5

**CD:** clúster de diferenciación

**CDC:** células derivadas de cardiosfera

**CPC:** células progenitoras cardíacas

**CRISPR:** repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y regularmente espaciadas

**CSC:** células madre cardíacas

**CXCR3:** receptor de quimiocinas CXC tipo 3

**CXCR4:** receptor de quimiocinas CXC tipo 4

**ECV:** enfermedades cardiovasculares

**EPC:** células progenitoras endoteliales

**EPO:** eritropoyetina

**ESC:** células madre embrionarias

**FACS:** células activadas por fluorescencia

**FEVI:** fracción de eyección del ventrículo izquierdo

**FGF-2:** factor de crecimiento de fibroblastos-2

**G-CSF:** factor estimulante de colonias de granulocitos

**hESC:** células madre embrionarias humanas

**hESC-CM:** cardiomiocitos derivados de células madre embrionarias humanas

**HSC:** células madre hematopoyéticas

**hiPSC:** células madre pluripotentes inducidas humanas

**hiPSC-CM:** cardiomiocitos derivados de células madre pluripotentes inducidas humanas

**HGF:** factor de crecimiento de hepatocitos

**HIF:** factor inducible por hipoxia

**IAM:** infarto agudo de miocardio

**IC:** insuficiencia cardíaca

**ICAM-1:** molécula de adhesión intercelular 1

**IDO:** indolamina 2,3-dioxigenasa

**IFN- $\gamma$ :** interferón  $\gamma$

**IGF-1:** factor de crecimiento similar a la insulina 1

**IL:** interleucina

**iPSC:** células madre pluripotentes inducidas

**I-R:** isquemia-reperfusión

**KDR:** receptor de dominio de inserción de quinasa

**Klf4:** factor similar a kruppel 4

**LIF:** factor inhibidor de leucemia

**MHC II:** complejo mayor de histocompatibilidad de clase II

**miARN:** microARN

**MMP:** metaloproteínasa de matriz

**MSC:** células madre mesenquimales

**NK:** asesinas naturales

**NO:** óxido nítrico

**Oct3:** factor de transcripción de unión a octámero 3

**Oct4:** factor de transcripción de unión a octámero 4

**OSKM:** factores o cóctel de Yamanaka (Oct4, Sox2, KLF4 y c-Myc)

**PD-1:** proteína de muerte celular programada

**PDGF:** factor de crecimiento derivado de plaquetas

**PEG:** polietilenglicol

**PI3K:** fosfoinositol 3-quinasa

**PKC:** proteína quinasa C

**PKB:** proteína quinasa B

**PSC:** células madre pluripotentes

**SCF:** factor de células madre

**SDF-1:** factor derivado del estroma 1

**SFRP:** proteína secretada relacionada con frizzled

**Sox-2:** región determinante del sexo Y-box 2

**SP:** población lateral

**TALEN:** nucleasas efectoras de tipo activador de transcripción

**Tβ4:** timosina β4

**TGF-β:** factor de crecimiento transformante β

**TIMP:** inhibidor tisular de metaloproteinasas

**TNF-α:** factor de necrosis tumoral

**Treg:** células T reguladoras

**VCAM-1:** molécula de adhesión de células vasculares

**VEC:** células endoteliales vasculares

**VEGF:** factor de crecimiento endotelial vascular

**VEGFR-2:** receptor 2 del factor de crecimiento endotelial vascular

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar, me gustaría expresar mi agradecimiento a mi tutor Daniel Sanchis por su disponibilidad y voluntad de quererme ayudar en la elaboración del presente trabajo, y por las sugerencias que me ha dado, no solo para mejorar dicha revisión, sino para crecer en el ámbito científico de cara al futuro.

En segundo lugar, quisiera agradecer a todos los profesores que me han acompañado a lo largo del grado por su dedicación y esmero, los cuales han hecho que haya podido adquirir las habilidades y conocimientos necesarios para saber desenvolverme en el mundo científico y laboral.

También me gustaría dar las gracias a mis compañeros del grado por haber estado juntos viviendo esta gran experiencia, y a mis amigos, de los cuales me llevo momentos inolvidables, y con los que he iniciado una relación que nos llevará a nuevas vivencias.

Y, por último, quisiera agradecer a mi familia, especialmente a mis padres y mi hermana, por toda la confianza puesta en mí, por escucharme, apoyarme y ayudarme cuando lo he necesitado y, sobre todo, por todo el cariño y orgullo que han mostrado siempre.

## RESUM

Les malalties cardiovasculars són la primera causa de mort al món malgrat el control dels factors de risc i els avenços mèdics en l'àmbit cardiovascular. A causa de la insuficient capacitat regenerativa del cor, la lesió produïda per la isquèmia miocàrdica comporta la pèrdua massiva de cardiomiòcits afectant la funció del cor, lo que pot derivar en una insuficiència cardíaca (IC). Actualment, els tractaments terapèutics presenten limitacions ja que no aspiren a reemplaçar el miocardi danyat. Com a conseqüència, quan la IC és terminal, la solució més adequada és el trasplantament del cor. En aquest context, les teràpies basades en cèl·lules mare han sorgit com una tecnologia prometedora ja que el seu potencial de diferenciació en diferents tipus cel·lulars permet l'obtenció de cardiomiòcits que, en un principi, són capaços de regenerar el teixit lesionat i millorar la funció cardíaca. A les darreres dues dècades, s'han desenvolupat mètodes amb diferents tipus de cèl·lules mare, les quals s'engloben en cèl·lules mare pluripotents i multipotents, i s'han anat perfeccionant al llarg dels anys gràcies als avenços que s'han anat descobrint. Tot i que un elevat nombre d'estudis han demostrat que aquest tipus de teràpia és un enfocament esperançador, els resultats obtinguts a molts assajos clínics són controvertits i no conclouents ja que els beneficis observats són limitats. Aquesta revisió pretén aportar una visió general dels diferents tipus de cèl·lules mare utilitzats, els possibles mecanismes d'acció que acrediten la millora cardíaca, les estratègies que s'estan desenvolupant per optimitzar l'efectivitat de la teràpia, els desafiaments existents, així com les perspectives futures.

## RESUMEN

Las enfermedades cardiovasculares son la primera causa de muerte en el mundo a pesar del control de los factores de riesgo y los avances médicos en el ámbito cardiovascular. Debido a la insuficiente capacidad regenerativa del corazón, la lesión producida por la isquemia miocárdica conlleva a la pérdida masiva de cardiomiocitos afectando a la función del corazón, lo que puede derivar en una insuficiencia cardíaca (IC). Actualmente, los tratamientos terapéuticos presentan limitaciones ya que no aspiran a reemplazar el miocardio dañado. Como consecuencia, cuando la IC es terminal, la solución más adecuada es el trasplante del corazón. En este contexto, las terapias basadas en células madre han surgido como una tecnología prometedora ya que su potencial de diferenciación en distintos tipos celulares permite la obtención de cardiomiocitos que, en un principio, son capaces de regenerar el tejido lesionado y mejorar la función cardíaca. En las últimas dos décadas, se han desarrollado métodos con distintos tipos de células madre, las cuales se engloban en células madre pluripotentes y multipotentes, y se han ido perfeccionando a lo largo de los años gracias a los avances que se han ido descubriendo. A pesar de que un elevado número de estudios han demostrado que este tipo de terapia es un enfoque esperanzador, los resultados obtenidos en muchos ensayos clínicos son controvertidos y no concluyentes puesto que los beneficios observados son limitados. Esta revisión pretende aportar una visión general de los distintos tipos de células madre utilizados, los posibles mecanismos de acción que acreditan la mejora cardíaca, las estrategias que se están desarrollando para optimizar la efectividad de la terapia, los desafíos existentes, así como las perspectivas futuras.



## **ABSTRACT**

Cardiovascular diseases are the first cause of death in the world despite the control of risk factors and medical advances in the cardiovascular field. Due to the insufficient regenerative capacity of the heart, the injury caused by myocardial ischemia leads to the massive loss of cardiomyocytes, affecting the function of the heart, which can lead to heart failure (HF). Currently, therapeutic treatments have limitations since they do not aspire to replace the damaged myocardium. As a consequence, when HF is terminal, the most appropriate solution is heart transplantation. In this context, stem cell-based therapies have emerged as a promising technology since their potential for differentiation into different cell types allows cardiomyocytes to be obtained which, initially, are capable of regenerating injured tissue and improving cardiac function. In the last two decades, methods have been developed with different types of stem cells, which are included in pluripotent and multipotent stem cells, and have been perfected over the years thanks to the advances that have been discovered. Although a large number of studies have shown that this type of therapy is a hopeful approach, the results obtained in many clinical trials are controversial and inconclusive since the benefits observed are limited. This review aims to provide an overview of the different types of stem cells used, the possible mechanisms of action that prove cardiac improvement, the strategies that are being developed to optimize the effectiveness of therapy, the existing challenges, as well as future perspectives.

## 1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) son la principal causa de muerte en el mundo. Según los datos de la OMS, se estima que 17,9 millones de personas mueren cada año debido a esta causa.

Concretamente, en España murieron en el año 2020 un total de 119.853 personas debido a las ECV, lo que supone un 24,3% del total de defunciones y se coloca como primera causa de muerte. Seguidamente, se encuentra el cáncer como segunda causa, con un 22,8% del total, y las enfermedades infecciosas y parasitarias en tercera posición con un 16,4%.

Los factores de riesgo más importantes de las enfermedades cardiovasculares son el sedentarismo, la dieta malsana, la diabetes, la edad avanzada, el consumo de tabaco y el consumo nocivo de alcohol, que se manifiestan en forma de hipertensión arterial, hiperlipidemia, hiperglucemia, sobrepeso y obesidad. Por otro lado, un factor que toma importancia es la contaminación del aire. De hecho, de forma global, cerca del 20% de los fallecimientos a causa de estas enfermedades se debe a ello, lo que supone un grave problema que va en aumento en vista del cambio climático.

Dentro de las enfermedades cardiovasculares, encontramos distintos tipos de patologías, tales como las cardiopatías coronarias, reumáticas y congénitas, los trastornos del ritmo cardiaco, las enfermedades cerebrovasculares, las arteriopatías periféricas, las trombosis venosas profundas o las embolias pulmonares. En esta revisión se va ahondar en gran medida en la isquemia miocárdica y las consecuencias que conlleva.

El infarto agudo de miocardio (IAM) se produce debido a la isquemia miocárdica, que deriva de una obstrucción parcial o completa de una de las arterias coronarias, de manera que el flujo sanguíneo que llega al miocardio disminuye reduciendo el suministro de oxígeno y nutrientes. Este estrechamiento se puede producir por distintas causas, tales como la aterosclerosis, que es el depósito de colesterol y grasas en las paredes de las arterias, y la formación de coágulos de la sangre.

Como consecuencia, se produce la muerte celular (necrosis) de parte del músculo cardiaco, cuyo grado de extensión depende de la amplitud del área en riesgo, la severidad y la duración de la isquemia (Ruiz-Meana & García-Dorado, 2009). A pesar de que el corazón tiene mecanismos endógenos de regeneración, estos resultan insuficientes en una situación patológica. Por este motivo, en este estado de IAM, se fuerza al resto del músculo del corazón a realizar la función de la zona dañada (Dorticós & Hernández, 2006). Esta disminución de la contracción cardíaca conduce a una reacción secuencial que toma

el término de remodelación cardíaca, y que se basa en una pérdida adicional de cardiomiocitos, una dilatación del corazón patológica y una disfunción mecánica, derivando en la insuficiencia cardíaca (IC). El objetivo de muchas terapias ha sido intentar prevenir el desencadenamiento de la remodelación cardíaca (Hashimoto et al., 2018).

Las terapias actuales para tratar a los pacientes que sufren enfermedades cardíacas se centran en la aplicación de dispositivos ventriculares, que facilitan el bombeo de la sangre por parte del corazón, en la reperfusión y en el trasplante del corazón. De forma complementaria, también se aplican varios fármacos para el control de los síntomas metabólicos, la dislipemia o la hipertensión (Lemcke et al., 2018).

Sin embargo, estos tratamientos no garantizan la supervivencia de las células miocárdicas en su totalidad. De hecho, durante los primeros minutos de la reperfusión se produce una parte significativa de la muerte celular, fenómeno que se conoce con el término daño por reperfusión.

El trasplante de corazón supone un gran avance en el ámbito biomédico en los casos en que la IC es terminal (Hashimoto et al., 2018) y aborda el problema de la pérdida de cardiomiocitos, pero todavía presenta limitaciones tales como la falta de disponibilidad de órganos de donantes y la elevada mortalidad debido a una calidad de vida menor, al desarrollo de infecciones secundarias que derivan de la inmunosupresión requerida y a las posibles dificultades trombóticas (Dorticós & Hernández, 2006).

En este contexto, las terapias basadas en células madre han surgido como una prometedora aproximación terapéutica debido a su capacidad de diferenciación en un elevado número de tipos celulares, lo que las hace útiles para el tratamiento de pacientes con IC derivada del IAM, al poder, en un principio, regenerar el corazón dañado. En las próximas líneas se van a detallar las características que poseen las células madre, los distintos tipos que se han descrito y su versatilidad y potencialidad en cuanto a su aplicación en dichas terapias. Seguidamente, se va a analizar el progreso de las técnicas desarrolladas en las últimas dos décadas y se van a presentar investigaciones pioneras y relevantes que aportan un gran conocimiento a esta causa, así como las perspectivas futuras en este campo.

## **2. OBJETIVOS**

El objetivo del presente trabajo es realizar una revisión bibliográfica acerca del avance en las últimas dos décadas en la terapia de células madre aplicada a las enfermedades del corazón.

En un primer lugar, el trabajo procura evaluar los distintos tipos celulares que se utilizan actualmente en función de su potencial y versatilidad y las posibles limitaciones que presentan.

En segundo lugar, intenta describir los métodos de trasplante más utilizados y los mecanismos de acción que subyacen tras la aplicación de las células madre, destacando los eventos más importantes que conducen a la mejora de la función cardíaca.

Por último, pretende especificar los desafíos actuales que limitan la efectividad de la terapia, así como las estrategias que se han desarrollado para intentar mejorarla, y establecer una evaluación general de la aplicación de las células madre y su visión de futuro.

### **3. METODOLOGÍA**

La metodología utilizada se ha basado en el uso de distintas bases de datos, principalmente Web of Science, PubMed (NCBI) o Scopus (Elsevier), con tal de obtener información detallada acerca del tema tratado. Web of Science ha facilitado la búsqueda de revistas científicas tales como Circulation, European Heart Journal, American Journal of Cardiology, Journal of the American College of Cardiology o Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia, que han permitido ahondar y ampliar la información sobre el tema. Además, también se ha realizado la búsqueda de artículos en las páginas web de revistas como Nature, Cell y Science

Con el mismo objetivo de ampliación y compleción de la información, se ha utilizado el buscador de Google especializado en documentos académicos denominado Google Scholar.

Para llevar a cabo la búsqueda de documentos relacionados con la materia a estudio se han utilizados palabras clave como “stem cell”, “therapy”, “cardiovascular diseases”, “heart diseases”, “ischemic heart”, “heart failure”, “cardiomiopathy”, “miocardial infarction”, “myocardial ischemia” o “regeneration”.

La cantidad de artículos disponibles en cada base de datos ha sido elevada, sobre todo en las bases de datos Web of Science y PubMed. Esto se debe a la gran importancia que tienen las enfermedades del corazón actualmente a causa de su alta incidencia en la población y al potencial de las técnicas con células madre que han generado una visión prometedora.

Este hecho ha requerido la aplicación de filtros para acotar la búsqueda. En este sentido, se han utilizado los operadores booleanos (AND, OR y/o NOT) para eliminar artículos

relacionados con el cáncer, del cual se basan gran parte de los documentos obtenidos, tal y como se va a demostrar en el siguiente apartado.

La elección de los artículos utilizados en el presente trabajo de revisión se ha basado en el año de publicación y en la relevancia. El año de publicación ha permitido hacer una visión de forma cronológica del progreso del desarrollo tecnológico que se ha llevado a cabo en las últimas dos décadas en cuanto a la mayor investigación y al perfeccionamiento de las técnicas diseñadas, tanto en las enfermedades cardiovasculares como en las células madre. Por el contrario, también posibilita ver aquellas terapias que han fracasado o nuevos descubrimientos que han rechazado hipótesis anteriores.

En este mismo sentido, se han seleccionado aquellos documentos más relevantes y con un mayor impacto en la comunidad científica, cuyos resultados han sido reveladores, los cuales, principalmente, han coincidido con ser los más actuales. Una gran mayoría de estos artículos que, sobre todo, resultan ser revisiones bibliográficas, recogen las principales publicaciones que se han llevado a cabo hasta el momento del propio estudio, de manera que facilita la identificación de las investigaciones más importantes que se han llevado a cabo con mayor relevancia, de forma cronológica. Este hecho ha ayudado a seleccionar los artículos para la elaboración de la presente revisión. Además, una considerada parte de los artículos comparten datos, lo que ha supuesto una mayor fiabilidad y consensualidad de la información obtenida.

Para obtener definiciones de conceptos, así como datos relacionados con distintos términos, que facilitan la ampliación de la información obtenida en las bases de datos científicas nombradas anteriormente, se han utilizado páginas web oficiales pertenecientes a organismos internacionales, tales como la Organización Mundial de la Salud (OMS), y a organismos nacionales como la Sociedad Española de Cardiología (SEC) y el Instituto Nacional de Estadística (INE). Este último ha facilitado la obtención de datos estadísticos en relación a las enfermedades cardiovasculares y su relevancia en el número de defunciones anuales en España, lo que ha ayudado a contextualizar el tema.

Con el objetivo de conocer el estado y los resultados de parte de los ensayos clínicos nombrados en la literatura, se ha hecho uso de páginas web como ClinicalTrials.gov y UMIN Clinical Trials Register.

#### **4. RESULTADOS DE LA BÚSQUEDA BIBLIOGRÁFICA**

Pese a que la forma de buscar documentos en la base de datos ha sido muy similar en las distintas bases de datos, tal y como se ha explicado anteriormente, la abundancia de los resultados obtenidos ha sido distinta.

En la base de datos Scopus se han utilizado palabras claves como “stem”, “cell”, “cardiovascular”, “heart”, “disease” haciendo uso de los operadores booleanos. En total, se obtienen 11.351 documentos. Debido a que una gran parte de los resultados están relacionados con el cáncer, se ha aplicado el operador booleano NOT para eliminar aquellos artículos que incorporaban la palabra “cancer” tanto en el título, en el resumen como en las palabras clave. En total se han obtenido 8,630 resultados. De ellos, 8.611 documentos son publicados entre 1995 y 2022.

En el caso de PubMed, también se han utilizado las mismas palabras clave que en la base de datos Scopus. En un primer momento, mediante la búsqueda “stem cell therapy cardiovascular disease” se obtienen 19.398 documentos publicados desde el año 1971 hasta el 2022. Como se puede observar, la cantidad de artículos obtenidos en la base de datos Pubmed es significativamente mayor. En este caso, también se aplica el operador booleano NOT con tal de eliminar aquellos documentos relacionados con el cáncer, tal y como se ha llevado a cabo en la base de datos Scopus. En este sentido, los documentos resultantes tras la aplicación de filtros son 11.567, en concreto, 11.545 los publicados entre 1995 y 2022.

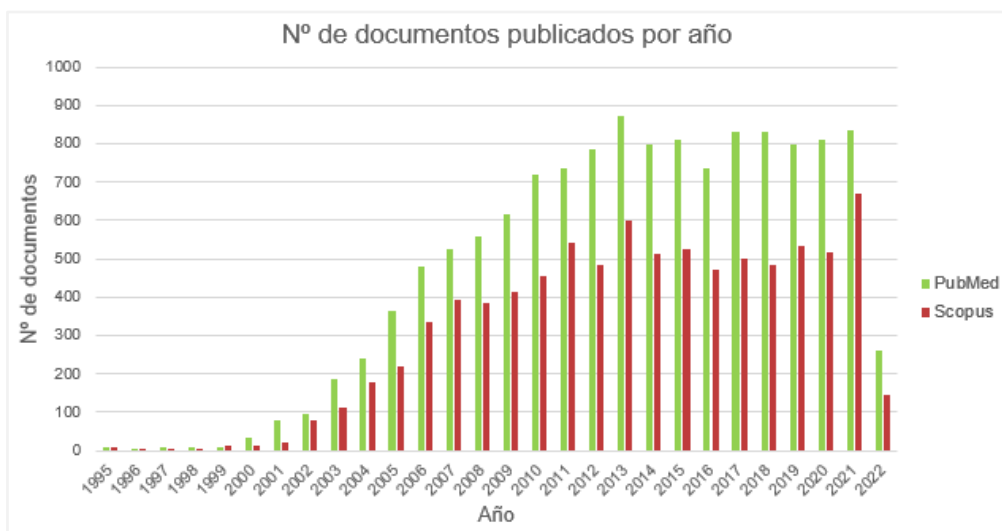


Figura 1: Número de documentos publicados por año obtenidos en las bases de datos PubMed y Scopus

Tal y como se muestra en la gráfica (**Figura 1**) y en los datos mencionados anteriormente, el número de documentos publicados se incrementa considerablemente a partir del año 2000. Esto demuestra el elevado interés en la aplicación de técnicas de células madre en el ámbito de las enfermedades cardiovasculares, el cual se debe a una mayor investigación en torno a la utilización de este tipo de células y al desarrollo de técnicas prometedoras. Por este motivo, los artículos publicados anteriormente del año 2000 no han sido seleccionados, sobre todo, por su menor relevancia.

En cuanto al tipo de documentos, en el caso de la base de datos Pubmed, se han obtenido, en gran medida, revisiones bibliográficas (3.763 resultados) y estudios clínicos (640 resultados). En el caso de la base de datos Scopus, tal y como se observa en la gráfica (**Figura 2**), también destacan las revisiones (3.410 resultados) y los artículos (4.089 resultados). Los documentos escogidos para llevar a cabo esta revisión pertenecen a estos tipos, destacando las revisiones.

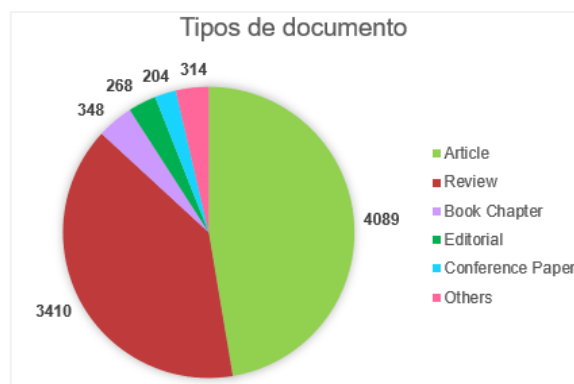


Figura 2: Tipos de documento obtenidos en la base de datos Scopus.

Si ponemos el foco en los países que poseen una mayor cantidad de publicaciones en Scopus, encontramos en primer lugar Estados Unidos (3.486), seguido de China (945), Alemania (763), Reino Unido (659) e Italia (639). Este hecho también se observa en que la mayor cantidad de artículos están publicados en revistas estadounidenses.

En cuanto a las principales fuentes de publicación, las revistas científicas y académicas destacan sobre el resto. Aquellas más predominantes son las basadas en el sistema circulatorio, como Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia, y en células madre, como Stem Cells International, aunque también hay otras revistas más generales del ámbito de la medicina como Nature Medicine o Pediatric research.

## 5. CONTENIDO DE LA REVISIÓN

### 5.1. REGENERACIÓN CARDÍACA

El número de cardiomiocitos en el corazón se estabiliza tras el nacimiento debido a la salida del ciclo celular y al elevado nivel de especialización, que hacen que el corazón sea un órgano postmitótico. Esto provoca que la regeneración del corazón tras una lesión sea complicada, ya que la pérdida de cardiomiocitos no se recupera (Mohamed et al., 2018).

Determinadas especies como el tritón y el pez zebra poseen cardiomiocitos con capacidad de proliferación, no solo durante la fase embrional, sino también en el individuo adulto. Aunque en mamíferos, en particular, en primates y humanos, esta capacidad de proliferación es limitada (Garbern & Lee, 2013).

En estas dos últimas décadas, un elevado número de estudios demuestra la existencia de células madre en tejidos adultos. Estos tipos celulares ubicados en diferentes localizaciones en el organismo se transforman bajo estímulos precisos en cardiomiocitos y están involucrados en la regeneración del miocardio.

En el miocardio adulto también se identificaron nichos de células madre cardíacas (CSC) c-kit<sup>+</sup>, aparentemente responsables de la mayor parte de la regeneración del corazón dañado (Leri & Anversa, 2013). Sin embargo, diversos estudios posteriores demostraron la escasa capacidad de estas células de producir cardiomiocitos *in vivo* por lo que el número de cardiomiocitos regenerados es bajo e insuficiente (van Berlo et al., 2014). De hecho, la tasa anual de renovación de los cardiomiocitos es menor al 1% (Terashvili & Bosnjak, 2019).

En una situación de patología cardíaca hay una serie de alteraciones que dificultan que el tejido dañado pueda ser regenerado, entre las que se encuentran la formación de una cicatriz fibrosa debido al aumento de la fibrosis, un incremento local de la inflamación, un incremento anormal de la deposición de matriz extracelular y una falta de irrigación de la región lesionada por una inadecuada angiogénesis (**Figura 3**) (Prósper et al., 2006).

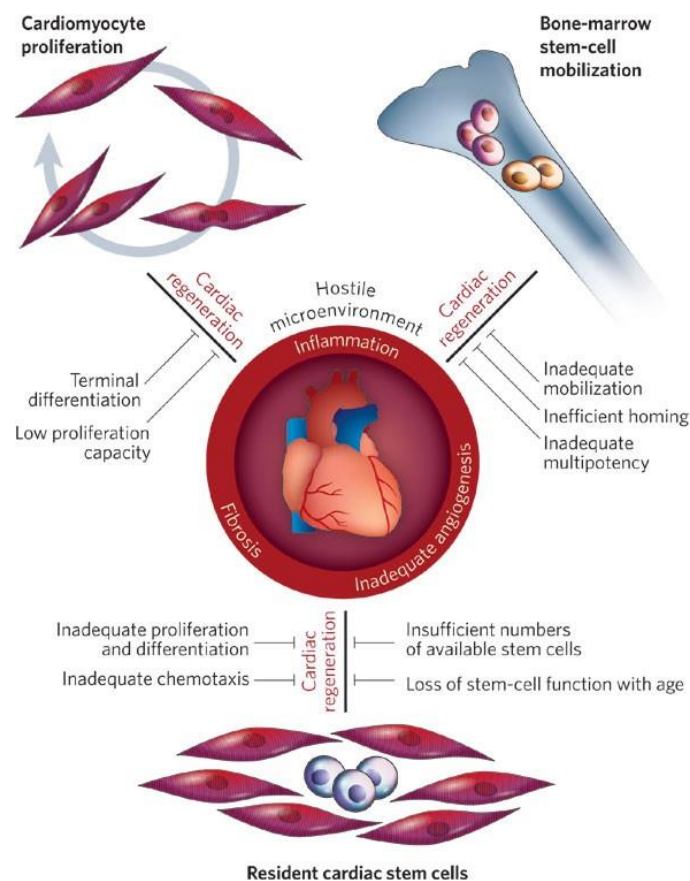


Figura 3: Mecanismos y barreras para la regeneración del corazón en mamíferos adultos. La proliferación de cardiomiocitos, la movilización de células madre y progenitoras y la activación de las células madre cardíacas residentes son los principales mecanismos (Segers & Lee, 2008).



Por tanto, el objetivo de las terapias celulares es intentar contrarrestar todas las alteraciones mencionadas, las cuales suponen un ambiente hostil que dificulta la supervivencia de las células, así como mejorar el insuficiente reemplazo de cardiomiocitos con el objetivo de fomentar el proceso de regeneración cardíaca.

## 5.2. CÉLULAS UTILIZADAS EN TERAPIA CELULAR

Las células que se utilizan en terapia celular pueden tener un origen autólogo o alogénico y presentan diferente potencialidad (**Figura 4**).

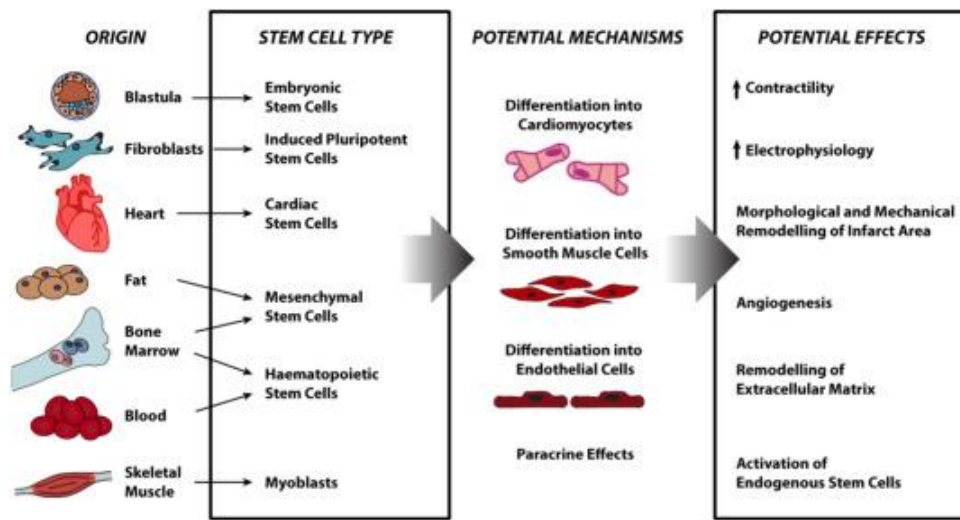


Figura 4: Tipos de células madre utilizadas para la terapia de regeneración del corazón (Duelen & Sampaolesi, 2017).

### 5.2.1. Células madre pluripotentes

Las células madre pluripotentes (PSC) son células clonogénicas no especializadas capaces de autorrenovarse y de diferenciarse morfológicamente y funcionalmente, dando lugar a los distintos tipos celulares que derivan de las tres capas embrionarias: ectodermo, mesodermo y endodermo. En concreto, los cardiomiocitos derivan del mesodermo.

#### 5.2.1.1. Células madre embrionarias (ESC)

Las células madre embrionarias humanas (hESC) son células pluripotentes que se aíslan de la masa celular interna del blastocisto de embriones previos a su implantación y se pueden cultivar formando agregados tridimensionales, denominados cuerpos embrioides (Rikhtegar et al., 2019).

La expresión de determinados factores de transcripción como la región determinante del sexo Y-box 2 (Sox-2), el factor de transcripción de unión a octámero 4 (Oct4) y la proteína Nanog, controla principalmente su estado pluripotente (Khodayari et al., 2019). Las ESC pueden expandirse de forma sencilla *in vitro* por lo que se pueden obtener grandes

cantidades de cardiomiocitos derivados de ESC (hESC-CM), los cuales se acoplan electromecánicamente con los cardiomiocitos que residen en el músculo, tal y como se ha comprobado, aparentemente, en modelos animales (Hashimoto et al., 2018). La diferenciación está controlada por factores de transcripción, entre los que se incluye el factor de crecimiento de fibroblastos-2 (FGF-2), el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y la proteína morfogenética ósea (BMP), que moderan diversas vías como la señalización por fosfoinositol 3-quinasa (PI3K) clase IA, proteína quinasa C (PKC) y Wnt/ $\beta$ -catenina (Khodayari et al., 2019).

Los estudios prometedores llevaron a la realización en 2018 de la fase I de ESCORT, el primer ensayo clínico en el que se aplicaron progenitores cardiacos derivados de ESC depositados en una matriz de fibrina, y sus resultados fueron esperanzadores (Toshikazu Sano et al., 2020).

Sin embargo, hay varios problemas que subyacen bajo su uso en terapia celular, entre los que se hallan el aumento de la probabilidad del desarrollo de teratomas en el lugar de implantación de las células, la inestabilidad genética, el riesgo de rechazo inmunitario y las cuestiones éticas, debido al requerimiento de embriones humanos (Nair & Gongora, 2020). Este enfoque, por tanto, todavía requiere más refinamiento.

#### 5.2.1.2. *Células madre pluripotentes inducidas (iPSC)*

Las células madre pluripotentes inducidas humanas (hiPSC) son células madre pluripotentes que se han obtenido a partir de células diferenciadas adultas mediante reprogramación genética. Para ello, estas células deben silenciar la expresión de los genes correspondientes al estadio de célula somática adulta, y llevar a cabo la expresión de los genes característicos del estadio pluripotente. Al igual que las células madre embrionarias, tienen capacidad de autorrenovación y de diferenciación en cualquier tipo celular procedente de las tres capas embrionarias, por lo que suponen una buena alternativa en cuanto a las preocupaciones éticas (Rikhtegar et al., 2019).

En 2006, el laboratorio de Yamanaka obtuvo por primera vez iPSC a partir de fibroblastos de ratón mediante cuatro factores de transcripción, conocidos como el cóctel de Yamanaka o factores OSKM: factor de transcripción de unión a octámero 3/4 (Oct3/4), Sox-2, factor similar a kruppel 4 (Klf4) y c-Myc (Takahashi & Yamanaka, 2006). También, se han utilizado vectores virales, microARN (miARN), y proteínas recombinantes para llevar a cabo el proceso de reprogramación (Silver et al., 2021).

Diversos estudios, tanto *in vitro* como *in vivo*, demostraron su capacidad de integración en el sistema cardíaco ya que, aparentemente, se pueden diferenciar en cardiomiocitos y

células endoteliales vasculares (VEC) funcionales (Nair & Gongora, 2020). De hecho, se demostró que los cardiomiocitos derivados de iPSC (hiPSC-CM) poseen características propias de las células del corazón como la contractilidad, el latido espontáneo y la expresión de canales iónicos (Toshikazu Sano et al., 2020), y su aplicación en ensayos preclínicos *in vivo* de IAM provocó la disminución del tamaño de la zona dañada y la debilitación de la remodelación cardíaca (Rikhtegar et al., 2019).

Sin embargo, se ha podido determinar que las células resultantes son inmaduras y tienen más relación con los cardiomiocitos embrionarios que con los adultos (Toshikazu Sano et al., 2020). En adición a esto, también presentan limitaciones en cuanto a su inestabilidad genética y su predisposición a la formación de teratomas (Nair & Gongora, 2020).

### **5.2.2. Células madre multipotentes y progenitoras adultas**

Las células madre multipotentes son capaces de diferenciarse en los tipos celulares procedentes de su misma capa embrionaria, en cambio, las células progenitoras sólo se pueden diferenciar en los tipos celulares que conforman un tejido u órgano concreto. Ambas son las responsables de renovar las células de los tejidos.

#### **5.2.2.1. Mioblastos esqueléticos**

Las primeras células que se utilizaron en terapia celular, tanto en ensayos preclínicos como en clínicos en pacientes con isquemia miocárdica, fueron los mioblastos esqueléticos, un tipo de células progenitoras de tipo muscular, también denominadas células satélite, que residen debajo de la membrana basal del músculo esquelético (Hashemi Goradel et al., 2018). De hecho, en 1994 se llevó a cabo de forma eficiente el primer trasplante de mioblastos esqueléticos en un corazón humano dañado (Toshikazu Sano et al., 2020). Su capacidad proliferativa *in vitro*, su baja probabilidad de desarrollo de tumores debido a su programa de diferenciación limitado en el linaje miogénico, su gran resistencia a la situación de isquemia, además de su origen autólogo, hicieron que fueran unos candidatos atractivos para la regeneración cardíaca (Prósper et al., 2004).

Los primeros ensayos preclínicos mostraron que los mioblastos esqueléticos son capaces, supuestamente, de diferenciarse en miotubos, los cuales disminuyeron el proceso de fibrosis y remodelación cardíaca mejorando la función del corazón (Nair & Gongora, 2020).

Sin embargo, los ensayos clínicos en modelos animales y en humanos, no mostraron los efectos beneficiosos descritos, por el contrario, se produjeron eventos de arritmias cardíacas a causa de la incapacidad de las células de integrarse de forma electromecánica con los cardiomiocitos adyacentes (Hashimoto et al., 2018). Por tanto, los mioblastos esqueléticos se han quedado obsoletos en el tratamiento de las cardiopatías isquémicas.

### 5.2.2.2. *Células derivadas de la médula ósea*

La médula ósea contiene una población heterogénea de células multipotentes y progenitoras, que se pueden transdiferenciar en células miocárdicas y endoteliales e introducir en el miocardio mediante trasplantes o promover su movilización desde la médula ósea, de forma que contribuyen a mejorar la función contráctil del músculo cardíaco y la vasculogénesis (Prósper et al., 2004).

Gracias a la alta concentración de estas subpoblaciones, su facilidad de obtención y bajo coste de aislamiento, su origen autólogo y las pocas preocupaciones éticas, han sido muy utilizadas en los ensayos clínicos (Müller et al., 2018). Concretamente, las subpoblaciones que se han estudiado y evaluado en mayor medida por su potencial terapéutico son las células mononucleares de la médula ósea (BMMNC), las células progenitoras endoteliales (EPC) y las células madre hematopoyéticas (HSC).

Las BMMNC son un conjunto heterogéneo de células entre las que se encuentran las células madre/estromales mesenquimales (MSC), las HSC, EPC y linajes celulares más comprometidos, las cuales se pueden aislar mediante centrifugación en gradiente de densidad.

Diversos estudios en modelos animales y ensayos clínicos como BOOST13 y REPAIR-AMI40 demostraron que las BMMNC eran capaces de mejorar la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI), lo que supone un efecto beneficioso en pacientes con IAM (Hashimoto et al., 2018).

Sin embargo, los resultados parecen ser discordantes. En contraposición de algunos estudios que demuestran una mejora significativa de la vascularización y la función cardíaca, otros parecen no obtener estos resultados beneficiosos. Por tanto, hay controversia en cuanto a la eficiencia terapéutica de estas células (Müller et al., 2018).

Las HSC son células multipotentes que se diferencian en células de linaje mieloide y linfoide y se caracterizan por la expresión de los marcadores de superficie CD31, CD34, CD45, CD133 y el receptor de dominio de inserción de quinasa (KDR) (Nair & Gongora, 2020). Por otro lado, las EPC son células progenitoras que se pueden aislar también de la sangre periférica, al igual que las HSC, y están caracterizadas por la expresión de los marcadores CD34, CD133, c-kit y receptor 2 del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR-2) (Hashemi Goradel et al., 2018). Factores como el factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) y VEGF incrementan la movilización de EPC. Las células CD34+ y CD133+ de ambas poblaciones son las más reconocidas y utilizadas (Joggerst & Hatzopoulos, 2009).

Varios estudios mostraron efectos beneficiosos por parte de las HSC y EPC cuando eran movilizadas desde los reservorios endógenos o implantadas en el miocardio debido a su transformación en cardiomiocitos y VEC, y a su contribución a la regeneración del endotelio vascular (Joggerst & Hatzopoulos, 2009). Sin embargo, estos resultados fueron refutados por estudios que no mostraron, supuestamente, beneficios significantes debido a un insuficiente potencial de transdiferenciación en cardiomiocitos. (Sadek & Olson, 2020)

#### 5.2.2.3. Células madre mesenquimales (MSC)

Las MSC son células multipotentes que se encuentran en el estroma de la médula ósea, sangre periférica, tejido adiposo y cordón umbilical. Tienen la capacidad de diferenciarse en osteoblastos, condrocitos, adipocitos, hepatocitos, neuronas y células musculares esqueléticas tanto en condiciones *in vitro* como *in vivo* (Hashimoto et al., 2018). Una característica importante que las define es que tienen privilegios inmunitarios y propiedades inmunosupresoras, como la ausencia de expresión de antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad de clase II (MHC II), lo que las hace muy útiles en la terapia celular alogénica (Segers & Lee, 2008).

Las MSC se pueden diferenciar en cardiomiocitos bajo determinadas condiciones como en presencia de 5-azacitidina, el inhibidor de la ADN metiltransferasa, o por medio del cocultivo con cardiomiocitos, y en células endoteliales mediante el cultivo con VEGF (Hashimoto et al., 2018; Toshikazu Sano et al., 2020). A pesar de los resultados prometedores, otros estudios reportaron un mínimo potencial cardiomiogénico y varios ensayos clínicos, como POSEIDON14 y MSC-HF50, no mostraron un beneficio significativo en pacientes con isquemia de miocardio (Hashimoto et al., 2018).

#### 5.2.2.4. Células madre cardíacas (CSC)

Las CSC destacan en terapia celular por su carácter clonogénico y autorrenovador, y su capacidad de diferenciación en cardiomiocitos, células endoteliales y células del músculo liso. (Hashimoto et al., 2018). Se han identificado al menos ocho grupos de poblaciones en función de la expresión de diferentes marcadores: células c-kit<sup>+</sup>, células Sca-1<sup>+</sup>, células Isl1<sup>+</sup>, células de población lateral (SP), mengioblastos cardíacos, unidades formadoras de colonias de fibroblastos residentes en el corazón (cCFU-F), células epicárdicas y células derivadas de cardioesfera (CDC). Todas ellas se engloban en dos grupos principales: células progenitoras cardíacas (CPC) y cardioesferas y CDC (Sanz-Ruiz & Fernández-Avilés, 2018). Las cardioesferas son una población heterogénea de CSC derivadas de cultivos de biopsia de miocardio que se generan en suspensión *in vitro*. (Nair & Gongora, 2020).

Diferentes estudios describieron la eficacia de la inyección de CDC y CPC con el objetivo de inducir la angiogénesis y estimular las CPC endógenas con tal de promover la regeneración cardíaca (Toshikazu Sano et al., 2020).

El ensayo clínico pionero SCIPIO realizado por el grupo de Piero Anversa, basado en la utilización de células c-kit<sup>+</sup> para el tratamiento de pacientes con miocardiopatía isquémica, reportó efectos beneficiosos ligeros al conseguir una reducción del tamaño del infarto (Bolli et al., 2011). Las aportaciones de grupos de investigación, como el liderado por Jeffery D. Molkentin, que demostraron la baja capacidad de diferenciación *in vivo* de las células c-kit<sup>+</sup> en cardiomiocitos, llevaron a la retractación de los artículos publicados y la anulación de los ensayos clínicos basados en dicho principio (van Berlo et al., 2014).

Estudios posteriores siguen evaluando la seguridad de la terapia y su eficacia, y deben hacer frente a las limitaciones que presenta, tales como la reducida capacidad de cardiomiogénesis y la baja tasa de injerto (Hashimoto et al., 2018).

### **5.3. MECANISMOS DE ACCIÓN**

Muchas estrategias de terapia regenerativa se basan en los eventos que tienen lugar en una situación de estrés o patológica, donde se activan una serie de vías de señalización que inducen la movilización a través del torrente sanguíneo de células madre y progenitoras al tejido dañado. Seguidamente se producen unos eventos de reclutamiento, adhesión y migración transendotelial con tal de llegar al área objetivo. Finalmente, las células invaden y atraviesan la matriz extracelular, con la posterior integración en el tejido (Dimmeler et al., 2005).

Para poder entender cuál es el potencial real de las células madre, es necesario conocer y determinar cuáles son los mecanismos que subyacen a su aplicación en la situación de isquemia miocárdica o IAM. Hoy en día se asume que la capacidad de reparación por parte de las células madre del tejido cardíaco dañado se basa en mecanismos directos e indirectos. Dentro de los mecanismos directos encontramos la diferenciación o transdiferenciación de las células madre en las células que conforman el miocardio y la vasculatura conduciendo al reemplazo del área afectada. En los mecanismos indirectos destacan los efectos paracrinos y la inmunomodulación.

#### **5.3.1. Diferenciación**

Uno de los objetivos de la terapia con células madre en las ECV es obtener un número suficiente grande de cardiomiocitos funcionales con tal de poder reemplazar la función cardíaca que se ha visto alterada por la lesión isquémica. Tal y como se ha mencionado, bajo determinadas condiciones, las células madre tienen la capacidad de diferenciarse en

cardiomiocitos y células endoteliales, los cuales tienen que tener la función de poder sustituir al tejido cardíaco y promover la angiogénesis (Müller et al., 2018).

Se pueden llevar a cabo diversas estrategias como, por ejemplo, la administración de células ya diferenciadas *in vitro* a partir de células madre, o el trasplante de células madre que se diferencian *in vivo* en las condiciones de microambiente que se dan en el tejido cardíaco. Sin embargo, estas últimas células rara vez se convierten en cardiomiocitos o células endoteliales tras el trasplante (Yu et al., 2017). En la mayoría de los estudios, las células obtenidas de las diversas fuentes posibles, son amplificadas *in vitro*, previamente a su trasplante.

En definitiva, la capacidad de diferenciación de las células madre y de las células progenitoras en cardiomiocitos es controvertida debido a la diferencia observada en los resultados (Müller et al., 2018). La mejora de la función cardíaca que se reporta en los informes se debe, en mayor medida, a las acciones paracrinas de las células implantadas o movilizadas (Sanganalmath & Bolli, 2013).

### 5.3.2. Efectos paracrinos

Estudios recientes demuestran que el proceso de reparación cardíaca endógena es estimulado mediante la señalización paracrina y/o la transferencia de microARN que influyen en la actividad transcripcional de las células huésped, los cuales se producen tras el trasplante de las células madre. Actualmente, se considera, de forma generalizada, que el principal mecanismo involucrado en la regeneración cardíaca mediada por células madre es la secreción de factores solubles (Toshikazu Sano et al., 2020).

#### 5.3.2.1. Factores de crecimiento y citoquinas

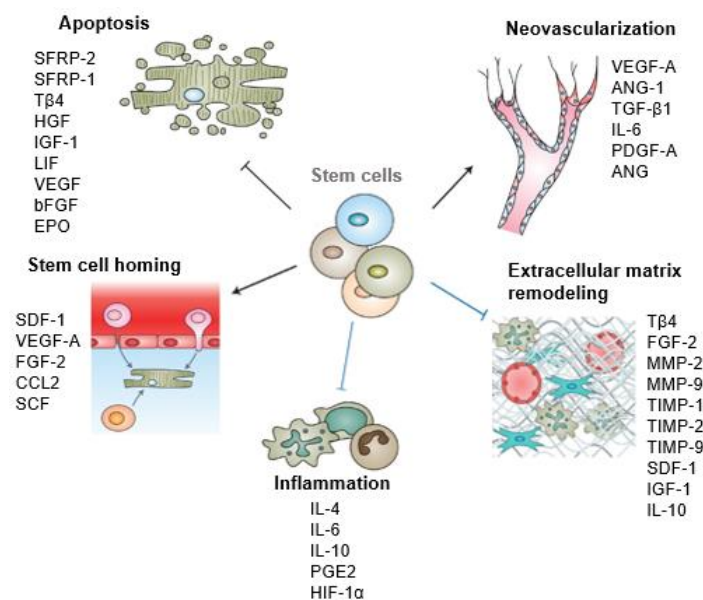


Figura 5: Efectos paracrinos de las células madre en la ischemia miocárdica mediados por factores solubles. Abreviaciones ANG, angiogenina; ANG-1, angiopoyetina-1; CCL2, ligando 2 de quimiocina (motivo CC); EPO, eritropoyetina; HGF, factor de crecimiento de hepatocitos; HIF, factor inducible por hipoxia; IGF, factor de crecimiento similar a la insulina; IL, interleucina; LIF, factor inhibidor de leucemia; MMP, metaloproteinasa de matriz; PDGF, factor de crecimiento derivado de plaquetas; SCF, factor de células madre (ligando c-kit); SDF, factor derivado de células estromales; SFRP, proteína secretada relacionada con frizzled; Tβ4, timosina β4; TGF, factor de crecimiento transformante; TIMP, inhibidor tisular de metaloproteinasas. Adaptado de Joggerst & Hatzopoulos, (2009).

Los factores liberados por las células madre pueden influir de manera positiva en el tejido circundante mediante la activación de determinadas vías de señalización sin necesidad de haber contacto célula-célula con el tejido huésped. Como resultado, se desencadenan distintos procesos regenerativos como la neovascularización, la reducción de la apoptosis, la modulación de la inflamación, la remodelación de la matriz extracelular, el reclutamiento de células que facilitan la reparación y la activación de células progenitoras propias del tejido cardíaco (**Figura 5**) (Müller et al., 2018).

El potenciamiento de la liberación de los factores de crecimiento y citoquinas es un enfoque interesante para fomentar las propiedades de las células madre que favorecen la reparación cardíaca.

#### 5.3.2.2. *Exosomas*

Los exosomas son pequeñas vesículas de membrana de un tamaño de 30 a 100 nm de origen endocítico que son secretadas en el espacio extracelular tras haberse formado por la fusión de cuerpos celulares multivesiculares en la membrana plasmática. Su potencial en la regeneración cardíaca se basa en la liberación de moléculas funcionales contenidas en su interior, tales como proteínas, lípidos, ADN de doble cadena, ARN mensajero (ARNm) y pequeños y grandes ARN reguladores no codificantes como miARN, que ejercen efectos paracrinos en las células receptoras (Yu et al., 2017).

Los exosomas pueden inducir una serie de eventos como el aumento de la proliferación y supervivencia de cardiomiocitos, la reducción de la apoptosis y de la respuesta inflamatoria, la angiogénesis, y la disminución del tamaño del infarto (Yu et al., 2017).

En adición, evitan los problemas derivados de la aplicación de las células madre, tales como la formación de teratomas, la insuficiente supervivencia celular, el acoplamiento electromecánico o la inmunogenicidad. A pesar de su menor inmunogenicidad, hay evidencias de que los exosomas pueden inducir una respuesta inmunitaria (Duelen & Sampaolesi, 2017). Sería necesario realizar más investigaciones para dilucidar los mecanismos que los subyacen y corroborar los resultados alentadores que se han obtenido hasta día de hoy.

#### 5.3.3. **Inmunomodulación**

La capacidad de inmunomodulación se ha descrito de forma más extendida en las MSC, puesto que tienen la habilidad de interactuar con las células del sistema inmunitario del huésped. Además, tal y como se ha comentado anteriormente, carecen de la expresión de antígenos del MHC II, lo que facilita su evasión de las células inmunitarias (Hashemi Goradel et al., 2018).



Diversos estudios demuestran que las MSC son capaces de evitar la proliferación y activación de las células T del sistema inmunitario, así como, inducir a su apoptosis, mediante la liberación de factores solubles como HGF, TGF- $\beta$ , la indolamina 2,3-dioxigenasa (IDO), el óxido nítrico (NO) o la proteína de muerte celular programada (PD-1). Con tal de atraer a las células T, expresan en su superficie moléculas de adhesión adecuadas, como los ligandos del receptor de quimiocinas C-C tipo 5 (CCR5) y del receptor de quimiocinas CXC 3 (CXCR3), la molécula de adhesión de células vasculares (VCAM-1) y la molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1). Por otro lado, mediante la secreción de TGF- $\beta$  y la interleucina 10 (IL-10), inducen la generación de células T reguladoras (Treg), que contribuyen a fomentar la cicatrización de la herida producida (Müller et al., 2018).

Sin embargo, hay que tener en cuenta que esta acción inmunomoduladora está influenciada por el entorno, de manera que, en ausencia de citocinas proinflamatorias, como el factor de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ) y el interferón  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), las MSC liberan factores inmunosupresores en menor medida (Müller et al., 2018).

Además de las células T, se ha demostrado que las MSC también pueden afectar a la función de macrófagos, células B, células asesinas naturales (NK), células dendríticas y mastocitos (Müller et al., 2018). La función inmunomoduladora de otros tipos de células no está determinada debido a la falta de datos, por lo que se requieren más estudios *in vitro* e *in vivo* para concretar su posible alcance.

## **5.4. DESAFÍOS ACTUALES**

### **5.4.1. Supervivencia y retención celular**

El resultado de la terapia celular depende en gran medida del éxito de la entrega de las células en el sitio objetivo. A los 4 días tras el implante en un corazón postinfarto, alrededor del 90% de las células trasplantadas mueren. Esto se debe a los distintos mecanismos que tienen lugar, tales como, la respuesta inflamatoria, la disminución del suministro de oxígeno y sustratos, la pérdida del contacto célula-célula y la liberación de factores proapoptóticos y/o citotóxicos (Khodayari et al., 2019). Por tanto, se requiere un injerto lo suficientemente grande con las propiedades estructurales y funcionales adecuadas (Müller et al., 2018).

Entre las posibles rutas de administración de las células madre encontramos la inyección intravenosa, la inyección intramiocárdica, la inyección intracoronaria, el trasplante intrapericárdico y los parches epicárdicos. Hasta el momento, la inyección intravenosa y la inyección intramiocárdica son los métodos más utilizados en los ensayos preclínicos y

clínicos. Aunque el método intravenoso resulta más simple y menos invasivo, tiene el inconveniente de que gran parte de las células quedan retenidas en otros órganos, como el hígado, los pulmones o el bazo. En cambio, la vía intramiocárdica dirige las células al miocardio, lo que supone una ventaja, a pesar de ser un método más complejo (Hashemi Goradel et al., 2018).

La vía de administración intracoronaria también toma importancia en los ensayos clínicos. Sin embargo, según los estudios parece tener menos efectividad que la administración intramiocárdica ya que las células madre requieren atravesar la pared capilar (Terashvili & Bosnjak, 2019). Por tanto, hay que tener en cuenta que la eficacia de la vía de administración utilizada va a depender del tipo celular, la dosis y la concentración, además de la cantidad de entregas, puesto que se ha demostrado que la entrega repetida de células madre mejora los efectos terapéuticos en comparación con una sola entrega (Hashimoto et al., 2018).

A pesar de utilizar la vía de administración más eficaz, sigue siendo necesario mejorar la retención y la supervivencia celular en el entorno isquémico hostil. Algunos estudios han desarrollado microtejidos tridimensionales de hPSC-CM con tal de mejorar las interacciones célula-célula reduciendo la anoikis (Silver et al., 2021). Para facilitar la orientación y el injerto de las células madre hacia el miocardio, se han diseñado técnicas de entrega magnética que implica el etiquetado de células madre con partículas sensibles al campo magnético como, por ejemplo, óxido superparamagnético (Müller et al., 2018).

Los parches epicárdicos son tejidos cardíacos diseñados para adherirse a la superficie exterior del corazón, normalmente, cerca de la zona del infarto. Actúan como un andamio proporcionando soporte e interacción entre las células y la matriz extracelular facilitando la supervivencia y la retención de las células y la secreción de factores paracrinos cardioprotectores. Sin embargo, presentan el inconveniente de que la supervivencia de las células a largo plazo se ve reducida debido al tejido fibrótico que se encuentra entre el parche y el miocardio, afectando, del mismo modo, a la integración electromecánica entre las células madre implantadas y el tejido cardíaco y a la perfusión de los factores paracrinos. Para evitar este último problema, se han desarrollado parches porosos que facilitan este intercambio (Silver et al., 2021).

Además de los parches, la tecnología de lámina celular ha surgido actualmente por su capacidad de mejorar la entrega de las células en el corazón. Por un lado, presentan ventajas frente a las células en suspensión, puesto que la cantidad de células contenidas en las láminas es superior y, además, mantienen las proteínas de superficie celular y la matriz extracelular. Por otro lado, se localizan en las áreas de interés del miocardio,

consiguiendo una mayor retención celular comparada con la resultante de la inyección intracoronaria e intramiocárdica, y se reduce el daño mecánico derivado del injerto (Yu et al., 2017). Sin embargo, el aporte sanguíneo resulta insuficiente, afectando a la supervivencia a largo plazo de las células trasplantadas.

La ingeniería de tejidos y la aplicación de biomateriales suponen un enfoque prometedor para asegurar la supervivencia y retención de las células en la zona del corazón afectada a largo plazo (**Figura 6**).

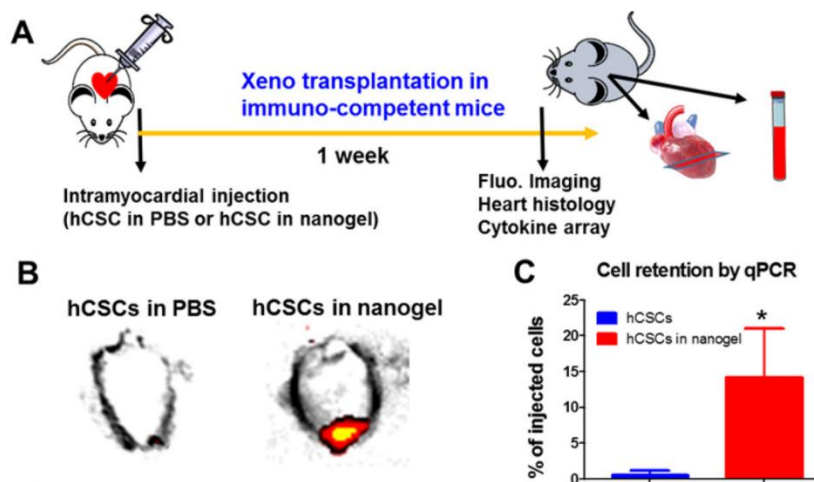


Figura 6: Efecto de las CSC xenogénicas encapsuladas en nanogel sobre la retención celular en modelos de ratón. (A) Figura esquemática del diseño del estudio. (B) Imagen de fluorescencia ex vivo de corazones de ratón tras 7 días de la inyección intramiocárdica de las hCSC en PBS o en el nanogel. (C) Análisis por PCR cuantitativa de la retención de las hCSC en los corazones de los ratones. (Tang et al., 2017)

#### 5.4.2. Rechazo inmune

El trasplante de células madre alogénicas, tales como ESCs, puede inducir una respuesta inmunitaria que produce el rechazo del injerto. Es necesaria la utilización de agentes inmunosupresores para evitar las posibles consecuencias perjudiciales en el individuo receptor (Hashemi Goradel et al., 2018). Por este motivo, las células madre autólogas, como las iPSCs, tienen una ventaja clínica considerable, aunque, también pueden inducir una respuesta inmune debida a los defectos genéticos y epigenéticos resultado del procedimiento de reprogramación y las condiciones de cultivo y diferenciación (Duelen & Sampaolesi, 2017).

En este proceso de reprogramación se pueden utilizar componentes virales, como vectores, que incrementan el riesgo de alteración del genoma de las células induciendo una respuesta inmune mediada por anticuerpos antivirales y anti-ADN. Para abordar este inconveniente se ha optado por desarrollar técnicas basadas en vectores no virales, como miARN o moléculas pequeñas (Duelen & Sampaolesi, 2017).

Unas opciones viables y prometedoras para evitar la respuesta inmunitaria como consecuencia de la utilización de células madre autólogas, son la realización de estudios de compatibilidad del MHC y la creación de bancos de hPSC. Shiba et al. llevaron a cabo el trasplante de PSC-CM alogénicos en un modelo de IAM de mono cynomolgus, y,

además de observar un acoplamiento electromagnético y una mejora en la función cardíaca, no hubo evidencia de rechazo inmunitario debido a la compatibilidad de MHC (Shiba et al., 2016; Silver et al., 2021).

En conclusión, es necesario el abordaje de los inconvenientes que acompañan la aplicación de las células madre alogénicas, así como la mejora del proceso de producción de las células madre autólogas con el objetivo de hacer práctico su uso clínico.

#### **5.4.3. Potencial tumorigénico**

Un problema relevante que lleva consigo la terapia con hPSC es la tendencia a desarrollar tumores o teratomas. Es necesario que las poblaciones de hPSC-CM tengan una pureza muy alta y que haya ausencia de hPSC indiferenciadas. Para ello, se deben eliminar todas las hPSC inespecíficas antes del trasplante (Nair & Gongora, 2020). De esta forma, además, se asegura que tenga lugar una correcta integración de las células trasplantadas en la función cardíaca (Duelen & Sampaolesi, 2017).

Para poder obtener una población celular lo más homogénea y específica posible se han desarrollado protocolos genéticos y no genéticos, de los cuales, los no genéticos tienen más relevancia. Un ejemplo de procedimiento para enriquecer y aislar las células es la técnica basada en la clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS) en la que se utilizan marcadores de superficie celular específicos de cardiomiocitos, o tintes fluorescentes específicos de mitocondrias. A pesar de que los enfoques obtuvieron un 99% de pureza y no se desarrollaron tumores, la pureza que se obtiene no es la suficiente para su aplicación terapéutica en el ámbito clínico (Duelen & Sampaolesi, 2017). Por tanto, todavía es necesario perfeccionar las técnicas de diferenciación y purificación.

#### **5.4.4. Integración electromecánica del injerto**

La terapia celular aplicada a las patologías cardíacas pretende que los cardiomiocitos obtenidos sean capaces de integrarse, tanto de forma estructural como funcional, en el corazón y de reemplazar el tejido cardíaco dañado. Las células madre sufren un proceso de maduración en el que se comprometen para diferenciarse hacia un linaje concreto y, seguidamente, hacia un tipo celular concreto. En el caso de las células progenitoras, la vía de maduración está comprometida a un linaje concreto. El fenotipo maduro de los cardiomiocitos resultantes tiene que ser el adecuado para permitir la integración electromecánica en el corazón, evitando latidos espontáneos. Este fenotipo está definido por unas características moleculares, estructurales y electrofisiológicas concretas como, por ejemplo, un manejo eficiente del calcio y una función contráctil adecuada (Silver et al., 2021).

Sin embargo, mediante los protocolos de maduración y diferenciación actuales se obtienen cardiomiocitos con un fenotipo inmaduro, más cercano a los cardiomiocitos fetales en el caso de los derivados de hPSC (Duelen & Sampaolesi, 2017). Por lo tanto, conseguir cardiomiocitos totalmente maduros es de gran importancia para recuperar la función contráctil y reducir el riesgo de arritmias. Algunos métodos se basan en promover la maduración mediante estimulación eléctrica, manipulación química o técnicas de ingeniería de tejidos tridimensionales (Silver et al., 2021).

Además de la maduración, la fibrosis derivada del proceso de cicatrización de la herida tras el IAM y del trasplante de los cardiomiocitos afecta a la propagación de la señal eléctrica y la adecuada integración electromecánica del injerto, lo que aumenta el riesgo de arritmias. Para evitar este problema, se han desarrollado andamios conductores que facilitan la propagación de la señal. Por otro lado, también hay evidencia de que la terapia farmacológica puede disminuir significativamente el riesgo de arritmias derivadas del injerto (Silver et al., 2021).

## 5.5. ESTRATEGIAS DE MEJORA DE LA TERAPIA CELULAR

Aunque gran cantidad de estudios y ensayos de fase I y II demuestran la seguridad y viabilidad de la terapia con células madre y una mejora leve de la función cardíaca, un metanálisis de varios ensayos clínicos no muestra una mejora significativa (Toshikazu Sano et al., 2020). Es por ello, que se hace importante abordar diversos aspectos con tal de obtener beneficios terapéuticos. Entre los enfoques que se están desarrollando se puede destacar la aplicación de biomateriales, el preconditionamiento celular y la modificación genética de las células madre (**Figura 7**).

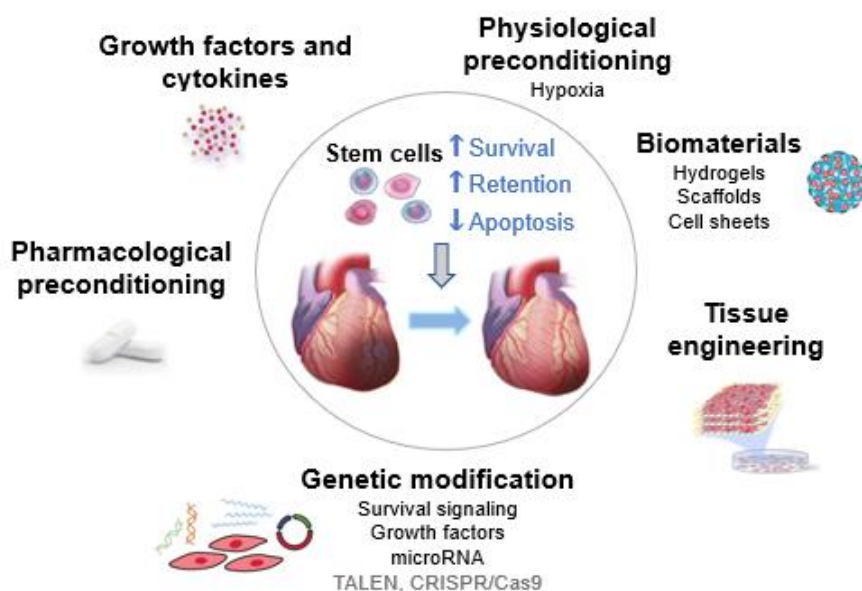


Figura 7: Estrategias para mejorar la terapia basada en células madre (Huang et al., 2016). Elaboración propia.

### 5.5.1. Aplicación de biomateriales

Los biomateriales pueden mejorar la entrega, retención y supervivencia de las células en el miocardio de forma significativa ya que las protegen del entorno hostil del IAM e impiden su pérdida tras el trasplante (Müller et al., 2018). Asimismo, promueven la proliferación y la diferenciación celular de los diferentes tipos de células madre debido a su baja viscosidad y su semejanza con la matriz extracelular del miocardio, manteniendo las señales entre las células y la matriz. Los biomateriales pueden ser naturales, tales como el matrigel, fibrina, colágeno y alginato, o sintéticos, como es el caso del polietilenglicol (PEG) o las nanofibras peptídicas (Sanganalmath & Bolli, 2013), y deben ser biocompatibles, biodegradables y sus productos de degradación no deben ser tóxicos.

El proceso de entrega se puede realizar mediante la inyección *in vivo* de una mezcla de biomateriales y células que forman el biocomplejo en el área adecuada, o a través de la creación de estructuras tridimensionales *in vitro* (Lemcke et al., 2018).

En adición, los biomateriales se pueden modificar para que contengan moléculas funcionales, con efectos beneficiosos en la capacidad regenerativa de las células madre, como pueden ser IGF-1, TGF- $\beta$  y SDF-1 (Lemcke et al., 2018).

Los parches cardíacos, los andamios inyectables y los hidrogeles son los enfoques más desarrollados en los estudios clínicos. Los andamios inyectables suponen un soporte estructural que puede promover la supervivencia celular y la función cardíaca mediante su conformación temporal de matriz extracelular, y la liberación de fármacos que fomentan la secreción controlada y localizada de factores de crecimiento o miARN (Duelen & Sampaolesi, 2017). Además, poseen características piezoeléctricas, lo que facilita la función cardíaca, y promueven la angiogénesis, tal y como se ha mostrado en modelos murinos (Lemcke et al., 2018).

Asimismo, también se han desarrollado andamios que contienen moléculas funcionales, como las ya nombradas anteriormente, y andamios que liberan oxígeno, facilitando la supervivencia y proliferación de las células durante más tiempo. (Lemcke et al., 2018)

Por otro lado, los parches cardíacos son estructuras diseñadas *in vitro* que simulan los tejidos miocárdicos (Lemcke et al., 2018). Se han diseñado parches de músculo cardíaco humano a escala clínica a partir de andamios tridimensionales de fibrina que, sembrados junto a hPSC-CM, células del músculo liso, y células endoteliales, inducen la reducción del tamaño del infarto, el aumento de la resistencia mecánica de la pared ventricular y la mejora en la función cardíaca de forma significativa (Silver et al., 2021).

Por último, los hidrogeles son polímeros hidrófilos fabricados a partir de polímeros naturales o sintéticos capaces de absorber agua desde un 10-20% hasta miles de veces su peso seco. Pueden ser químicamente estables o se pueden degradar bajo una estimulación específica, como la temperatura o el pH (Yu et al., 2017). Además, suponen un soporte estructural tridimensional para las células, con una elasticidad similar a la del tejido cardíaco.

Además de los enfoques descritos anteriormente, la ingeniería de tejidos ha permitido combinar biomateriales con células para construir estructuras tisulares tridimensionales biomiméticas u organoides en los que se pueden requerir varios tipos celulares, por lo que las células madre son de gran interés. Para poder mimetizar corazones humanos, es necesaria la utilización de andamios especializados que presentan unas características similares a la matriz extracelular facilitando la repoblación con células cardíacas e imitando el potencial funcional del corazón (Müller et al., 2018).

### **5.5.2. Preacondicionamiento celular**

Para evitar la muerte celular, se puede llevar a cabo la adaptación de las células madre al entorno isquémico hostil antes del trasplante, mediante la alteración de las condiciones de cultivo a partir de citoquinas, factores de crecimiento, fármacos, miARN o la modificación de los factores ambientales.

#### *5.5.2.1. Pretratamiento hipóxico*

El pretratamiento de hipoxia es una de las técnicas más utilizadas que permite la adaptación de las células madre al microambiente del huésped tras el IAM. En la mayoría de los estudios preclínicos, el nivel de hipoxia varió entre el 0,5% y el 3% y la duración de la hipoxia fue alterada de horas a días (Lemcke et al., 2018).

La baja concentración de oxígeno regula positivamente los factores que favorecen la angiogénesis y la supervivencia como HIF-1, Ang-1, EPO y el VEGF (Müller et al., 2018); y activa vías de señalización, como MAPK y AKT, que conducen a un aumento de la secreción de factores con efectos paracrinos que favorecen la regeneración cardíaca. A su vez, esta viabilidad celular también se debe a la menor concentración de especies reactivas de oxígeno, las cuales dañan las células (Lemcke et al., 2018).

Se informó que la hipoxia contribuye a la mejora del injerto celular, conduciendo a un aumento de la movilización y de la cantidad de células madre retenidas. Detrás de este hecho se encuentra el aumento de la expresión del receptor de quimiocinas CXC tipo 4 (CXCR4), el cual está implicado en la localización celular (Lemcke et al., 2018).

### 5.5.2.2. *Pretratamiento farmacológico*

El pretratamiento con agentes farmacológicos es un enfoque rentable para mejorar la eficacia terapéutica de las células madre. Muchos de los fármacos utilizados ejercen un beneficio en la reparación cardíaca debido a sus características antiapoptóticas que favorecen la supervivencia de las células madre y a su habilidad de promover la liberación de determinados factores paracrinos que juegan un papel fundamental en la regeneración del corazón (Toshikazu Sano et al., 2020). Por ejemplo, un estudio reportó que la trimetazidina, un fármaco antiisquémico, derivó en una reducción de la fibrosis del 10% y una mejora moderada del rendimiento cardíaco en comparación con las células no tratadas, cuando se aplicó en MSC antes del implante en modelos de ratas de IAM (Müller et al., 2018).

De forma similar, ciertos agentes tienen la capacidad de fomentar la diferenciación de las células madre. En particular, el tratamiento previo con el agente desmetilante 5-azacitidina, mejora la diferenciación de las células madre en cardiomiocitos, aunque no se ha detectado un aumento en el rendimiento cardíaco (Lemcke et al., 2018).

Hay evidencias de que los agentes antiinflamatorios pueden mejorar el proceso de regeneración cardíaca al modular el microambiente del IAM (Khodayari et al., 2019). El uso de estatinas es viable en las ECV. Particularmente, la atorvastatina se ha utilizado en diversos estudios por su capacidad de fomentar la diferenciación de las células madre y su supervivencia al disminuir la fibrosis cardíaca y controlar el ambiente inflamatorio. Sin embargo, su efectividad es dependiente de la dosis, ya que a altas dosis no se ha observado un beneficio significativo en la función cardíaca (Khodayari et al., 2019).

### 5.5.2.3. *Pretratamiento con factores de crecimiento y citoquinas*

La aplicación de factores de crecimiento y citoquinas es otro modo viable y rentable para disminuir el impacto del entorno desfavorable del IAM y potenciar las características de las células madre. Tal y como se ha comentado anteriormente, estas moléculas poseen unas características beneficiosas para favorecer la regeneración cardíaca.

El pretratamiento con SDF-1 conduce a un aumento de la proliferación, diferenciación, localización y supervivencia de las células madre. Asimismo, la estimulación con IL-10 ayudaría a disminuir la acción de las citoquinas proinflamatorias sobre el injerto (Khodayari et al., 2019).

Por otro lado, diversas moléculas están implicadas en la determinación del linaje cardiomiogénico de las células madre. En el ensayo clínico de fase II C-CURE, se utilizó *ex vivo* un cóctel de determinados factores y citoquinas (TGF- $\beta$ , FGF, BMP4, cardiotropina



y  $\alpha$ -trombina) para inducir la diferenciación de MSC en cardiomiocitos. Como consecuencia, se obtuvo una mejora significativa de la FEVI (Lemcke et al., 2018). Sin embargo, en el ensayo clínico de fase III posterior, CHART-1, no se obtuvieron diferencias significativas frente al grupo control, aunque tras un año de seguimiento se reportó una remodelación inversa del miocardio mediada por la terapia celular (Müller et al., 2018).

### **5.5.3. Modificaciones genéticas**

La modificación genética surge como otra alternativa eficaz y rentable para poder potenciar los efectos terapéuticos de las células madre. Su principal ventaja frente a las modificaciones no genéticas que se han explicado anteriormente, es que se suelen utilizar con el objetivo de conseguir efectos prolongados en la funcionalidad de las células madre. Principalmente, los enfoques que se utilizan son la sobreexpresión de proteínas mediante el suministro de ADN y la modificación genética basada en miARN (Müller et al., 2018).

#### *5.5.3.1. Sobreexpresión de proteínas mediante el suministro de ADN*

Mediante el suministro de ADN se puede inducir la sobreexpresión de genes antiapoptóticos, citoprotectores, cardiomiogénicos, angiogénicos o de factores de crecimiento que potencian la capacidad regenerativa de las células madre (Khodayari et al., 2019).

La sobreexpresión de SDF-1 en un modelo de rata de IAM condujo a un aumento positivo de los factores proangiogénicos como VEGF y óxido nítrico endotelial (eNOS), que se tradujo en la reducción de la fibrosis cardíaca y en la mejora de la fracción de eyección. También se han obtenido efectos beneficiosos mediante la sobreexpresión de CXCR4, VEGF, IGF-1 y PDGF al aumentar el potencial de diferenciación de las células madre y su viabilidad (Khodayari et al., 2019).

Por otro lado, otros estudios han demostrado que la sobreexpresión de genes antiapoptóticos como Bcl-2, Pim-1 y la proteína quinasa B (PKB o Akt), aumentan la supervivencia y la funcionalidad en las células madre (Sanganalmath & Bolli, 2013).

Debido a su elevada eficacia, la técnica más utilizada para introducir el ADN en las células es la transducción viral. No obstante, presenta inconvenientes debido los problemas de seguridad que llevan consigo los virus integrativos, ya que pueden inducir una respuesta inmunitaria por parte del huésped y, como la integración del ADN es inespecífica, pueden provocar mutagénesis y tumorigénesis. (Lemcke et al., 2018). Por este motivo, la utilización de nucleasas efectoras de tipo activador de la transcripción (TALEN) o el sistema CRISPR/Cas9 toman importancia ya que permiten la inserción precisa de genes

en el genoma de las células madre, evitando los problemas mencionados anteriormente (Müller et al., 2018).

### 5.5.3.2. *Modificación genética basada en miARN*

Los miARN son pequeños ARN de 20 a 25 nucleótidos de longitud, no codificantes capaces de regular la expresión génica postranscripcional (Duelen & Sampaolesi, 2017). Suponen un enfoque interesante ya que pueden fomentar la función de las células madre, concretamente la actividad paracrina, sin necesidad de alterar su genoma (Müller et al., 2018). Por ejemplo, se ha visto que miR-214, miR-302–367 y los grupos miR-17–92 y miR-222 inducen la reparación cardíaca *in vivo* en modelos animales. Además, miR-199a o miR-59 fomentan la proliferación de cardiomiocitos, tanto en corazones postnatales como adultos, y disminuyen la fibrosis en modelos de IAM de ratones adultos (Hashimoto et al., 2018). El enriquecimiento de las células con estos miARNs supone un enfoque prometedor para potenciar todavía más sus efectos beneficiosos.

En contraste, algunos miARN afectan de forma negativa a la proliferación y supervivencia de los cardiomiocitos, como miR-15, miR-34, miR-140, miR-320. Por tanto, su inhibición fomenta la regeneración del miocardio (Duelen & Sampaolesi, 2017).

A pesar de los beneficios descritos, presentan inconvenientes. Por un lado, los miARNs pueden afectar a la expresión de varios genes distintos, por lo que hay que considerar las consecuencias colaterales. Por otro lado, la expresión de un mismo gen puede ser modulada por miARNs diferentes, de manera que es necesario tener en cuenta los posibles efectos opuestos (Lemcke et al., 2018).

En conjunto, las estrategias de mejora de la terapia celular parecen obtener resultados prometedores, aunque todavía sigue siendo necesario el perfeccionamiento de dichos métodos para facilitar la aplicación de las células madre en ensayos clínicos avanzados.

## 6. DISCUSIÓN

Debido a la insuficiente capacidad de regeneración del corazón, las terapias basadas en células madre surgen como un enfoque prometedor para hacer frente a la pérdida masiva de cardiomiocitos tras el IAM. Su principal objetivo es reemplazar el tejido cardíaco dañado mediante la diferenciación de las células madre en cardiomiocitos.

Los estudios preclínicos reportan unos resultados alentadores y demuestran que es una técnica segura y viable. Sin embargo, los ensayos clínicos más avanzados realizados hasta el momento resultan ser contradictorios y decepcionantes (Hashimoto et al., 2018). A pesar de ello, actualmente se han aprobado ensayos clínicos en humanos, como el

llevado a cabo en Japón (jRCT2053190081), donde se está estudiando el trasplante de hiPSC-CM alogénicos, o el realizado en Alemania (NCT04396899), basado en la capacidad de remuscularización del miocardio por parte de hiPSC-CM y células estromales (Silver et al., 2021).

La disparidad en los resultados puede deberse a la entrega insuficiente de factores terapéuticos que hace que no se alcancen los umbrales necesarios para poder inducir la reparación cardíaca cuando se pasa a los ensayos clínicos (Hashimoto et al., 2018).

Las diferencias en los protocolos y procedimientos que aparecen en la literatura hacen difícil la comparación de los resultados. Aspectos como el tipo celular, la dosis o la vía de administración se tienen que tener en cuenta a la hora de evaluar las consecuencias de cada técnica. Todavía no se ha determinado el tipo celular ni el método óptimo de aplicación (Nair & Gongora, 2020). A la hora de diseñar la estrategia de trasplante, es necesario tener en cuenta las ventajas y desventajas que hay detrás de cada tipo de célula madre.

Sería preciso estandarizar los procedimientos de trasplante, así como determinados parámetros como la dosis de células o el tiempo de aplicación tras el IAM, y realizar un mayor número de ensayos comparativos para dar una mayor veracidad a los resultados obtenidos (Khodayari et al., 2019). Conseguir la reproducibilidad y la rentabilidad de las terapias debería ser uno de los principales objetivos.

Los beneficios limitados que se obtienen en los ensayos clínicos se deben a los problemas descritos en la presente revisión. La supervivencia, la retención, la respuesta inmune, la integración electromecánica, la formación de teratomas y las anomalías cardiotípicas, como las arritmias, suponen desafíos que afectan a la eficacia y seguridad de la terapia celular (Silver et al., 2021). Muchos grupos de investigación pretenden abordar dichos problemas diseñando técnicas basadas en la aplicación de biomateriales, en el preacondicionamiento celular y en la modificación genética, y los resultados a día de hoy son prometedores. Además, estas estrategias no son mutuamente excluyentes y se pueden utilizar conjuntamente para obtener efectos sinérgicos (Sanganalmath & Bolli, 2013). Asimismo, la combinación de dichas tecnologías junto a la ingeniería de tejidos también supone una perspectiva alentadora, que puede ser utilizada no solo en la situación de isquemia miocárdica o IAM, sino en otras enfermedades cardiovasculares.

En adición, las terapias personalizadas suponen un enfoque muy viable para poder adaptarse a las características individuales de cada paciente, teniendo en cuenta, además, la edad y las comorbilidades asociadas. La generación de líneas de iPSC permiten diseñar estrategias y modelos de enfermedad específicos (Müller et al., 2018). En este caso, sería

necesario abordar los problemas que presentan estas células, como la posible formación de tumores.

Tal y como se ha explicado en líneas anteriores, los mecanismos de acción de las células no están completamente dilucidados. Numerosos estudios parecen coincidir en que los beneficios obtenidos en la aplicación de células madre no se deben a la diferenciación de cardiomiocitos, la cual es prácticamente insuficiente, sino que son fruto de la modulación del sistema inmunitario y de los efectos paracrinicos por parte de las células madre trasplantadas (Khodayari et al., 2019). Aunque, todavía hay controversias.

Un estudio reciente liderado por Jeffery D. Molkentin demuestra que, bajo la mejora de la función cardíaca derivada de la aplicación de células madre, CDC y BMMNC, en un modelo de ratón tras la lesión por isquemia-reperfusión (I-R), se encuentra una respuesta inmune aguda. En contraposición con lo establecido, la aplicación de estas células vivas o muertas, y de zymosan, una sustancia proinflamatoria, induce una respuesta similar que justifica la mejoría en la función cardíaca. Esta respuesta se basa en el reclutamiento de forma temporal y localizada de un tipo de macrófagos que, como consecuencia, provoca la remodelación de la matriz extracelular en el área del infarto mejorando las propiedades funcionales de los cardiomiocitos lesionados (Vagnozzi et al., 2020).

Por tanto, parece que hay evidencias suficientes de que la aplicación de células madre no consigue, a día de hoy, el reemplazo de los cardiomiocitos muertos o lesionados. Este hecho cuestiona los numerosos ensayos clínicos que están en desarrollo actualmente y que se basan en la idea de que la inyección de células madre regenera el corazón mediante su diferenciación en cardiomiocitos, por lo que sería precisa su reformulación.

En conclusión, para hacer viables las terapias basadas en células madre para el tratamiento de la isquemia miocárdica es necesario conocer en detalle los eventos que tienen lugar antes de avanzar a la aplicación clínica, la cual requiere una gran cantidad de recursos, y no basarse únicamente en las modestas mejoras observadas.

Como visión de futuro, la terapia celular podría ser potenciada por el desarrollo de estrategias basadas en la generación de tejido cardíaco mediante ingeniería de tejidos, la utilización de andamios y parches que favorecen la retención y supervivencia de las células, y la combinación con técnicas de modificación del ADN como el CRISPR/Cas9. Del mismo modo, debido a la controversia ocasionada por el uso de las células, las técnicas libres de células están cogiendo un mayor peso, entre las que se encuentran las tecnologías basadas en vesículas extracelulares, como los exosomas, y en miARN (Khodayari et al., 2019).

En relación a la elaboración de la actual revisión, la amplia información presente en la literatura ha supuesto una mayor labor para seleccionar los artículos y datos más relevantes que atañen al tema tratado. Igualmente, considero que esta revisión, consigue resumir desde un punto de vista general los distintos aspectos más importantes que engloban parte de los principales enfoques que se han desarrollado hasta ahora y aquellos que dan pie a un mayor avance en el futuro.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

- Bolli, R., Chugh, A. R., D'Amario, D., Loughran, J. H., Stoddard, M. F., Ikram, S., Beache, G. M., Wagner, S. G., Leri, A., Hosoda, T., Sanada, F., Elmore, J. B., Goichberg, P., Cappetta, D., Solankhi, N. K., Fahsah, I., Rokosh, D. G., Slaughter, M. S., Kajstura, J., & Anversa, P. (2011). Effect of Cardiac Stem Cells in Patients with Ischemic Cardiomyopathy: Initial Results of the SCIPIO Trial. *Lancet (London, England)*, 378(9806), 1847. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)61590-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)61590-0) Retracted
- Dimmeler, S., Zeiher, A. M., & Schneider, M. D. (2005). Unchain my heart: the scientific foundations of cardiac repair. *Journal of Clinical Investigation*, 115(3), 572. <https://doi.org/10.1172/JCI24283>
- Dorticós, E., & Hernández, P. (2006). *Medicina regenerativa: Células madre en enfermedades del corazón*. Rev Cubana Hematol Inmuno Hemoter v.22 n.1. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-02892006000100003](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892006000100003)
- Duelen, R., & Sampaolesi, M. (2017). Stem Cell Technology in Cardiac Regeneration: A Pluripotent Stem Cell Promise. In *EBioMedicine* (Vol. 16, pp. 30–40). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2017.01.029>
- Garbern, J. C., & Lee, R. T. (2013). Cardiac stem cell therapy and the promise of heart regeneration. In *Cell Stem Cell* (Vol. 12, Issue 6, pp. 689–698). Cell Press. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2013.05.008>
- Hashemi Goradel, N., Ghiyami Hoor, F., Negahdari, B., Vaisi Malekshahi, Z., Hashemzahi, M., Masoudifar, A., & Mirzaei, H. (2018). Stem cell therapy: A new therapeutic option for Cardiovascular Diseases; Stem cell therapy: A new therapeutic option for Cardiovascular Diseases. *J Cell Biochem*, 119(1), 95–104. <https://doi.org/10.1002/jcb.26169>
- Hashimoto, H., Olson, E. N., & Bassel-Duby, R. (2018). Therapeutic approaches for cardiac regeneration and repair. In *Nature Reviews Cardiology* (Vol. 15, Issue 10, pp. 585–600). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/s41569-018-0036-6>
- Hernández Cañero, A., & Hidalgo Díaz, J. (2004). La regeneración del corazón y la terapia celular con células madre. In *Revista CENIC Ciencias Biológicas* (Vol. 35, Issue 3). <https://revista.cnic.edu.cu/index.php/RevBiol/article/view/1230>
- Huang, P., Tian, • Xiaqiu, Li, Q., & Yang, Y. (2016). New strategies for improving stem cell therapy in ischemic heart disease. *Heart Failure Reviews*, 21, 737–752. <https://doi.org/10.1007/s10741-016-9576-1>

- Joggerst, S. J., & Hatzopoulos, A. K. (2009). Stem cell therapy for cardiac repair: benefits and barriers. *Expert Reviews in Molecular Medicine*, 11. <https://doi.org/10.1017/S1462399409001124>
- Khodayari, S., Khodayari, H., Amiri, A. Z., Eslami, M., Farhud, D., Hescheler, J., Nayernia, K., Khodayari, S., & Khodayari, H. (2019). Cellular Physiology and Biochemistry Cellular Physiology and Biochemistry Inflammatory Microenvironment of Acute Myocardial Infarction Prevents Regeneration of Heart with Stem Cells Therapy. *Cell Physiol Biochem*, 53, 887–909. <https://doi.org/10.33594/000000180>
- Lemcke, H., Voronina, N., Steinhoff, G., & David, R. (2018). Recent Progress in Stem Cell Modification for Cardiac Regeneration. In *Stem Cells International* (Vol. 2018). Hindawi Limited. <https://doi.org/10.1155/2018/1909346>
- Leri, A., & Anversa, P. (2013). Stem Cells and Myocardial Regeneration: Cooperation Wins over Competition. *Circulation*, 127(2), 165. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.112.153973>
- Mohamed, T. M. A., Ang, Y. S., Radzinsky, E., Zhou, P., Huang, Y., Eifenbein, A., Foley, A., Magnitsky, S., & Srivastava, D. (2018). Regulation of Cell Cycle to Stimulate Adult Cardiomyocyte Proliferation and Cardiac Regeneration. *Cell*, 173(1), 104-116.e12. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.02.014>
- Müller, P., Lemcke, H., & David, R. (2018). Stem Cell Therapy in Heart Diseases-Cell Types, Mechanisms and Improvement Strategies. In *Cellular Physiology and Biochemistry* (Vol. 48, Issue 6, pp. 2607–2655). S. Karger AG. <https://doi.org/10.1159/000492704>
- Nair, N., & Gongora, E. (2020). Stem cell therapy in heart failure: Where do we stand today? In *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease* (Vol. 1866, Issue 4). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2019.06.003>
- Prósper, F., Gavira, J. J., Herreros, J., Rábago, G., Luquin, R., Moreno, J., Robles, J. E., & Redondo, P. (2006). Trasplante celular y terapia regenerativa con células madre Cell transplant and regenerative therapy with stem cells. In *An. Sist. Sanit. Navar* (Vol. 29, Issue 2). [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1137-66272006000400018&lng=es&tlng=es](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1137-66272006000400018&lng=es&tlng=es).
- Prósper, F., Herreros, J., & Barba, J. (2004). Perspectivas futuras de tratamiento en la insuficiencia cardíaca: del trasplante de células a la regeneración cardíaca. *Revista Española de Cardiología*, 57(10), 981–988. <https://doi.org/10.1157/13066458>
- Rikhtegar, R., Pezeshkian, M., Dolati, S., Safaie, N., Afrasiabi Rad, A., Mahdipour, M., Nouri, M., Jodati, A. R., & Yousefi, M. (2019). Stem cells as therapy for heart disease: iPSCs, ESCs, CSCs, and skeletal myoblasts. In *Biomedicine and Pharmacotherapy* (Vol. 109, pp. 304–313). Elsevier Masson SAS. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.10.065>
- Ruiz-Meana, M., & García-Dorado, D. (2009). Fisiopatología del daño miocárdico por isquemia-reperusión: nuevas oportunidades terapéuticas en el infarto agudo de miocardio. *Revista Española de Cardiología*, 62(2), 199–209. [https://doi.org/10.1016/S0300-8932\(09\)70162-9](https://doi.org/10.1016/S0300-8932(09)70162-9)
- Sadek, H., & Olson, E. N. (2020). Toward the Goal of Human Heart Regeneration. *Cell Stem Cell*, 26(1), 7. <https://doi.org/10.1016/J.STEM.2019.12.004>

- Sanganalmath, S. K., & Bolli, R. (2013). Cell therapy for heart failure: A comprehensive overview of experimental and clinical studies, current challenges, and future directions. *Circulation Research*, 113(6), 810–834. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.113.300219>
- Sanz-Ruiz, R., & Fernández-Avilés, F. (2018). Autologous and allogeneic cardiac stem cell therapy for cardiovascular diseases. In *Pharmacological Research* (Vol. 127, pp. 92–100). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2017.05.024>
- Segers, V. F. M., & Lee, R. T. (2008). Stem-cell therapy for cardiac disease. *Nature* 2008 451:7181, 451(7181), 937–942. <https://doi.org/10.1038/nature06800>
- Shiba, Y., Gomibuchi, T., Seto, T., Wada, Y., Ichimura, H., Tanaka, Y., Ogasawara, T., Okada, K., Shiba, N., Sakamoto, K., Ido, D., Shiina, T., Ohkura, M., Nakai, J., Uno, N., Kazuki, Y., Oshimura, M., Minami, I., & Ikeda, U. (2016). Allogeneic transplantation of iPS cell-derived cardiomyocytes regenerates primate hearts. <https://doi.org/10.1038/nature19815>
- Silver, S. E., Barrs, R. W., & Mei, Y. (2021). Transplantation of Human Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes for Cardiac Regenerative Therapy. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 8. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2021.707890>
- Takahashi, K., & Yamanaka, S. (2006). Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors. *Cell*, 126(4), 663–676. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.07.024>
- Tang, J., Cui, X., Caranasos, T. G., Hensley, J. M., Taylor, A. C., Vandergriff, A. C., Hartanto, Y., Shen, D., Zhang, H., Zhang, J., & Cheng, K. (2017). Heart Repair Using Nanogel-Encapsulated Human Cardiac Stem Cells in Mice and Pigs with Myocardial Infarction. <https://doi.org/10.1021/acsnano.7b01008>
- Terashvili, M., & Bosnjak, Z. J. (2019). Stem Cell Therapies in Cardiovascular Disease. In *Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia* (Vol. 33, Issue 1, pp. 209–222). W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1053/j.jvca.2018.04.048>
- Toshikazu Sano, Shuta Ishigami, Tatsuo Ito, & Shunji Sano. (2020). Stem cell therapy in heart disease limitations and future possibilities. 74(3), 185–190. <https://doi.org/10.18926/AMO/59948>
- Vagnozzi, R. J., Maillet, M., Sargent, M. A., Khalil, H., Johansen, A. K. Z., Schwanekamp, J. A., York, A. J., Huang, V., Nahrendorf, M., Sadayappan, S., & Molkentin, J. D. (2020). An acute immune response underlies the benefit of cardiac stem cell therapy. *Nature*, 577(7790), 405–409.
- van Berlo, J. H., Kanisicak, O., Maillet, M., Vagnozzi, R. J., Karch, J., Lin, S. C. J., Middleton, R. C., Marbán, E., & Molkentin, J. D. (2014). C-kit<sup>+</sup> cells minimally contribute cardiomyocytes to the heart. *Nature*, 509(7500), 337–341. <https://doi.org/10.1038/nature13309>
- Yu, H., Lu, K., Zhu, J., & Wang, J. (2017). Stem cell therapy for ischemic heart diseases. *British Medical Bulletin*, 121(1), 135–154. <https://doi.org/10.1093/BMB/LDW059>