

largo de nuestra vida, desde el momento en que nacemos o incluso antes, y la capacidad de conducir las propias emociones, en definitiva hacer un

balance entre mente emocional y mente racional de forma que nos permita mejorar nuestra calidad de vida.

CARDIOMIOPLASTIA CELULAR: CÉLULAS MADRE PARA LA REPARACIÓN DEL CORAZÓN

Ramón Muñoz-Chápuli

El pasado mes de septiembre un equipo multidisciplinar de Valladolid implantó, por primera vez en España, células madre en el corazón de un hombre de 66 años aquejado de insuficiencia cardíaca grave a causa de un infarto agudo de miocardio. La intervención se realizó en el Hospital Clínico Universitario de Valladolid, con la colaboración del Hospital Río Hortega y del Instituto de Biología y Genética Molecular (IBGM). Las células madre hematopoyéticas habían sido extraídas del mismo paciente por aspiración de la médula ósea, purificadas y reinyectadas a través de un catéter colocado en el corazón. La intención es que estas células pluripotenciales se diferencien en miocardiocitos regenerando de esta manera el tejido cardíaco y contribuyendo a mejorar la función cardíaca del paciente.

Esta terapia experimental nos lleva a tratar hoy el tema de la cardiomioplastia celular, es decir, la regeneración de un corazón dañado mediante la implantación de células madre. Hasta llegar a los ensayos en humanos se ha recorrido un largo camino de experimentación en animales y en modelos *in vitro*. Para los lectores interesados existen interesantes revisiones del tema [Gulbins H et al., *Heart Surg Forum* 5:28-34 (2002); Rafii S et al., *Semin Cell Dev Biol* 13:61-67 (2002); Hughes S J *Pathol* 197:468-478 (2002); Orlic D et al., *Pediatr Transplant* 7:86-88 (2003)].

Las enfermedades cardiovasculares son la primera causa de mortalidad en los países desarrollados. La insuficiencia cardíaca, frecuentemente producida por la destrucción de tejido cardíaco que sigue a un infarto agudo de miocardio, afecta a un porcentaje relativamente alto de la población. Hasta los recientes descubrimientos sobre las propiedades de las células madre, el tratamiento consistía, básicamente, en realizar un trasplante cardíaco, algo complicado por la disponibilidad de donantes y los problemas de rechazo. En los últimos años, sin embargo, se ha registrado un creciente interés por las posibilidades de reparación miocárdica a partir de la implantación de células. Se comenzó por ensayar la implantación de miocardiocitos fetales,

miocardiocitos adultos extraídos del atrio y reimplantados en el ventrículo, células musculares lisas fetales, líneas celulares mioblásticas (precursores musculares) e incluso fibroblastos obtenidos de la piel. Pero han sido las células madre las que han proporcionado los mejores resultados. Vamos a exponer las posibles fuentes de células madre para su utilización en cardiomioplastia celular.

Las células satélite del músculo esquelético son mioblastos, es decir, células indiferenciadas capaces de regenerar el músculo después de una lesión. Las células satélite se localizan bajo la lámina basal de los músculos y pueden obtenerse, multiplicarse *in vitro* (suponen sólo un 3-4% del total de células musculares) y reinyectarse en el corazón, bien directamente en la zona dañada o por perfusión a través de una arteria coronaria. La posibilidad de obtener las células satélites del paciente elimina los problemas de rechazo inmunitario. En modelos animales se ha conseguido de esta forma mejorar la función cardíaca. Sin embargo el músculo que se diferencia a partir de células satélite es diferente al músculo cardíaco, tanto en su morfología como en su fisiología. Los miocardiocitos están conectados eléctricamente a través de uniones *gap*, formadas por hexámeros de conexina-43. Estas uniones no se forman en el músculo esquelético, por lo que debería existir un fallo en la coordinación de la contracción entre los dos tipos de músculo. No obstante la cuestión es polémica, ya que algunos grupos han descrito la formación de uniones *gap* en el músculo esquelético diferenciado en el corazón de ratones inyectados con células satélite, como si dichas células fueran capaces de adquirir el fenotipo del músculo cardíaco. Estos resultados han sido puestos en duda por otros laboratorios, y la cuestión sigue abierta.

Las células madre embrionarias son otra posible fuente de precursores para la cardiomioplastia celular. Estas células derivan de la masa interna del blastocisto, una de las primeras etapas del desarrollo. Existen protocolos para la diferenciación *in vitro* de miocardiocitos a partir de células madre

embrionarias. Estos miocardiocitos pueden desplegar todos los fenotipos posibles, es decir, pueden ser miocardiocitos atriales, ventriculares, marcapasos, de tejido de conducción, etc. El problema a la hora de utilizar células madre embrionarias, consideraciones éticas aparte, es el de seleccionar precursores miocardiocíticos puros, ya que la inyección de precursores no comprometidos puede originar la aparición de tumores (teratomas). Esto se ha conseguido modificando genéticamente las células madre para que expresen un gen *reporter* (por ejemplo la GFP, proteína fluorescente verde) bajo control de un promotor específico de miocardiocitos (por ejemplo la cadena pesada de miosina cardíaca). De esta forma los miocardiocitos derivados de células madre se pueden separar del resto de células por su fluorescencia. Además, utilizando un promotor específico de un fenotipo miocardiocítico, por ejemplo una isoforma de cadena ligera de miosina que sólo se expresa en el ventrículo, se pueden obtener miocardiocitos ventriculares puros. La técnica es muy interesante, pero plantea problemas. Las células madre son alogénicas, susceptibles de provocar un rechazo inmunitario, y una vez diferenciadas en miocardiocitos dejan de dividirse, con lo que el rendimiento es muy bajo. Los primeros ensayos en humanos han sido prometedores, pero no excelentes.

Las células madre adultas son una alternativa importante a las embrionarias para la cardiomioplastia celular. Estas células pueden obtenerse de la médula ósea del propio paciente, eliminando problemas de rechazo. A partir de estas células se ha conseguido, en ratones, una línea celular cardiomiogénica que, tratada con 5-azacitidina, un agente que desmetila el DNA, se diferencia en miocardiocitos funcionalmente competentes, con un fenotipo ventricular fetal. Por otro lado las células hematopoyéticas de la médula ósea, inyectadas en el corazón a través de las coronarias, se diferencian no sólo en miocardiocitos sino también en tejido conectivo y en vasos que

irrigan la zona afectada por el infarto. Este es el fundamento del ensayo realizado en el Hospital Universitario de Valladolid. Los miocardiocitos así diferenciados tienen fenotipos fetales e inmaduros, pero expresan conexina-43, lo que sugiere un buen acoplamiento eléctrico con el tejido cardíaco preexistente. En experimentos realizados en ratones a los que se les indujo un infarto se ha registrado una importante mejoría en la función cardíaca, atribuible tanto a la formación de nuevo miocardio como a la neovascularización inducida. No obstante, en las pruebas clínicas será necesario esperar algunos años para comprobar la evolución de los tejidos cardíacos tratados con estas nuevas técnicas.

Una pregunta que queda por contestar es si las evidencias del potencial reparador de las células madre adultas nos está revelando un mecanismo de regeneración fisiológica que, lógicamente, no puede actuar cuando el tamaño de la zona dañada por el infarto es demasiado grande. Esto es sugerido por los sorprendentes resultados obtenidos después del trasplante cardíaco, lo que se ha denominado como "quimerismo del corazón transplantado" [Quaini F et al., *N Engl J Med* **346**:5-15 (2002)]. Cuando un receptor humano masculino recibe un corazón de una mujer al cabo de un cierto tiempo es posible encontrar células de hombre (reconocibles con sondas que reconocen el cromosoma Y) en el corazón transplantado. Estas células invasoras son vasculares (endotelio y músculo liso) pero también miocardiocitos. Dos posibilidades existen: 1) Existen células madre cardíacas en los restos del corazón del receptor, y estas hipotéticas (nunca observadas) células madre cardíacas migran al corazón del donante y se diferencian allí; 2) Los miocardiocitos del receptor derivan de la movilización de células madre de la médula ósea que llegan al corazón a través de la sangre en un mecanismo fisiológico de reparación tisular. Responder a esta pregunta puede abrir importantes e insospechadas vías terapéuticas.

HISTORIA DE LA BIOLOGÍA (V): LA NATURALEZA QUÍMICA DEL DNA (HASTA EL PRIMER TERCIO DEL SIGLO XX)

Manuel Gonzalo Claros

Desde el nacimiento de las ciencias hasta el establecimiento de distintas disciplinas a finales del siglo XIX la vida se concibe desde un punto de vista totalmente mecanicista, reduciendo la célula a sus partes constitutivas. Gracias a este

planteamiento se esclarecieron muchos procesos elementales de la fisiología celular (enzimas, rutas metabólicas, localización intracelular de proteínas y orgánulos, etc). Sin embargo, se trata de una imagen puramente *in vitro* de un organismo