

¿SE PUEDE REGENERAR UN CORAZÓN?

Por el Académico Recipiente

Dr. Rubén Pedro Laguens

Es un momento de mi vida muy especial. Después de escuchar las palabras de Mercedes, lo único que puedo repetir es lo que dije hace muy poco tiempo en la Fundación Favaloro cuando me despidieron cuando me retiré. El que hizo los elogios míos me hizo acordar al museo Picasso en París. Este museo tiene varios pisos, en la planta baja está el Picasso joven y, en la planta alta, las imágenes que uno puede reconocer. Mercedes habló del hombre en la planta alta, yo voy a hablar del hombre de la planta baja. Yo soy el Picasso de la forma, no el Picasso de la fantasía. Pero les agradezco mucho que por el afecto que ella tiene ha hecho una reseña de mi personalidad. Es un momento de mi vida muy especial porque es un poco la cumbre de toda una carrera que empezó hace sesenta y cinco años. En realidad empezó hace casi ochenta años y es un momento de la vida muy especial que uno usa para hacer un racconto de preguntarse por qué estoy acá. Esa es la pregunta básica. ¿Qué me llevó a estar acá?

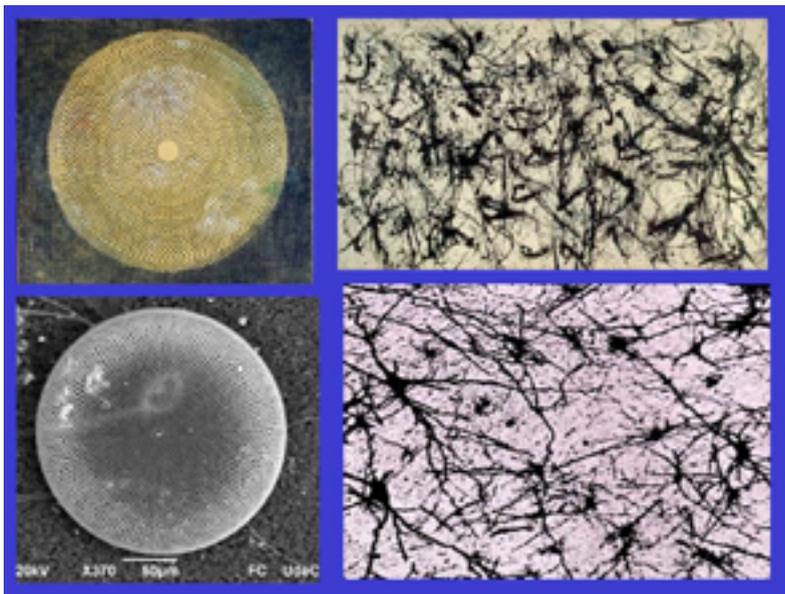
Antes de hablar del tema científico que me preocupó estos últimos quince años quiero hacer un racconto más breve de por qué hice lo que hice.

Tenemos que recordar que todos fuimos un cero kilómetro alguna vez, y como todo cero kilómetro, el azar nos transforma, a veces en chatarra, a veces en autos de colección, y a veces en esas chatitas que están llevando verduras y que hace setenta años que andan por la calle. Yo me siento un poco como esa chatita.

Mis genes son muy especiales. Soy un argentino típico: 75% italiano y 25% español, indio y francés. Mi bisabuela era mestiza. Sobre los genes está lo epigenético, lo que llamaría Ortega y Gasset, las circunstancias. Entonces, ¿cuáles fueron las circunstancias? ¿Por qué me pasó esto? Y como buen biólogo me pasó por un áscaris, aunque parezca mentira. Tenía tres años, me diagnosticaron una tuberculosis del pulmón, en 1938 era mortal prácticamente. Me condenaron a estar seis meses en cama, en una cuna sin moverme y como me aburría, mi abuela que era maestra me enseñó a leer. Y a los tres años leía. Me crié en una casa en donde todos leían, mi abuela, mi mamá, mi papá leíamos intensamente y desde los tres a los once años mi vida se basó en lecturas de las cuales, si pienso cuáles fueron las que más me motivaron, fueron cuatro obras: Los tres mosqueteros, Los cazadores de microbios, Arrowsmith y El tesoro de la juventud.

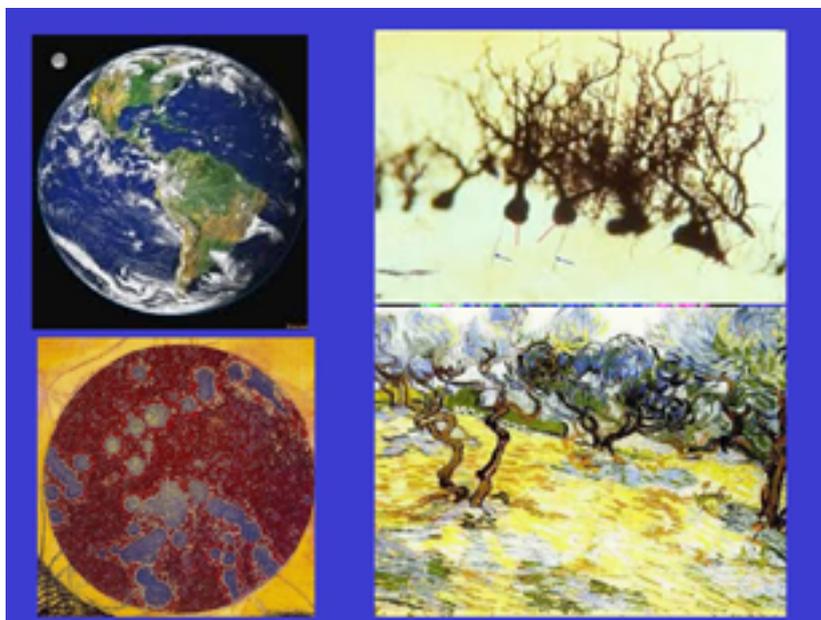
Los tres mosqueteros me dio el aura de romanticismo que necesitaba un chico joven al que le parecía que dar la vida por un ideal u otra persona era lo mejor que podía pasarle a alguien. Cuando leí Los cazadores de microbios quería ser Pasteur, cuando leí Arrowsmith, por supuesto, era el más romántico de todos esos libros. El Tesoro de la juventud me dio mucha cantidad de información. Me devoré los veinte tomos antes de los once años. Cuando terminé la escuela primaria ya sabía lo que quería ser. Quería ser microbiólogo. No tenía duda de eso. Y como quería ser microbiólogo decidí entrar a la facultad rápido. Di un secundario de seis años en tres. Di años libres porque El tesoro

de la juventud me permitió dar años libres sin estudiar prácticamente y a los quince años estaba en la facultad. Debo haber sido el alumno más joven que entró en la facultad de medicina en La Plata.



Descubrí en segundo año, la técnica histológica. Me la enseñó Pietro Díaz. Tuve la sensación de continuidad histórica porque Pietro Díaz me contó las historias de Del Río Hortega y las de Cajal que le contaba Del Río Hortega y es toda una sensación de que había una continuidad histórica en Cajal, Del Río Hortega, Pietro Díaz y yo. La técnica histológica que la aprendí a los dieciséis años me permitió descubrir el universo de las formas. Un universo completamente distinto que no sabía que existía a través de esa técnica. Y me convertí en un pintor de esas formas a través del microscopio. Veía cosas que no se veían si no se usaba el microscopio, y quiero darles unos ejemplos. Los artistas anteceden las formas, la imagen de arriba es un cuadro hecho por Max Ernst en 1915, la de abajo es una diaptomea mirado con el microscopio electrónico en 1985. Ésta es una pintura de Jackson Pollock, éstas son las neuronas del cerebro teñidas con técnicas de plata, los artistas tienen una visión de las formas que es increíble. Yo descubrí a Van Gogh antes de que supiera que existía porque estas células de Purkinje del cerebelo vi después que eran iguales que los olivos de Van Gogh con las ramas desnudas.

Este mundo de Bunster es lo que un siglo después son las naves espaciales. Para que ustedes vean lo que es la técnica microscópica, éste es un corte de estómago. Éste es un Van Gogh, la similitud de estas curvas, de estas formas, de esta tracción son muy semejantes a la noche estrellada y por eso cuando deje de hacer esto, pintaré estas cosas.



Por razones políticas en el año 1954 los estudiantes de una entidad que se llama CNU en la facultad de medicina de La Plata, me dijeron “Vos no podés dar más clases ni ir a Histología, sos un subversivo”. Y me ofrecieron ir al Instituto de Tisiología de esa época, donde se había fundado hacía muy pocos años un hospital modelo. Ahí tuve una casualidad, en vez de ir a Alemania yo, me trajeron al patólogo al instituto. Habían contratado a un señor que se llamaba Huebshmann. Huebshmann era del Instituto de Patología en Berlín en la Universidad de Berlín. Con la mala suerte que en 1945 lo echaron y recaló en La Plata y la única persona que estuvo al lado de él un año y medio fui yo. Me enseñó el ABC de la patología y también ahí había una continuidad histórica porque él reemplazó a Aschoff, un padre de la patología y Aschoff reemplazó a Virchow así que había una continuidad histórica entre estas cosas. Conocí al que fue mi maestro en la vida también, Martín Vucetich. Los dos maestros personales míos fueron Martín Vucetich y Prieto Díaz.

A los veinte años me entusiasmé con los cromosomas. Era la época de la citogenética. Todavía el ADN no se había descubierto como gen. Eran los cromosomas que estaban dando vueltas por ahí. A mí me interesaban mucho los cromosomas y con Néstor Bianchi en La Plata, en 1958, habíamos trabajado en citogenética humana con técnicas muy primitivas. Como a mí me interesaban los cromosomas de los anfibios publicamos los cromosomas del sapo. Lo que me interesaba era la relación de los cromosomas con malformaciones. Fui a Estados Unidos a trabajar con Emil Witschi, quien descubrió la bisexualidad del embrión; hizo su tesis en 1917 con Oskar Hertvig. Oskar Hertvig fue el descubridor de la mitosis. Y a la vez, discípulo de Haeckel, contemporáneo de Darwin. Otra vez esta continuidad histórica de los cromosomas.

Mientras en los Estados Unidos estaba haciendo citogenética, descubrí el microscopio electrónico y un hombre muy generoso que se llamaba Everett Anderson me enseñó toda la técnica. Cuando volví a la Argentina, durante 12 a 15 años me dediqué a ver todo lo que se podía ver con el microscopio electrónico. Me asocié a Víctor Miatelo para el riñón, me asocié a los ginecólogos, siempre fui un francotirador que se asociaba al que me daba las biopsias para estudiar.

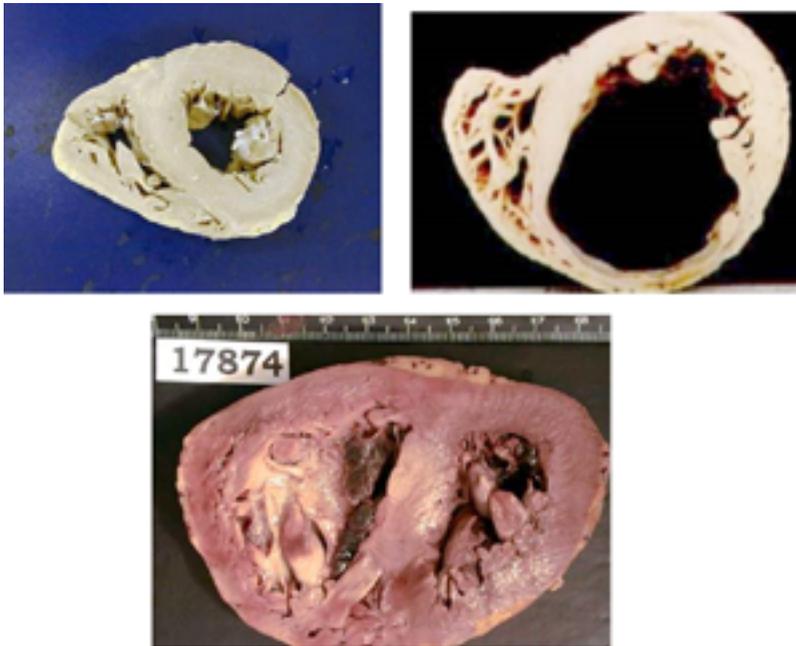
A partir de 1970 empezó un mundo completamente distinto. Mi idea romántica primera. Pasaron tres cosas juntas. La primera fue personal: Patricia se transformó en una investigadora y empezó a ser mi otro hemisferio, prácticamente sin ese hemisferio no hubiera podido hacer todo lo que hice; es mis manos. Y coincidió esa década de 1970 con que había plata para enfermedades endémicas y para la fiebre hemorrágica argentina, enfermedad de chagas. Vino el Dr. René Favalaro a la Argentina y nos conectamos para trabajar en corazón y conocí ahí a lo que nos unió a todos nosotros, a toda la gente que ahora quiero. Nos hicimos socios y amigos con Patricio Cosio, Roberto Arana, Celia Coto, Mercedes Weissenbacher, Elsa Urenchaga, Estela González Capa, Alberto Manzipar, Mariano Levin, Basombrío. Con Christiane Pasqualini, E. Colmenauer, A. Segal trabajamos en cáncer. Con Favalaro, E. Weinschelbaum, J. Navia trabajamos en corazón. Formé parte de todos estos grupos y empezó una época de verdadero placer, de amistad, de trabajar y de volver al *primum movens* romántico. Trabajaba en enfermedades que eran importantes. Dos de la Argentina y la otra de la humanidad. Y eso cimentó prácticamente lo que hice toda mi vida.

Empecé a trabajar en la Fundación Favalaro. Ahí tuve por primera vez ocasión de trabajar con corazones humanos. Eso planteó una disyuntiva muy importante. ¿Qué iba a hacer con ese material? Sumamente rico, difícil de ver. Fui el jefe de patología y empezó la época de saber qué pasaba en el corazón humano, en la insuficiencia cardíaca, qué pasaba en el corazón humano cuando no podía replicarse bien, qué pasaba con los infartos. Empezamos a trabajar con la modificación de René, que fue el *primum movens*. Él fue quien nos instigó para hacer esto, a trabajar en dos cosas. Trabajar en patología del corazón humano en terapia génica y hacer células madre sobre el corazón. Formaba parte de un grupo, trabajamos mucho con Alberto Crottogini, Carlos Vigliano, Hernán García Rivello, Roberto Favalaro, Gustavo Vera Janavel, Cecilia Hertig y Carlos Melo. Este grupo es con el que desarrollamos lo último en lo que trabajamos sobre miocardio y sobre corazón. Tema de la charla que yo les quiero dar. Un tema que es un poco complejo, ¿se puede regenerar el corazón?

Para los patólogos es una imagen muy fácil de ver. Es un corte transversal de un corazón humano normal. Este es un corazón con un infarto. Son corazones de trasplantados. Y este es un corazón sano, que se usa para un trasplante.

En el año 2015, el mecanismo básico de la insuficiencia cardíaca no está totalmente claro. Podemos enfocarlo bajo mil aspectos. Podemos hablar de la parte neurohumoral, de la parte fisiopatológica. Yo soy morfológico de la forma y me enfoco en el número de células. Yo creo que en el corazón humano enfermo hay menos células para su función. Esto que parece mentira es una hipótesis, no

se sabe a ciencia cierta cuántas células se pierden. Forma parte de la ambición que tenemos los humanos de regenerar un corazón enfermo.



La medicina regenerativa que forma parte de la ciencia ficción del siglo XXI, con sus pro y sus contras, nace del hecho de que hay órganos que se regeneran muy bien. El hígado se regenera muy fácil, la piel se regenera muy fácil. Órganos que se regeneran muy mal, el riñón, el pulmón porque son órganos que tienen una biología sumamente muy compleja. El corazón y el cerebro, a pesar de lo que se dice, si se renueva, se renueva muy mal y no se regenera. Por más que haya algunas evidencias de que sí, en la normalidad lo hace muy mal.

La prueba real es cuando un señor tiene un infarto, esto blanco es una cicatriz de corazón que no funciona. Entonces el problema es que se sabe que prácticamente nosotros nacemos con las mismas células del corazón que nos morimos. Ese es un dogma. No es del todo cierto. Porque en algún momento de la vida hay un aumento de las células del corazón pero en la vida adulta, en la vida adolescente se fija el número de células del corazón de cada persona y no se modifica, al contrario, en la vejez baja el número de células. Quiere decir que esas células son de vida media larga, de setenta u ochenta años, como las neuronas. Son células que se han adaptado para arreglárselas para vivir tanto tiempo.

La evidencia de que no hay replicación viene por varias líneas. Primero, no se ven mitosis en la replicación de células. Segundo, el corazón adulto no tiene neoplasias, no

hay cáncer de corazón. Tercero, cuando se utiliza con técnicas muy sofisticadas se cree que se renueva más o menos un 0,5% a 0,75% de células cancerígenas por año. Es sumamente bajo. Prácticamente más de la mitad de las células, nacemos y morimos con las mismas células.

Las células no saben dividirse en células hijas pero hay un fenómeno raro, ¿qué se puede hacer para que el corazón tenga más células si se pierden? Hay dos posibilidades teóricas. Una posibilidad es incorporarle nuevas células contráctiles que forman parte del corazón. Otra de las posibilidades es hacer que se dividan células que estaban antes. Estas son las dos grandes líneas de investigación posible que actualmente existen, más una alternativa última.

La primera posibilidad es la biología del siglo XXI. En un tubo de ensayo, en una cápsula de Petri es muy fácil separar células, transformar células de todo tipo y diferenciar en células que uno quiere. Eso existe, es posible hacerlo, es posible tener células de corazón en una cápsula de Petri. Neuronas de diferentes tipos en una cápsula de Petri, eso es posible hacer.

¿Esto sirve de algo? Hace ya desde 2002, que se hizo el primer ensayo humano, médula ósea autóloga en individuos con infarto, un experimento humano que curiosamente no se sancionó. Hasta el 2015 que se han puesto en el corazón células madre de distinto tipo. Pero si uno conoce un poco la estructura del corazón sabe que por más células que le pongan es muy difícil que se metan en una estructura tan sofisticada como es el corazón porque si bien el corazón cada célula es una sola, están conectadas entre sí. Eso se llama un sencillo eléctrico, es una sola célula que tiene que controlarse junta. Y meterse en estas estructuras tan sofisticadas, células que tienen que meterse acá en el medio y crecer entra un poco en el límite de la fantasía.

A pesar de las ingentes sumas de dinero que se han gastado en 2015, pocos días atrás la conclusión es que los beneficios en la terapéutica han sido pocos.

Esta frase es preocupante, por supuesto quien trabaja en esto dice que hay que insistir más. En realidad, hay que insistir más. Pero este problema de las células madre terminó en una cosa de la ciencia muy extraña que marca por suerte una rama de la ciencia parcial, es que la gente empezó a trabajar para patentar. Dejó de trabajar para descubrir y empezó a trabajar para patentar. Cada cosa que hacía se patentaba.

Piero Anversa y Eduardo Marban son los dos hombres que han encabezado los dos ensayos clínicos. Uno con problemas éticos legales, el otro no. Que han trabajado los últimos años. Publican una media de cinco patentes por año. Es mucho para la competencia, para lo que trabajamos en este campo. Vamos a trabajar en un lugar en donde está todo patentado. Entre este hecho y el hecho de que todo lo que se hace está protegido por patentes. Estos dos hombres son dueños de empresas que se cotizan en el mercado. Es una rama de la ciencia un poco extraña pero sin embargo las células madre tienen un rol posible. Si bien es difícil de pensar cómo se van a poder meter en el corazón. Mi impresión es que

hay que hacer intensamente los estudios para elegir qué células madre se van a utilizar en un futuro próximo porque hay técnicas para hacer corazones nuevos utilizando moldes de esqueletos de corazones de otras especies o de una misma especie. Esta técnica nace en el 2008, en el 2014 hay varias universidades que están haciéndola, es simplemente digir un corazón con detergente, queda el tejido conectivo del esqueleto y después siembran células madre. Y fíjense que al poco tiempo late. Es un futuro muy posible.

En 2014 se hizo con animales grandes, conejos, y es el corazón, es el injerto que queda del conejo antes de sacarle todo, es el colágeno y se siembran las células. Es un futuro de hacer nuevos corazones no artificiales sino corazones con células madre que tiene un gran interés ya en regeneración del corazón.

El otro fenómeno que es importante para entender en el corazón es que si bien las células del corazón son incapaces de dividirse en células hijas, no tienen frenada la capacidad de sintetizar sus genes. Al contrario, contiene un estímulo de las células cardíacas, replican sus genes y se hacen núcleos con muchos más genes. Son células que se llaman poliploides. Pero no son células hijas y por supuesto no hay división de los núcleos y mucho menos del citoplasma. Formando núcleos gigantes que se observan en todas las patologías del corazón.

El corazón se adapta, igual que un gimnasta que hace gimnasia y se transforma en un patovica cuando hace pesas, el corazón se agranda, las células del corazón se hipertrofian y funcionan razonablemente bien durante cinco o seis años, después entran bruscamente en insuficiencia porque se pierden células. Cualquier patología cardíaca, sea cual sea la causa, termina en células muy grandes y pocas. En nuestro laboratorio, nosotros estudiamos estos últimos años por qué pasaba esto. Y encontramos uno de los blancos futuros del estudio génico. Las células del corazón cuando se agrandan hacen un fenómeno que se llama endomitosis. Replican dentro del núcleo. El núcleo no se multiplica, se divide y queda grande. Este hallazgo de que la endomitosis existe en el corazón acompañando la adaptación a un sobreesfuerzo nos llevó a plantearnos qué significaba esto.

Cuando nosotros separamos las células grandes y las aislamos para contarlas, pueden tener más de un núcleo son mucho más grandes. Fuimos contando las células y nos encontramos con una gran sorpresa. Que en el corazón humano enfermo había menos células, menos núcleos, ya lo sospechábamos y nos encontramos con un fenómeno muy especial cuando medimos el número de juego de aploides, número de cromosomas que cada célula tiene y lo multiplicamos por el número de células y el número de núcleos del corazón nos encontramos con que no importaba que pasara, el número de cromosomas era siempre el mismo.

Quiere decir que el número de cromosomas es una constante del corazón, que el problema está en que esas células no forman células hijas. Entonces el blanco de la terapia futura es, por un lado lo que es obvio, evitar la poliploidización. Y por el otro lado, hacer que la célula poliploide se haga diploide y vuelva a tener núcleos hijos.

¿Eso es posible? En el momento en que descubrimos eso era realmente posible, no nos dimos cuenta de la importancia del hallazgo. Fue redescubierto ahora. Por eso se los comento. Lo encontramos hace bastantes años ya. Encontramos que si un corazón humano que está en insuficiencia cardíaca se lo hace descansar porque se le pone un corazón artificial, una bomba de asistencia ventricular mecánica izquierda. Se lo deja sin latir durante seis meses, ese corazón no solamente se achica, algunos enfermos se destetan del aparato y vuelven a estar sanos. Lo que vimos en esos enfermos fue saber qué pasaba con los núcleos y volvían a ser núcleos diploides, unos se achicaban y los núcleos en vez de tener treinta y dos juegos de cromosomas tenían dos, o tenían cuatro. Es decir que el fenómeno era reversible. Otro blanco para la terapia génica en las células. Este fenómeno fue descubierto hace muy poquito tiempo y ahora hay gran ímpetu en demostrar eso.

No solamente esto es importante, el corazón también puede regenerarse de otra forma. Es lo que hicimos en la Fundación Favalaro con todo un grupo. Grupo de biosidos que proveía los genes para terapia génica en condiciones experimentales en animales grandes. Por qué digo en animales grandes, porque ningún estudio de esta naturaleza o replicación de células hecho en rata, ratón o conejo puede ser extrapolado a nuestra especie. La razón es muy simple, un recién nacido para tener un corazón tiene que tener alrededor de doscientas mitosis, un ratón, para tener un corazón tiene que tener veinte mitosis. La vida media de las células musculares del corazón de un ratón es de dos años, la de un ser humano es de ochenta o más. El corazón de la rata no hace poliploidización o la hace mal, el ser humano lo hace como regla cuando hay una sobrecarga. Entonces el estudio de replicación no puede ser usado en animales pequeños, por esa razón hay pocos estudios hechos. Nosotros trabajamos con animales grandes, con ovejas y cerdos porque teníamos que trabajar con algo que se pareciera a los seres humanos. Usamos un gen construido por biosidos por los genetistas de biosidos. Lo probamos en infarto experimental de cerdo primero y oveja después y encontramos nuestra sorpresa. Aparecían mitosis en el corazón del cerdo. Las contamos y hay muchas más mitosis por acción de un solo gen Factor de crecimiento vascular de endotelio. Quiere decir que poniendo genes es posible inducir a los peoncitos a entrar en mitosis. Para corroborar esto se ha publicado por supuesto, hicimos otra cosa más sencilla, queríamos saber si esos genes aumentaban el número de núcleos, si había replicación de esos núcleos. Las células del cerdo pueden tener varios núcleos, contamos núcleos en todo el corazón. El VGF, el Factor de crecimiento de endotelio transfeción génica, aumenta el número de núcleos. Quiere decir entonces que en el caso del corazón humano en el cual el clima de adaptación es una hipertrofia, un aumento del tamaño de las células, como pasa en otros órganos lleva largo plazo a la insuficiencia y a la muerte de esas células. Las estrategias son múltiples, las obvias son evitar la muerte celular, evitar la poliploidización y la otra es ponerle más células que vemos que no funcionan bien. Hacer nuevos corazones con células madre, que eso puede funcionar. O ponerles genes pero para eso necesitamos una cosa importante y básica. No tenemos información. Hay poca información sobre animales grandes y en seres humanos sobre este tema. Estas son ideas para un futuro.

Como conclusión, es posible regenerar un corazón. Las células madre como vienen ahora trasplantadas pueden mejorar la función pero es raro que la reemplacen. Con los genes inducir la replicación de las células. Hay que saber más para evitar la poliploidización. Hay que seguir trabajando con células madre para hacer corazones bioartificiales porque es un poco el futuro que tenemos todos.

“Para mí el cine es el que me legaron maestros europeos como Truffaut, Godard, De Sica o Fellini. Un arte hecho con amor. No una actividad industrial y mercantil. Ojalá alguna vez vuelvan aquellos tiempos esplendorosos”

Woody Allen. “Soy un dinosaurio”. Reportaje publicado en La Nación, 27 de Septiembre 2015

“La mayor desgracia de la juventud actual es ya no pertenecer a ella” Salvador Dalí
- El último árbol