



**Universidad de Valladolid**



**PROGRAMA DE DOCTORADO EN INVESTIGACIÓN EN  
CIENCIAS DE LA SALUD**

**TESIS DOCTORAL:**

**EFFECTO DEL TRASPLANTE DE CÉLULAS MADRE MONONUCLEADAS  
AUTÓLOGAS DERIVADAS DE LA MÉDULA ÓSEA MEDIANTE INYECCIÓN  
INTRAMIOCÁRDICA DIRECTA ASOCIADO A REVASCULARIZACIÓN  
CORONARIA QUIRÚRGICA SOBRE LA FUNCIÓN MIOCÁRDICA Y EL  
REMODELADO VENTRICULAR POSTINFARTO DE MIOCARDIO  
TRANSMURAL EN FASE SUBAGUDA**

**Presentada por Gregorio Laguna Núñez para optar al grado de Doctor  
por la Universidad de Valladolid**

**Dirigida por:**

**Dr. Jose Alberto San Román Calvar**

**Dr. Salvatore Di Stefano**

**VALLADOLID 2018**





---

# **Universidad de Valladolid**

---

FACULTAD DE MEDICINA

TESIS DOCTORAL

**EFFECTO DEL TRASPLANTE DE CÉLULAS MADRE MONONUCLEADAS  
AUTÓLOGAS DERIVADAS DE LA MÉDULA ÓSEA MEDIANTE INYECCIÓN  
INTRAMIOCÁRDICA DIRECTA ASOCIADO A REVASCULARIZACIÓN  
CORONARIA QUIRÚRGICA SOBRE LA FUNCIÓN MIOCÁRDICA Y EL  
REMODELADO VENTRICULAR POSTINFARTO DE MIOCARDIO  
TRANSMURAL EN FASE SUBAGUDA**

**GREGORIO LAGUNA NÚÑEZ**

**VALLADOLID 2018**



*A mis padres, Ángel y María Adoración*

*A mis hermanos, Víctor Manuel, Tomás Ángel y Jose Antonio*

*A mis tíos, Nieves y Adolfo*

*A mis sobrinos*

*A mis abuelos*

*A mis cuñadas*

*A mis amigos...*



## ÍNDICE GENERAL

<b>LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS Y SIGLAS .....</b>	<b>11</b>
<b>LISTA DE FIGURAS E ILUSTRACIONES .....</b>	<b>17</b>
<b>LISTA DE TABLAS .....</b>	<b>19</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>21</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>29</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>39</b>
<b>1-1 Cardiopatía isquémica e insuficiencia cardíaca .....</b>	<b>41</b>
<b>1-2 Las células madre como estrategia de regeneración cardíaca .....</b>	<b>45</b>
1-2-1 Células madre embrionarias .....	47
1-2-2 Células madre adultas .....	47
1-2-2-1 Células madre del músculo estriado esquelético (mioblastos esqueléticos) .....	48
1-2-2-3 Células progenitoras endoteliales .....	51
1-2-2-3 Células madre adultas de la médula ósea .....	51
<b>1-3 Supervivencia celular .....</b>	<b>53</b>
<b>1-4 Ventana terapéutica y vías de aplicación de las células madre .....</b>	<b>54</b>
<b>2. HIPÓTESIS DE TRABAJO .....</b>	<b>57</b>
<b>3. OBJETIVOS DEL ESTUDIO .....</b>	<b>61</b>
<b>3-1 Objetivo principal general .....</b>	<b>63</b>
<b>3-2 Objetivos principales específicos .....</b>	<b>63</b>
<b>3-3 Objetivos secundarios generales.....</b>	<b>64</b>
<b>3-4 Objetivos secundarios específicos.....</b>	<b>65</b>
3-4-2 A los 30 días .....	65
3-4-2 A los 9 meses.....	66

<b>4. MATERIAL Y MÉTODOS .....</b>	<b>69</b>
<b>4-1 Resumen del protocolo de seguimiento del paciente.....</b>	<b>76</b>
4-1-1 Durante el ingreso hospitalario .....	76
4-1-2 A los 3 meses de la cirugía .....	77
4-1-3 A los 6 meses de la cirugía .....	77
4-1-4 A los 9 meses de la cirugía .....	78
<b>4-2 Protocolo de tratamiento previo a la intervención quirúrgica .....</b>	<b>78</b>
4-2-1 Uso de fármacos antiagregantes .....	78
4-2-2 Uso de beta-bloqueantes .....	79
4-2-3 Uso de inhibidores del enzima conversor de angiotensina.....	81
<b>4-3 Protocolo cronológico de estudio hemodinámico (cateterismo cardíaco) inicial previo a la aleatorización .....</b>	<b>82</b>
<b>4-4 Protocolo de aleatorización de pacientes aceptados en el estudio .....</b>	<b>84</b>
<b>4-5 Protocolo cronológico de resonancia magnética con realce tardío de contraste gadolinio .....</b>	<b>85</b>
<b>4-6 Protocolo cronológico de realización de ecocardiografía de estrés .....</b>	<b>89</b>
<b>4-7 Protocolo de extracción y procesado de progenitores hematopoyéticos mononucleares autólogos derivados de la médula ósea .....</b>	<b>91</b>
4-7-1 Protocolo para extracción de la médula ósea.....	91
4-7-2 Protocolo de procesado de progenitores hematopoyéticos .....	93
4-7-3 Tipaje y selección de progenitores hematopoyéticos .....	95
<b>4-8 Implante intramiocárdico transepicárdico de progenitores hematopoyéticos .....</b>	<b>95</b>
<b>4-9 Protocolo de tratamiento postoperatorio.....</b>	<b>96</b>
4-9-1 Tratamiento farmacológico específico postoperatorio .....	96



4-9-2 Protocolo de prevención secundaria tras el alta hospitalaria.....	97
<b>4-10 Cálculo del tamaño muestral y análisis estadístico.....</b>	<b>98</b>
<b>5. RESULTADOS .....</b>	<b>101</b>
<b>6. DISCUSIÓN .....</b>	<b>139</b>
<b>7. LIMITACIONES.....</b>	<b>155</b>
<b>8. CONCLUSIONES .....</b>	<b>159</b>
<b>9. PERSPECTIVAS FUTURAS .....</b>	<b>163</b>
<b>10. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>169</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>189</b>
<b>Anexo 1. Clasificación funcional de la insuficiencia cardíaca según la <i>New York Heart Association</i>.....</b>	<b>191</b>
<b>Anexo 2. Definición y notificación de acontecimientos/eventos adversos durante el ensayo clínico.....</b>	<b>195</b>
<b>Anexo 3. Condiciones de monitorización, auditoría y modificaciones del protocolo del ensayo clínico.....</b>	<b>209</b>
<b>Anexo 4. Consideraciones éticas .....</b>	<b>219</b>
<b>Anexo 5. Declaración de Helsinki .....</b>	<b>225</b>
<b>Anexo 6. Clasificación de Killip-Kimball del infarto agudo de miocardio.....</b>	<b>237</b>
<b>Anexo 7. Consentimiento informado original del ensayo clínico .....</b>	<b>241</b>
<b>Anexo 8. Boletín oficial del Estado Español. Reglamento sobre ensayos clínicos con medicamentos.....</b>	<b>257</b>
<b>Anexo 9. Publicación científica en revista internacional referente a la tesis presentada.....</b>	<b>301</b>



## **LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS Y SIGLAS.**

- <: menor.
- $\geq$ : mayor o igual.
- $\leq$ : menor o igual.
- °: grados.
- °C: grados Celsius o grados Centígrados.
- %: Porcentaje.
- $\mu$ gr: microgramos.
- $\mu$ gr/kg/min: microgramos por kilogramo de peso y minuto.
- $\mu$ m: micrometros.
- AA: Acontecimientos Adversos.
- ACTP: Angioplastia Transluminal Percutánea.
- ACV: Accidente Cerebrovascular.
- ADN: Ácido Desoxirribonucleico.
- AMID: Arteria Mamaria Interna Derecha.
- AMII: Arteria Mamaria Interna Izquierda.
- AMM: Asociación Médica Mundial.
- A-V: Auriculo-ventricular.
- cc: centímetros cúbicos.
- CD 117+: “*Cluster Determination*” ó marcador de grupo celular positivo 117.
- CD 133+: “*Cluster Determination*” ó marcador de grupo celular positivo 133.
- CD 34+: “*Cluster Determination*” ó marcador de grupo celular positivo 34.
- CD: Coronaria Derecha.
- CEC: Circulación Extracorpórea

- CEIC: Comité ético de investigación clínica.
- CF: Clase Funcional (según la Clasificación de la *New York Heart Association*).
- CI: Cardiopatía Isquémica.
- CIE: Clasificación Internacional de Enfermedades.
- CK: Creatin-Kinasa.
- CK-MB: Fracción MB de Creatin-Kinasa.
- cm.: centímetros.
- CMMAMO: Células Madre Mononucleadas Autólogas derivadas de la Médula Ósea.
- CO<sub>2</sub>: Dióxido de Carbono.
- col.: colaboradores.
- CPMP: "*Committee for Proprietary Medicinal Products*" ó Comité de Especialidades Farmacéuticas.
- CRC: Cirugía de Revascularización Coronaria.
- CRD: Cuaderno de Recogida de Datos.
- DA: Descendente Anterior.
- DAI: Desfibrilador Automático Implantable.
- DAVI: Dispositivo de Asistencia Ventricular Izquierda.
- DGFPS: Dirección General de Farmacia y Productos Sanitarios.
- DICOM: "*Digital Imaging and Communication in Medicine*".
- DS: Desviación Estándar.
- ECG: Electrocardiograma.
- ECG-gating: Electrocardiograma con control prospectivo del movimiento, ó electrocardiograma sincronizado con movimiento cardíaco en prueba de imagen.
- Eco - estrés: Ecocardiograma transtorácico de estrés con dobutamina.
- ECO: Ecocardiograma transtorácico.

- F: French.
- FA: Fibrilación auricular.
- FCEV: Factor de Crecimiento Endotelial.
- FCF: Factor de Crecimiento de Fibroblastos.
- FECG: Factor Estimulador de Colonias Granulocíticas.
- FEVI: Fracción de Eyección del Ventrículo Izquierdo.
- GAP. Uniones intercelulares en hendidura.
- Gd-DTPA.: Complejo gadolinio-ácido dietilenotriaminapentaacético.
- gr.: gramos.
- GWMSI: "*Global Wall Motion Score Index*" ó Índice de motilidad miocárdica global.
- H<sub>2</sub>O: Agua.
- IAM: Infarto Agudo de Miocardio.
- IBGM: Instituto de Biología y Genética Molecular.
- IBM: "*International Business Machines*".
- IC: Insuficiencia Cardíaca.
- ICH: Consejo Internacional de armonización de los requisitos técnicos para el registro de medicamentos de uso Humano.
- Icorelab: Unidad de Imagen del Instituto de Ciencias del Corazón del Hospital Clínico Universitario de Valladolid.
- IECAs: Inhibidores del Enzima Conversor de Angiotensina.
- IMC: Índice de Masa Corporal.
- IQL: Intervalo Intercuartílico.
- Kg: kilogramos.
- LDL: "*Low Density Lipoprotein*" ó Lipoproteínas de baja densidad.
- mg: miligramos.

- min.: minutos.
- ml/s: mililitros por segundo.
- ml: mililitros.
- mm: milímetros.
- mmHg: milímetros de mercurio de presión.
- mmol: milimoles.
- mmol/kg: milimoles por kilogramo.
- MNM: Masa Necrótica Miocárdica.
- mseg. milisegundos.
- n°: número.
- NT-ProBNP: Fracción N-terminal del Péptido Cerebral Natriurético.
- NYHA: "*New York Heart Association*".
- OAD: Oblicua Anterior Derecha (proyección).
- OAI: Oblicua Anterior Izquierda (proyección).
- OMS: Organización Mundial de la Salud.
- PBS: Solución Salina Tampón con Fosfato.
- PCR: Proteína C Reactiva.
- PCT: Procalcitonina.
- PET: "*Positron Emission Tomography*" ó Tomografía por Emisión de Positrones.
- PROBE: "*Prospective Independant Outcome Blinded*".
- Ref.: Referencia.
- RM: Resonancia Magnética.
- rpm: revoluciones por minuto.
- RPMI: Medio de cultivo celular del Instituto Roswell Park Memorial.

- RWMSI: "*Regional Wall Motion Score Index*" ó Índice de motilidad miocárdica regional del área infartada.
- SCACEST: Síndrome Coronario Agudo Con Elevación del Segmento ST.
- SCASEST: Síndrome Coronario Agudo Sin Elevación del Segmento ST.
- SPSS: "*Statistical Package for the Social Science*".
- SSF: Suero Salino Fisiológico.
- ST: Segmento ST del electrocardiograma.
- System-VAC: Sistema de aspiración de vacío.
- TAC: Tomografía Axial Computerizada.
- TCI: Tronco común de la Coronaria Izquierda.
- TnT: Troponina T.
- TV: Taquicardia Ventricular.
- TVP: Trombosis Venosa Profunda.
- U.E.: Unión Europea.
- VD: Ventrículo Derecho.
- VHB: Virus de la Hepatitis B.
- VHC: Virus de la Hepatitis C.
- VI: Ventrículo Izquierdo.
- VIH: Virus de la Inmunodeficiencia Humana.
- vs: "*versus*".
- VTD: Volumen Telesistólico del ventrículo izquierdo.
- VTS: Volumen Telesistólico del ventrículo izquierdo.
- X-VIVO: Medio de cultivo celular X.





## **LISTA DE FIGURAS E ILUSTRACIONES.**

<b>Figura 1.</b> Distribución de defunciones según capítulos de la Clasificación Internacional de Enfermedades .....	42
<b>Figura 2.</b> Distribución de defunciones ajustada por sexo según las causas de mortalidad más frecuentes.....	42
<b>Figura 3.</b> Diagrama de métodos del ensayo clínico .....	73
<b>Figura 4.</b> Segmentos miocárdicos del ventrículo izquierdo según la Sociedad Americana de Ecocardiografía .....	91
<b>Figura 5.</b> Evolución de la FEVI calculada mediante RM en ambos grupos .....	111
<b>Figura 6.</b> Evolución de la FEVI calculada por ecocardiografía transtorácica en ambos grupos .....	112
<b>Figura 7.</b> Evolución de los segmentos infartados acinéticos no viables .....	113
<b>Figura 8.</b> Evolución del GWMSI calculado por ecocardiografía transtorácica en ambos grupos .....	114
<b>Figura 9.</b> Evolución del RWMSI calculado por ecocardiografía transtorácica en ambos grupos .....	115
<b>Figura 10.</b> Evolución del GWMSI calculado por RM en ambos grupos .....	116
<b>Figura 11.</b> Evolución del RWMSI calculado por RM en ambos grupos .....	117
<b>Figura12.</b> Evolución del GWMSI calculado por ecocardiografía transtorácica de estrés con dobutamina en ambos grupos .....	118
<b>Figura13.</b> Evolución del RWMSI calculado por ecocardiografía transtorácica de estrés con dobutamina en ambos grupos .....	119
<b>Figura14.</b> Evolución del VTS del ventrículo izquierdo (en mililitros) en ambos grupos .....	120

<b>Figura 15.</b> Evolución del VTD del ventrículo izquierdo (en mililitros) en ambos grupos.....	121
<b>Figura 16.</b> Evolución de la masa necrótica miocárdica (en gramos) en ambos grupos.....	122
<b>Figura 17.</b> Incremento de la FEVI (%) calculada por RM en ambos grupos.....	123
<b>Figura 18.</b> Incremento de la FEVI (%) calculada por ecocardiograma transtorácico en ambos grupos .....	124
<b>Figura 19.</b> Descenso del número de segmentos infartados acinéticos no viables en ambos grupos .....	125
<b>Figura 20.</b> Descenso del GWMSI calculado por ecocardiografía transtorácica en ambos grupos .....	126
<b>Figura 21.</b> Descenso del RWMSI calculado por ecocardiografía transtorácica en ambos grupos .....	127
<b>Figura 22.</b> Descenso del GWMSI calculado por RM en ambos grupos .....	128
<b>Figura 23.</b> Descenso del RWMSI calculado por RM en ambos grupos .....	129
<b>Figura 24.</b> Descenso del GWMSI calculado por ecocardiografía transtorácica de estrés con dobutamina en ambos grupos.....	130
<b>Figura 25.</b> Descenso del RWMSI calculado por ecocardiografía transtorácica de estrés con dobutamina en ambos grupos.....	131
<b>Figura 26.</b> Descenso del VTS en ambos grupos .....	132
<b>Figura 27.</b> Descenso del VTD en ambos grupos.....	133
<b>Figura 28.</b> Descenso de la MNM en ambos grupos .....	134

## **LISTA DE TABLAS.**

<b>Tabla 1:</b> Criterios de inclusión en el ensayo clínico .....	74
<b>Tabla 2:</b> Criterios de exclusión en el ensayo clínico.....	75
<b>Tabla 3:</b> Características preoperatorias e intraoperatorias en ambos grupos de tratamiento.....	104
<b>Tabla 4:</b> Evolución de las variables resultado principales del estudio antes y después de la cirugía en el grupo de tratamiento activo celular.....	107
<b>Tabla 5:</b> Evolución de las variables resultado principales del estudio antes y después de la cirugía en el grupo control .....	108
<b>Tabla 6:</b> Comparación de la mejoría (incremento o descenso) de las variables objetivo entre ambos grupos después de la cirugía.....	109
<b>Tabla 7:</b> Comparación de variables postoperatorias en ambos grupos .....	135
<b>Tabla 8:</b> Resumen de complicaciones postoperatorias y durante el seguimiento en ambos grupos .....	138
<b>Tabla 9:</b> Estudios con implante de células madre de la médula ósea por vía intramiocárdica asociados a cirugía de revascularización en fase crónica de la cardiopatía isquémica.....	144
<b>Tabla 10:</b> Ensayos clínicos con implante de células madre de la médula ósea por vía intracoronaria .....	150



## **RESUMEN.**

### **Introducción.**

El infarto agudo de miocardio está caracterizado por una pérdida irreparable de cardiomiocitos. A pesar de un tratamiento adecuado, muchos pacientes sufren un remodelado ventricular negativo tras el infarto. En pacientes que sufren infarto agudo de miocardio, las células madre anidadas endógenas aumentan su tasa de regeneración con el objetivo de reparar el músculo dañado y evitar el remodelado ventricular. Sin embargo, la diferenciación y funcionalidad de los nuevos cardiomiocitos es aparentemente escasa y precaria. Estudios en animales y humanos han reportado la mejoría de la fracción de eyección ventricular izquierda, del remodelado ventricular, del grosor miocárdico y del tamaño del infarto tras el implante de células madre autólogas en pacientes con infarto agudo de miocardio o cardiopatía isquémica crónica. No existen estudios publicados con implante celular autólogo de la médula ósea por vía intramiocárdica asociado a cirugía de revascularización coronaria con circulación extracorpórea en fase subaguda.

### **Objetivos.**

El objetivo principal del estudio es evaluar el efecto del implante de células mononucleadas autólogas de la médula ósea (mediante inyección intramiocárdica directa) combinado con cirugía de revascularización coronaria sobre la fracción de eyección del ventrículo izquierdo, el remodelado ventricular y la motilidad global y del área infartada en pacientes con infarto agudo de miocardio transmural no revascularizado en fase subaguda (10-15 días tras el infarto agudo de miocardio).

## **Material y métodos.**

El estudio presentado es un ensayo clínico unicéntrico, prospectivo, con análisis centralizado de datos y aleatorizado a doble ciego con grupo control. Se incluyeron un total de 20 pacientes, tras firmar el consentimiento informado, con infarto agudo de miocardio transmural no revascularizado, alteración de la motilidad de la región infartada, indicación de revascularización miocárdica quirúrgica y fracción de eyección ventricular izquierda menor al 50% determinada por ventriculografía desde 2007 hasta 2015. Los pacientes fueron aleatorizados a dos grupos en los 10 días siguientes a sufrir un infarto agudo de miocardio transmural. El grupo de tratamiento activo (grupo celular) recibió implante de células madre mononucleadas autólogas derivadas de la médula ósea mediante inyección directa intramiocárdica entre el 10º y 15º día posterior al IAM (fase subaguda) asociado a cirugía de revascularización coronaria bajo circulación extracorpórea, frente al grupo control que recibió cirugía de revascularización coronaria e implante de suero salino fisiológico intramiocárdico (grupo placebo).

Se realizó una resonancia magnética nuclear basal y a los 9 meses. Se realizaron análisis semicuantitativos de la contractilidad segmentaria siguiendo un modelo de 17 segmentos y análisis cuantitativo de volúmenes ventriculares, masa cardíaca y fracción de eyección del ventrículo izquierdo con inyección de contraste gadolinio, utilizando el software *MASS 6.1.2*.

### Extracción e implante de células madre mononucleadas autólogas de la médula ósea.

Mediante punción en la cresta ilíaca del paciente, se obtuvieron 50 ml de médula ósea bajo anestesia local. Se separó la fracción mononuclear de la médula diluida en solución tampón fosfato/heparina utilizando un medio de *Ficoll*. Se procedió a preparar

una suspensión celular con volumen final de 10 mililitros en albúmina al 1% diluida en suero fisiológico que serán inyectados de forma intramiocárdica.

#### Inyección directa intramiocárdica transepicárdica.

Durante la cirugía se identificó la zona no viable (región del infarto) procediéndose a inyectar a través de una aguja de punción retrobulbar del nº23 el volumen total de células (10 ml), para lo cual se realizaron 10 punciones que atravesaron la región no viable con sus segmentos acinéticos y la región peri-infarto.

El tamaño muestral fue calculado mediante el programa *C4-Study Desing Pack* (Glaxo Wellcome, v. 1.1) El análisis estadístico ha sido llevado a cabo mediante el programa *IBM SPSS Statistics v.21*. La comparación entre ambos grupos (cirugía de revascularización coronaria + implante de células mononucleadas autólogas derivadas de la médula ósea frente a cirugía de revascularización coronaria aislada) se realizó mediante el test Chi-cuadrado y el test exacto de Fisher en el caso de variables cualitativas y el test T de Student para variables cuantitativas, o su homólogo no paramétrico, el test U de Mann-Whitney, si no cumplía la hipótesis de normalidad.

#### **Resultados.**

17 pacientes completaron el seguimiento a los 9 meses. No existieron diferencias estadísticas en las características basales entre ambos grupos de comparación. Un mínimo de 25 millones células fueron implantadas en el grupo de tratamiento activo.

La cirugía de revascularización coronaria mejora la mayoría de variables objetivo estudiadas en ambos grupos, independientemente del implante de células madre mononucleadas autólogas de la médula ósea.

Sin embargo, no existen diferencias estadísticamente significativas cuando se compara el grado de mejoría de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo,

volumen telesistólico y telediastólico, índice de motilidad global y regional del área infartada, índice de motilidad global y regional del área infartada durante el estrés ni en el total de la masa necrótica recuperada entre ambos grupos de tratamiento (*tabla*).

Existe tendencia estadística entre ambos grupos al comparar el número de segmentos no viables recuperados tras la cirugía (*tabla*).

<b>VARIABLES</b>	<b>Cirugía coronaria + células madre mononucleadas autólogas de la médula ósea (n=8) media (SD)</b>	<b>Cirugía coronaria (n=9) media (SD)</b>	<b>p</b>
Incremento de la fracción de eyección izquierda (resonancia magnética nuclear) (%).	7.47 (6.61)	6.99 (4.60)	0.876
Incremento de la fracción de eyección izquierda (ecocardiograma basal) (%).	7.50 (6.61)	5.78 (6.48)	0.596
Segmentos infartados no viables recuperados.	2.50 (1.41)	1.28 (1.11)	0.091
Descenso del índice de motilidad global (ecocardiograma).	0.19 (0.21)	0.17 (0.18)	0.780
Descenso del índice de motilidad regional del área infartada (ecocardiograma).	0.66 (0.56)	0.47 (0.36)	0.400



Descenso del índice de motilidad global (resonancia magnética nuclear).	0.22 (0.28)	0.28 (0.39)	0.759
Descenso índice de motilidad regional del área infartada (resonancia magnética nuclear).	0.74 (0.60)	0.52 (0.38)	0.415
Descenso del índice de motilidad global (ecocardiograma de estrés).	0.15 (0.20)	0.18 (0.21)	0.736
Descenso del índice de motilidad regional del área infartada (ecocardiograma de estrés).	0.59 (0.65)	0.45 (0.41)	0.610
Descenso volumen telesistólico del ventrículo izquierdo (mililitros).	23.06 (25.03)	15.42 (13.93)	0.442
Descenso del volumen telediastólico del ventrículo izquierdo (mililitros).	18.40 (29.89)	14.05 (19.72)	0.725
Descenso de masa necrótica miocárdica (resonancia magnética nuclear) (gramos).	2.57 (4.68)	8.51 (7.28)	0.095

La media de bypass permeables a los 9 meses en el grupo células fue  $2,88 \pm 0,99$  y en el grupo control  $3,11 \pm 0,782$  ( $p = 0,591$ ). En el 50% de pacientes del grupo células se utilizaron ambas arterias mamarias.

No se observaron complicaciones asociadas con la extracción ni el implante de las células madre mononucleadas autólogas derivadas de la médula ósea.

## **Conclusiones.**

El estudio sugiere que la administración de células madre por vía intramiocárdica asociado a revascularización miocárdica quirúrgica en pacientes que han tenido un infarto agudo de miocardio transmural no mejora parámetros de remodelado ventricular.

## **Descriptores\* .**

Infarto de miocardio.

Células madre.

Trasplante de células madre.

Trasplante autólogo.

Células de la médula ósea.

Trasplante de células madre hematopoyéticas.

Cirugía de revascularización miocárdica.

Angiografía coronaria.

Miocardio.

Resonancia magnética nuclear.

Ecocardiografía.

Ecocardiografía de estrés.

Función ventricular izquierda.

Enfermedad coronaria.

Isquemia miocárdica.

Revascularización miocárdica.

Disfunción ventricular.

---

\* Descriptores en Ciencias de la Salud (DeCS).

Insuficiencia cardíaca.

Insuficiencia cardíaca izquierda.

Síndrome coronario agudo.

Electrocardiografía.

Mioblastos.

Taquicardia ventricular.

Fibrilación auricular.

Troponina T.

Accidente cerebrovascular.

Mortalidad.

Heparina.

Células sanguíneas.

Suero.

Ficoll.



## **ABSTRACT.**

### **Introduction.**

Acute myocardial infarction is characterized by irreparable loss of cardiomyocytes. Many patients undergo negative ventricular remodeling after acute myocardial infarction, despite adequate treatment. In patients with acute myocardial infarction, endogenous bone marrow stem cells increase the regeneration rate to repair damaged muscle and avoid ventricular remodeling. However, the differentiation and function of new cardiomyocytes seem to be scarce and precarious. Studies in animals and humans have reported improved left ventricular ejection fraction, ventricular remodeling, myocardial thickness and infarct size after autologous stem cell grafting in patients with acute myocardial infarction or chronic ischemic heart disease. No randomized controlled trials with intramyocardial autologous bone marrow stem cell grafting combined with coronary artery bypass grafting with cardiopulmonary bypass during the subacute phase

### **Objetives.**

The main objective is to assess the effect of autologous bone marrow mononuclear stem cells grafting (by direct intramyocardial injection) combined with coronary artery bypass grafting on the left ventricular ejection fraction, ventricular remodeling and regional wall motion of the infarcted area in patients with non-revascularized transmural acute myocardial infarction during the subacute phase (10-15 days after acute myocardial infarction).

## **Materials and methods.**

The study reported herein is a single-center, prospective, double-blind, randomized and controlled clinical trial with centralized data analysis. A total of 20 patients with signed informed consent and non-revascularized transmural expired acute myocardial infarction, altered wall motion of the infarcted region, indication for myocardial revascularization surgery and left ventricular ejection fraction lower than 50% assessed by ventriculography from 2007 to 2015 were included. Patients were randomized into two groups within 10 days of transmural acute myocardial infarction. The active treatment group (stem cell group) was treated with bone marrow mononuclear cell grafting by direct intramyocardial injection between the 10<sup>th</sup> and 15<sup>th</sup> days after acute myocardial infarction (subacute phase) combined with coronary artery bypass grafting under cardiopulmonary bypass and were compared with a control group that was treated only with coronary artery bypass grafting combined with physiological saline solution grafting by direct intramyocardial injection in the subacute phase of the myocardial infarction (placebo group).

The baseline and 9-month magnetic resonance imaging scans were performed. Semi-quantitative analysis of segmental contractility following a 17-segment model and quantitative analysis of ventricular volumes, cardiac mass and left ventricular ejection fraction were performed by injecting the contrast agent gadolinium using the software *MASS 6.1.2*.

### Autologous bone marrow mononuclear stem cell extraction and grafting.

Bone marrow (50 ml) was obtained 24 hours before surgery under local anesthesia by puncture of the iliac crest of the patient. The mononuclear fraction of the bone marrow diluted in phosphate-buffered saline/heparin was prepared using Ficoll medium.

A cell suspension with a final volume of 10 ml enriched with 1% albumin diluted in physiological serum was prepared for intramyocardial injection.

#### Direct transepicardial intramyocardial injection.

The non-viable site (acute myocardial infarction region) was identified during the surgery; subsequently, the total volume of cells (10 ml) was injected using a retrobulbar 23 gauge needle, with 10 punctures that crossed the non-viable region with its akinetic segments and the peri-infarct region.

The sample size was calculated using the software *C4-Study Design Pack (Glaxo Wellcome, v. 1.1)*. Statistical analysis was performed using the *IBM software SPSS Statistics v. 21*. The comparison between both groups (coronary artery bypass grafting + bone marrow mononuclear cell and coronary artery bypass grafting alone) was performed using the chi-squared test and Fisher's exact test in the case of qualitative variables and the Student T test for quantitative variables or, its non-parametric counterpart, the Mann-Whitney U test for variables that failed to meet the normality requirement.

#### **Results.**

17 patients completed the 9-month follow-up. No significant differences in baseline characteristics and in the intraoperative variables were found when comparing both groups. A minimum of 25 million of cells were implanted in the active treatment group.

Coronary artery bypass grafting, improves the most outcome variables in both groups independently of the bone marrow mononuclear cells grafting.

Nevertheless, no significant differences in the enhanced improvement in left ventricular ejection fraction, left ventricular end-systolic volume, left ventricular end-

diastolic volume, global wall motion score index, regional wall motion score index, stress global wall motion score index, stress regional wall motion score index and in total necrotic mass were found when comparing the control and stem cell groups (*table*).

There is statistical trend when comparing the difference (presurgery and at 9 months) in the mean of non-viable akinetic segments recovered between both groups (*table*).

<b>Outcome variable</b>	<b>Coronary artery bypass grafting + bone marrow mononuclear cells (n=8) mean (SD)</b>	<b>Coronary artery bypass grafting (n=9) mean (SD)</b>	<b>p</b>
Increase of left ventricular ejection fraction (magnetic resonance imaging) (%)	7.47 (6.61)	6.99 (4.60)	0.876
Increase of left ventricular ejection fraction (echocardiogram) (%)	7.50 (6.61)	5.78 (6.48)	0.596
Non-viable akinetic segments recovered	2.50 (1.41)	1.28 (1.11)	0.091
Decline in global wall motion score index (echocardiogram)	0.19 (0.21)	0.17 (0.18)	0.780
Decline in regional wall motion score index (echocardiogram)	0.66 (0.56)	0.47 (0.36)	0.400
Decline in global wall motion score index (magnetic resonance imaging)	0.22 (0.28)	0.28 (0.39)	0.759



Decline in regional wall motion score index (magnetic resonance imaging)	0.74 (0.60)	0.52 (0.38)	0.415
Decline in global wall motion score index (stress-echocardiogram)	0.15 (0.20)	0.18 (0.21)	0.736
Decline in regional wall motion score index (stress-echocardiogram)	0.59 (0.65)	0.45 (0.41)	0.610
Decline in left ventricular end-systolic volume (ml)	23.06 (25.03)	15.42 (13.93)	0.442
Decline in left ventricular end-diastolic volume (ml)	18.40 (29.89)	14.05 (19.72)	0.725
Decline in myocardial necrotic mass (gr.)	2.57 (4.68)	8.51 (7.28)	0.095

The mean of permeable bypasses at 9 months was  $2.88 \pm 0.99$  in the stem cell group and  $3.11 \pm 0.782$  ( $p=0.591$ ) in the control group. Both mammary arteries were used in 50% of the patients from the stem cell group.

No complications associated with bone marrow mononuclear cells extraction and grafting were observed.

### **Conclusions.**

In conclusion, in our study the intramyocardial stem cells implant during surgical revascularization in patients with acute myocardial infarction fails to improve ventricular remodeling parameters.

**Descriptors (medical subject headings).**

Myocardial infarction.

Stem cells.

Stem cell transplantation.

Transplantation autologous.

Bone marrow cells.

Hematopoietic stem cell transplantation.

Coronary artery by-pass grafting.

Coronary angiography.

Myocardium.

Magnetic resonance imaging.

Echocardiography.

Echocardiography, stress.

Ventricular function, left.

Coronary artery disease.

Myocardial ischemia.

Myocardial revascularization.

Ventricular dysfunction.

Heart failure.

Left-sided heart failure.

Acute coronary syndrome.

Electrocardiography.

Myoblasts.

Tachycardia, ventricular.

Atrial fibrillation.

Troponin T.

Stroke.

Mortality.

Heparin.

Blood cells.

Serum.

Ficoll.



**EFECTO DEL TRASPLANTE DE CÉLULAS MADRE  
MONONUCLEADAS AUTÓLOGAS DERIVADAS DE LA MÉDULA  
ÓSEA MEDIANTE INYECCIÓN INTRAMIOCÁRDICA DIRECTA  
ASOCIADO A REVASCULARIZACIÓN CORONARIA  
QUIRÚRGICA SOBRE LA FUNCIÓN MIOCÁRDICA Y EL  
REMODELADO VENTRICULAR POSTINFARTO DE  
MIOCARDIO TRANSMURAL EN FASE SUBAGUDA.**



## **INTRODUCCIÓN**





### **1- INTRODUCCIÓN.**

#### **1-1 Cardiopatía isquémica e insuficiencia cardíaca.**

La cardiopatía isquémica (CI), según la Organización Mundial de la Salud (OMS), es la primera causa de mortalidad en la población mundial durante los últimos 15 años. La CI y el accidente cerebrovascular (ACV) son responsables de aproximadamente 15 millones de fallecimientos en el mundo durante el año 2015. Si atendemos a la mortalidad ajustada por desarrollo económico, la CI sigue siendo la primera causa de mortalidad en todos los países excepto en aquellos con ingresos bajos o en vías de desarrollo, en los cuales las primeras causas de mortalidad son las infecciones respiratorias y la diarrea<sup>1</sup>. En este contexto, múltiples reportes científicos y demográficos han declarado la CI como una de las causas más importantes de morbi-mortalidad en el mundo y un grave problema de salud pública global<sup>2</sup>. En España, se produjeron 422.568 defunciones durante el año 2015 y la primera causa de mortalidad fueron las enfermedades del sistema circulatorio (*Figura 1*).

Dentro de este grupo, las enfermedades isquémicas del corazón se mantienen como la primera causa de muerte con un total de 33.769 fallecimientos<sup>3</sup>. Si disgregamos la mortalidad por sexos y enfermedades durante el año 2015, la CI es la primera causa de muerte en los varones con 19.563 fallecimientos y la segunda en las mujeres (tras la enfermedad cerebrovascular) con 14.206 defunciones (*Figura 2*).

## Introducción

*Figura 1. Distribución de defunciones según capítulos de la Clasificación Internacional de Enfermedades\*.*

Capítulos de la CIE-10	Nº de defunciones	%
<b>Total Defunciones</b>	422.568	100,0
Enfermedades del sistema circulatorio	124.197	29,4
Tumores	111.381	26,4
Enfermedades del sistema respiratorio	51.848	12,3
Enfermedades del sistema nervioso y de los órganos de los sentidos	25.835	6,1
Trastornos mentales y del comportamiento	21.333	5,0
Enfermedades del sistema digestivo	20.360	4,8
Causas externas de mortalidad	15.079	3,6
Enfermedades endocrinas, nutricionales y metabólicas	14.065	3,3
Enfermedades del sistema genitourinario	12.169	2,9
Síntomas, signos y hallazgos anormales clínicos y de laboratorio	9.504	2,2
Enfermedades infecciosas y parasitarias	7.567	1,8
Enfermedades del sistema osteomuscular y del tejido conjuntivo	4.148	1,0
Enfermedades de la sangre y de los órganos hematopoyéticos y ciertos trastornos que afectan al mecanismo de la inmunidad	2.028	0,5
Enfermedades de la piel y del tejido subcutáneo	1.563	0,4
Malformaciones congénitas, deformidades y anomalías cromosómicas	802	0,2
Afecciones originadas en el periodo perinatal	674	0,2
Embarazo, parto y puerperio	15	0,0

*Figura 2: Distribución de defunciones ajustada por sexo según las causas de mortalidad más frecuentes<sup>†</sup>.*

	Total	Hombres	Mujeres
<b>Total defunciones</b>	422.568	213.309	209.259
Enfermedades isquémicas del corazón	33.769	19.563	14.206
Enfermedades cerebrovasculares	28.434	12.077	16.357
Cáncer de bronquios y pulmón	21.596	17.239	4.357
Demencia	20.442	6.642	13.800
Insuficiencia cardíaca	19.029	6.944	12.085
Enf. crónicas de las vías respiratorias inferiores (ECVRI)	16.764	12.375	4.389
Enfermedad de Alzheimer	15.578	4.574	11.004
Enfermedad hipertensiva	12.675	4.052	8.623
Cáncer de colon	11.526	6.668	4.858
Neumonía	10.209	5.229	4.980
Diabetes mellitus	10.181	4.421	5.760
Insuficiencia renal	6.490	2.994	3.496
Cáncer de páncreas	6.406	3.311	3.095
Cáncer de mama	6.310	75	6.235
Cáncer de próstata	5.757	5.757	-

(1) Causas con peso relativo superior a 1,3%

\* Tomado de la OMS 2017. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/es/>.

<sup>†</sup> Tomado de la OMS 2017. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/es/>.

Dentro de la CI, el infarto agudo de miocardio (IAM) tiene una especial trascendencia, ya que el músculo cardíaco por sí mismo posee una capacidad limitada de regenerarse, y por tanto, la necrosis de una región miocárdica aboca inevitablemente a la formación de una cicatriz fibrosa. El IAM conlleva una mortalidad aguda entre el 10 y el 30%, y es el responsable del 60-70% de las muertes de causa cardíaca. Dependiendo del área afectada por la cicatriz del infarto y el mecanismo de remodelado ventricular posterior, los pacientes pueden desarrollar una disminución progresiva e irreversible de la contractilidad cardíaca que conducirá al síndrome de insuficiencia cardíaca (IC) crónica.

La IC se ha revelado durante los últimos años como uno de los problemas de salud pública de mayor envergadura por su incidencia, impacto social, económico y sobre todo humano, ya que supone una grave limitación de la calidad de vida para el individuo que la padece<sup>4</sup>. En los países desarrollados, un 2% de la población adulta padece IC. La prevalencia de esta grave enfermedad aumenta exponencialmente con la edad, siendo inferior al 1% en personas menores de 50 años y superando el 8% entre los mayores de 75 años. El elevado número de casos de IC en España está determinado fundamentalmente por el envejecimiento progresivo de su población y por el marcado aumento de la esperanza de vida<sup>5</sup>. Por otra parte, existen hipótesis que argumentan que los avances en el tratamiento de la CI y el mejor control de los factores modificables de riesgo cardiovascular\* han conseguido reducir la mortalidad de los pacientes, a expensas de que los supervivientes queden con una fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) deteriorada y desarrollen IC posteriormente<sup>6</sup>. En estudios europeos, se ha estudiado la incidencia de la insuficiencia cardíaca, describiéndose una tasa de 1,4 (cada 1.000 personas-año) a los

---

\* Hipertensión arterial, hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia, diabetes mellitus, tabaquismo, sedentarismo, obesidad y homocisteinemia.

50-59 años a 3,1 a los 60-64 años, 5,4 a los 65-69 años, 11,7 a los 70-74 años y mayor de 17,0 a los 75 y más años<sup>7</sup>.

En España disponemos de un estudio sobre la incidencia de la IC, focalizado en la población de Puerto Real (Cádiz) entre los años 2000 y 2007. La incidencia encontrada fue de 2,96/1.000 personas-año en 2000 y 3,90/1.000 personas-año en 2007<sup>8</sup>. Los valores, como puede comprobarse, son similares a los del estudio de Framingham, realizado en Estados Unidos, en el cual, la incidencia de IC en los mayores de 45 años era de 4,7/1.000 personas-año<sup>9</sup>.

Durante años se han desarrollado múltiples estrategias farmacológicas y no farmacológicas (asistencias circulatorias, corazón artificial total, etc.) para mejorar el tratamiento de la IC; sin embargo, aún no hemos conseguido de una forma eficiente detener la evolución a largo plazo de la IC terminal. Actualmente, el tratamiento del que disponemos en la práctica clínica es el trasplante cardíaco, cuyas limitaciones más importantes son la desproporción entre el número de donantes y receptores potenciales y la necesidad de tratamiento inmunosupresor de por vida.

Como ya se ha comentado previamente, el IAM está caracterizado por una pérdida irreparable de cardiomiocitos y conlleva una gran morbimortalidad aguda asociada. Los avances médicos en materia de reperfusión precoz de la arteria coronaria responsable del infarto (fibrinólisis, angioplastia primaria, etc.) han sido evidentes y han tenido un gran impacto en la supervivencia de las personas, ya que consiguen limitar la extensión del IAM. El tamaño del infarto es el mayor factor pronóstico a largo plazo para desarrollar un síndrome de IC y ensombrecer el pronóstico vital de estos pacientes. A pesar de estas técnicas descritas, es frecuente una disminución crónica y progresiva de la FEVI y un remodelado ventricular agresivo y negativo tras el infarto<sup>10,11</sup>.

### **1-2 Las células madre como estrategia de regeneración cardíaca.**

Una célula madre o troncal es aquella que es capaz de dividirse indefinidamente y diferenciarse a distintos tipos de células especializadas, no sólo morfológicamente sino también de forma funcional<sup>12</sup>. Según su potencial de diferenciación se pueden clasificar en:

- Totipotenciales: capaces de producir tejido embrionario y extraembrionario.
- Pluripotenciales: capaces de diferenciarse a tejidos procedentes de cualquiera de las tres capas embrionarias.
- Multipotenciales: capaces de diferenciarse a distintos tipos celulares procedentes de la misma capa embrionaria<sup>13</sup>.

Clásicamente se ha aceptado que los cardiomiocitos son células diferenciadas sin capacidad de replicarse, y por tanto sin capacidad de regeneración. Sin embargo, en contra de este pensamiento clásico, las líneas de investigación han descubierto que el miocardio humano lesionado (ya sea por necrosis, rechazo, sobrecarga, infarto etc.) puede regenerarse a partir de células madre<sup>14</sup>. De hecho, múltiples estudios sugieren que en pacientes que han sufrido un IAM existe un pequeño porcentaje de cardiomiocitos capaces de activarse y entrar en ciclo celular, aumentando, de este modo, su tasa de regeneración con el objetivo de reparar el músculo dañado y evitar el remodelado ventricular. Sin embargo, la baja proporción de células activadas en relación al músculo dañado, la baja tasa de replicación y la precaria y escasa diferenciación y funcionalidad de los nuevos cardiomiocitos hace que el impacto clínico de este fenómeno sea muy limitado<sup>14</sup>.

Por ello, hace casi dos décadas, surgió la idea de regenerar y recuperar el tejido cardíaco dañado con la utilización de tratamientos de terapia celular mediante el

trasplante de diferentes tipos de células madre progenitoras extracardíacas con el fin de contribuir a evitar el remodelado postinfarto y el desarrollo ulterior de IC. La investigación clínica progresiva ha sugerido que las células madre pueden tener un efecto reparativo neoangiogénico y neomiogénico\* beneficioso para el corazón infartado. Estos hallazgos han alimentado la esperanza de evitar el remodelado ventricular y el fallo cardiaco cuando las células madre se aplican en la fase aguda (primeros 8 días tras el infarto) y mejorar la contractilidad de las zonas con necrosis ya establecida (y consecuentemente la FEVI a largo plazo) cuando se aplican en la fase crónica (después de los 15 días de padecer el infarto) del IAM<sup>15</sup>.

Varios estudios (en modelos animales y humanos) han reportado la reparación del miocardio dañado tras un infarto agudo con la utilización de diversos linajes de células madre: mioblastos<sup>16</sup>, células madre multipotenciales de la médula ósea<sup>17</sup>, células madre del cordón umbilical, células madre embrionarias, progenitores adiposos y endoteliales<sup>18</sup> e incluso plásmidos bacterianos y virales para vehiculación de genes de diferenciación específica<sup>19</sup>. Existen series de casos actuales, en ratones, con mejoría de la FEVI tras la inyección intracoronaria de genes (vehiculados por plásmidos) implicados en la diferenciación y reparación celular de cardiomiocitos<sup>19</sup>. Aunque las células madre embrionarias del cordón umbilical y la terapia génica con plásmidos han demostrado la capacidad de diferenciarse in vitro a tejidos de las 3 capas embrionarias en modelos animales, su utilización en humanos es controvertida por los problemas éticos y la posibilidad de desarrollo de neoplasias<sup>20,21,22</sup>.

Existen múltiples estrategias dirigidas a la regeneración del músculo cardíaco a partir de células madre con capacidad miogénica<sup>23</sup>.

---

\* Formación de nuevo tejido miocárdico y de nuevos vasos sanguíneos respectivamente.

### 1-2-1 Células madre embrionarias.

Las células madre embrionarias han demostrado su capacidad de diferenciarse “*in vitro*”<sup>\*</sup> a tejidos derivados de cualquier capa embrionaria<sup>20,21,22</sup>, abriendo nuevas perspectivas en el campo de la terapia celular regenerativa. Su utilización en humanos presenta problemas técnicos importantes:

- Las células embrionarias cuando son implantadas en animales forman espontáneamente teratomas<sup>22</sup>.
- A pesar de su gran capacidad proliferativa, el control del proceso de diferenciación es extremadamente complejo.
- Existen problemas de rechazo debido a la existencia de diferencias en los antígenos de histocompatibilidad entre las células embrionarias y el receptor.
- La utilización de células madre embrionarias conlleva importantes problemas éticos.

A partir de tejido fetal o de líneas celulares cultivadas “*in vitro*” se ha observado que es posible conseguir injertos cardíacos estables en modelos experimentales<sup>24</sup>. Sin embargo, la funcionalidad a largo plazo de estos injertos y los problemas descritos anteriormente condicionan su aplicabilidad clínica.

### 1-2-2 Células madre adultas.

La mayoría de datos existentes en la literatura médica son con células madre adultas y extracardíacas<sup>25</sup>.

---

\* Técnica desarrollada en un ambiente controlado fuera de un organismo vivo.

### 1-2-2-1 Células madre del músculo estriado esquelético (mioblastos esqueléticos).

Al contrario de lo que ocurre con el músculo cardíaco, el músculo esquelético posee la capacidad de regenerarse a partir de sus propias células madre (células satélite). Las células satélites o mioblastos se localizan por debajo de la membrana que rodea las fibras musculares y permanecen en estado quiescente<sup>26</sup>. En respuesta a situaciones de estrés o traumatismos son capaces de entrar en ciclo celular y proliferar, generando progenitores musculares con capacidad de diferenciarse hacia células musculares esqueléticas y finalmente a fibras musculares<sup>27</sup>. Los mioblastos tienen potencial contráctil tras la diferenciación (inherente a su naturaleza) y pueden ser cultivados y expandidos “*ex-vivo*” en grandes cantidades<sup>28</sup>. De hecho, Pagani *et al.* observaron que tras el implante de mioblastos en humanos, éstos evolucionaban para formar miotubos tras el análisis inmunohistoquímico del corazón después del trasplante cardíaco de los pacientes<sup>29</sup>.

La posibilidad de cultivar y expandir células satélite “*in vitro*” y los estudios experimentales y clínicos que demuestran la versatilidad de las células musculares esqueléticas capaces de adquirir características típicas de músculo cardíaco<sup>30</sup>, han posibilitado el desarrollo de la llamada cardiomioplastia dinámica y su aplicación clínica en modelos animales y humanos<sup>31,32</sup>. La preparación de estas células es laboriosa y larga, por lo tanto, el trasplante de mioblastos no puede realizarse para prevenir el remodelado en la fase aguda del infarto. Únicamente podría beneficiar a pacientes que se encuentran en fase crónica del IAM y clásicamente han sido implantados por vía intramiocárdica. Los resultados de diferentes estudios indican que los mioblastos autólogos



infundidos directamente en el corazón son capaces de injertar y adaptarse al músculo cardíaco, donde acaban su proceso de diferenciación, transformándose en fibras musculares. Aunque sugieren que se produce una transdiferenciación hacia fibras musculares con características de músculo cardíaco (presencia de discos intercalares, uniones GAP, expresión de conexina 43\* etc.) en general la diferenciación funcional final de las células implantadas es más parecida al músculo esquelético que al músculo cardíaco, y por lo tanto, poseen dificultad para transmitir el estímulo electromecánico, entre otras importantes limitaciones<sup>33,34,35</sup>.

Existen varios ensayos aleatorizados y series de casos en este campo con resultados no uniformes.

Menasché *et al.*<sup>16</sup> publicaron los resultados obtenidos en 10 pacientes con FEVI inferior al 35% e implante de mioblastos en regiones necróticas antiguas durante la cirugía de revascularización coronaria (CRC)<sup>†</sup> que no incluía esas áreas. El seguimiento clínico medio fue de 10 meses. Además de una mejoría de la clase funcional (CF)<sup>‡</sup> y de la FEVI, que podría atribuirse a la revascularización miocárdica, se observó una mejoría de la contractilidad regional en las zonas necróticas donde se implantaron los mioblastos. Desafortunadamente, debe reseñarse que 4 pacientes necesitaron un desfibrilador automático implantable (DAI) por arritmias graves en el postoperatorio.

Herreros *et al.*<sup>36</sup>, inyectaron mioblastos obtenidos de una biopsia de músculo estriado a 12 pacientes en regiones con IAM antiguo durante la CRC.

---

\* Tipos de conexiones intercelulares y expresión de proteínas representativas de los cardiomiocitos.

† Cirugía de revascularización miocárdica mediante bypass arterial o venoso, salvando la lesión de la arteria afectada.

‡ Clase Funcional según la NYHA (*ver anexo 1*).

Se observó una mejoría de la FEVI mediante ecocardiografía y de la viabilidad mediante tomografía por emisión de positrones (PET) en las regiones tratadas frente a los segmentos que no recibieron terapia celular. A diferencia del ensayo de Menasché *et al.*, en este estudio no se observaron arritmias ventriculares. Los autores atribuyeron dicha ausencia al uso de suero autólogo del paciente en la manipulación y conservación de los progenitores celulares.

La etiología de estas arritmias sigue en estudio y probablemente tenga un origen multifactorial (distribución no homogénea de las uniones intercelulares GAP, diferencia de isotipos de los canales iónicos de ambas estirpes celulares, liberación de mediadores inflamatorios, etc.). Dib *et al.* publicaron su experiencia en trasplante de mioblastos autólogos en pacientes con miocardiopatía isquémica asociado a CRC o implante de dispositivos de asistencia ventricular izquierda (DAVI) como puente a trasplante. Se trata de un estudio no aleatorizado en el que se encontró una discreta mejoría de la función cardíaca al año y los dos años de seguimiento; el análisis histológico del órgano de 4 pacientes que fueron trasplantados reveló una supervivencia y anidamiento significativo de los mioblastos en la zona del infarto previo<sup>37</sup>. El mecanismo de acción que pueda explicar estos resultados aún se encuentra en debate. Se postuló la posibilidad de un buen acoplamiento electromecánico<sup>35</sup>, pero posteriormente se observó una deficiente integración eléctrica entre miofibras esqueléticas y cardíacas<sup>38</sup>. En algunos estudios recientes explican dicha mejoría por efecto paracrino de los mioblastos (y de prácticamente cualquier estirpe de progenitor implantado) sobre el tejido circundante<sup>39</sup>.

### 1-2-2-2 Células progenitoras endoteliales.

Las células progenitoras endoteliales también han sido utilizadas con el objetivo de la reparación celular tras el IAM o la CI crónica. Esta estirpe celular proviene de las células madre hematopoyéticas y se libera en la sangre en pequeñas cantidades en función de estímulos concretos. Suelen expresar CD34+ (marcador de superficie de grupo celular positivo número 34), CD133+ y fundamentalmente factor de crecimiento del endotelio vascular (FCEV), diferenciándose, por tanto, a endotelio vascular “*in vitro*”<sup>40</sup> e incorporándose a tejidos con procesos activos de neovascularización en humanos<sup>41</sup>. Sin embargo, a pesar de las prometedoras aplicaciones iniciales en este grupo, es una estirpe celular limitada con un gran deterioro funcional (especialmente en pacientes mayores y diabéticos) y con una expansión compleja “*ex vivo*”.

### 1-2-2-3 Células madre adultas derivadas de la médula ósea.

Las células madre adultas (células madre obtenidas de tejidos adultos) han demostrado su capacidad de diferenciarse a tejidos derivados de las tres capas embrionarias. En concreto, diversos trabajos han demostrado que existen células en la médula ósea adulta como las células madre hematopoyéticas\* y las células madre multipotenciales, con capacidad de diferenciarse a tejido endotelial y músculo cardíaco en modelos animales, contribuyendo a regenerar el tejido miocárdico dañado y a mejorar la función cardíaca<sup>42,43</sup>.

Inicialmente, varios estudios preclínicos indicaron que después de producirse un IAM, el trasplante intramiocárdico de células progenitoras derivadas de la médula ósea autólogas, resulta en una regeneración de todos los

---

\* Célula madre sanguínea inmadura con capacidad para diferenciarse en cualquiera de los 3 tipos de células sanguíneas: hematíes, leucocitos o plaquetas.

elementos de la estructura miocárdica que es funcionalmente eficaz<sup>44</sup>. Este mismo efecto parece observarse cuando en lugar de implantar las células, se administran factores estimulantes de crecimiento de granulocitos (FECG) que estimulan la producción de progenitores por parte de la médula ósea y se favorece su salida al torrente circulatorio. Este fenómeno da lugar al anidamiento selectivo de dichos progenitores en la zona necrótica del corazón, con marcada multiplicación intramiocárdica, regeneración de los diferentes componentes del tejido cardíaco, y claro beneficio en mortalidad, tamaño del infarto, recuperación del espesor miocárdico y volúmenes ventriculares<sup>15</sup>.

Entre las células madre hematopoyéticas podemos dividir los estudios de regeneración cardíaca en trabajos con células mononucleadas sin seleccionar y ensayos en los que han utilizado células madre purificadas. La mayor parte de los estudios clínicos realizados han utilizado células sin seleccionar, es decir un conjunto celular que incluye células madre mononucleares derivadas de la médula ósea (CMMAMO) y células sin seleccionar.

Galiñanes *et al.*<sup>45</sup> observaron una mejoría de la contractilidad cardíaca valorada con ecocardiograma, en los segmentos miocárdicos que se habían tratado quirúrgicamente con CRC con circulación extracorpórea (CEC) e implante de células, sin observarse mejoría en los segmentos miocárdicos que habían recibido uno de los dos tratamientos aislados. Quedó demostrada la seguridad del tratamiento, no observándose ningún tipo de complicaciones relacionadas con el implante celular.

Por otro lado Patel *et al.*<sup>46</sup> randomizaron 20 pacientes en dos grupos: CRC sin CEC con o sin implante de células. Tampoco aquí se observaron complicaciones relacionadas con el implante celular, y se halló, de manera

estadísticamente significativa, mediante ecocardiografía, PET y angiografía, un mayor aumento de la contractilidad cardiaca en el grupo de pacientes con implante de células.

Si atendemos a los estudios con células purificadas, la expresión del antígeno de superficie 133+ define una población de células madre enriquecida en progenitores hemangioblásticos (célula con capacidad de diferenciarse tanto a células hematopoyéticas como a células endoteliales)<sup>47,48</sup>. Stamm *et al.* implantaron células madre purificadas y enriquecidas en CD133+ en los bordes del infarto durante la CRC en 6 pacientes. Durante un seguimiento de 3-9 meses se observó una mejoría de la FEVI en 4 pacientes y una mejoría de la perfusión en 5 de ellos. Posteriormente ampliaron el estudio a 12 pacientes demostrando con escintigrafía con talio\* un aumento de la perfusión local en el área infartada tratada con células madre y un aumento medio de la FEVI desde 39.7% a 48.7%<sup>49</sup>.

Actualmente, un número importante de reportes científicos en humanos ratifican la mejoría de la FEVI, del remodelado ventricular (volumen telesistólico -VTS- y volumen telediastólico -VTD- del ventrículo izquierdo), del grosor miocárdico y del tamaño del IAM tras el implante de células madre autólogas de la médula ósea (y de otros orígenes) en pacientes con IAM en fase aguda o crónica<sup>50</sup>.

### **1-3 Supervivencia celular.**

Uno de los grandes retos del implante celular es la supervivencia de los progenitores una vez que se han implantado en el miocardio<sup>51</sup>. Las células madre

---

\* Prueba diagnóstica de medicina nuclear que permite estudiar cuantitativa y cualitativamente el flujo sanguíneo del miocardio.

trasplantadas deben sobrevivir e integrarse en el tejido muscular cardíaco del huésped para proporcionar los efectos beneficiosos esperables. Una ventaja de las células madre es su potencial para proliferar y diferenciarse en diferentes subtipos celulares que se pueden adaptar al medio para sobrevivir; sin embargo, según los datos observados solamente un pequeño número de células sobrevive tras el implante. El mecanismo molecular por el cual las células madre mueren en el corazón isquémico en grandes cantidades obedece a factores dependientes de la isquemia, respuesta inflamatoria, factores endógenos y factores proapoptóticos<sup>52</sup>. Otros mecanismos descritos para explicar la muerte celular son el daño durante el injerto, la fuga de células a otros territorios y la pobre migración homogénea hacia el músculo tras la inyección. Se han descrito múltiples estrategias para promover la supervivencia celular después del trasplante, incluido el uso de factores de crecimiento, quimiotácticos, factores inducibles por hipoxia y agentes antiapoptóticos<sup>53,54,55,56</sup>. Existen múltiples métodos para valorar la supervivencia celular tras el implante de progenitores. La gran mayoría de los mismos incluyen pruebas de medicina nuclear (gammagrafía, PET, pruebas con radionucleótidos e inmunohistoquímica, etc.) con marcadores específicos para detectar la presencia celular en el tejido diana.

### **1-4 Ventana terapéutica y vías de aplicación de las células madre.**

La ventana terapéutica para la aplicación de células madre en el IAM no está claramente definida. En un implante quirúrgico, sería conveniente evitar los 5 primeros días de la fase aguda, puesto que la inflamación y el daño tisular podría comprometer el anidamiento de los progenitores exógenos. A partir de las dos semanas postinfarto se desarrollan de manera irreversible los procesos de

cicatrización responsables del remodelado cardíaco, causante de la disfunción de la contractilidad miocárdica. Parece claro que en determinadas circunstancias y momentos, la administración de las células madre puede mejorar la contractilidad y la FEVI, sin embargo, sus posibilidades para limitar o incluso revertir el remodelado ventricular necesitan aún ser investigadas.

Las vías de aplicación de las células madre descritas hasta el momento incluyen el acceso intravascular (intracoronario o intravenoso, aunque este último presenta el problema del anidamiento de células en otros órganos además del corazón) o bien directamente por administración intramiocárdica (por vía quirúrgica o mediante catéter y mapeado electromecánico para la identificación de las zonas de miocardio viable y no viable).

La vía intracoronaria es la más ampliamente utilizada para el implante de células madre autólogas<sup>57,58,59</sup>. Dicha vía posee un porcentaje de anidamiento celular miocárdico sensiblemente bajo<sup>60,61</sup> en comparación con la vía intramiocárdica. El abordaje intramiocárdico es fundamental cuando el paciente es subsidiario de una CRC asociada, pudiéndose beneficiar del implante de células en el mismo acto quirúrgico. Existen escasos estudios aleatorizados con grupo control, en humanos, y en los cuales, las células madre hayan sido implantadas por vía intramiocárdica directa asociada a cirugía de revascularización miocárdica quirúrgica<sup>46,17,62,63</sup>. En todos estos estudios, el implante celular fue en fase crónica de la IC tras el IAM, y en los trabajos de Zhi Qi *et al.* y Fujian Duan *et al.*<sup>62,63</sup> el implante se llevó a cabo a través del injerto del bypass, y no directamente por punción intramiocárdica. No existen estudios aleatorizados con control, con implante celular autólogo de la médula ósea intramiocárdico asociado a CRC con CEC en fase subaguda del infarto (10-15 días después del IAM).

Además, los estudios referentes al uso de células madre en este campo, son heterogéneos en cuanto al diseño, metodología, clase y tipificación celular más efectiva, seguridad en el implante, recuento celular, momento de implantación de las células (para garantizar el mejor anidamiento y diferenciación en cardiomiocitos funcionales) y vía de implantación.

La resonancia magnética (RM) con gadolinio presenta un perfil de sensibilidad y especificidad muy alto para la valoración de la función cardíaca, del remodelado ventricular y de la anatomía y motilidad regional del área infartada. Cuando se asocia RM, ecocardiografía basal y ecocardiografía de estrés se consigue una valoración integral de la función cardíaca de estos pacientes.



## **HIPÓTESIS DE TRABAJO**



**2- HIPÓTESIS DE TRABAJO.**

En comparación con el tratamiento convencional, la estimulación en fase subaguda de la regeneración miocárdica mediante inyección directa intramiocárdica de CMMAMO asociada a CRC convencional, en pacientes con IAM transmural evolucionado (que no han recibido reparación percutánea adecuada de la arteria responsable del infarto), reduce el remodelado ventricular adverso e induce una mejoría de la contractilidad miocárdica ventricular izquierda global y regional de la zona infartada.



## **OBJETIVOS DEL ESTUDIO**



### **3- OBJETIVOS DEL ESTUDIO.**

#### **3-1 Objetivo principal general.**

Demostrar que en los pacientes con IAM transmural no revascularizado, sometidos a implante de CMMAMO mediante inyección directa intramiocárdica en fase subaguda (entre 10 y 15 días posteriores al infarto) en asociación con CRC (grupo de tratamiento activo), se produce un aumento de la función cardíaca, una disminución de los volúmenes ventriculares y una mejoría de la contractilidad en las regiones infartadas a los 9 meses de la cirugía (en situación basal y de estrés) superior a lo observado en pacientes sometidos al tratamiento de CRC aislada convencional (grupo control).

#### **3-2 Objetivos principales específicos.**

Para conseguir el objetivo principal general expuesto en el apartado anterior, se analizarán los siguientes parámetros en ambos grupos de tratamiento a los 9 meses de la CRC:

- Modificación a los 9 meses en la FEVI, medida por RM y ecocardiograma, en comparación con el valor basal obtenido (por medio de las mismas técnicas), en la primera semana post-aleatorización.
- Modificación a los 9 meses en el índice de motilidad global del ventrículo izquierdo (GWMSI) y en el índice de motilidad regional del área infartada del ventrículo izquierdo (RWMSI) , medido por RM y ecocardiograma, en comparación con el valor basal obtenido (por medio de las mismas técnicas), en la primera semana post-aleatorización.
- Modificación a los 9 meses en el GWMSI y RWMSI en condiciones de máximo estrés medido con ecocardiograma de estrés con dobutamina, en

comparación con el valor basal obtenido (por medio de la misma técnica) en la primera semana post-aleatorización.

- Modificación a los 9 meses en los VTS y VTD del ventrículo izquierdo, medidos por RM, en comparación con el valor basal obtenido (por medio de la misma técnica) en la primera semana post-aleatorización.

### **3-3 Objetivos secundarios generales.**

- Demostrar mediante RM que la masa necrótica miocárdica (MNM) del área infartada (calculada mediante RM con gadolinio) disminuye, en los pacientes que han recibido trasplante de CMMAMO mediante inyección directa intramiocárdica en fase subaguda, en comparación con los pacientes del grupo control, a los 9 meses de la aleatorización.
- Demostrar mediante RM con realce tardío con gadolinio que el número de segmentos acinéticos recuperados en el área infartada es mayor en los pacientes que han recibido el trasplante de CMMAMO, en comparación con los pacientes del grupo control tras 9 meses de la aleatorización.
- Demostrar que el trasplante quirúrgico de CMMAMO, en asociación a CRC en fase subaguda del IAM no reperfundido es un procedimiento seguro. Para ello se compara la incidencia de eventos cardíacos (muerte, re-infarto, arritmias y episodios de IC) y eventos totales cardíacos y no cardíacos (complicaciones hemorrágicas, vasculares, gastrointestinales, cerebrales, hepáticas, respiratorias, infecciosas, etc.) entre el grupo que recibe trasplante de CMMAMO y el grupo control.
- Tipaje y estudio de viabilidad de las células progenitoras extraídas de médula ósea para su implante intramiocárdico (fenotipos CD117+, CD133+



y CD34+\*) para correlacionar la riqueza de una determinada población con la eficacia clínica del trasplante.

### 3-4 Objetivos secundarios específicos.

Para conseguir los objetivos secundarios generales expuestos en el apartado anterior, se analizarán las siguientes variables en ambos grupos de tratamiento a los 9 meses de la CRC:

#### 3-4-1 A los 30 días.

- Incidencia de eventos/acostecimientos adversos mayores (ver *anexo 2*), definidos como cualquier evento (relacionado o no con los órganos, medicamentos o intervenciones que intervienen en el estudio) que produce la muerte, pone en riesgo la vida del paciente, prolonga la hospitalización inicial, requiere nueva hospitalización, o resulta en invalidez significativa o permanente del paciente.
- Incidencia combinada de eventos cardíacos mayores definidos como muerte cardíaca, IAM (re-elevación de proteínas creatin-quinasa o fracción MB de la proteína creatín-quinasa (CK/CK-MB)  $\geq 2$  veces el límite superior de la normalidad ó elevación significativa de troponina T (TnT), o necesidad de revascularización del árbol coronario, mediante angioplastia o nueva CRC.
- Incidencia aislada de cada uno de los eventos cardíacos mayores consignados en el apartado anterior.

---

\* “Cluster determination” ó marcador de grupo celular: son proteínas de superficie que caracterizan diferentes tipos de células. Concretamente el CD34 se expresa en células madre precursoras de hematopoyesis. El CD117 se expresa en células pluripotenciales de la médula ósea adulta.

## Objetivos del estudio

---

- Incidencia de arritmias graves, definidas como la evidencia de taquicardia ventricular (TV) sostenida o reanimación por muerte súbita en el postoperatorio de la cirugía cardíaca.
- Incidencia de complicaciones vasculares o hemorrágicas graves, definidas como aquellas que producen daño cerebral permanente, requieren intervención quirúrgica ó transfusión de hemoderivados, prolongan la estancia hospitalaria inicial, o requieren nueva hospitalización.
- Incidencia de cualquier complicación cardíaca o no cardíaca (complicaciones hemorrágicas, vasculares, gastrointestinales, cerebrales, hepáticas, respiratorias, infecciosas, etc.) no definida en apartados anteriores.

### **3-4-2 A los 9 meses.**

- Cambio en la MNM del área infartada, medido por RM, en comparación con el valor basal, obtenido por la misma técnica en la primera semana post-aleatorización.
- Cambio en el número de segmentos acinéticos no viables recuperados, medido por RM con realce tardío con gadolinio, en comparación con el valor basal, obtenido por la misma técnica, en la primera semana post-aleatorización.
- Incidencia de eventos adversos mayores (ver *anexo 2*), definidos como cualquier evento (relacionado o no con los órganos, medicamentos o intervenciones que intervienen en el estudio) que produce la muerte, pone

## Objetivos del estudio

---

en riesgo la vida del paciente, prolonga la hospitalización inicial, requiere nueva hospitalización o resulta en invalidez significativa o permanente.

- Incidencia combinada de eventos cardíacos mayores definidos como: muerte cardíaca, infarto de miocardio (re-elevación de CK/CK-MB  $\geq 2$  veces el límite superior de la normalidad), o necesidad de revascularización del árbol coronario, mediante angioplastia o nueva CRC.
- Incidencia aislada de cada uno de los eventos cardíacos mayores consignados en el apartado anterior.
- Incidencia de arritmias graves, definidas como la evidencia de TV sostenida o reanimación por muerte súbita.
- Incidencia de complicaciones vasculares o hemorrágicas graves, definidas como aquellas que producen daño cerebral permanente, requieren intervención quirúrgica ó transfusión de hemoderivados, prolongan la estancia hospitalaria inicial, o requieren nueva hospitalización.
- Incidencia de cualquier complicación cardíaca o no cardíaca (complicaciones hemorrágicas, vasculares, gastrointestinales, cerebrales, hepáticas, respiratorias, infecciosas, etc.) no definida en apartados anteriores.



## **MATERIAL Y MÉTODOS**



### **4- MATERIAL Y MÉTODOS.**

El estudio presentado es un ensayo clínico unicéntrico, prospectivo, controlado externamente (ver *anexo 3*), con análisis centralizado de datos (*Icicorelab*<sup>\*</sup>, *Valladolid, Spain*), aleatorizado a doble ciego con grupo control y coordinado por el Hospital Clínico Universitario de Valladolid en colaboración con el Servicio de Hematología del Hospital Universitario del Río Hortega de Valladolid y con el Instituto de Biología y Genética Molecular (IBGM) de la Universidad de Valladolid. El ensayo clínico consta con la aprobación del comité ético independiente<sup>†</sup> y ha sido desarrollado acorde con la Declaración de Helsinki<sup>‡</sup> y las normas de Buena Práctica Clínica de la Unión Europea y el Ministerio de Sanidad y Consumo del Gobierno Español. Se incluyeron un total de 20 pacientes respetando estrechos criterios de inclusión (*Tabla 1*) y exclusión (*Tabla 2*) con IAM transmural evolucionado de cualquier localización (categorizado según la clasificación clínica de Killip-Kimball<sup>§</sup>), no revascularizado, con alteración de la motilidad de la región infartada, indicación de CRC y FEVI menor al 50% (determinada por ventriculografía posterior al IAM) desde el año 2007 hasta el 2015, tras firmar el consentimiento informado<sup>\*\*</sup> pertinente. El ensayo clínico respetó estrictamente las directivas sobre los ensayos clínicos en humanos según la Legislación Española<sup>††</sup>. Los pacientes, tras la realización de cateterismo cardíaco (dentro de las 72h siguientes al inicio de los síntomas) fueron aleatorizados a dos grupos en los 10 días posteriores a sufrir el IAM. El grupo de tratamiento activo (grupo celular) recibió implante de CMMAMO mediante inyección directa intramiocárdica en la zona infartada y peri-

---

\* Unidad de Imagen del Instituto de Ciencias del Corazón del Hospital Clínico Universitario de Valladolid.

† Consideraciones éticas (ver *anexo 4*).

‡ Declaración de Helsinki (Asociación Médica Mundial, 18ª Asamblea, 1964) en su última versión revisada (64ª Asamblea General, Fortaleza, Brasil, octubre 2013) (ver *anexo 5*).

§ Según la Clasificación de Killip-Kimball en cuanto a la gravedad del IAM (ver *anexo 6*).

\*\* Formulario original de consentimiento informado del estudio (ver *anexo 7*).

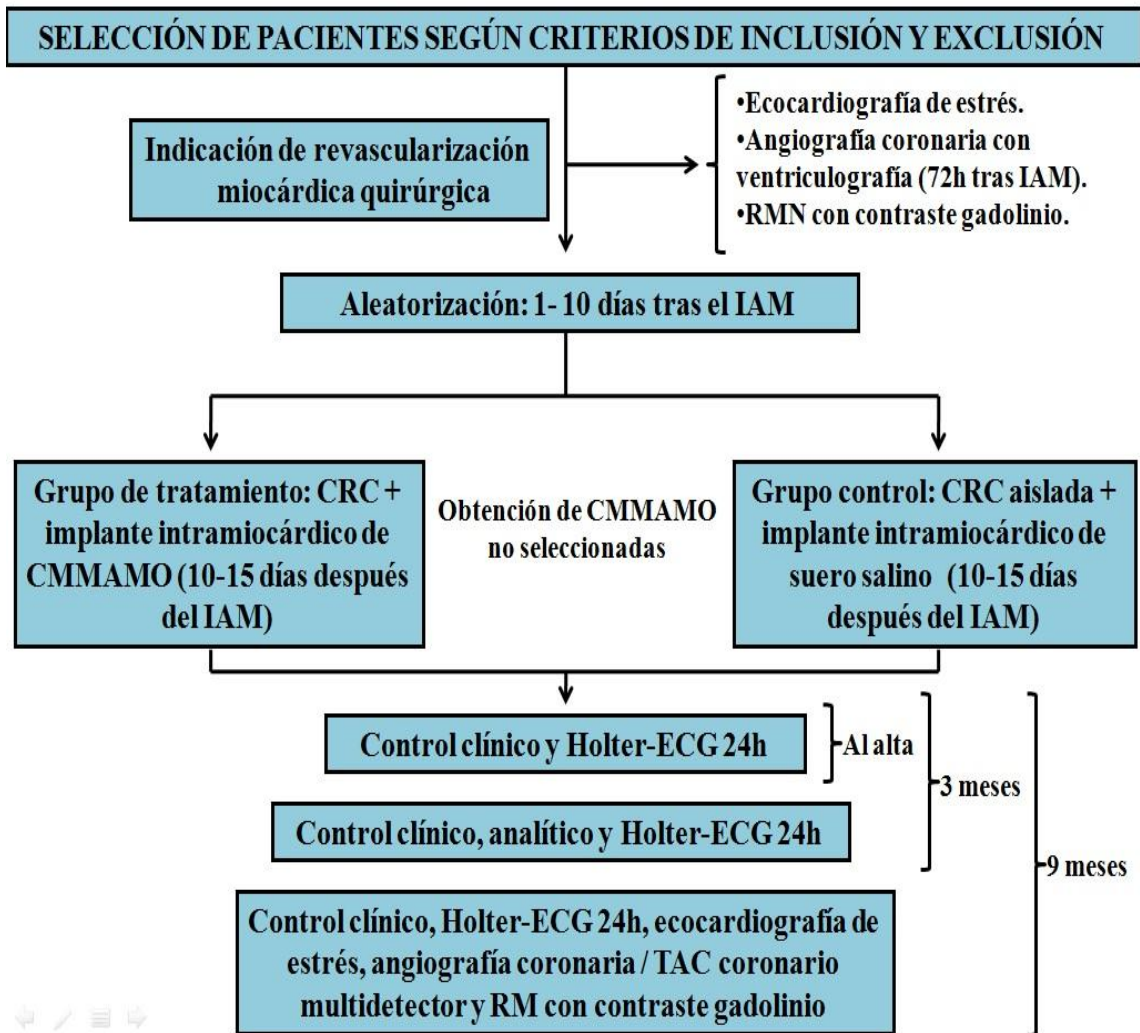
†† Real decreto 1090/2015, de 4 de Diciembre, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos, los Comités de Ética de las investigaciones con medicamentos y el Registro Español de Estudios Clínicos (ver *anexo 8*).

infarto entre el 10° y 15° día posterior al IAM (fase subaguda) asociado a CRC bajo CEC frente al grupo control, que únicamente recibió CRC aislada con implante de suero salino fisiológico (SSF) en la zona infartada (*Figura 3*):

1. Grupo de tratamiento activo (CRC asociada a CMMAMO): Pacientes con necesidad anatómica de CRC con CEC. Además se asocia implante de CMMAMO mediante inyección directa intramiocárdica en fase subaguda entre el día 10° y el 15° posterior al infarto.
2. Grupo control (CRC aislada): Paciente con necesidad anatómica de CRC con CEC realizada en fase subaguda entre el día 10° y el 15° posterior al IAM, asociando inyección intramiocárdica de SSF bajo las mismas condiciones del grupo de tratamiento celular activo.



Figura 3: Diagrama de métodos del ensayo clínico<sup>\*†</sup>.



\* ECG: Electrocardiograma.

† TAC: Tomografía axial computerizada.

*Tabla 1: Criterios de inclusión en el ensayo clínico.*

Edad comprendida entre 30 y 80 años.
Infarto de miocardio agudo transmural evolucionado con un máximo de 10 días de evolución.
Características definitorias del infarto agudo de miocardio: <ul style="list-style-type: none"><li>• Curva enzimática típica de necrosis miocárdica, medida mediante troponina I y T y troponina ultrasensible en su defecto.</li><li>• Presencia de onda Q patológica (200 milisegundos o voltaje superior al 25% de la onda R en la misma derivación) en al menos 2 derivaciones del electrocardiograma (ECG) de superficie correspondientes al área infartada.</li></ul>
Alteración en la motilidad miocárdica regional del infarto (detectada mediante ventriculografía en el cateterismo previo a la cirugía).
Indicación quirúrgica de CRC sin realización previa de revascularización percutánea. Dicha indicación se realizará en la primera sesión médico-quirúrgica posterior al cateterismo.
FEVI entre el 25 y 50%, determinada por ventriculografía.

Tabla 2: Criterios de exclusión en el ensayo clínico.

Clase clínica IV de la <i>New York Heart Association</i> (NYHA) o Killip IV* durante el IAM, previo a la indicación de cirugía.
Complicación mecánica del infarto†.
Historia de TV sostenida ó fibrilación auricular (FA) posterior a las 24 horas del IAM.
Portador de DAI.
Cirugía cardíaca previa de cualquier tipo.
Tratamiento con cualquier fármaco en investigación durante las 4 semanas previas al infarto.
Uso actual o previsión de uso potencial de drogas antineoplásicas.
Historia de neoplasia (tumoración) maligna en los últimos 5 años.
Uso actual o previsión de uso potencial de drogas inmunosupresoras.
Tratamiento previo con revascularización transmiocárdica con láser.
Mujeres en edad fértil, a no ser que exista un test de embarazo negativo.
Cualquier enfermedad que potencialmente pueda afectar a la supervivencia del paciente durante la duración del estudio.
Hemopatía maligna previa (leucemias, linfomas etc.) ó enfermedades que cursen con estados de hipercoagulabilidad (síndrome antifosfolípídico, déficit de antitrombina III, proteína C, proteína S, Factor V de Leiden).
Insuficiencia renal previamente conocida con creatinina > 2,5 mg/dL.

---

\* Según la Clasificación de Killip-Kimball en cuanto a la gravedad del IAM (ver *anexo 6*).

† Rotura de pared libre cardíaca, aneurisma ventricular, rotura del septo interventricular o rotura de músculo papilar.

Accidente cerebrovascular de cualquier tipo en el último año o accidente cerebrovascular hemorrágico en cualquier momento previo.
Paciente en espera de procedimiento de cirugía mayor de cualquier localización en el próximo año.
Enfermedad vascular previamente conocida que impida la realización de un cateterismo.
No firmar el consentimiento informado.

Se realizó un seguimiento exhaustivo de los pacientes hasta los 9 meses postoperatorios.

El protocolo de pruebas y valoración clínica durante el ingreso y a los 9 meses de seguimiento se detallará a continuación.

### **4-1 Resumen del protocolo de seguimiento del paciente.**

#### **4-1-1 Durante el ingreso hospitalario.**

- Estudio hemodinámico inicial (cateterismo cardíaco basal): Se realizará en las primeras 72 horas postinfarto y constará de ventriculografía y coronariografía selectiva de arteria coronaria derecha e izquierda.
- RM (basal): Se realizará previa a la cirugía y se obtendrán datos acerca de los volúmenes ventriculares, FEVI, contractilidad global y regional del área infartada, MNM y número de segmentos acinéticos no viables del área infartada mediante realce tardío con Gadolinio.
- Ecocardiograma de estrés con dobutamina. Se realizará previo a la cirugía y se obtendrán datos acerca de la FEVI, contractilidad global y

regional del área infartada y número de segmentos acinéticos no viables del área infartada en condiciones basales y de estrés.

- Analíticas seriadas para controlar la evolución de las tres series hemáticas, la fracción N-terminal del péptido cerebral natriurético (NT-proBNP) y el estado inflamatorio: Proteína C reactiva (PCR), procalcitonina (PCT) a partir de muestras obtenidas el primer día posterior a la aleatorización y antes del alta.
- Control clínico pre-alta: Constará de exploración física completa del paciente, ECG, radiografía de tórax y holter-ECG de 24 horas.

### **4-1-2 A los 3 meses de la cirugía.**

- Control clínico: Constará de valoración del estado clínico, optimización de tratamiento, registro de eventos adversos, exploración física exhaustiva, ECG, radiografía de tórax y holter de 24 horas.
- Analítica que incluirá perfil renal, hepático, hemograma, fórmula leucocitaria y estudio completo de coagulación.

### **4-1-3 A los 6 meses de la cirugía.**

- Control clínico: Constará de valoración del estado clínico, optimización de tratamiento, registro de eventos adversos, exploración física exhaustiva, ECG, radiografía de tórax y holter-ECG de 24 horas.
- Analítica que incluirá perfil renal, hepático, hemograma, fórmula leucocitaria y estudio completo de coagulación.

### **4-1-4 A los 9 meses de la cirugía.**

- Control clínico completo similar al mencionado en los apartados anteriores de 3 y 6 meses de seguimiento.
- Analítica que incluirá perfil renal, hepático, hemograma, fórmula leucocitaria y estudio completo de coagulación.
- RMN cardíaca: Se obtendrán datos acerca de los volúmenes ventriculares, FEVI, contractilidad global y regional del área infartada, MNM y número de segmentos acinéticos no viables del área infartada mediante realce tardío con Gadolinio.
- Estudio hemodinámico inicial (cateterismo cardíaco) con ventriculografía y coronariografía selectiva o tomografía axial computerizada (TAC) coronario multidetector.
- Ecocardiograma de estrés con dobutamina. Se obtendrán datos acerca de la FEVI, contractilidad global y regional del área infartada y número de segmentos acinéticos no viables del área infartada en condiciones basales y de estrés.

### **4-2 Protocolo de tratamiento previo a la intervención quirúrgica.**

#### **4-2-1 Uso de fármacos antiagregantes.**

Se administrará ácido acetil-salicílico de forma continuada (100-300 miligramos (mg)/ día), salvo alergia u otra contraindicación (como alternativa se administrará clopidogrel 75 mg/día), hasta el momento de la indicación quirúrgica.

### 4-2-2 Uso de beta-bloqueantes.

Los pacientes del estudio que no presenten contraindicaciones recibirán tratamiento beta-bloqueante:

- Es recomendable que el tratamiento beta-bloqueante se instaure en la fase aguda del IAM y se mantenga durante un periodo mínimo de 24 meses.
- El tratamiento beta-bloqueante puede iniciarse por vía intravenosa u oral en la fase aguda del infarto siempre que la presión arterial sistólica sea superior a 100 milímetros de mercurio de presión (mmHg) y la frecuencia cardiaca mayor de 60 latidos/minuto.
- Si el tratamiento beta-bloqueante no puede instaurarse en la fase aguda del infarto, debe instaurarse por vía oral antes del alta hospitalaria, si no existen contraindicaciones para ello.
- El fármaco de elección en nuestro estudio inicialmente es el atenolol que puede administrarse mediante una dosis intravenosa inicial de 5 mg en 2 minutos que se repetirá 10 minutos después, comprobando antes de la repetición que la presión arterial sistólica es superior a 100 mmHg y la frecuencia cardiaca supera los 60 latidos/minuto. Posteriormente se administrarán 50-100 mg al día por vía oral en dosis única, lo que se mantendrá al menos durante el primer año.
- Como alternativa al atenolol se empleará el metoprolol, que puede administrarse mediante una dosis intravenosa inicial de 15 mg durante 2 minutos, que se repetirá transcurridos 10 minutos y 20 minutos desde la primera dosis, comprobando antes de cada repetición que la presión arterial es superior a 100 mmHg y la frecuencia cardiaca supera los 60 latidos/minuto. Posteriormente, se administrarán 50 mg cada 6 horas por

vía oral durante 48 horas seguidos de una dosis de mantenimiento de 100 mg cada 12 horas durante al menos 1 año.

- Alternativamente a los dos anteriores se empleará también el bisoprolol, únicamente por vía oral, 5mg al día hasta una dosis máxima de 10 mg al día y se mantendrá al menos el primer año tras el infarto.
- La presencia de signos de IC moderada o severa (Clase Killip II o superior) durante las primeras horas tras el infarto puede limitar la administración inicial de beta-bloqueantes por vía intravenosa. Sin embargo, esta circunstancia, cuando es transitoria, constituye una indicación clara para la administración de beta-bloqueantes por vía oral antes del alta y para el mantenimiento indefinido de esta terapia.
- Los beta-bloqueantes están claramente contraindicados si se da alguna de las circunstancias siguientes, cualquiera de las cuales obliga a desestimar o interrumpir su administración:
  - ❖ Frecuencia cardíaca inferior a 60 latidos / minuto.
  - ❖ Presión arterial sistólica inferior a 100 mmHg.
  - ❖ Signos de insuficiencia cardíaca moderada o severa (el betabloqueante no debe emplearse inicialmente por vía intravenosa).
  - ❖ Signos de hipoperfusión tisular periférica.
  - ❖ Intervalo P-R del ECG superior a 0.24 segundos.
  - ❖ Bloqueo aurículo-ventricular (A-V) de segundo o tercer grado.
  - ❖ Enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) severa (podrían utilizarse beta-bloqueantes con perfil cardioselectivo, manteniendo las precauciones adecuadas).



- ❖ Antecedentes de asma (podrían utilizarse beta-bloqueantes con perfil cardioselectivo, manteniendo las precauciones adecuadas).
- ❖ Enfermedad vascular arterial periférica invalidante.

### **4-2-3 Uso de Inhibidores del enzima conversor de angiotensina (IECAs).**

Los pacientes de ambos grupos que no presenten hipotensión (presión sistólica <100 mmHg) ni contraindicaciones, deberían ser tratados con IECAs cuando reúnan criterios para ello. Los criterios para la administración de IECAs incluyen la presencia de al menos una de las circunstancias siguientes:

- Elevación del segmento S-T en dos o más derivaciones electrocardiográficas de cara anterior.
- Signos clínicos de IC durante la fase aguda del infarto o en la convalecencia.
- Evidencia de FEVI menor al 30% durante la fase aguda o durante la convalecencia.
- Es recomendable que, en los pacientes en los que esté indicado, el tratamiento con IECAs se inicie lo antes posible y que se mantenga al menos durante el primer año postinfarto.
- Pueden usarse los siguientes fármacos y pautas de esta familia, siendo el lisinopril y ramipril de elección.
  - ❖ Enalapril: se inicia con dosis de 2,5 mg cada 24 horas en una toma, que se incrementarán progresivamente hasta alcanzar una dosis ideal de mantenimiento de 20 mg al día, repartida en dos tomas.
  - ❖ Lisinopril: dosis inicial (en las primeras 24 horas) de 5 mg por vía oral en una toma, seguida de 5 mg a las 24 horas y de 10 mg a las 48 horas,

intentando posteriormente alcanzar una dosis de mantenimiento superior a 10 mg al día en dosis única, si se tolera. Intentar alcanzar dosis de 40 mg/día.

- ❖ Ramipril: dosis inicial (en las primeras 24 horas) de 2,5 mg por vía oral en una toma, que se repetirán a las 24 horas y se incrementarán luego progresivamente, intentando alcanzar una dosis ideal de mantenimiento superior a 5 mg al día en dosis única (máxima de 10 mg/día).
- ❖ Captopril: dosis inicial (en las primeras 24 horas) de 6,25 mg por vía oral; 2 horas después se administrará una segunda dosis oral de 12,5 mg; y 12 horas después una tercera dosis oral de 25 mg. Posteriormente se pautarán 25 mg cada 12 horas, que se incrementarán progresivamente hasta alcanzar una dosis ideal de mantenimiento superior a 50 mg cada 8 horas, si se tolera.

### **4-3 Protocolo cronológico de estudio hemodinámico (cateterismo cardíaco) inicial previo a la aleatorización.**

Los pacientes serán sometidos a un estudio hemodinámico (cateterismo cardíaco) en las 72 horas siguientes al inicio del IAM de acuerdo con el siguiente protocolo:

- 1- Acceso vascular vía arteria radial, femoral o braquial con catéteres preferiblemente de 6 *French* (F)\*.
- 2- Se administrará heparina sódica local sobre el catéter y sistémica a dosis bajas durante el estudio hemodinámico.

---

\* Método de medida francesa para expresar el calibre de diferentes instrumentos y catéteres.

- 3- Se utilizará siempre contraste iónico hipo-osmolar\*.
- 4- Se realizará, antes de la coronariografía, una ventriculografía de contraste, de buena calidad, en la proyección oblicua anterior derecha (OAD) a 30 grados de inclinación con al menos durante dos latidos cardíacos contiguos en ritmo sinusal. La velocidad de inyección de contraste será de 10-14 mililitros/segundo (ml/s) durante 4 segundos.
- 5- Se realizará otra ventriculografía en la proyección oblicua anterior izquierda (OAI) a 60 grados de inclinación.
- 6- Se grabará una rejilla preparada en OAD a 30 grados y a la misma distancia tubo-intensificador a la que se realizó la ventriculografía.
- 7- Después de la ventriculografía se realizará una coronariografía selectiva completa comenzado por la arteria que no se considera responsable del infarto. Se requieren al menos tres proyecciones ortogonales (proyecciones angiográficas con ángulos de 90 grados) para la arteria coronaria izquierda y dos para la derecha. Se deberán elegir las proyecciones que permitan la mejor visualización del segmento arterial con mínimo acortamiento del vaso y mínimo grado de entrecruzamiento de ramas.
- 8- Al comienzo de la grabación de cada una de las proyecciones de la coronariografía, el catéter estará vacío de contraste, debiendo visualizarse dentro del fotograma al menos 3 centímetros (cm) de la parte distal del catéter.
- 9- Las filmaciones de la coronariografía se prolongarán hasta asegurarse de que se visualiza perfectamente el llenado y el lavado arterial de la totalidad del árbol coronario.

---

\* Tipo de contraste radiológico con baja osmolaridad que ha demostrado alta eficacia en el estudio angiográfico con buen perfil de seguridad.

10- Se recogerá el *French*, el modelo y la marca del catéter utilizado.

11- Se filmará a 25 imágenes por segundo y se archivarán los datos en formato DICOM ("*Digital Imaging and Communication in Medicine*").

#### **4-4 Protocolo de aleatorización de pacientes aceptados en el estudio.**

Tras el comienzo de los síntomas, posteriormente a la realización del estudio hemodinámico, si el paciente cumple los criterios de inclusión (y no cumple los de exclusión) se le explicará en detalle el protocolo y se le dará el consentimiento informado del estudio para que lo firme. Si acepta ser incluido en el estudio, aparte de recibir el tratamiento habitual para el IAM sufrido, se obtendrá una analítica que incluya virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), virus de la hepatitis B (VHB) y virus de la hepatitis C (VHC). Tras ello, el paciente será aleatorizado por vía telefónica ciega a uno de los dos grupos de tratamiento, siempre dentro de los primeros 10 días del comienzo de los síntomas. Tanto los pacientes participantes como aquellos en los que se apliquen ciertos procedimientos cruentos derivados del protocolo, no pueden ser ciegos respecto al grupo en el que cada paciente ha sido incluido. Sin embargo, los eventos serán asignados de forma ciega por un comité de eventos y se seguirá estrictamente el método PROBE ("*Prospective Independent Outcome Blinded*") para la evaluación de los eventos primarios y secundarios. Además, todos los parámetros cardíacos serán analizados de forma centralizada y ciega por expertos independientes. Los pacientes serán seguidos clínicamente durante el ingreso y a los 3, 6 y 9 meses posteriores a la intervención quirúrgica. Las estrategias que se compararán serán exactamente las siguientes:

- Grupo de tratamiento activo o trasplante celular quirúrgico en fase subaguda: CRC convencional en fase subaguda del IAM (entre el 10 y 15°

día después del infarto) asociado a trasplante de CMMAMO mediante inyección directa intramiocárdica (tras extracción medular por punción de médula ósea en cresta ilíaca posterior).

- Grupo control: CRC convencional en fase subaguda del IAM (entre el 10 y 15º día después del infarto) asociado a implante intramiocárdico de SSF (sin contenido celular)

### **4-5 Protocolo cronológico de resonancia magnética con realce tardío de contraste gadolinio.**

Se realizará un estudio de RM cardíaca según el protocolo que seguidamente se describe, en la primera semana post-aleatorización y a los 9 meses de la intervención quirúrgica:

- 1- Equipo General-Electric Signa 4.0 con antena de cuerpo y superficie tipo *Phased-array* de 1,5 Teslas y con acoplamiento con el electrocardiograma del paciente (“*ECG-gating*”).
- 2- Se deben capturar conjuntos de imágenes para el corte del eje largo horizontal (visualización cuatro cámaras cardíacas), para el corte del eje largo vertical (visualización dos cámaras del ventrículo izquierdo) y cortes adyacentes del eje corto desde la base hasta el ápex cardíaco.
- 3- Para los estudios de cine-resonancia\* es muy importante usar una orientación del plano de corte de la imagen del eje corto y eje largo verdaderos. Inicialmente se capturarán localizadores, es decir, imágenes de referencia con las que puedan prescribirse los planos de imagen para los

---

\* Las secuencias cine-resonancia son aquellas imágenes secuenciales obtenidas con diferentes tiempos de inversión, con el objetivo de captar la evolución del comportamiento de la motilidad cardíaca y del contraste administrado.

estudios de cine. Las imágenes de referencia deben capturarse con una secuencia de pulso que recoja la imagen en una fracción de un intervalo R-R del ECG de superficie, con una secuencia rápida *Turbo-flash*. Las imágenes de referencia comienzan con una visualización transversal a la altura del ventrículo izquierdo (VI) medio. Utilizando la primera imagen como localizador, se captura la siguiente imagen de referencia para un plano de imagen que corte el eje largo del VI. Se captura a continuación una imagen de referencia del eje corto usando como localizador la imagen de referencia del eje largo previa.

- 4- Una vez obtenidas las imágenes de referencia, éstas se utilizarán para definir o prescribir los planos de imagen para los estudios de cine. El conjunto de cine para cada corte debe capturarse preferiblemente mientras se contiene la respiración, es decir en apnea aproximadamente de 20 segundos de duración. Para definir el plano de imagen del eje largo horizontal se usa la imagen de referencia del eje corto como localizador. El corte debe cortar el centro del VI y ser perpendicular a la parte media del tabique. Para el eje largo vertical, se define un corte paralelo al tabique, centrado en la cavidad del VI y posicionado con respecto a la punta del VI, a través de la porción media de la válvula mitral. Los planos de imagen para los estudios del eje corto deben comenzar en la base del corazón al menos dos cm por encima de los planos de las válvulas mitral y tricúspide. Con ello se garantiza la cobertura total del ventrículo derecho (VD) y del VI. Además, se debe usar el marco telediastólico para asegurarse que en la primera serie del eje corto se captura una posición de corte que se mantiene por encima del plano valvular (en la cara ventricular de la válvula mitral y tricúspide) durante la

totalidad del ciclo cardiaco. Posteriormente se desplaza la posición de corte desde la base hasta la punta del corazón con un grosor de corte entre cinco y diez milímetros (mm). Los cortes más finos producen una mejor definición del límite endocárdico. El grosor del corte para los cortes en el eje largo puede ser incluso de sólo cinco mm con el fin de conseguir el máximo contraste entre la sangre residual y el miocardio. Para los cortes del eje corto se puede optar por cortes más gruesos con lo que se obtienen intensidades de señal más altas y sigue existiendo un buen contraste entre la sangre residual y el miocardio.

- 5- El tiempo de repetición de la secuencia de cine será el intervalo R-R del paciente. El ángulo de orientación será de 15°-30°, el tiempo de eco de 5 milisegundos (mseg.) y el tiempo de repetición de 7-10 mseg. El tamaño de la matriz de imágenes será de 128-160 (pasos de codificación de fases) x 256 (puntos de lectura) y el campo de visión de 300-350 mm. Se usará un sobre-muestreo en la dirección de lectura para evitar el solapamiento. Se realizará una captura para estudio con respiración contenida y dos o más capturas para estudio sin contener la respiración para promediar el movimiento respiratorio.
- 6- De forma centralizada, en la Unidad de Imagen Cardiaca del Hospital Clínico Universitario de Valladolid, un experto en RM realizará el análisis. Se realizará un análisis semicuantitativo con un modelo de 17 segmentos miocárdicos del VI propuesto por la Sociedad Americana de Ecocardiografía: Septo anterior basal, septo anterior medio, septo posterior basal, septo posterior medio, septo apical, lateral basal, lateral medio, lateral apical, anterior basal, anterior medio, anterior apical, inferior basal, inferior medio,

inferior apical, posterior basal, posterior medio y apical (*figura 4*). Cada segmento es clasificado de 1 a 4 según su movilidad:

- 1 = normal.
- 2 = hipocinesia.
- 3 = acinesia.
- 4 = discinesia.

- 7- El índice de motilidad (“*wall motion score index*”) se calcula sumando la puntuación de cada uno de los segmentos y dividiendo ese valor por el número de segmentos analizados. Un índice de motilidad de 1 es normal. Cuanto mayor sea, peor es la contractilidad global o regional de la zona a estudio. Con estos datos se consigue el cálculo del índice de motilidad global del VI y regional del área infartada. Para el cálculo del GWMSI se tienen en cuenta todos los segmentos miocárdicos y para el cálculo del RWMSI únicamente se seleccionan los segmentos infartados, es decir aquellos que tienen alteraciones de la contractilidad en la región responsable del infarto.
- 8- Se realizará un análisis cuantitativo de los volúmenes ventriculares: VTS del VI y VTD del VI mediante el software “*Mass 6.1.2*”.
- 9- Posteriormente, se realizará la infusión intravenosa por una vía periférica de 0,03 mmol/kg del complejo gadolinio-ácido dietilenotriaminapentaacético (Gd-DTPA)\*. Se obtienen imágenes con una secuencia especial llamada hipercaptación tardía que incluye un pulso inicial denominado “*inversion recovery*” con un tiempo de inversión de 350-400 msec para anular la señal del miocardio. A los 10 minutos se valorará la existencia de aumento de

---

\* Elemento químico metálico de distribución extracelular y cierta especificidad por el tejido miocárdico que aumenta su volumen de distribución y disminuye su tiempo de lavado sobre zonas necróticas de músculo cardíaco, dando lugar a un realce de señal tardía visible por RM en estas zonas. De este modo se puede cuantificar las dimensiones y características de la necrosis miocárdica.



señal que corresponde a la región necrótica y se calculará el área y el porcentaje de la extensión transmural de ese aumento según la fórmula: (área de aumento de señal x 100 / área del segmento). Se consideran segmentos no viables infartados aquellos acinéticos que presenten realce transmural tardío mayor del 50% del grosor de la pared ventricular. También se calculará la relación del área con la masa ventricular, estimando de este modo la MNM.

#### **4- 6 Protocolo cronológico de realización de ecocardiografía de estrés.**

Se realizará un estudio de ecocardiografía de estrés con dobutamina en la primera semana siguiente a la aleatorización y a los 9 meses de la intervención quirúrgica. Se colocarán trece electrodos, diez para el registro electrocardiográfico y tres para el equipo de ecocardiografía.

- 1- Se diluye una ampolla de dobutamina de 250ml. en 100 centímetros cúbicos (cc.) de solución dextrosa al 5%.
- 2- Se canaliza vía periférica con "Abocat" n°20\* o similar en miembro superior, conectado a un sistema de bomba de infusión de suero.
- 3- Se realiza ECG basal y se inicia el procedimiento de acuerdo al protocolo establecido por la "*American Society of Echocardiography*" en varias fases: basal, dobutamina a dosis progresivas (5 microgramos/kilogramo/minuto ( $\mu\text{gr}/\text{kg}/\text{min}$ ) y aumentando a 10  $\mu\text{gr}/\text{kg}/\text{min}$ ) y post-dosis.
- 4- Se adquieren en cada etapa imágenes ecocardiográficas en cuatro vistas (paraesternal eje largo, paraesternal eje corto, apical cuatro cámaras y apical dos cámaras), valorando la contractibilidad cardiaca y realizando un análisis

---

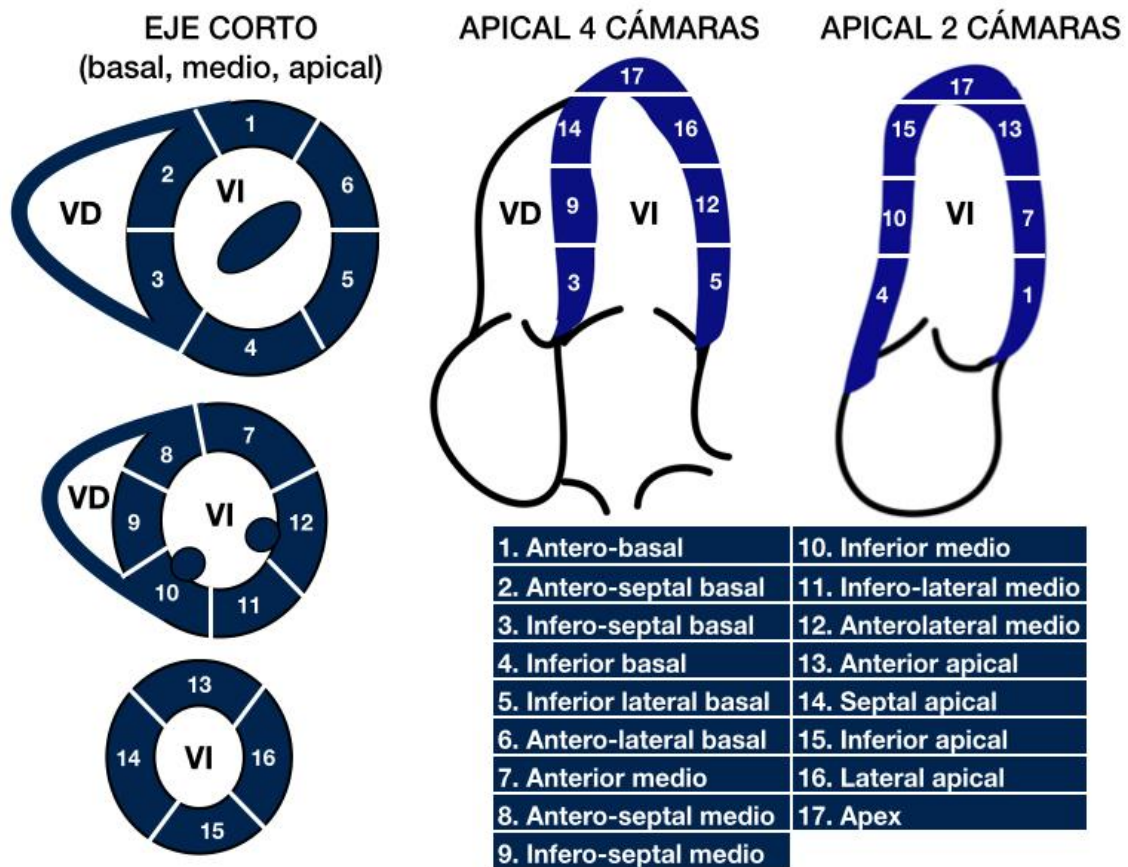
\* Catéter estrecho, alargado y hueco con el que se canaliza un vaso venoso periférico.

semicuantitativo con un modelo de 17 segmentos miocárdicos del VI propuesto por la Sociedad Americana de Ecocardiografía: Septo anterior basal, septo anterior medio, septo posterior basal, septo posterior medio, septo apical, lateral basal, lateral medio, lateral apical, anterior basal, anterior medio, anterior apical, inferior basal, inferior medio, inferior apical, posterior basal, posterior medio y apical (*figura 4*). Cada segmento es clasificado de 1 a 4 según su movilidad:

- 1 = normal.
- 2 = hipocinesia.
- 3 = acinesia.
- 4 = discinesia.

- 5- El índice de motilidad se calcula sumando la puntuación de cada uno de los segmentos y dividiendo ese valor por el número de segmentos analizados. Un índice de motilidad de 1 es normal. Cuanto mayor sea, peor es la contractilidad global o regional de la zona a estudio. Con estos datos se consigue el cálculo del índice de motilidad global del VI y regional del área infartada en condiciones basales y de estrés con dobutamina. Para el cálculo del GWMSI se tienen en cuenta todos los segmentos miocárdicos y para el cálculo del RWMSI únicamente se seleccionan los segmentos infartados, es decir aquellos que tienen alteraciones de la contractilidad en la región responsable del infarto.
- 6- Se observará la viabilidad miocárdica en cada segmento descrito. Serán considerados segmentos no viables infartados aquellos acinéticos que no presenten variación en la motilidad a dosis bajas (de viabilidad) de dobutamina.

Figura 4: Segmentos miocárdicos del ventrículo izquierdo según la Sociedad Americana de Ecocardiografía\*.



#### 4-7 Protocolo de extracción y procesamiento de progenitores hematopoyéticos mononucleares autólogos derivados de la médula ósea.

##### 4-7-1 Protocolo para extracción de la médula ósea.

- 1- Se llevará a cabo bajo sedación consciente. Para ello se procederá a la canalización de una vía periférica (proceso similar al recogido en la parte de ecocardiografía de estrés) para la administración de dicha medicación. Durante todo el procedimiento el paciente permanecerá

\* Tomado de Sociedad Americana de Ecocardiografía y American Heart Association.

- bajo monitorización de tensión arterial, ECG y saturación de oxígeno arterial.
- 2- Previo al inicio de la extracción se administrarán al paciente 0,5 ml de heparina sódica al 1% sin conservantes por cada 10 kg de peso por vía intravenosa.
  - 3- Se preparará una solución con 100 ml de plasma sanguíneo fisiológico más 1 ml de heparina sódica al 1% sin conservantes en una batea metálica.
  - 4- Posteriormente, se preparará una bolsa de transferencia\* de 100 ml a la que se añadirá 10 ml de plasma fisiológico y 1 ml de heparina sódica al 1% sin conservantes.
  - 5- La extracción de médula ósea se realizará mediante punción de cresta ilíaca posterior, previa desinfección de la piel con clorhexidina no alcohólica, con un trocar de punción conectado a una jeringa de 20 ml. En cada punción se aspirarán unos 5 cm de médula ósea. La médula así extraída se introducirá en la bolsa de transferencia.
  - 6- Tras cada punción-aspiración, el trocar con la jeringa se enjuagarán en la batea con la solución de plasma y heparina, para su reutilización. El procedimiento de punción y enjuague se repetirá hasta obtener 50 ml de médula ósea.
  - 7- En la bolsa de médula ósea se añadirán 20 ml de sangre periférica heparinizada del paciente.
  - 8- Una vez finalizado el procedimiento, se limpiará la zona de piel perforada con clorhexidina no alcohólica y se colocará un apósito

---

\* Recipiente no rígido, estéril con conector catéter de tipo bayoneta o similar para transporte de componentes sanguíneos.

compresivo sobre la misma. Dicho apósito podrá ser retirado al día siguiente del procedimiento.

### **4-7-2 Protocolo de procesamiento de los progenitores hematopoyéticos.**

- 1- La bolsa de progenitores hematopoyéticos obtenidos rotulada con los datos de identificación del paciente se llevará al laboratorio de criopreservación. Allí se recogerá una muestra de 4-5 ml para recuento de células mediante citometría de flujo\*.
- 2- A continuación se pesará para determinación del volumen con vistas a conocer el recuento total de células obtenidas.
- 3- Cada 10 ml de progenitores hematopoyéticos se mezclará con 40 ml de solución salina tampón con fosfato (PBS)<sup>†</sup>/heparina al 1% (100 ml de PBS/1ml de heparina al 1% sin conservantes).
- 4- Se filtra la médula diluida a través de un filtro de 200 µm de transfusión.
- 5- Se realiza un medio de Ficol<sup>‡</sup> en tubos de Falcon<sup>§</sup> de 50 ml en los que se ponen 20 ml de Ficol y 30 ml de la médula ósea que habíamos previamente diluido. Se centrifuga a 2.000 revoluciones por minuto (rpm) a 22 grados centígrados (°C) durante 25 minutos.
- 6- Se recoge la interfase y se realiza un lavado con PBS heparinizado centrifugando a 1.800 rpm a 10°C durante 10 minutos. Se retira el

---

\* La citometría de flujo es una tecnología biofísica basada en la utilización de la luz láser para el recuento y clasificación de las células según su morfología, biomarcadores y proteínas.

<sup>†</sup> "Posphate Buffer Saline" ó Solución Salina Tampón con Fosfato es una solución tampón con características similares al líquido extracelular de los mamíferos utilizada para la conservación celular en investigación biológica, bioquímica e inmunológica.

<sup>‡</sup> Polisacárido hidrofílico que separa las capas de la sangre en linfocitos, monocitos y demás células mononucleares formando una interfase bajo la capa de plasma sanguíneo (que se encontrará en la superficie del centrifugado).

<sup>§</sup> Tubos cónicos para centrifugación en laboratorio.

- sobrenadante y se hace otro lavado resuspendiendo el pellet en PBS heparinizado y centrifugando durante 10 minutos más a 1.800 rpm y a 10°C.
- 7- Se prepara una solución con PBS heparinizado y 2% de plasma autólogo inactivado.
  - 8- Obtención de plasma autólogo inactivado: Se realiza a partir de 20 ml de sangre venosa periférica heparinizada, obtenida en el momento de la extracción de médula ósea. Se centrifuga 15 minutos a 2.500 rpm a 4°C, recogiendo el plasma. Se inactiva durante 30 minutos a 56°C. De nuevo se centrifuga durante 15 minutos a 2.500 rpm y 4°C. Posteriormente, se pasa a través de un filtro estéril de 0,2 µm.
  - 9- Se procede al lisado y retirada de hematíes añadiendo 1 ml de agua (H<sub>2</sub>O) durante 1 minuto al cabo del cual se añaden 49 ml de la solución previamente preparada (PBS heparinizado y 2% de plasma autólogo inactivado). Se centrifuga durante 10 minutos a 1.800 rpm y 10°C.
  - 10- El pellet se resuspende en 1 ml de medio de cultivo celular del Instituto *Roswell Park Memorial* (RPMI) 1640\* o X-Vivo, y se retira una pequeña pequeña alícuota para proceder al conteo celular en cámara utilizando Azul Tripán<sup>†</sup> para poder obtener también la viabilidad celular.
  - 11- Para conservar las células durante la noche, la suspensión celular se resuspende en medio RPMI-1640 o X-Vivo suplementado con un 2 % de plasma autólogo. Se ajusta el número de células a 1x10<sup>6</sup>/ml.

---

\*"Roswell Park Memorial Institute Medium" ó Medio de cultivo celular del Instituto Roswell Park Memorial es un medio clásico utilizado para cultivos celulares humanos. Contiene gran cantidad de fosfatos y está diseñado para utilizarse en una atmósfera al 5% de CO<sub>2</sub> y 37°C. El subtipo más utilizado es el RPMI 1640.

<sup>†</sup> Colorante azoico utilizado en tinciones histológicas. Es fundamental para estudios de viabilidad, ya que permite diferenciar células muertas de células vivas.

- 12- Las células mononucleares se traspasan a una bolsa de Teflón y se dejan en incubación a 37°C y 5% de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>).
- 13- Al día siguiente la suspensión de células se traspasa a un tubo de Falcon de 50 ml y se centrifuga a 1.800 rpm a 10°C durante 10 minutos. El sobrenadante se emplea para controles microbiológicos. El pellet se resuspende con 1 ml de solución salina isotónica heparinizada y de aquí se toma una pequeña alícuota para citometría y viabilidad en cámara con Azul Tripán.
- 14- Se resuspende el mililitro celular en 9 ml de plasma fisiológico heparinizado y se transporta en una jeringa de 20 ml al quirófano.

### **4-7-3 Tipaje y selección de progenitores hematopoyéticos.**

Durante el procedimiento de procesado de progenitores hematopoyéticos se tipificará la proporción de células progenitoras: CD34+, CD117+ y CD133+. Estos marcadores, según las revisiones actuales, son los que definen las células progenitoras con mayor plasticidad neomiogénica y neoangiogénica.

### **4-8 Implante intramiocárdico transepicárdico de progenitores hematopoyéticos.**

El día de la intervención quirúrgica se considerará el día “0” del estudio. La CRC se realizará con CEC.

Al finalizar el procedimiento de revascularización cardíaca, se administrarán las CMMAMO mediante inyección intramiocárdica. La zona de inyección será definida de forma previa a la cirugía mediante el estudio ecocardiográfico y de RM. Durante la cirugía se identificará la zona no viable (región del infarto) procediéndose a inyectar a través de una aguja de punción retrobulbar del n°23 el volumen total de

células (10 ml) para lo cual se realizan 10 trayectorias de la aguja que atraviesen la región no viable con sus segmentos acinéticos y la región peri-infarto. En cada uno de estos canales se inyectará 1 ml progresivamente mientras se hace retroceder la aguja de tal forma que se inyecten células en todo el grosor de la pared miocárdica. Para asegurarnos que la aguja no ha atravesado el miocardio y está en la cámara ventricular se realiza aspirado previo a la inyección. Posteriormente se mantendrá una presión digital para evitar que la infusión salga por presión positiva intramural al exterior.

En los pacientes control la inyección se realizará en las mismas condiciones, sin embargo el contenido de la punción será SSF (placebo).

La región en la que se inyectarán las células será revascularizada, siempre que esté indicado anatómicamente.

### **4-9 Protocolo de tratamiento postoperatorio.**

#### **4-9-1 Tratamiento farmacológico específico postoperatorio.**

Todos los pacientes recibirán una pauta de corticoesteroides en el postoperatorio como se describe a continuación:

- Metilprednisolona 125 mg vía intravenosa tras la cirugía.
- Metilprednisolona 125 mg/12 horas vía intravenosa (día posterior a la cirugía).
- Metilprednisolona 125 mg/24 horas vía intravenosa (segundo día posterior a la cirugía).
- Prednisona 30 mg/24 horas vía oral (tercer día posterior a la cirugía).
- Prednisona 15 mg/24 horas vía oral (cuarto día posterior a la cirugía).



- Prednisona 10 mg/24 horas vía oral (del quinto al octavo día posterior a la cirugía).
- Prednisona 5 mg/24 horas vía oral (del noveno día hasta 15 días posterior a la cirugía).

Todos los pacientes recibirán amiodarona de forma postoperatoria según el siguiente esquema: 600 mg de carga (200 mg / 8 horas durante 1 semana, seguido de 200 mg / 24 horas durante 1 mes).

### **4-9-2 Protocolo de prevención secundaria tras el alta hospitalaria.**

Los pacientes asintomáticos asignados a cualquiera de los dos grupos de estudio deben seguir el siguiente protocolo de prevención secundaria:

- Administración de ácido acetilsalicílico (100 – 300 mg) indefinidamente.
- Instauración de una dieta rica en fibra y aceite de oliva y baja en grasas saturadas (menos del 7% de la ingesta calórica total) y colesterol (menos de 200 mg/día).
- Administración de estatinas especialmente cuando alguna de las determinaciones analíticas realizadas durante la hospitalización demuestren un nivel de colesterol total de  $\geq 200$  mg/dl o un nivel de colesterol-LDL (colesterol-lipoproteínas de baja densidad)  $\geq 125$  mg/dl. Este tratamiento se modificará para alcanzar el objetivo de obtener un nivel estable de colesterol-LDL  $\leq 100$  mg/dl.
- Tratamiento con betabloqueantes durante al menos dos años, de acuerdo con los criterios y pautas establecidos con anterioridad, si no existen contraindicaciones.

- Tratamiento con IECAs durante al menos un año, de acuerdo con los criterios y pautas establecidos con anterioridad, si no existen contraindicaciones.

#### **4-10 Cálculo del tamaño muestral y análisis estadístico.**

El tamaño muestral fue calculado mediante el programa *C4-Study Desing Pack* (*Glaxo Wellcome, v. 1.1*). Para ello, se tuvo en cuenta la media de la mejoría de la FEVI en los últimos estudios publicados: el incremento de la FEVI basal y a los 6-9 meses en el grupo control y en el grupo tratado con células progenitoras adultas asociado a CRC es de aproximadamente un 6-9% y un 15-20% respectivamente con una desviación típica conjunta de 5. Se asumió un 10% de pérdidas de seguimiento y se estableció un nivel de significación del 5% (error alfa = 0,05<sup>\*</sup>) y una potencia del 80% (error beta = 0,20<sup>†</sup>). Por tanto, se considerarán diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos los p valor  $\leq 0,05^{\ddagger}$  y diferencias con tendencia estadística sin llegar a la significación aquellas variables comparativas con p valor  $\leq 0,1$ . El análisis estadístico ha sido llevado a cabo mediante el programa *IBM SPSS Statistics v.23*. Las variables categóricas se expresan como valor absoluto y porcentaje y las continuas como media  $\pm$  desviación estándar (DS)<sup>§</sup> y/o mediana<sup>\*\*</sup>,

---

\* Error cometido cuando el investigador rechaza la hipótesis nula (denominado falso positivo).

† Error cometido cuando el investigador no rechaza la hipótesis nula siendo ésta falsa (denominado falsos negativo).

‡ El p-valor es la probabilidad de obtener un resultado al menos tan extremo como el que realmente se ha obtenido suponiendo que la hipótesis nula es cierta. Cuando el p valor es menor que el error alfa, podría asumirse el rechazo de la hipótesis nula.

§ Corresponde a la raíz cuadrada de la varianza y es una medida de dispersión de los datos de una determinada variable cuantitativa.

\*\* La mediana representa el valor de la variable de posición central en un conjunto de datos ordenados, que deja el 50% de los datos por encima del valor de la mediana y el otro 50% por debajo de su valor. La mediana se influencia menos que la media por los valores extremos de las variables.

IQL\* y máximo y mínimo en función del cumplimiento de pruebas de normalidad. La asunción de normalidad en las variables cuantitativas se ha comprobado mediante el análisis de la Curtosis y asimetría, el test de Shapiro-Wilk's y los gráficos qq-plot y pp-plot. La comparación dentro del mismo grupo, antes y después del procedimiento quirúrgico se llevó a cabo mediante el test T de Student para muestras apareadas. La comparación entre ambos grupos (CRC + CMMAMO vs CRC aislada) se realizó mediante el test Chi-cuadrado y el test exacto de Fisher<sup>†</sup> en el caso de variables cualitativas y el test T de Student para muestras independientes en variables cuantitativas, o su homólogo no paramétrico, la prueba U de Mann-Whitney<sup>‡</sup>, si no cumplía la hipótesis de normalidad.

Se realizó un análisis detallado de las características basales entre ambos grupos para establecer que eran homogéneos a la hora de las comparaciones prospectivas. Tras obtener grupos similares estadísticamente en cuanto a variables basales, se compararon con las pruebas estadísticas y los niveles de significación descritos las variables objetivo (basales y a los 9 meses de la cirugía) en ambos grupos: FEVI (por ecocardiografía y RM), GWMSI (por ecocardiografía y RM), RWMSI (por ecocardiografía y RM), VTS, VTD, número de segmentos acinéticos no viables recuperados y MNM. Posteriormente se comparó el incremento o mejoría tras la cirugía de estos parámetros entre ambos grupos, con el objetivo de esclarecer si la mejoría de los mismos había sido estadísticamente mayor en el grupo de tratamiento activo celular.

---

\* Diferencia entre el primer cuartil (percentil 25) y el tercer cuartil (percentil 75) de una distribución de una variable. Es una medida de dispersión estadística asociada a la expresión de la mediana (que representa el percentil 50).

<sup>†</sup> Prueba de significación estadística utilizada en el análisis de tablas de contingencia cuando el tamaño muestral es pequeño.

<sup>‡</sup> Prueba de significación estadística no paramétrica (sin cumplir hipótesis de normalidad) aplicada a muestras independientes. Se considera la versión no paramétrica de la T de Student.



## **RESULTADOS**



### **5- RESULTADOS.**

Un total de 20 pacientes fueron aleatorizados e incluidos en el protocolo según lo descrito en la metodología del estudio y 17 pacientes completaron el seguimiento a los 9 meses. Tres pacientes fueron excluidos para la realización de los estudios estadísticos comparativos, dos de ellos correspondían al grupo CRC + CMMAMO y uno al grupo de CRC aislada. Las causas de las exclusiones en el grupo de tratamiento celular fueron las siguientes: uno de los pacientes fue sometido a cirugía valvular asociada a la CRC tras observarse una estenosis aórtica moderada en los estudios preoperatorios; el otro paciente sufrió un evento adverso grave: ACV isquémico masivo en el territorio de la arteria cerebral media derecha a los 60 días de recibir el alta por parte de cirugía cardíaca. El paciente se había recuperado sin complicaciones de la intervención y realizaba una vida de características normales para su edad y estado físico. El paciente excluido del grupo control falleció en la inducción anestésica previa a la CRC.

En cuanto a las características basales en ambos grupos de comparación, no se halló ningún paciente con FA previa a la cirugía, arteriopatía periférica o antecedentes familiares de cardiopatía isquémica. Un paciente de cada grupo había presentado previamente un síndrome coronario agudo sin elevación del segmento S-T (SCASEST) que fue revascularizado de forma percutánea con stent único. El número de pacientes diabéticos era mayor en el grupo celular, sin embargo, había un número mayor de pacientes dislipémicos en el grupo control. En ambos casos las diferencias no eran estadísticamente significativas. Todos los pacientes sufrieron un IAM transmural evolucionado con onda Q, clasificado como Killip I o II; la arteria responsable del IAM fue la arteria coronaria derecha (CD) o la arteria descendente anterior (DA). En el total de pacientes existía enfermedad coronaria severa de tres vasos (o de tronco coronario

## Resultados

común izquierdo y tres vasos), por tanto, en la cirugía de revascularización se realizó un mínimo de tres *bypass* en todos los casos.

En la *tabla 3* se especifican las características basales (variables clínicas, antecedentes y variables ecocardiográficas y de la RM preoperatoria) y las variables intraoperatorias de los pacientes en ambos grupos de comparación. Como puede observarse no existen diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos, con una discreta menor FEVI preoperatoria medida por ecocardiografía en el grupo control. Dicha diferencia es inapreciable en condiciones basales cuando la prueba diagnóstica elegida es la RM.

*Tabla 3: Características preoperatorias e intraoperatorias en ambos grupos de tratamiento.*

<b>VARIABLES (% ó media ± DS)</b>	<b>CRC + CMMAMO (n=8)</b>	<b>CRC (n=9)</b>	<b>p- valor</b>
Sexo (varón)	87.5 %	88.9 %	0.999
Edad (años)	62.63 (8.35)	64.78 (11.48)	0.669
Diabetes Mellitus	37.5 %	11.1 %	0.294
Tabaquismo (extabaquismo o activo)	75 %	55.6 %	0.620
Hipertensión arterial	25 %	33.3 %	0.999
Arteriopatía periférica	0 %	0 %	1
FA preoperatoria	0 %	0 %	1
Dislipemia	37.5 %	44.4 %	0.999
Índice de masa corporal	29.28 (4.40)	27.17 (4.08)	0.321
Sobrepeso (IMC≥30)	87,5 %	66,7 %	0.576
AP de cardiopatía isquémica	12.5 %	11.1 %	0.999
AF de cardiopatía isquémica	0 %	0 %	1
IAM Killip I	75 %	77.8 %	0.999
IAM Killip II	25 %	22.2 %	0.999
Dominancia derecha	100 %	77.8 %	0.471



## Resultados

Enfermedad coronaria:			
• TCI y 3 vasos	12.5 %	44.4 %	0.308
• 3 vasos	75 %	55.6 %	
Arteria responsable del IAM:			
• Arteria coronaria derecha	62.5 %	33.3 %	0.347
• Arteria descendente anterior	37.5 %	66.7 %	
Número de bypass			
• Tres	62.5 %	44.4 %	0.637
• Cuatro	37.5 %	55.6 %	
FEVI preoperatoria (ventriculografía)	45.69 (4.93)	40.11 (8.50)	0.125
CK preoperatoria (U/l)	1063.88 (945.7)	1086.33 (1222.2)	0.967
CK-MB preoperatoria (U/l)	100.89 (70.40)	142.86 (166.28)	0.518
FEVI preoperatoria (RM)	49.23 (8.94)	48.29 (7.61)	0.830
FEVI preoperatorio (ECO)	49.38 (7.95)	44.78 (7.73)	0.246
Número de segmentos infartados no viables (RM preoperatoria)	4.38 (1.85)	4.71 (1.80)	0.725
GWMSI (ECO preoperatorio)	1.53 (0.22)	1.56 (0.30)	0.844
RWMSI (ECO preoperatorio)	2.62 (0.35)	2.46 (0.57)	0.483
GWMSI (RM preoperatoria)	1.47 (0.24)	1.61 (0.35)	0.386
RWMSI (RM preoperatoria)	2.52 (0.40)	2.43 (0.43)	0.680
GWMSI (ECO estrés preoperatorio)	1.44 (0.18)	1.49 (0.34)	0.678
RWMSI (ECO estrés preoperatorio)	2.49 (0.44)	2.34 (0.71)	0.610
VTD (RM preoperatoria) (ml.)	160.77 (50.71)	149.89 (30.02)	0.593
VTS (RM preoperatoria) (ml.)	84.96 (34.25)	80.30 (24.03)	0.747
Masa necrótica miocárdica (RM preoperatoria) (gr.)	15.54 (5.48)	19.33 (9.21)	0.368
Tiempo de CEC (min)	118.38 (33.05)	120.78 (24.78)	0.867
Tiempo de clampaje aórtico (min)	76.50 (15.61)	75.22 (12.81)	0.855

La tabla representa las características basales preoperatorias e intraoperatorias en ambos grupos. Como puede observarse no existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de comparación.

Las variables numéricas se expresan con media (desviación estándar). Las variables categóricas son expresadas mediante porcentajes. DS: Desviación estándar. CRC:

## Resultados

---

Cirugía de revascularización coronaria. CMMAMO: Células madre mononucleadas autólogas derivadas de la médula ósea. FA: Fibrilación auricular. IMC: Índice de masa corporal. AP: Antecedentes personales. AF: Antecedentes familiares. Killip: Severidad del infarto agudo de miocardio según la clasificación de Killip-Kimball. TCI: Tronco común de la arteria coronaria izquierda. IAM: Infarto agudo de miocardio. FEVI: Fracción de eyección del ventrículo izquierdo. CK: Creatinina-kinasa. CKMB: Fracción MB de Creatin-kinasa. RM: Resonancia magnética. ECO: Ecocardiograma transtorácico. GWMSI: “*Global wall motion score index*” ó Índice de motilidad miocárdica global. RWMSI: “*Regional wall motion score index*” ó Índice de motilidad miocárdica regional del área infartada. VTD: Volumen telediastólico del ventrículo izquierdo. VTS: Volumen telesistólico del ventrículo izquierdo. gr.: gramos. min.: minutos. U/l: Unidades internacionales por litro.

El estudio de RM con contraste gadolinio fue parcial en un paciente del grupo de tratamiento celular, ya que padecía claustrofobia. Únicamente se vio comprometido el cálculo de la MNM, el resto de parámetros pudieron ser estudiados con normalidad. No se consiguió realizar la RM de los 9 meses en 2 enfermos del grupo control: uno de ellos no acudió a la realización de la prueba de los 9 meses a pesar de múltiples avisos y al otro se le implantó un DAI a los 5 meses de la CRC por TV sostenidas de repetición. En dicho paciente, los injertos (*bypass* coronarios) correspondientes a la CRC estaban permeables y plenamente funcionantes en el momento del diagnóstico de las arritmias malignas. Un mínimo de 25 millones de CMMAMO fueron implantadas en el grupo de tratamiento celular con una distribución media de 0,78% de células CD34+, 0,39% de CD133+ y 1,56% de CD117+.

En nuestro estudio, como se ha demostrado ampliamente en la literatura científica, la CRC mejora en ambos grupos la mayoría de las variables resultado estudiadas, independientemente del implante de células madre. La *tabla 4* muestra la mejoría de los valores medios de las principales variables a estudio después de la CRC en el grupo de tratamiento celular. Como puede observarse existe mejoría estadísticamente significativa en la FEVI por RM, FEVI por ecocardiograma, recuperación de segmentos infartados no viables, GWMSI y RWMSI por ecocardiograma, RWMSI por RM,

## Resultados

RWMSI en ecocardiograma de estrés máximo y VTS por RM. Existe tendencia estadística en cuanto a la mejoría del GWMSI por RM y GWMSI por ecocardiograma de estrés máximo. No se encontraron diferencias en cuanto al descenso del VTD y la MNM antes y después de la cirugía en el grupo de tratamiento activo celular.

*Tabla 4: Evolución de las variables resultado principales del estudio antes y después de la cirugía en el grupo de tratamiento activo celular.*

Variables	CRC + CMMAMO (n=8) media (DS)		
	Basal	9 Meses	p-valor
FEVI RM (%)	49.23 (8.94)	56.70 (7.12)	0.015
FEVI ECO (%)	49.38 (7.95)	56.88 (8.54)	0.015
Segmentos infartados no viables	4.38 (1.85)	1.88 (1.89)	0.002
GWMSI ECO	1.53 (0.22)	1.34 (0.23)	0.034
RWMSI ECO	2.62 (0.35)	1.96 (0.65)	0.013
GWMSI RM	1.47 (0.24)	1.25 (0.17)	0.068
RWMSI RM	2.52 (0.40)	1.78 (0.47)	0.010
GWMSI - Eco estrés	1.44 (0.18)	1.29 (0.23)	0.075
RWMSI - Eco estrés	2.49 (0.44)	1.90 (0.67)	0.038
VTS RM (ml)	84.96 (34.25)	61.90 (18.90)	0.035
VTD RM (ml)	160.77 (50.71)	142.37 (32.28)	0.125
Masa necrótica miocárdica (RM) (gr.)	15.54 (5.48)	12.97 (6.03)	0.197

La tabla representa la evolución de las variables resultado más representativas en el momento antes de la cirugía ("Basal") y tras 9 meses del procedimiento quirúrgico ("9 Meses") en el grupo de tratamiento celular. Se realiza una comparativa de todas las variables expuestas, antes y después de la cirugía dentro del grupo de tratamiento activo. Como puede observarse la cirugía de revascularización miocárdica mejora de forma significativa todos los parámetros sombreados en gris.

Todas las variables se expresan con media (desviación estándar). DS: Desviación estándar. CRC: Cirugía de revascularización coronaria. CMMAMO: Células madre mononucleadas autólogas derivadas de la médula ósea. FEVI: Fracción de eyección del ventrículo izquierdo. RM: Resonancia magnética. ECO: Ecocardiograma transtorácico. GWMSI: "Global wall motion score index" ó Índice de motilidad miocárdica global. RWMSI: "Regional wall motion score index" ó Índice de motilidad miocárdica regional del área infartada. VTD: Volumen telediastólico del ventrículo izquierdo. VTS: Volumen telesistólico del ventrículo izquierdo. Eco-estrés: Ecocardiograma transtorácico de estrés con dobutamina. ml.: mililitros gr.: gramos.

## Resultados

La *tabla 5* representa la mejoría de los valores medios de las variables objetivo después de la cirugía de revascularización miocárdica en el grupo de CRC aislada. Como puede observarse existe mejoría estadísticamente significativa en todos los parámetros, exceptuando el VTD, en el cual se halla tendencia estadística.

*Tabla 5: Evolución de las variables resultado principales del estudio antes y después de la cirugía en el grupo control.*

Variables	CRC (n=9) media (DS)		
	Basal	9 Meses	p-valor
FEVI RM (%)	48.29 (7.61)	55.28 (7.29)	0.007
FEVI ECO (%)	44.78 (7.73)	50.56 (9.66)	0.028
Segmentos infartados no viables	4.71 (1.80)	3.43 (1.51)	0.022
GWMSI ECO	1.56 (0.30)	1.39 (0.28)	0.026
RWMSI ECO	2.46 (0.57)	1.99 (0.63)	0.005
GWMSI RM	1.61 (0.35)	1.33 (0.25)	0.046
RWMSI RM	2.43 (0.43)	1.91 (0.69)	0.011
GWMSI - Eco estrés	1.49 (0.34)	1.31 (0.30)	0.031
RWMSI - Eco estrés	2.34 (0.71)	1.88 (0.66)	0.010
VTS RM (ml)	80.30 (24.03)	64.88 (19.79)	0.010
VTD RM (ml)	149.89 (30.02)	135.85 (33.29)	0.065
Masa necrótica miocárdica (RM) (gr.)	19.33 (9.21)	10.82 (7.16)	0.021

La tabla representa la evolución de las variables resultado más representativas en el momento antes de la cirugía ("Basal") y tras 9 meses del procedimiento quirúrgico ("9 Meses") en el grupo control. Se realiza una comparativa de todas las variables expuestas, antes y después de la cirugía dentro del grupo mencionado. Como puede observarse la cirugía de revascularización miocárdica mejora de forma significativa todos los parámetros sombreados en gris.

Todas las variables se expresan con media (desviación estándar). DS: Desviación estándar. CRC: Cirugía de revascularización coronaria. CMMAMO: Células madre mononucleadas autólogas derivadas de la médula ósea. FEVI: Fracción de eyección del ventrículo izquierdo. RM: Resonancia magnética. ECO: Ecocardiograma transtorácico. GWMSI: "Global wall motion score index" ó Índice de motilidad miocárdica global. RWMSI: "Regional wall motion score index" ó Índice de motilidad miocárdica regional del área infartada. VTD: Volumen telediastólico del ventrículo izquierdo. VTS: Volumen telesistólico del ventrículo izquierdo. Eco-estrés: Ecocardiograma transtorácico de estrés con dobutamina. ml.: mililitros gr.: gramos.

## Resultados

Los resultados descritos en las *tablas 4 y 5* pueden observarse gráficamente, junto al estudio comparativo de la mejoría entre ambos grupos en las *figuras 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 y 16*.

Sin embargo, el objetivo principal del ensayo clínico actual es valorar si la mejoría de las variables objetivo es mayor en el grupo de tratamiento celular que en el grupo control. Para ello se realizó una comparación de la media de la diferencia (aumento o descenso del parámetro estudiado después de la cirugía) de las variables descritas entre ambos grupos (*Tabla 6*). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos en cuanto al incremento de la FEVI por RM o ecocardiograma, descenso del GWMSI y RWMSI por RM ni ecocardiograma basal ni de estrés con dobutamina, descenso del VTS ni VTD y descenso de la masa necrótica miocárdica. Se halló tendencia estadística ( $p=0.091$ ) en la media del número de segmentos acinéticos recuperados a favor del grupo de tratamiento celular (*figuras 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 y 16*).

*Tabla 6: Comparación de la mejoría (incremento o descenso) de las variables objetivo entre ambos grupos después de la cirugía.*

<b>Variabes</b>	<b>CRC + CMMAMO (n=8) media (SD)</b>	<b>CRC (n=9) media (SD)</b>	<b>p-valor</b>
Incremento FEVI RM (%)	7.47 (6.61)	6.99 (4.60)	0.876
Incremento FEVI ECO (%)	7.50 (6.61)	5.78 (6.48)	0.596
Segmentos infartados no viables recuperados	2.50 (1.41)	1.28 (1.11)	0.091
Descenso GWMSI ECO	0.19 (0.21)	0.17 (0.18)	0.780
Descenso RWMSI ECO	0.66 (0.56)	0.47 (0.36)	0.400
Descenso GWMSI RM	0.22 (0.28)	0.28 (0.39)	0.759
Descenso RWMSI RM	0.74 (0.60)	0.52 (0.38)	0.415

## Resultados

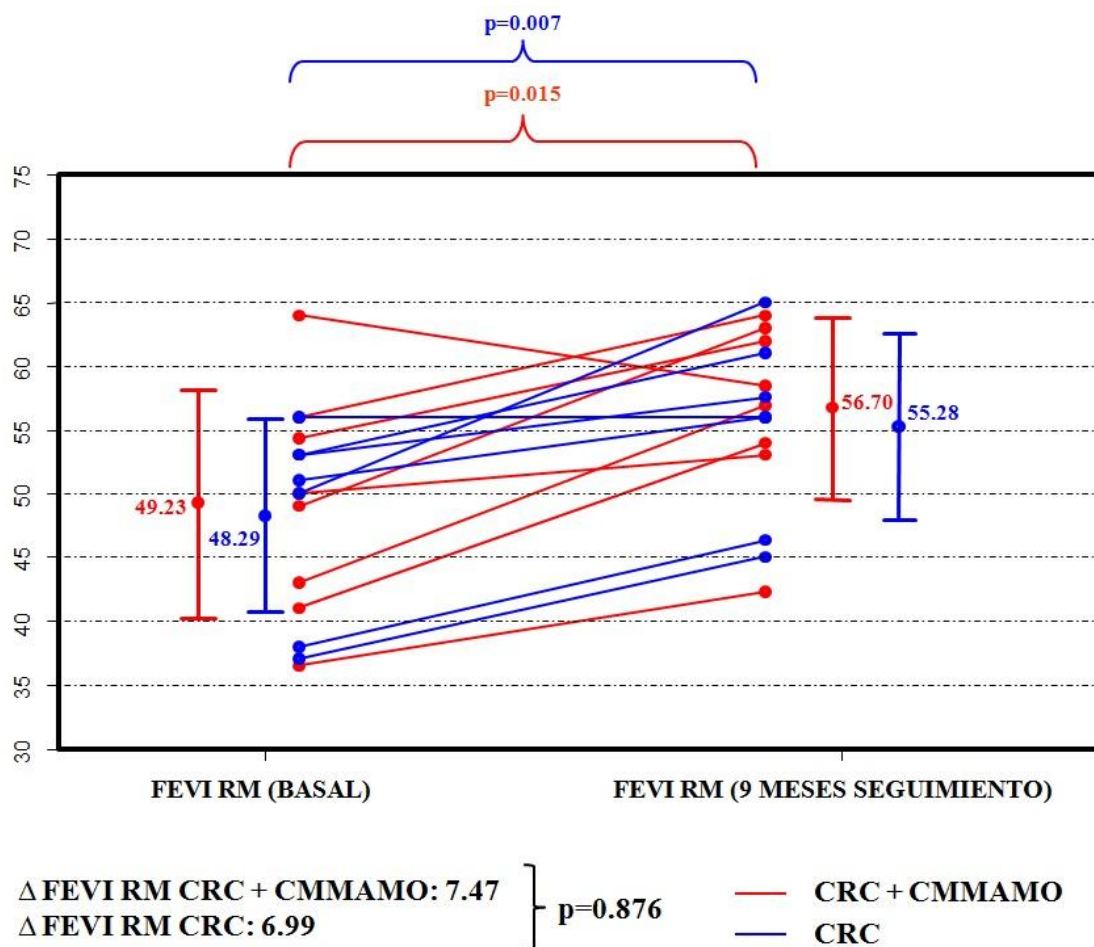
Descenso GWMSI - Eco estrés	0.15 (0.20)	0.18 (0.21)	0.736
Descenso RWMSI - Eco estrés	0.59 (0.65)	0.45 (0.41)	0.610
Descenso VTS (ml.)	23.06 (25.03)	15.42 (13.93)	0.442
Descenso VTD (ml.)	18.40 (29.89)	14.05 (19.72)	0.725
Descenso de masa necrótica miocárdica (RM) (gr.)	2.57 (4.68)	8.51 (7.28)	0.095

Esta tabla representa una comparativa del cambio (incremento o descenso) de las principales variables a estudio tras 9 meses de la cirugía entre ambos grupos. Como puede observarse, aunque la cirugía de revascularización miocárdica mejora de forma significativa prácticamente todos los parámetros, el porcentaje de mejoría no es mayor en el grupo de tratamiento con células madre mononucleadas autólogas de la médula ósea en comparación con el grupo de cirugía coronaria aislada. Sin embargo, los segmentos acinéticos no viables recuperados son sensiblemente mayores en el grupo de tratamiento celular, existiendo tendencia estadística ( $p=0.091$ ), sin llegar a la significación marcada.

Todas las variables se expresan como media (desviación estándar). DS: Desviación estándar. CRC: Cirugía de revascularización coronaria. CMMAMO: Células madre mononucleadas autólogas derivadas de la médula ósea. FEVI: Fracción de eyección del ventrículo izquierdo. RM: Resonancia magnética. ECO: Ecocardiograma transtorácico. GWMSI: “*Global wall motion score index*” ó Índice de motilidad miocárdica global. RWMSI: “*Regional wall motion score index*” ó Índice de motilidad miocárdica regional del área infartada. VTD: Volumen telediastólico del ventrículo izquierdo. VTS: Volumen telesistólico del ventrículo izquierdo. Eco-estrés: Ecocardiograma transtorácico de estrés con dobutamina. ml.: mililitros gr.: gramos.

## Resultados

Figura 5: Evolución de la FEVI calculada por RM en ambos grupos.



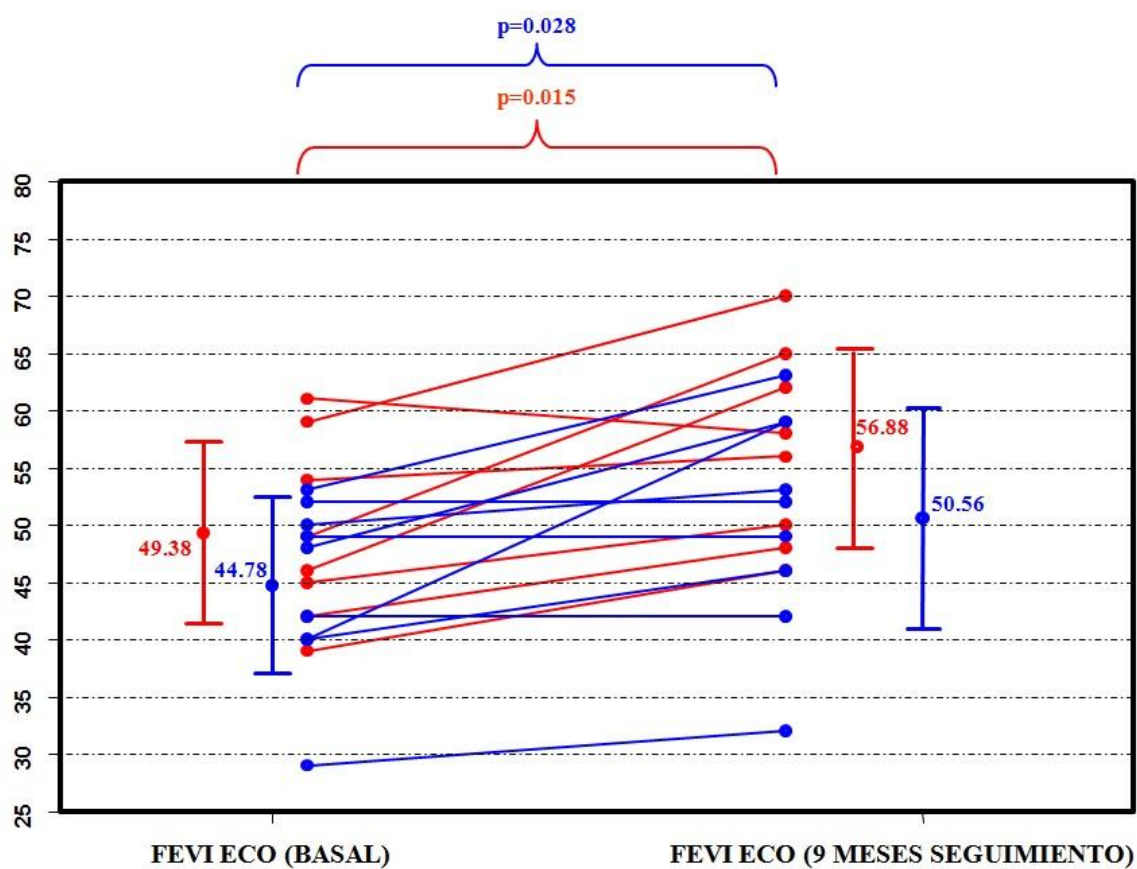
Evolución de la FEVI calculada mediante RM antes y después de la cirugía en ambos grupos. Puede observarse que la CRC mejora la FEVI estadísticamente en el grupo control ( $p=0.007$ ) y en el grupo de tratamiento celular ( $p=0.015$ ). Al comparar la media del incremento de la FEVI ( $\Delta$ ) entre ambos grupos no se encuentran diferencias estadísticamente significativas ( $p=0.876$ ).

Todas las cifras son expresadas como medias.  $\Delta$ : Diferencia (incremento o descenso) del parámetro a estudio antes y después de la cirugía en un determinado grupo. CRC: Cirugía de revascularización coronaria aislada. CRC + CMMAMO: Cirugía de revascularización coronaria asociada a implante de células madre mononucleadas autólogas derivadas de la médula ósea. FEVI: Fracción de eyección del ventrículo izquierdo. RM: Resonancia magnética.



## Resultados

Figura 6: Evolución de la FEVI calculada por ecocardiografía transtorácica en ambos grupos.



$\Delta$  FEVI ECO CRC + CMMAMO: 7.50  
 $\Delta$  FEVI ECO CRC: 5.78
 } p=0.596
— CRC + CMMAMO  
— CRC

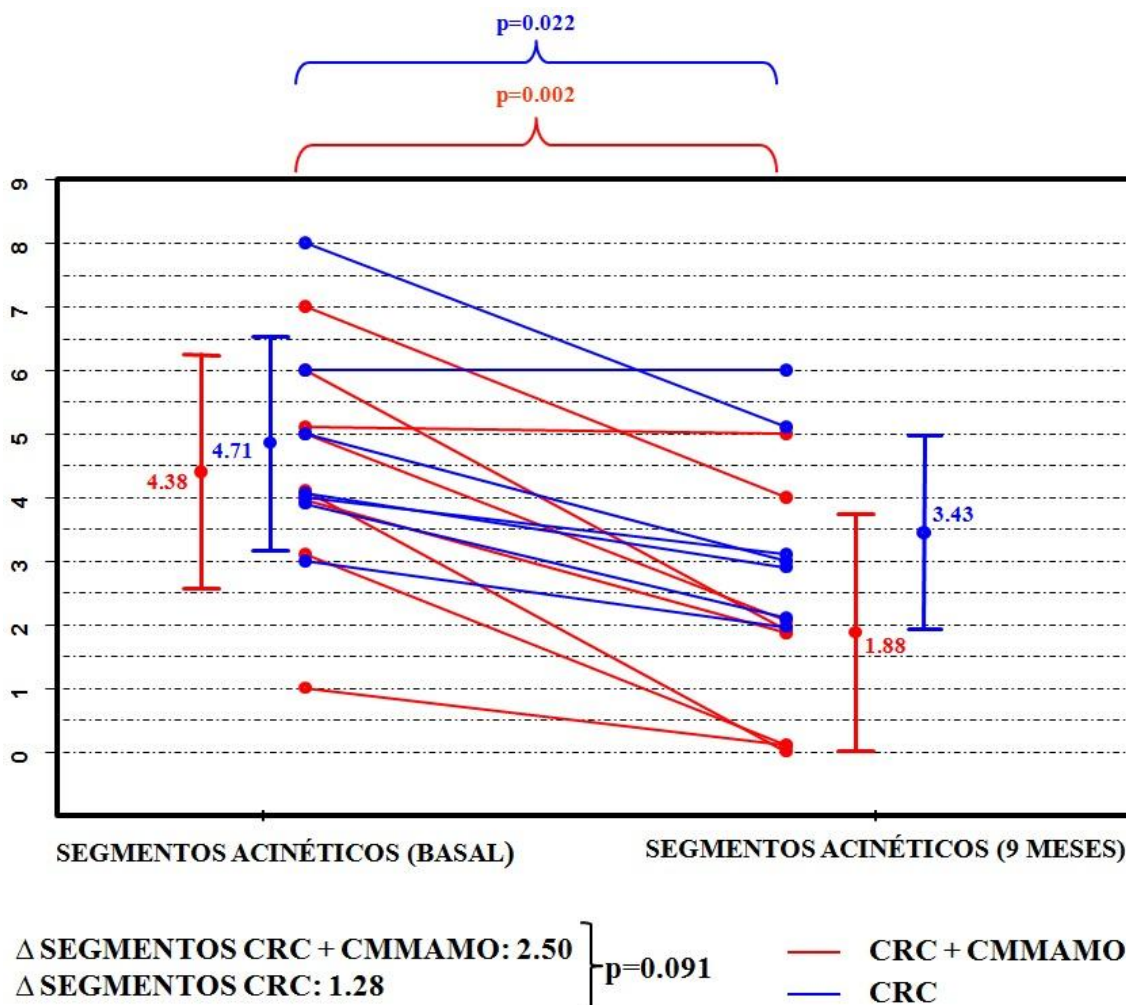
Evolución de la FEVI calculada mediante ecocardiograma transtorácico antes y después de la cirugía en ambos grupos. Puede observarse que la CRC mejora la FEVI estadísticamente en el grupo control ( $p=0.028$ ) y en el grupo de tratamiento celular ( $p=0.015$ ). Al comparar la media del incremento de la FEVI ( $\Delta$ ) entre ambos grupos no se encuentran diferencias estadísticamente significativas ( $p=0.596$ ).

Todas las cifras son expresadas como medias.  $\Delta$ : Diferencia (incremento o descenso) del parámetro a estudio antes y después de la cirugía en un determinado grupo. CRC: Cirugía de revascularización coronaria aislada. CRC + CMMAMO: Cirugía de revascularización coronaria asociada a implante de células madre mononucleadas autólogas derivadas de la médula ósea. FEVI: Fracción de eyección del ventrículo izquierdo. ECO: Ecocardiograma transtorácico.



## Resultados

Figura 7: Evolución de los segmentos infartados acinéticos no viables.

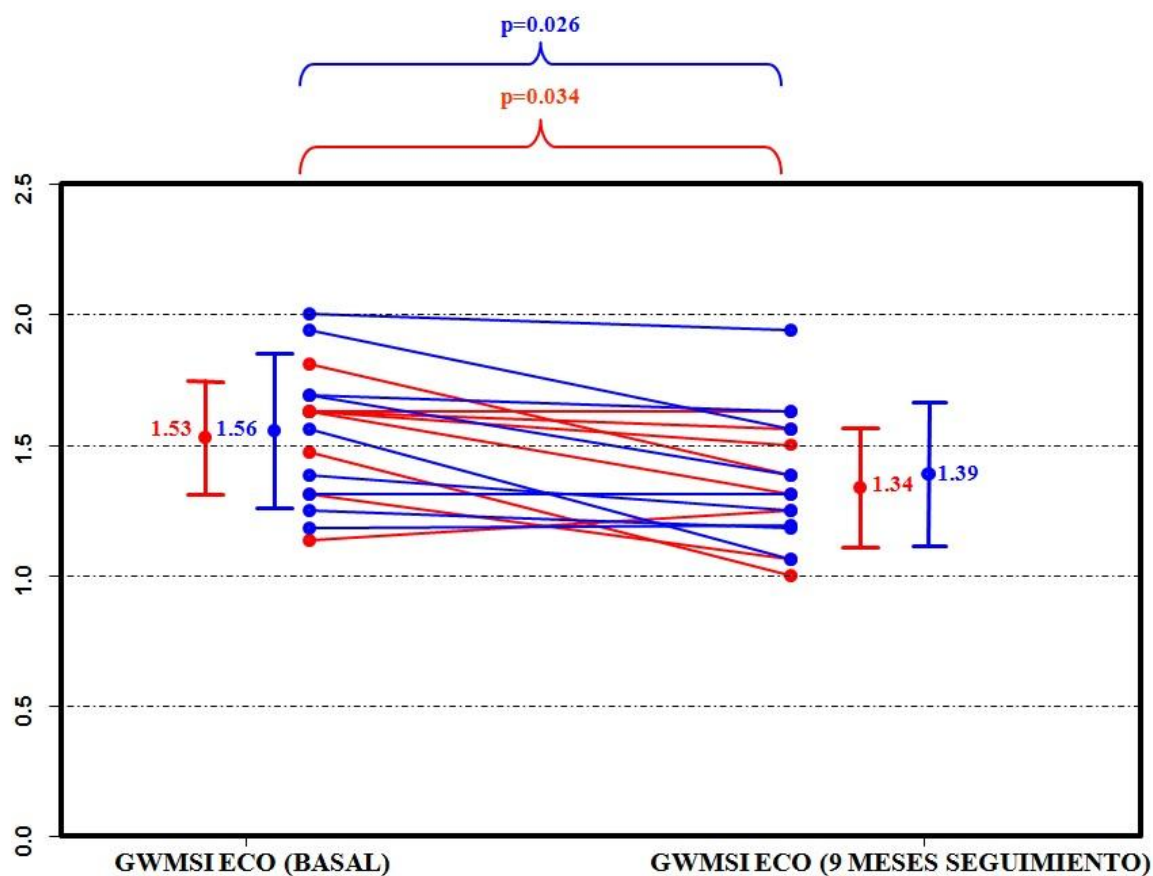


Evolución de los segmentos acinéticos no viables (observados mediante RM) antes y después de la cirugía en ambos grupos. Puede observarse que la CRC mejora estadísticamente el número de segmentos acinéticos recuperados en el grupo control ( $p=0.022$ ) y en el grupo de tratamiento celular ( $p=0.002$ ). Al comparar la media del descenso del número de segmentos acinéticos recuperados ( $\Delta$ ) entre ambos grupos se encuentra tendencia estadística a favor del grupo de tratamiento celular ( $p=0.091$ ).

Todas las cifras son expresadas como medias.  $\Delta$ : Diferencia (incremento o descenso) del parámetro a estudio antes y después de la cirugía en un determinado grupo. CRC: Cirugía de revascularización coronaria aislada. CRC + CMMAMO: Cirugía de revascularización coronaria asociada a implante de células madre mononucleadas autólogas derivadas de la médula ósea. SEGMENTOS: Segmentos acinéticos no viables observados mediante RM.

## Resultados

Figura 8: Evolución del GWMSI calculado por ecocardiografía transtorácica en ambos grupos.



$\Delta$  GWMSIECO CRC + CMMAMO: 0.19  
 $\Delta$  GWMSIECO CRC: 0.17
 }  $p=0.780$ 

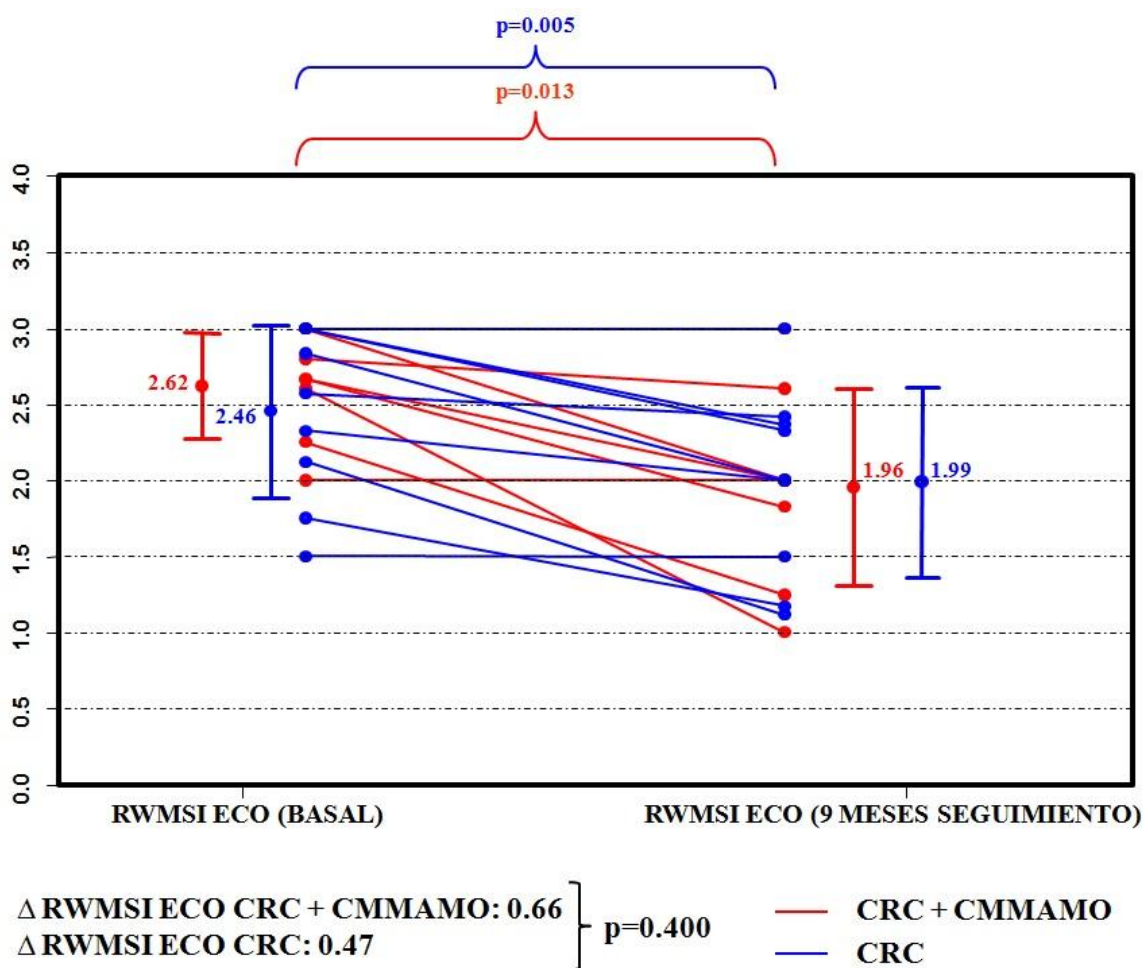
— CRC + CMMAMO  
— CRC

Evolución del GWMSI calculado mediante ecocardiograma transtorácico antes y después de la cirugía en ambos grupos. Puede observarse que la CRC mejora el GWMSI estadísticamente en el grupo control ( $p=0.026$ ) y en el grupo de tratamiento celular ( $p=0.034$ ). Al comparar la media del descenso del GWMSI ( $\Delta$ ) entre ambos grupos no se encuentran diferencias estadísticamente significativas ( $p=0.780$ ).

Todas las cifras son expresadas como medias.  $\Delta$ : Diferencia (incremento o descenso) del parámetro a estudio antes y después de la cirugía en un determinado grupo. CRC: Cirugía de revascularización coronaria aislada. CRC + CMMAMO: Cirugía de revascularización coronaria asociada a implante de células madre mononucleadas autólogas derivadas de la médula ósea. GWMSI: “Global wall motion score index” ó Índice de motilidad miocárdica global. ECO: Ecocardiograma transtorácico.

## Resultados

Figura 9: Evolución del RWMSI calculado por ecocardiografía transtorácica en ambos grupos.

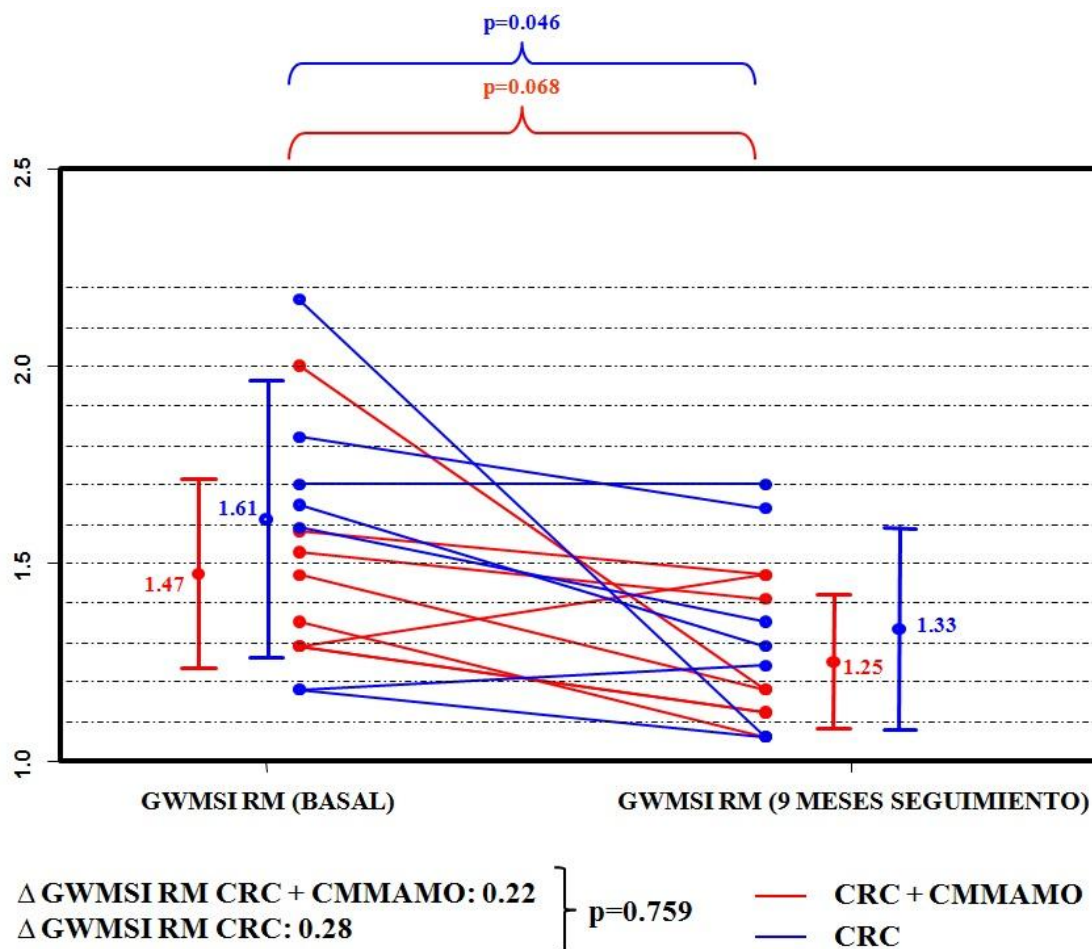


Evolución del RWMSI calculado mediante ecocardiograma transtorácico antes y después de la cirugía en ambos grupos. Puede observarse que la CRC mejora el RWMSI estadísticamente en el grupo control ( $p=0.005$ ) y en el grupo de tratamiento celular ( $p=0.013$ ). Al comparar la media del descenso del RWMSI ( $\Delta$ ) entre ambos grupos no se encuentran diferencias estadísticamente significativas ( $p=0.400$ ).

Todas las cifras son expresadas como medias.  $\Delta$ : Diferencia (incremento o descenso) del parámetro a estudio antes y después de la cirugía en un determinado grupo. CRC: Cirugía de revascularización coronaria aislada. CRC + CMMAMO: Cirugía de revascularización coronaria asociada a implante de células madre mononucleadas autólogas derivadas de la médula ósea. RWMSI: “Regional wall motion score index” ó Índice de motilidad miocárdica regional del área infartada. ECO: Ecocardiograma transtorácico.

## Resultados

Figura 10: Evolución del GWMSI calculado por RM en ambos grupos.

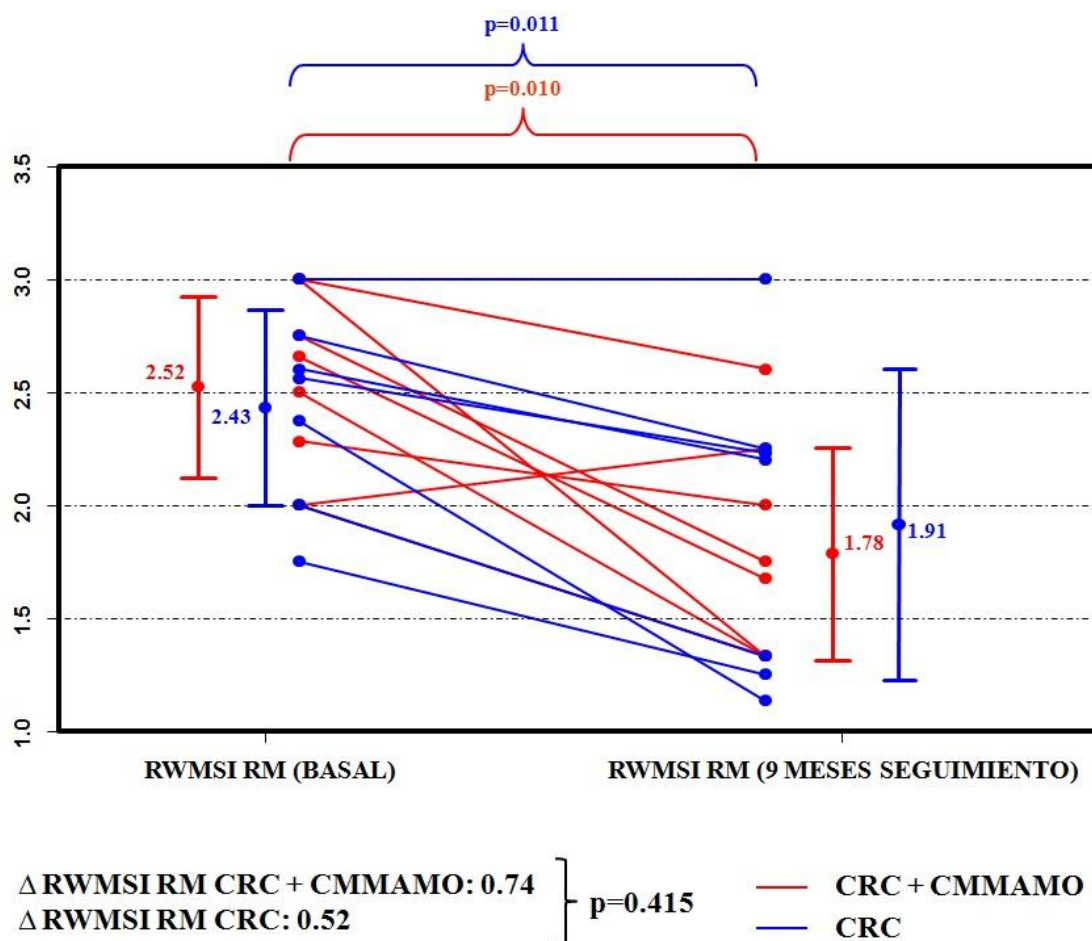


Evolución del GWMSI calculado mediante RM antes y después de la cirugía en ambos grupos. Puede observarse que la CRC mejora el GWMSI estadísticamente en el grupo control ( $p=0.046$ ) y existe tendencia en el grupo de tratamiento celular ( $p=0.068$ ). Al comparar la media del descenso del GWMSI ( $\Delta$ ) entre ambos grupos no se encuentran diferencias estadísticamente significativas ( $p=0.759$ ).

Todas las cifras son expresadas como medias.  $\Delta$ : Diferencia (incremento o descenso) del parámetro a estudio antes y después de la cirugía en un determinado grupo. CRC: Cirugía de revascularización coronaria aislada. CRC + CMMAMO: Cirugía de revascularización coronaria asociada a implante de células madre mononucleadas autólogas derivadas de la médula ósea. GWMSI: "Global wall motion score index" ó Índice de motilidad miocárdica global. RM: Resonancia magnética.

## Resultados

Figura 11: Evolución del RWMSI calculado por RM en ambos grupos.



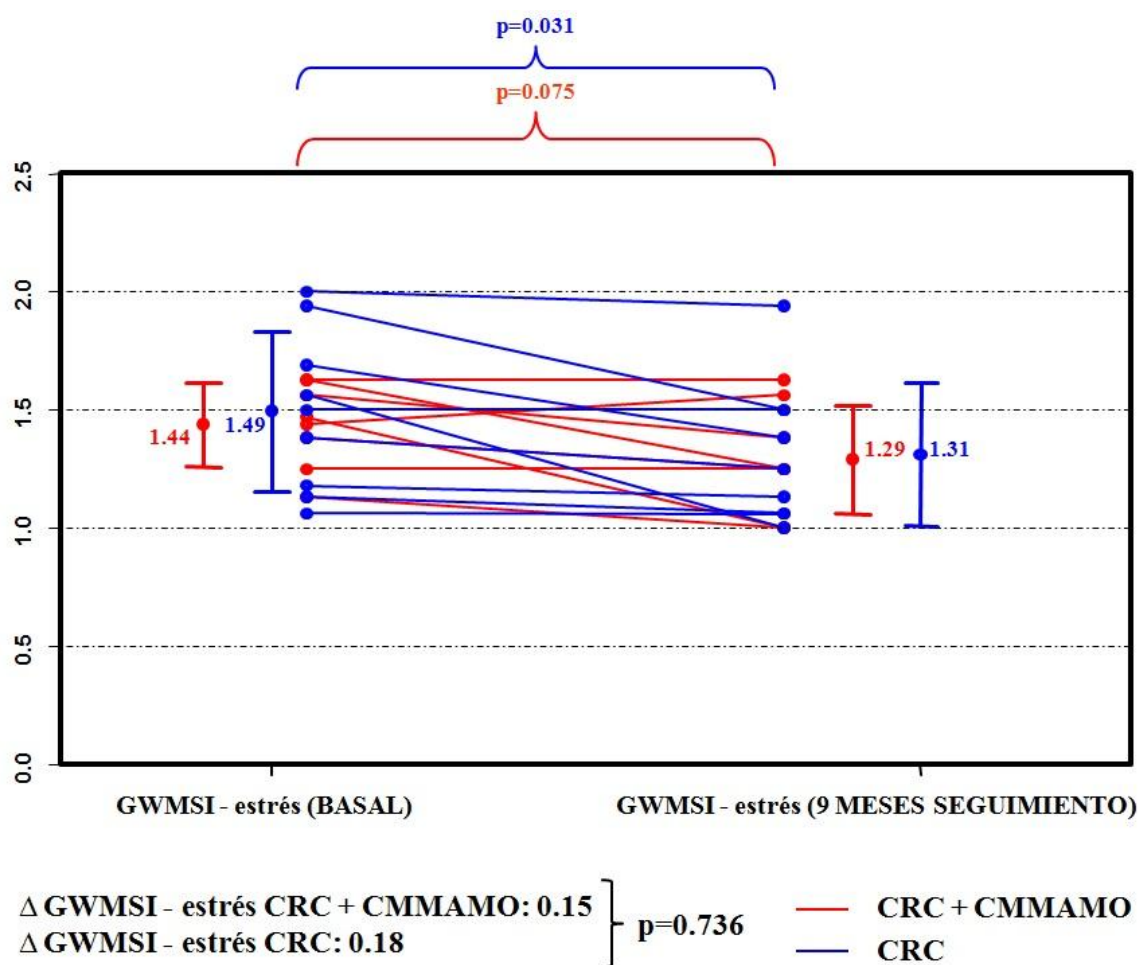
Evolución del RWMSI calculado mediante RM antes y después de la cirugía en ambos grupos. Puede observarse que la CRC mejora el RWMSI estadísticamente en el grupo control ( $p=0.011$ ) y en el grupo de tratamiento celular ( $p=0.010$ ). Al comparar la media del descenso del RWMSI ( $\Delta$ ) entre ambos grupos no se encuentran diferencias estadísticamente significativas ( $p=0.415$ ).

Todas las cifras son expresadas como medias.  $\Delta$ : Diferencia (incremento o descenso) del parámetro a estudio antes y después de la cirugía en un determinado grupo. CRC: Cirugía de revascularización coronaria aislada. CRC + CMMAMO: Cirugía de revascularización coronaria asociada a implante de células madre mononucleadas autólogas derivadas de la médula ósea. RWMSI: “Regional wall motion score index” ó Índice de motilidad miocárdica regional del área infartada. RM: Resonancia magnética.



## Resultados

Figura12: Evolución del GWMSI calculado por ecocardiografía transtorácica de estrés con dobutamina en ambos grupos.

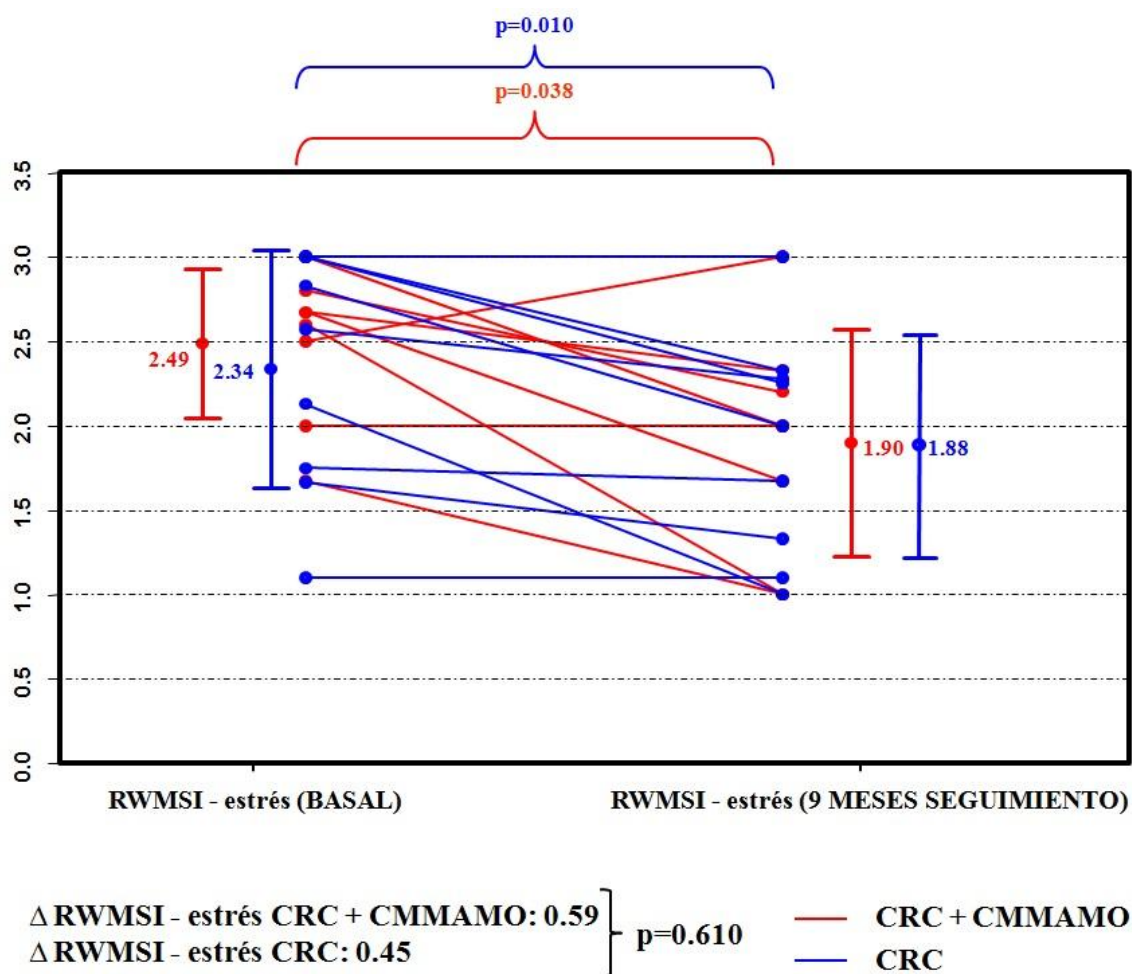


Evolución del GWMSI calculado mediante ecocardiograma de estrés con dobutamina antes y después de la cirugía en ambos grupos. Puede observarse que la CRC mejora el GWMSI estadísticamente en el grupo control ( $p=0.031$ ) y existe tendencia en el grupo de tratamiento celular ( $p=0.075$ ). Al comparar la media del descenso del GWMSI - estrés ( $\Delta$ ) entre ambos grupos no se encuentran diferencias estadísticamente significativas ( $p=0.736$ ).

Todas las cifras son expresadas como medias.  $\Delta$ : Diferencia (incremento o descenso) del parámetro a estudio antes y después de la cirugía en un determinado grupo. CRC: Cirugía de revascularización coronaria aislada. CRC + CMMAMO: Cirugía de revascularización coronaria asociada a implante de células madre mononucleadas autólogas derivadas de la médula ósea. GWMSI - estrés: “Global wall motion score index” ó Índice de motilidad miocárdica global durante ecocardiograma transtorácico de estrés con dobutamina.

## Resultados

Figura13: Evolución del RWMSI calculado por ecocardiografía transtorácica de estrés con dobutamina en ambos grupos.

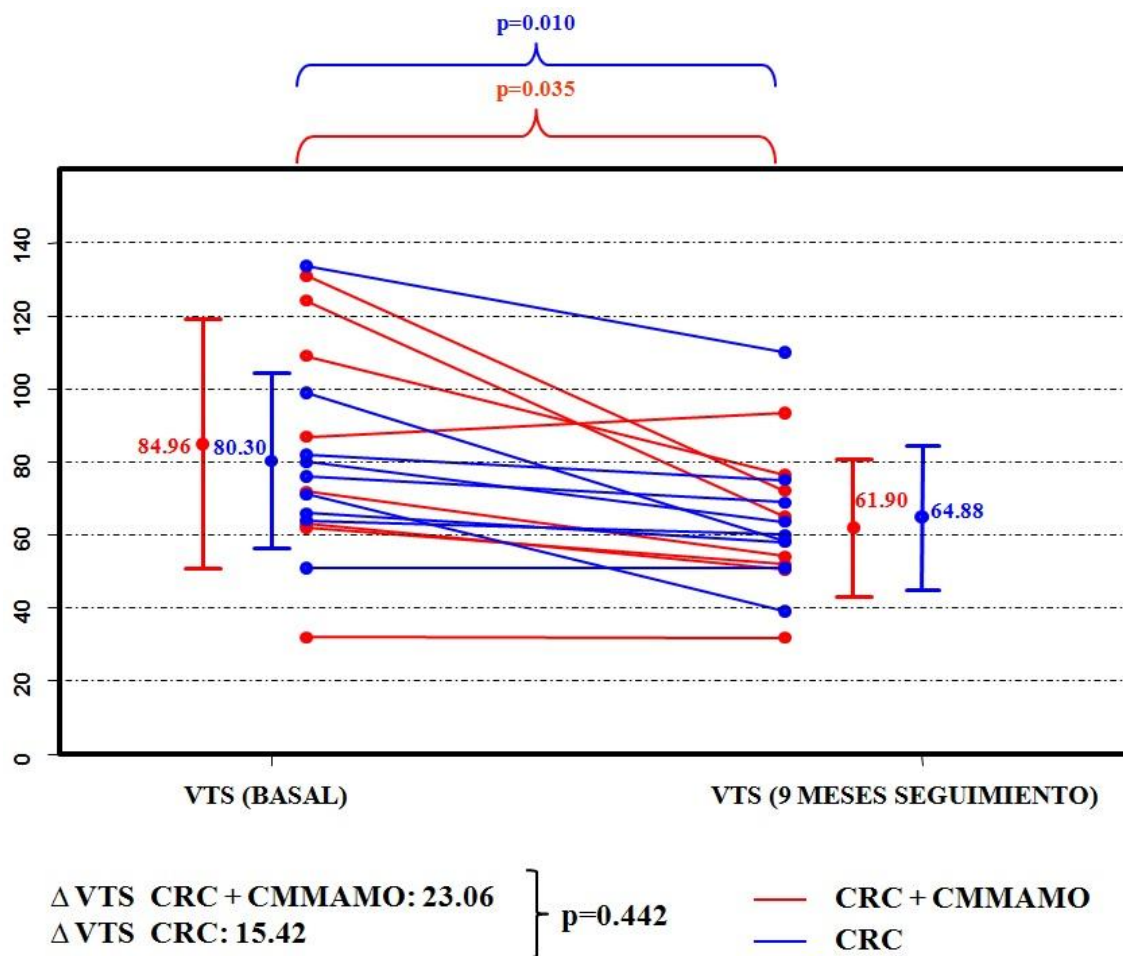


Evolución del RWMSI calculado mediante ecocardiograma de estrés con dobutamina antes y después de la cirugía en ambos grupos. Puede observarse que la CRC mejora el RWMSI estadísticamente en el grupo control ( $p=0.010$ ) y en el grupo de tratamiento celular ( $p=0.038$ ). Al comparar la media del descenso del RWMSI - estrés ( $\Delta$ ) entre ambos grupos no se encuentran diferencias estadísticamente significativas ( $p=0.610$ ).

Todas las cifras son expresadas como medias.  $\Delta$ : Diferencia (incremento o descenso) del parámetro a estudio antes y después de la cirugía en un determinado grupo. CRC: Cirugía de revascularización coronaria aislada. CRC + CMMAMO: Cirugía de revascularización coronaria asociada a implante de células madre mononucleadas autólogas derivadas de la médula ósea. RWMSI - estrés: “*Regional wall motion score index*” ó Índice de motilidad miocárdica regional del área infartada durante ecocardiograma transtorácico de estrés con dobutamina.

## Resultados

Figura14: Evolución del VTS del ventrículo izquierdo (en mililitros) en ambos grupos.



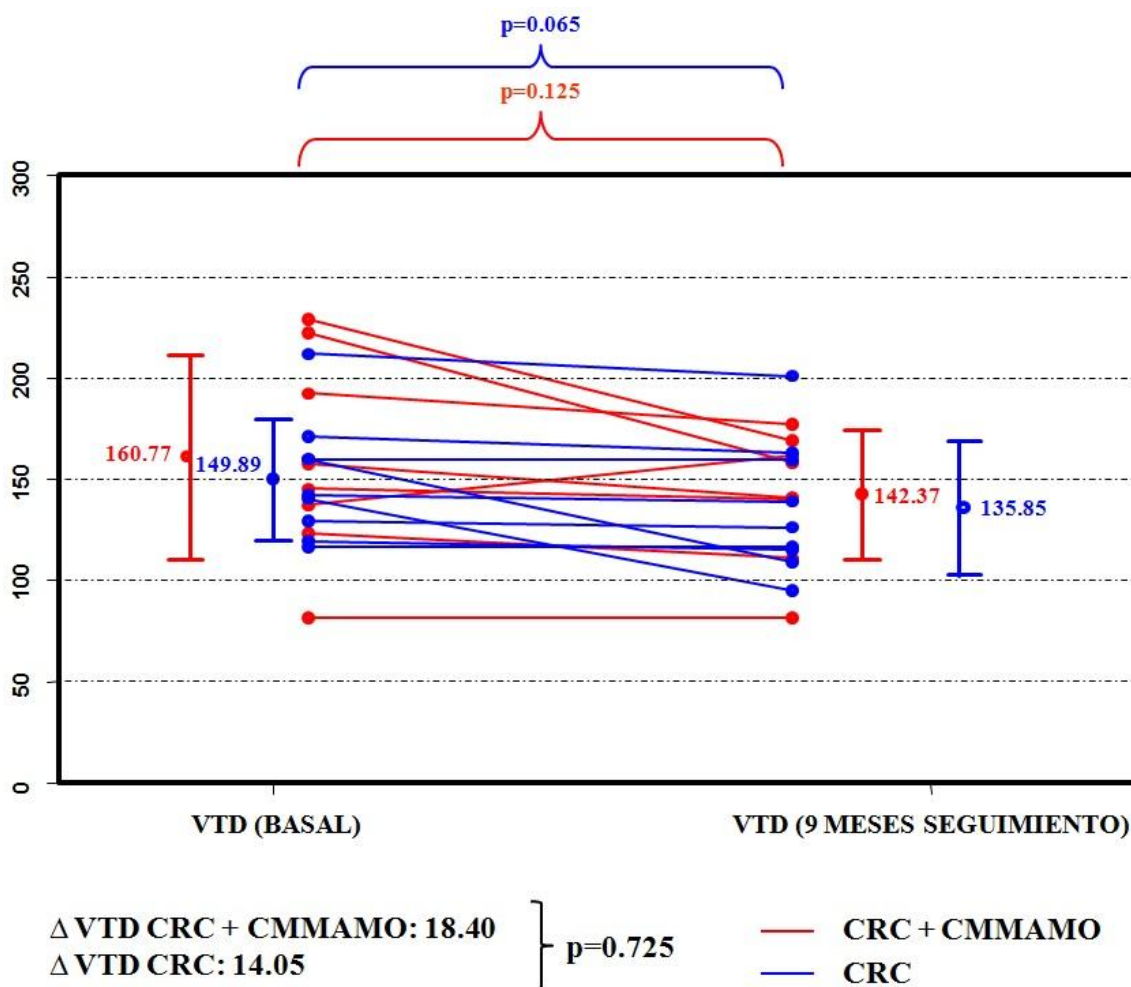
Evolución del VTS (calculado por RM) antes y después de la cirugía en ambos grupos. Puede observarse que la CRC mejora el VTS estadísticamente en el grupo control ( $p=0.010$ ) y en el grupo de tratamiento celular ( $p=0.035$ ). Al comparar la media del descenso del VTS ( $\Delta$ ) entre ambos grupos no se encuentran diferencias estadísticamente significativas ( $p=0.442$ ).

Todas las cifras son expresadas como medias.  $\Delta$ : Diferencia (incremento o descenso) del parámetro a estudio antes y después de la cirugía en un determinado grupo. CRC: Cirugía de revascularización coronaria aislada. CRC + CMMAMO: Cirugía de revascularización coronaria asociada a implante de células madre mononucleadas autólogas derivadas de la médula ósea. VTS: Volumen telesistólico del ventrículo izquierdo. RM: Resonancia magnética.



## Resultados

Figura15: Evolución del VTD del ventrículo izquierdo (en mililitros) en ambos grupos.

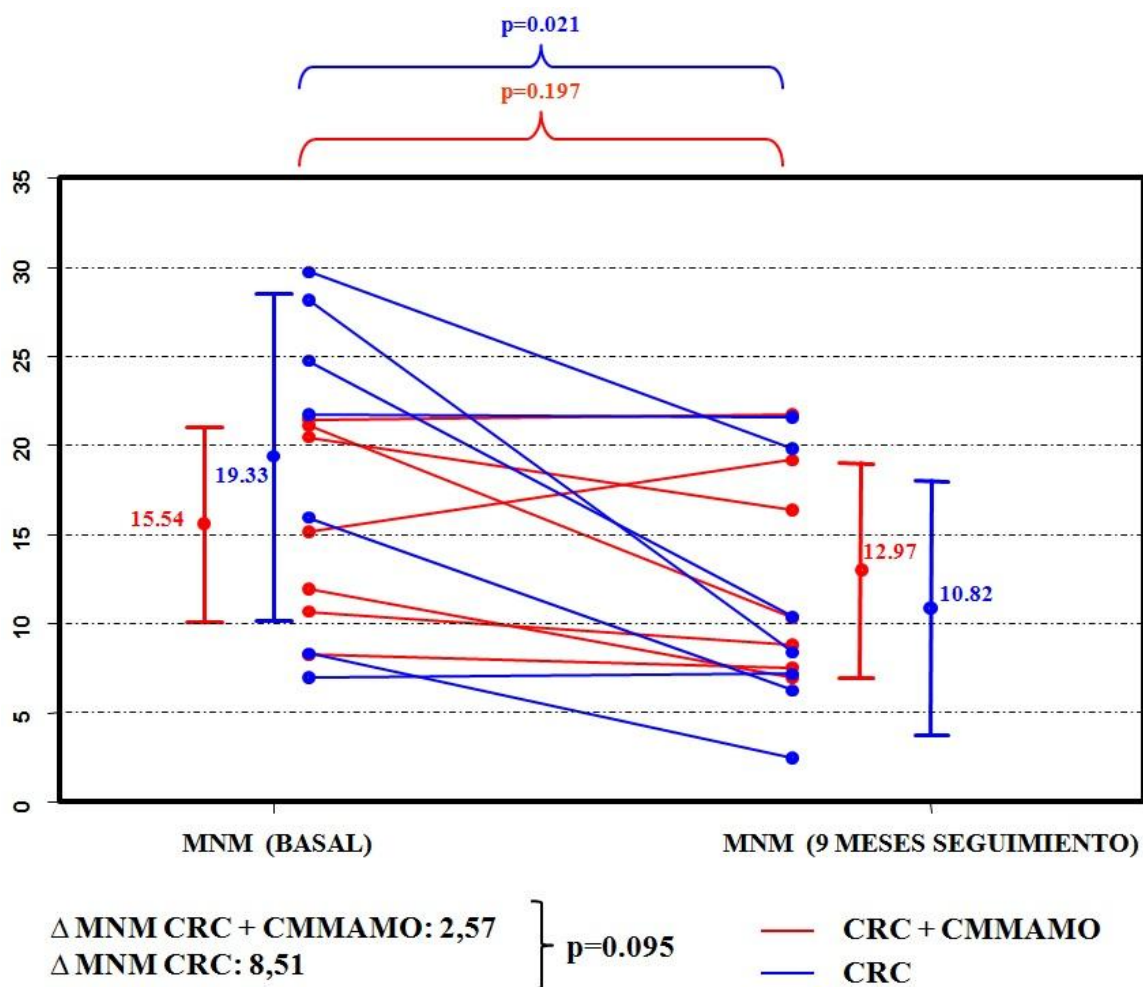


Evolución del VTD (calculado por RM) antes y después de la cirugía en ambos grupos. Puede observarse tendencia estadística en la mejoría del VTD tras la cirugía en el grupo control ( $p=0.065$ ) y sin diferencias el grupo de tratamiento celular ( $p=0.125$ ). Al comparar la media del descenso del VTD ( $\Delta$ ) entre ambos grupos no se encuentran diferencias estadísticamente significativas ( $p=0.725$ ).

Todas las cifras son expresadas como medias.  $\Delta$ : Diferencia (incremento o descenso) del parámetro a estudio antes y después de la cirugía en un determinado grupo. CRC: Cirugía de revascularización coronaria aislada. CRC + CMMAMO: Cirugía de revascularización coronaria asociada a implante de células madre mononucleadas autólogas derivadas de la médula ósea. VTD: Volumen telediastólico del ventrículo izquierdo. RM: Resonancia magnética.

## Resultados

Figura16: Evolución de la masa necrótica miocárdica (en gramos) en ambos grupos.



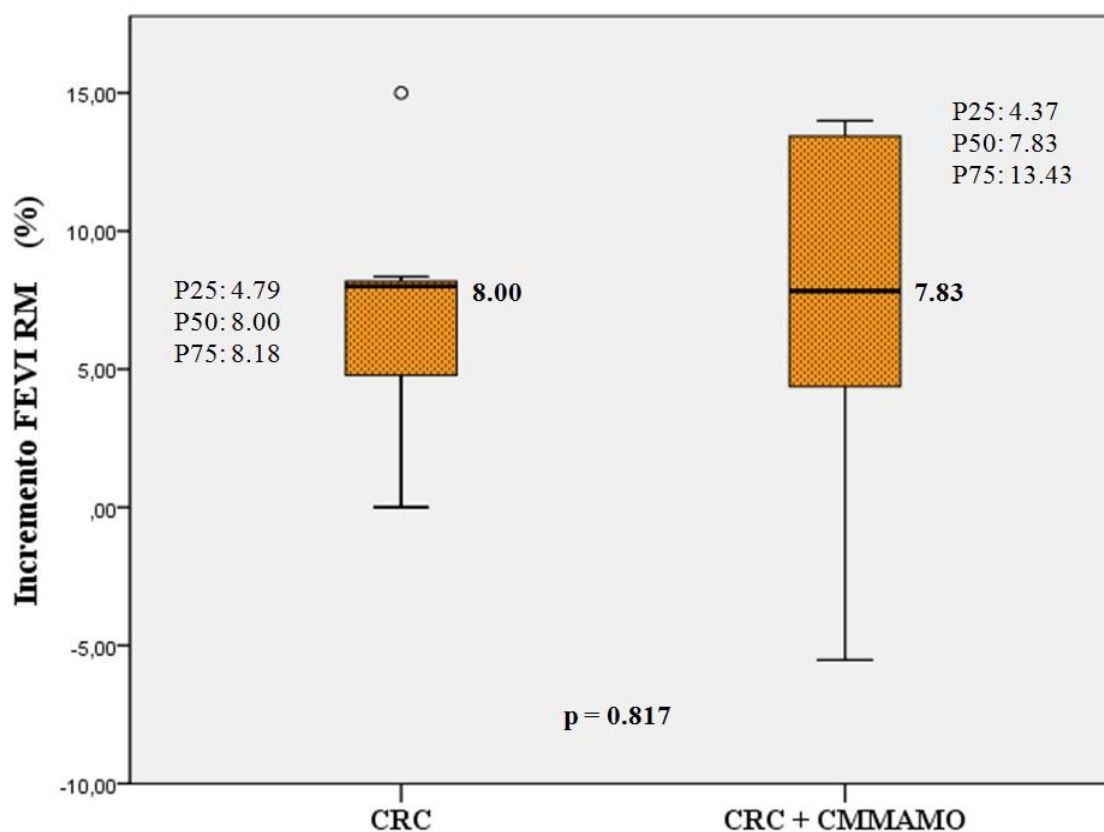
Evolución de la MNM (calculada por RM) antes y después de la cirugía en ambos grupos. Puede observarse que la CRC mejora la MNM estadísticamente en el grupo control ( $p=0.021$ ) y sin diferencias el grupo de tratamiento celular ( $p=0.197$ ). Al comparar la media del descenso de la MNM ( $\Delta$ ) entre ambos grupos no se encuentran diferencias estadísticamente significativas ( $p=0.095$ ).

Todas las cifras son expresadas como medias.  $\Delta$ : Diferencia (incremento o descenso) del parámetro a estudio antes y después de la cirugía en un determinado grupo. CRC: Cirugía de revascularización coronaria aislada. CRC + CMMAMO: Cirugía de revascularización coronaria asociada a implante de células madre mononucleadas autólogas derivadas de la médula ósea. MNM: Masa necrótica miocárdica. RM: Resonancia magnética.

## Resultados

Aunque todas las variables objetivo cumplen hipótesis de normalidad según el análisis de Curtosis, el análisis de asimetría, el test de Shapiro-Wilk's y los gráficos qq-plot y pp-plot, el bajo tamaño muestral obliga al estudio comparativo de medianas con el fin de evitar que la media se vea severamente influida por los valores extremos o infrecuentes de cada variable. Atendiendo a dicho estudio, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos en cuanto al incremento de la FEVI por RM o ecocardiograma transtorácico, descenso del GWMSI y RWMSI por RM ni ecocardiograma basal ni de estrés, descenso del VTS ni VTD y descenso de la masa necrótica miocárdica. Sin embargo se halló tendencia estadística ( $p=0.087$ ) en la mediana del número de segmentos acinéticos recuperados a favor del grupo de tratamiento celular (*figuras 17, 18, 19,20, 21, 22, 23, 24, 25, 26,27 y 28*).

*Figura 17: Incremento de la FEVI (%) calculada por RM en ambos grupos.*

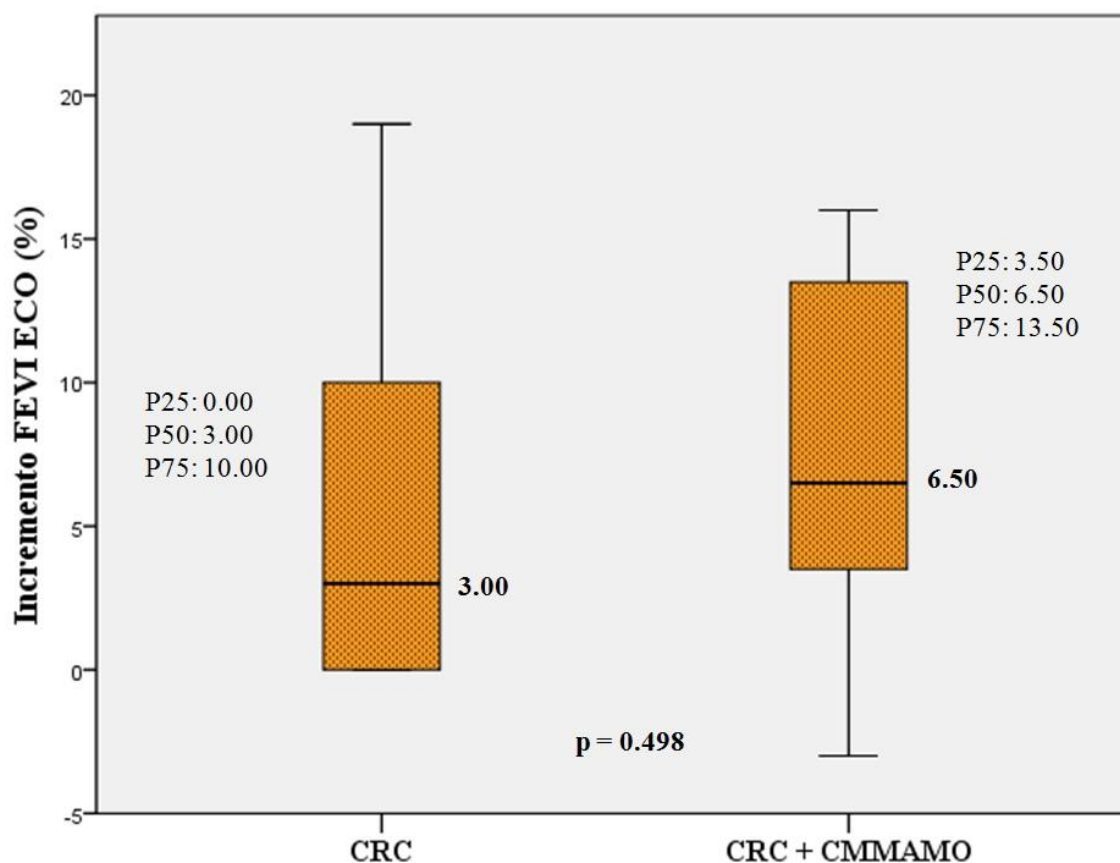


## Resultados

Incremento de la FEVI calculada mediante RM después de la cirugía en ambos grupos. Al comparar las medianas del incremento de la FEVI entre ambos grupos no se encuentran diferencias estadísticamente significativas ( $p=0.817$ ).

La cifra adyacente al diagrama de cajas corresponde a la mediana de la variable en cada grupo. CRC: Cirugía de revascularización coronaria aislada. CRC + CMMAMO: Cirugía de revascularización coronaria asociada a implante de células madre mononucleadas autólogas derivadas de la médula ósea. FEVI: Fracción de eyección del ventrículo izquierdo. RM: Resonancia Magnética.

Figura 18: Incremento de la FEVI (%) calculada por ecocardiograma transtorácico en ambos grupos.

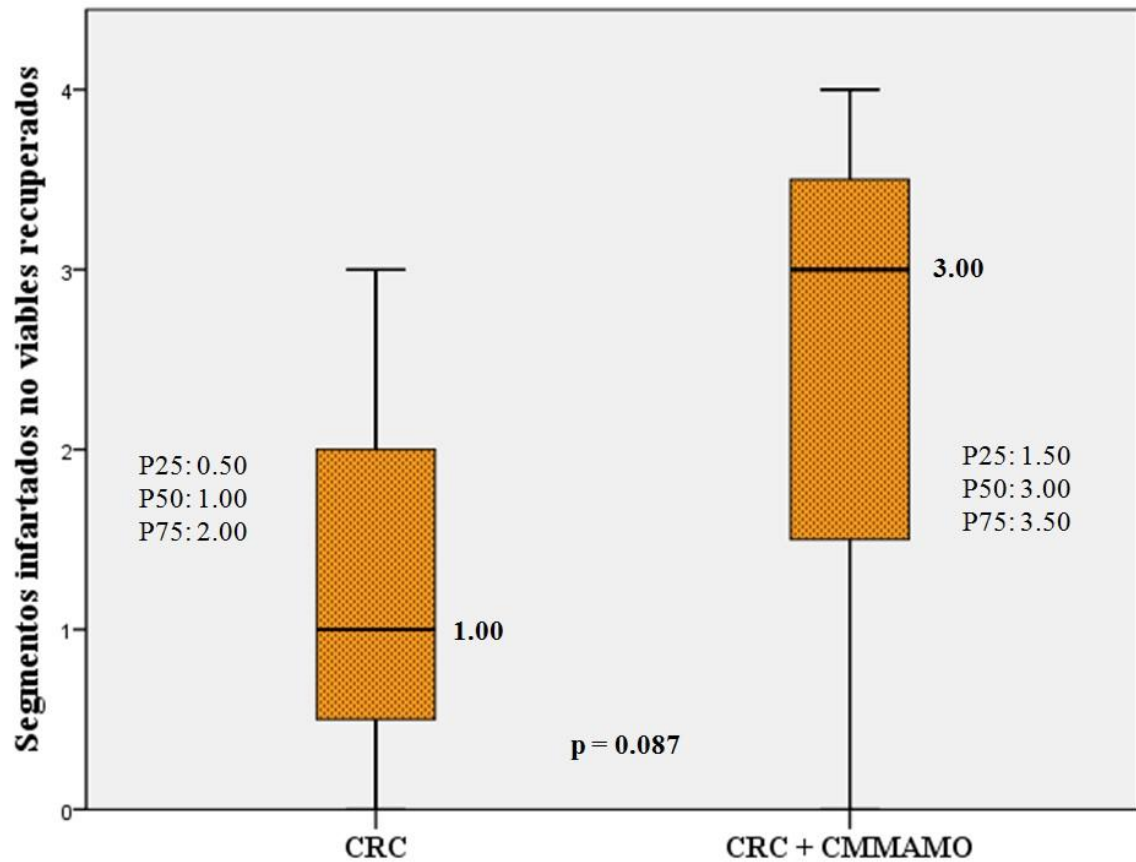


Incremento de la FEVI calculada mediante ecocardiograma transtorácico después de la cirugía en ambos grupos. Al comparar las medianas del incremento de la FEVI entre ambos grupos no se encuentran diferencias estadísticamente significativas ( $p=0.498$ ).

La cifra adyacente al diagrama de cajas corresponde a la mediana de la variable en cada grupo. CRC: Cirugía de revascularización coronaria aislada. CRC + CMMAMO: Cirugía de revascularización coronaria asociada a implante de células madre mononucleadas autólogas derivadas de la médula ósea. FEVI: Fracción de eyección del ventrículo izquierdo. ECO: Ecocardiograma transtorácico.

## Resultados

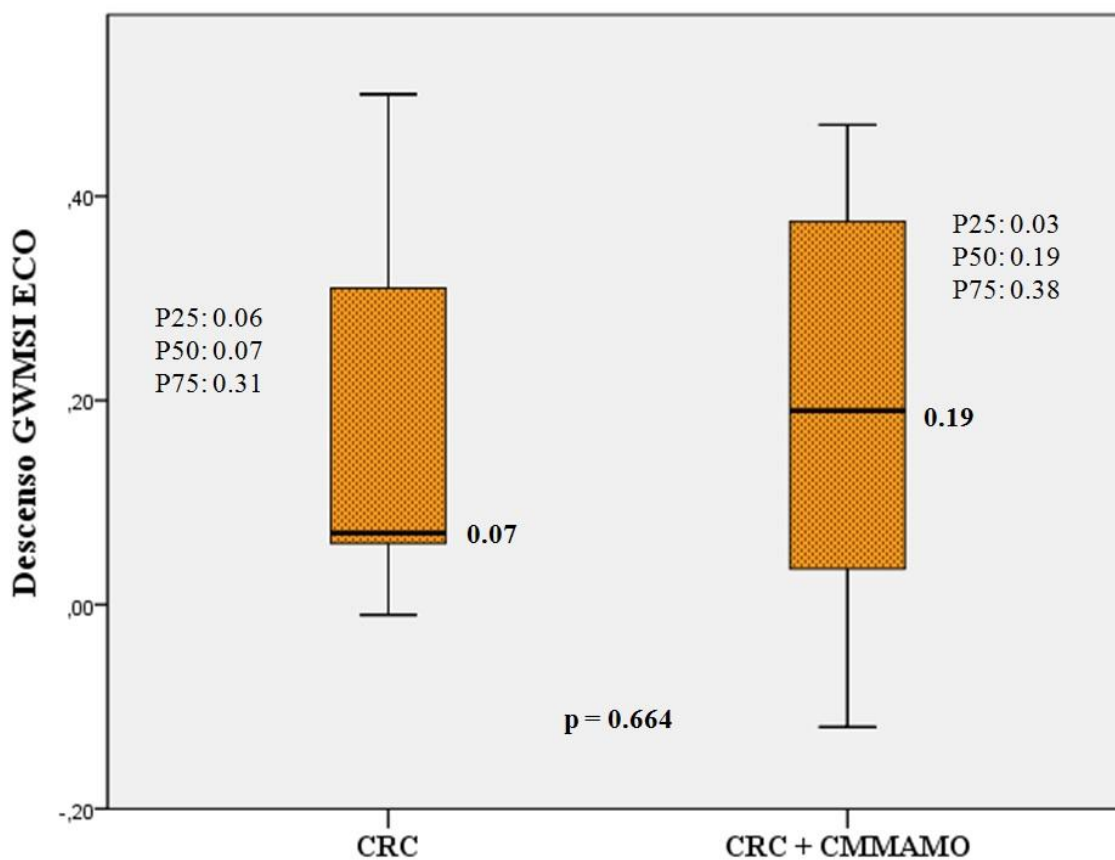
Figura 19: Descenso del número de segmentos infartados acinéticos no viables en ambos grupos.



Descenso del número de segmentos infartados no viables (observados mediante RM) después de la cirugía en ambos grupos. Al comparar las medianas entre ambos grupos se encuentra tendencia estadística a favor del grupo de tratamiento celular sin llegar a la significación ( $p=0.087$ ).

La cifra adyacente al diagrama de cajas corresponde a la mediana de la variable en cada grupo. CRC: Cirugía de revascularización coronaria aislada. CRC + CMMAMO: Cirugía de revascularización coronaria asociada a implante de células madre mononucleadas autólogas derivadas de la médula ósea.

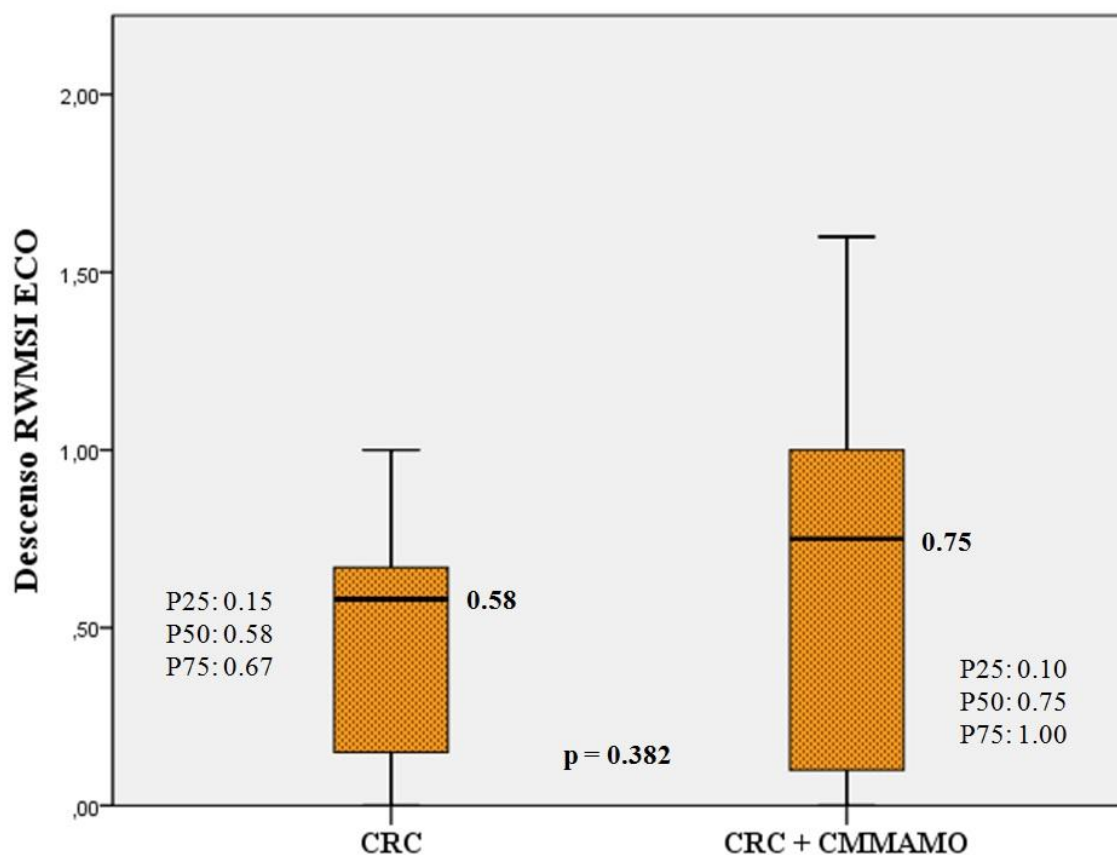
Figura 20: Descenso del GWMSI calculado por ecocardiografía transtorácica en ambos grupos.



Descenso del GWMSI calculado mediante ecocardiograma transtorácico después de la cirugía en ambos grupos. Al comparar las medianas del descenso del GWMSI entre ambos grupos no se encuentran diferencias estadísticamente significativas ( $p=0.664$ ).

La cifra adyacente al diagrama de cajas corresponde a la mediana de la variable en cada grupo. CRC: Cirugía de revascularización coronaria aislada. CRC + CMMAMO: Cirugía de revascularización coronaria asociada a implante de células madre mononucleadas autólogas derivadas de la médula ósea. GWMSI: “Global wall motion score index” ó Índice de motilidad miocárdica global. ECO: Ecocardiograma transtorácico.

Figura 21: Descenso del RWMSI calculado por ecocardiografía transtorácica en ambos grupos.

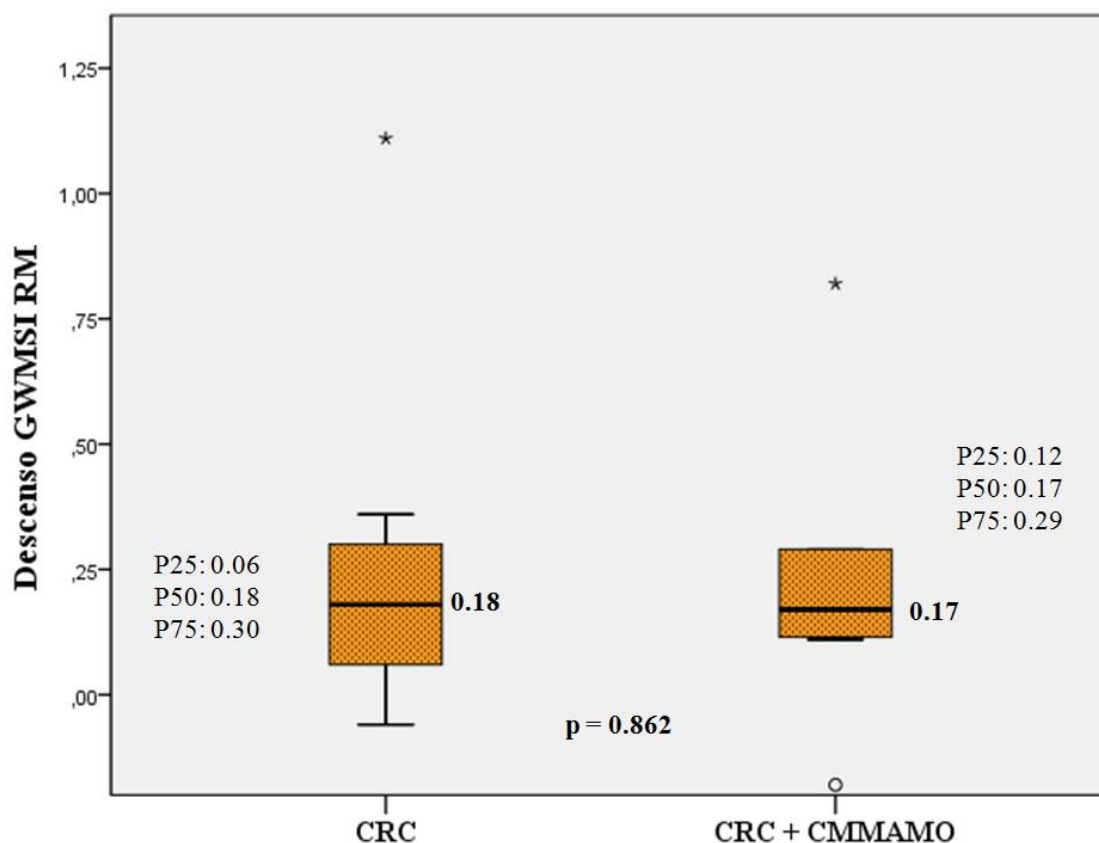


Descenso del RWMSI calculado mediante ecocardiograma transtorácico después de la cirugía en ambos grupos. Al comparar las medianas del descenso del RWMSI entre ambos grupos no se encuentran diferencias estadísticamente significativas ( $p=0.382$ ).

La cifra adyacente al diagrama de cajas corresponde a la mediana de la variable en cada grupo. CRC: Cirugía de revascularización coronaria aislada. CRC + CMMAMO: Cirugía de revascularización coronaria asociada a implante de células madre mononucleadas autólogas derivadas de la médula ósea. RWMSI: “*Regional wall motion score index*” ó Índice de motilidad miocárdica regional del área infartada. ECO: Ecocardiograma transtorácico.



Figura 22: Descenso del GWMSI calculado por RM en ambos grupos.

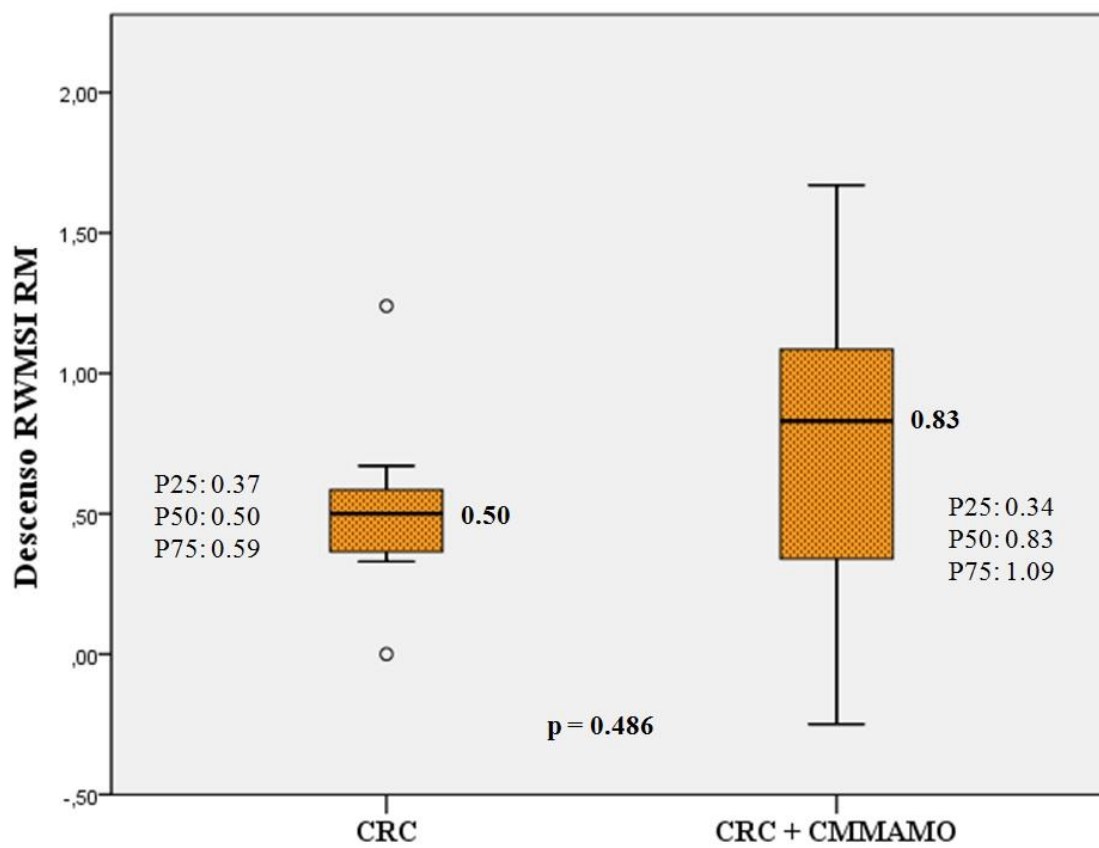


Descenso del GWMSI calculado mediante RM después de la cirugía en ambos grupos. Al comparar las medianas del descenso del GWMSI entre ambos grupos no se encuentran diferencias estadísticamente significativas ( $p=0.862$ ).

La cifra adyacente al diagrama de cajas corresponde a la mediana de la variable en cada grupo. CRC: Cirugía de revascularización coronaria aislada. CRC + CMMAMO: Cirugía de revascularización coronaria asociada a implante de células madre mononucleadas autólogas derivadas de la médula ósea. GWMSI: “Global wall motion score index” ó Índice de motilidad miocárdica global. RM: Resonancia magnética.



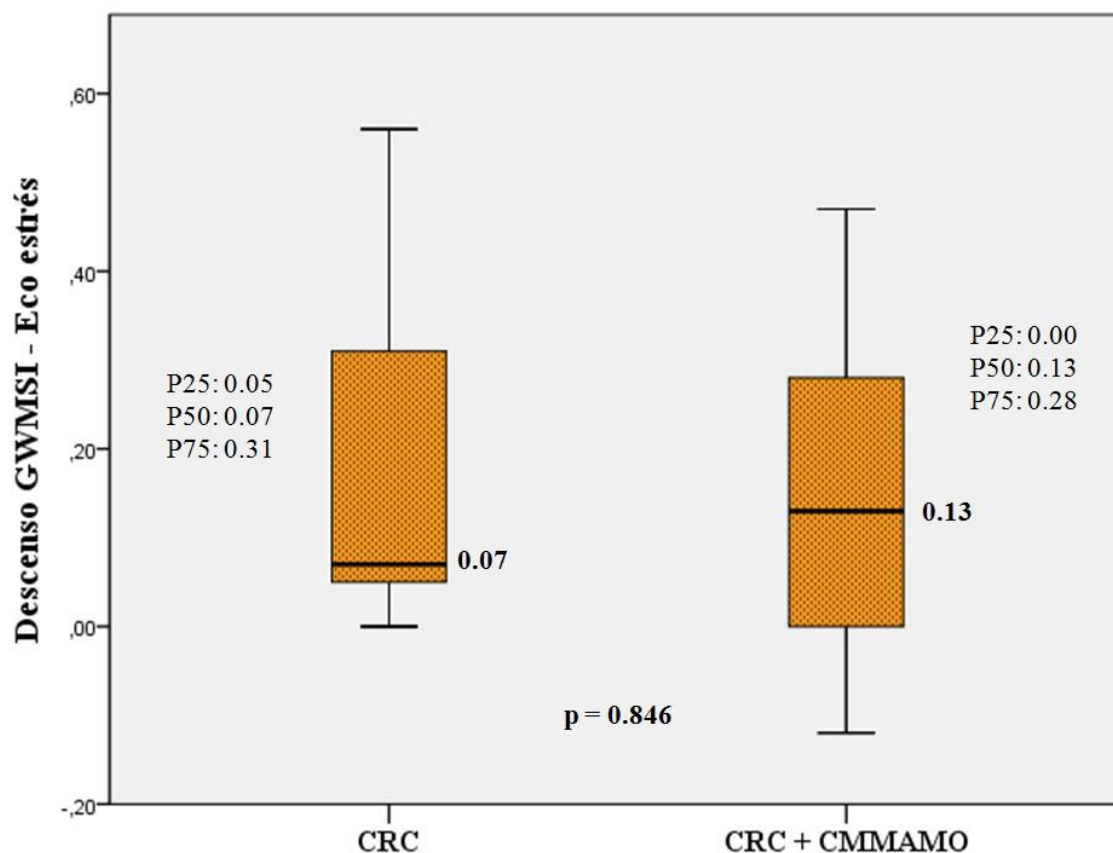
Figura 23: Descenso del RWMSI calculado por RM en ambos grupos.



Descenso del RWMSI calculado mediante RM después de la cirugía en ambos grupos. Al comparar las medianas del descenso del RWMSI entre ambos grupos no se encuentran diferencias estadísticamente significativas (p=0.486).

La cifra adyacente al diagrama de cajas corresponde a la mediana de la variable en cada grupo. CRC: Cirugía de revascularización coronaria aislada. CRC + CMMAMO: Cirugía de revascularización coronaria asociada a implante de células madre mononucleadas autólogas derivadas de la médula ósea. RWMSI: “*Regional wall motion score index*” ó Índice de motilidad miocárdica regional del área infartada. RM: Resonancia magnética.

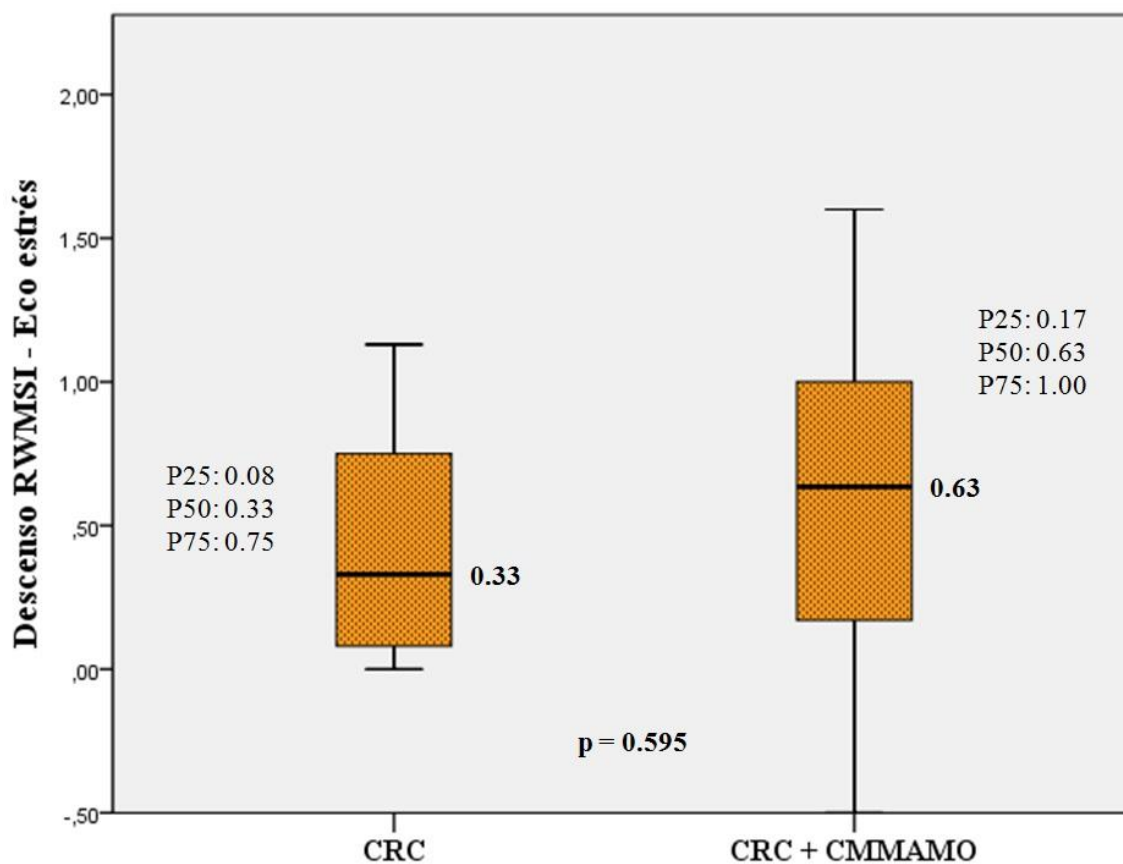
Figura 24: Descenso del GWMSI calculado por ecocardiografía transtorácica de estrés con dobutamina en ambos grupos.



Descenso del GWMSI calculado mediante ecocardiograma transtorácico de estrés con dobutamina después de la cirugía en ambos grupos. Al comparar las medianas del descenso del GWMSI entre ambos grupos no se encuentran diferencias estadísticamente significativas ( $p=0.846$ ).

La cifra adyacente al diagrama de cajas corresponde a la mediana de la variable en cada grupo. CRC: Cirugía de revascularización coronaria aislada. CRC + CMMAMO: Cirugía de revascularización coronaria asociada a implante de células madre mononucleadas autólogas derivadas de la médula ósea. GWMSI: “Global wall motion score index” ó Índice de motilidad miocárdica global. Eco-estrés: Ecocardiograma transtorácico de estrés con dobutamina.

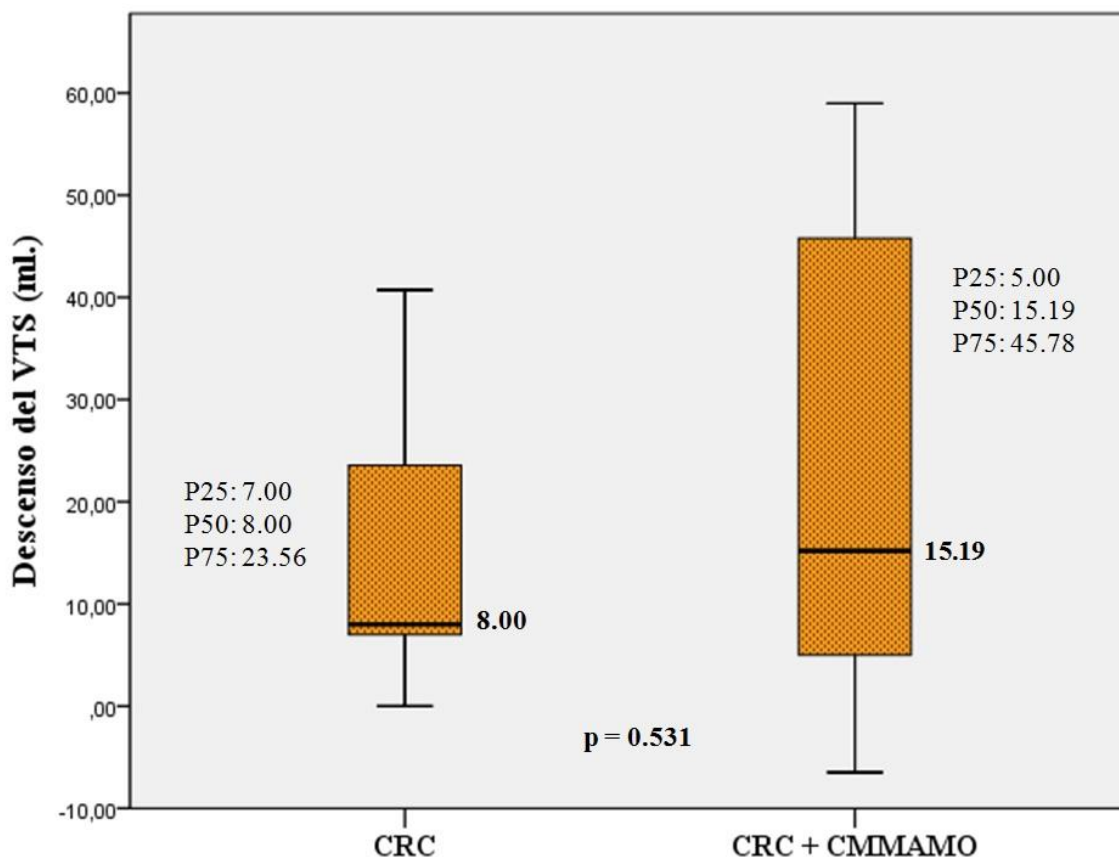
Figura 25: Descenso del RWMSI calculado por ecocardiografía transtorácica de estrés con dobutamina en ambos grupos.



Descenso del RWMSI calculado mediante ecocardiograma transtorácico de estrés con dobutamina después de la cirugía en ambos grupos. Al comparar las medianas del descenso del RWMSI entre ambos grupos no se encuentran diferencias estadísticamente significativas ( $p=0.595$ ).

La cifra adyacente al diagrama de cajas corresponde a la mediana de la variable en cada grupo. CRC: Cirugía de revascularización coronaria aislada. CRC + CMMAMO: Cirugía de revascularización coronaria asociada a implante de células madre mononucleadas autólogas derivadas de la médula ósea. RWMSI: “*Regional wall motion score index*” ó Índice de motilidad miocárdica regional del área infartada. Eco-estrés: Ecocardiograma transtorácico de estrés con dobutamina.

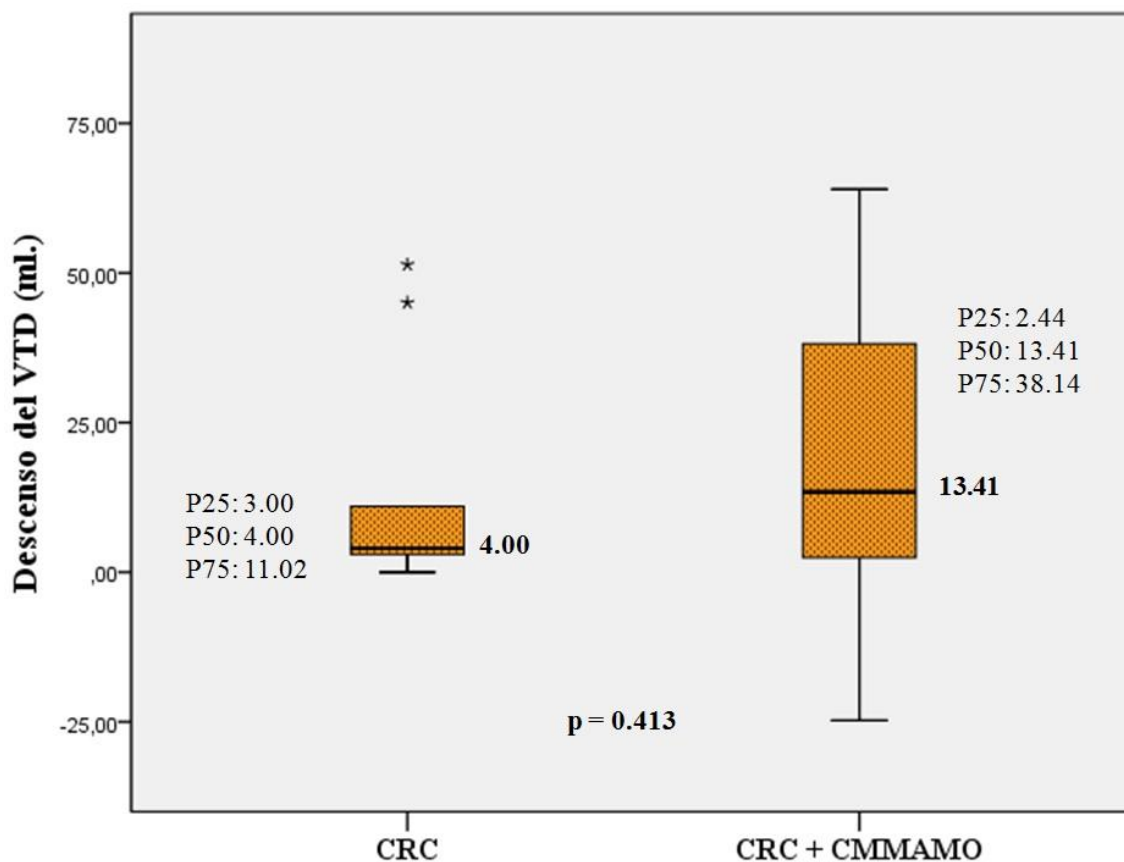
Figura 26: Descenso del VTS en ambos grupos.



Descenso del VTS calculado mediante RM después de la cirugía en ambos grupos. Al comparar las medianas del descenso del VTS entre ambos grupos no se encuentran diferencias estadísticamente significativas ( $p=0.531$ ).

La cifra adyacente al diagrama de cajas corresponde a la mediana de la variable en cada grupo. CRC: Cirugía de revascularización coronaria aislada. CRC + CMMAMO: Cirugía de revascularización coronaria asociada a implante de células madre mononucleadas autólogas derivadas de la médula ósea. VTS: Volumen telesistólico del ventrículo izquierdo. RM: Resonancia magnética. ml.: mililitros.

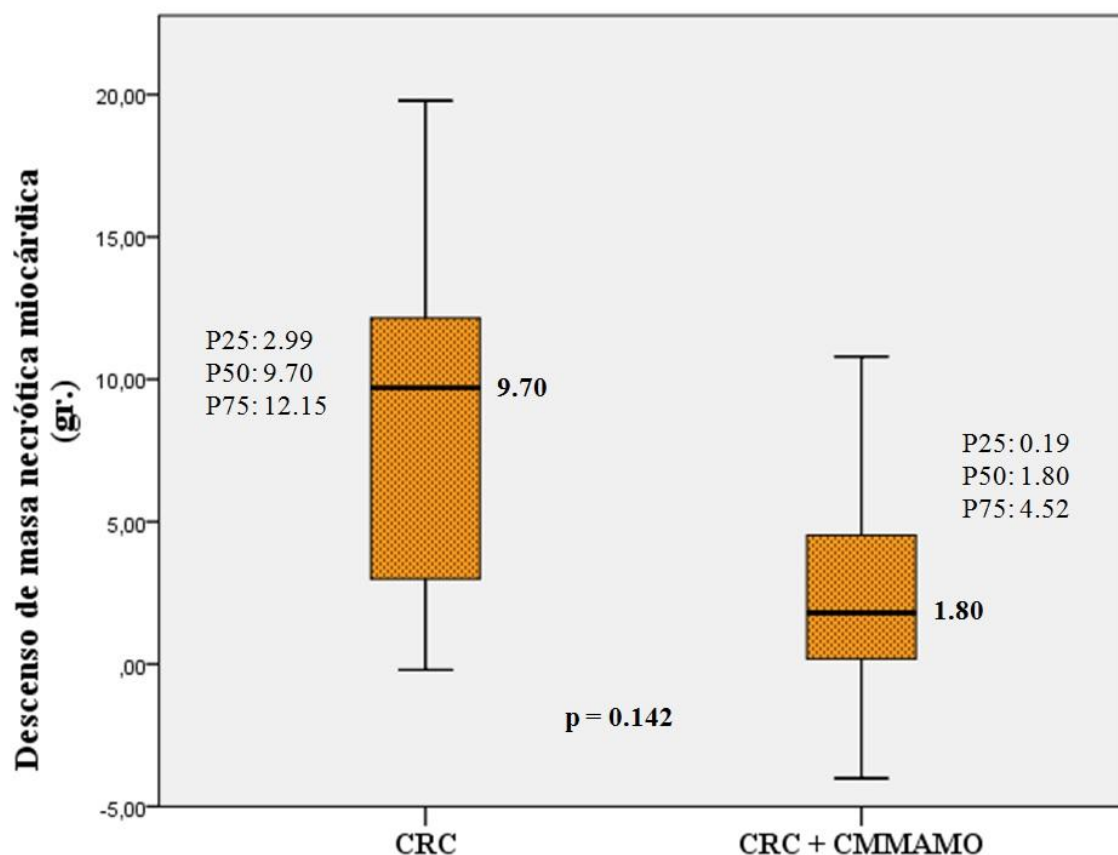
Figura 27: Descenso del VTD en ambos grupos.



Descenso del VTD calculado mediante RM después de la cirugía en ambos grupos. Al comparar las medianas del descenso del VTD entre ambos grupos no se encuentran diferencias estadísticamente significativas ( $p=0.413$ ).

La cifra adyacente al diagrama de cajas corresponde a la mediana de la variable en cada grupo. CRC: Cirugía de revascularización coronaria aislada. CRC + CMMAMO: Cirugía de revascularización coronaria asociada a implante de células madre mononucleadas autólogas derivadas de la médula ósea. VTD: Volumen telediastólico del ventrículo izquierdo. RM: Resonancia magnética. ml.: mililitros.

Figura 28: Descenso de la MNM en ambos grupos.



Descenso de la MNM calculada mediante RM-gadolinio después de la cirugía en ambos grupos. Al comparar las medianas del descenso de la MNM entre ambos grupos no se encuentran diferencias estadísticamente significativas ( $p=0.142$ ).

La cifra adyacente al diagrama de cajas corresponde a la mediana de la variable en cada grupo. CRC: Cirugía de revascularización coronaria aislada. CRC + CMMAMO: Cirugía de revascularización coronaria asociada a implante de células madre mononucleadas autólogas derivadas de la médula ósea. MNM: Masa necrótica miocárdica. RM: Resonancia magnética. gr.: gramos.

## Resultados

En todos los pacientes del estudio se procedió a la revascularización de la arteria responsable del IAM y por tanto, de la zona infartada. En todos los casos se empleó la arteria mamaria interna izquierda (AMII) para revascularizar la arteria DA. No hubo diferencias estadísticas en cuanto al tiempo de ventilación mecánica ( $p=0.356$ ), estancia en Unidad de Reanimación Cardíaca ( $p=0.697$ ) y estancia hospitalaria global desde el ingreso ( $p=0.412$ ) entre ambos grupos. El 84,3% de los bypass se encontraban permeables a los 9 meses en el grupo CRC + CMMAMO y el 89,89% en el grupo CRC aislada ( $p=0,583$ ) (*Tabla 7*). La media de bypass permeables a los 9 meses en el grupo de cirugía e implante celular fue  $2,88\pm 0,99$  y en el grupo control  $3,11\pm 0,782$  ( $p=0,591$ ). En el 50% y 37,5% de pacientes del grupo celular y control respectivamente se utilizaron ambas arterias mamarias internas. Los injertos de bypass ocluidos no generaron síntomas en ninguno de los pacientes.

*Tabla 7: Comparación de variables postoperatorias en ambos grupos.*

<b>Variabes (% ó media <math>\pm</math> DS)</b>	<b>CRC + CMMAMO (n=8)</b>	<b>CRC (n=9)</b>	<b>p-valor</b>
Tiempo de ventilación mecánica (horas; mediana (intervalo intercuartílico)	2 (2-3)	5 (4-7.5)	0.356
Estancia en Unidad de Reanimación (días)	2.25 (1.67)	2.56 (1.50)	0.697
Estancia hospitalaria (días)	22.13 (7.85)	19.22 (6.32)	0.412
Bypass permeables a los 9 meses postoperatorio	84.38 %	89.89 %	0.583

Las complicaciones postoperatorias y en el seguimiento se resumen en la *tabla 8*. Atendiendo a las complicaciones desarrolladas en los primeros 30 días tras la cirugía, en

el grupo control se constataron 4 pacientes con episodios paroxísticos de FA postoperatoria (todos ellos revirtieron a ritmo sinusal previamente al alta hospitalaria tras el tratamiento médico oportuno), tres pacientes con intubación orotraqueal postoperatoria prolongada (17 horas, 20 horas y 27 horas respectivamente), una atelectasia pulmonar basal derecha postoperatoria que se resolvió con fisioterapia intensiva progresiva, una insuficiencia renal aguda no oligúrica y un síndrome de bajo gasto cardíaco agudo (resuelto con tratamiento médico). Tanto el fracaso renal como el síndrome de bajo gasto ocurrieron en pacientes con intubación prolongada. Sin embargo, las complicaciones del postoperatorio inmediato fueron menores en el grupo de tratamiento celular (*tabla 8*), donde se observó un paciente con dos episodios de FA postoperatoria e infección de herida quirúrgica que evolucionó favorablemente tras tratamiento con terapia de vacío (*System-VAC*)\* y otro paciente con síndrome de bajo gasto postoperatorio, intubación prolongada (172 horas), neumonía postoperatoria y fracaso renal agudo oligúrico.

Se constataron tres complicaciones en el seguimiento en el grupo de tratamiento celular:

- Un IAM anterior, silente desde el punto de vista clínico (descubierto en las pruebas realizadas a los 9 meses de la cirugía) que correspondía a un injerto de AMII a arteria DA ocluido. Se procedió a intervención percutánea sobre el injerto en el estudio hemodinámico de los 9 meses; durante el seguimiento como puede observarse en los gráficos descritos anteriormente desarrolló remodelado ventricular izquierdo desfavorable con aumento de los volúmenes ventriculares y empeoramiento progresivo de la FEVI.

---

\* Es un tratamiento avanzado para cicatrización de heridas (generalmente infectadas) que regula el proceso de curación aplicando terapia de presión negativa sobre la herida abierta a través de un dispositivo externo.



## Resultados

---

- Se realizó intervencionismo percutáneo en un paciente en el estudio hemodinámico a los 9 meses de la cirugía por una lesión en los límites de la significación en la arteria mamaria interna derecha (AMID) (el bypass se encontraba permeable y el paciente asintomático).
- Un paciente desarrolló una hipertrigliceridemia marcada a los tres meses de la cirugía que requirió aporte de fibratos al tratamiento.

Las complicaciones durante el seguimiento del estudio en el grupo control fueron mayores, sin llegar a la significación estadística (*tabla 8*):

- Un paciente sufrió una infección superficial de la herida de safenectomía de la parte distal de la extremidad inferior izquierda que sanó con curas cada dos días durante 2 meses.
- En un paciente se observó bloqueo A-V de primer grado alternado con bloqueo sino-auricular en el holter de los 9 meses.
- Un enfermo desarrolló una trombosis venosa profunda (TVP) de la vena poplítea de extremidad inferior derecha, cuya evolución fue favorable tras el tratamiento anticoagulante. En este caso también se describió un bloqueo A-V de 2º grado Mobitz 2 en el estudio holter de los 9 meses.
- Un paciente requirió implante de un DAI a los 5 meses de la cirugía por TV sostenidas de repetición, sin embargo los bypass realizados se encontraban permeables en su totalidad.
- Se realizó una angioplastia con stent en un paciente con lesión significativa en la AMII, observado en el estudio hemodinámico de seguimiento.
- Se observó una hipertensión arterial de difícil control en el seguimiento.

## Resultados

---

Un injerto venoso en el grupo control y otro en el grupo celular (ambos dirigidos sobre la zona infartada) se encontraban ocluidos a los 9 meses, no constatándose consecuencias clínicas ni funcionales relevantes en ninguno de los casos.

No se observaron complicaciones asociadas con la extracción ni el implante de las CMMAMO en ningún caso. Como se ha descrito previamente, un paciente del grupo de cirugía aislada falleció en la inducción anestésica y uno del grupo CRC + CMMAMO sufrió un ACV isquémico a los 2 meses de la cirugía, no pudiéndose relacionar dicha complicación con el procedimiento de extracción e implante de células madre.

*Tabla 8: Resumen de complicaciones postoperatorias y durante el seguimiento en ambos grupos.*

<b>Variables (% de pacientes)</b>	<b>CRC + CMMAMO (n=8)</b>	<b>CRC (n=9)</b>	<b>p-valor</b>
Complicaciones en el postoperatorio inmediato	25 %	77.8 %	0.057
Complicaciones durante el seguimiento (9 meses)	25 %	66.7 %	0.090
Holter al alta (hallazgos patológicos)	0 %	11.1 %	0.999
Holter a los 9 meses (hallazgos patológicos)	0 %	22.2 %	0.471

## **DISCUSIÓN**



### **6- DISCUSIÓN.**

El estudio descrito en esta tesis presenta una metodología rigurosa. Es prospectivo y aleatorizado con grupo control, con seguimiento estricto y utilizando pruebas de alta sensibilidad y especificidad para la valoración cardíaca (RM y ecocardiografía de estrés). Además, el implante de células madre se llevó a cabo por la vía que mayor anidamiento celular ha demostrado (intramiocárdica) asociado a CRC bajo CEC. El momento del implante celular fue en la fase subaguda, ya que la fase aguda y crónica de la CI había sido investigada en numerosas ocasiones. Se pretendió evitar la fase inflamatoria (aguda) y la cicatricial (crónica) del IAM, con el fin de aumentar la supervivencia celular y el porcentaje de anidamiento en el miocardio dañado.

Los resultados del estudio demuestran que la CRC mejora la FEVI, el RWMSI basal y en máximo estrés, el GWMSI en el máximo estrés y el remodelado ventricular (a expensas del VTS) independientemente del implante celular. Sin embargo, el grado de mejora de estos parámetros no es estadísticamente mayor en el grupo de tratamiento celular que en el grupo control. Es importante reseñar que se encuentra tendencia estadística hacia la mejoría en el número de segmentos acinéticos no viables recuperados con respecto al grupo control; parámetro que es fiel reflejo del tamaño del infarto. Unos resultados similares a nuestro estudio fueron descritos por Ang *et al.*<sup>17</sup>, sin embargo, Zhi Qi *et al.*<sup>62,63</sup> y Patel *et al.*<sup>46</sup> obtuvieron resultados más favorables. Todos estos trabajos tienen en común que el implante celular se llevó a cabo en la fase crónica de la CI.

Las CMMAMO tienen la capacidad de diferenciarse a múltiples linajes celulares como cardiomiocitos, células progenitoras endoteliales y células del músculo liso<sup>64,65</sup> y se han implicado en la reparación de tejidos de múltiples órganos sólidos cuando se encuentran dañados. Este proceso de diferenciación a múltiples estirpes celulares en

función del tejido circundante se denomina plasticidad de desarrollo y transdiferenciación celular<sup>66,67,68</sup>. Dicha estirpe celular ha demostrado seguridad en la técnica de implante y resultados prometedores a corto y largo plazo en animales<sup>69</sup> y humanos<sup>45,46,70,71</sup>. Orlic *et al.*<sup>15</sup> demostraron el potencial terapéutico de la inyección intramiocárdica de CMMAMO con expresión del receptor c-kit en animales. Observaron no solo un beneficio funcional, sino también miogénesis en la zona de implante celular. Esta investigación provocó múltiples investigaciones sucesivas en animales y humanos, en las cuales, las diferentes poblaciones de CMMAMO son capaces de reparar tejido cardíaco, diferenciándose a cardiomiocitos después del IAM<sup>72,73</sup>. Varios ensayos en humanos sobre el trasplante de CMMAMO tras infarto agudo han sido llevados a cabo mediante diferentes vías y momentos de implantación<sup>74,75,76,77,78</sup>. Las CMMAMO no solo han demostrado su capacidad de diferenciación a miocitos cardíacos, sino que, en algunos estudios, han logrado aumentar la neovascularización en la zona infartada (por su capacidad para generar células madre progenitoras endoteliales como se ha descrito anteriormente), lo cual es de suma importancia para la supervivencia del tejido regenerado<sup>43</sup>. Especialmente, las células de la médula ósea mononucleadas con positividad para antígenos de superficie CD34+, CD133+ y CD117+ han mostrado un perfil de eficacia y seguridad elevadas en cuanto a la mejoría de la FEVI y el remodelado tras infarto<sup>43,66,70</sup>. Del mismo modo, el marcador de superficie CD44+ ha sido identificado para tipificar células mesenquimales derivadas de la médula ósea, ya que este subtipo celular inicialmente había sido reportado como uno de los más prometedores a la hora de diferenciarse en cardiomiocitos<sup>79</sup>. Bei Lui *et al.*, en un metaanálisis, con un total de 262 pacientes, mostraron que las células purificadas CD34+ y CD133+ derivadas de la médula ósea tienen un perfil de seguridad alto y mejoran la FEVI pero tienen un impacto limitado en

el remodelado ventricular<sup>70</sup>. Además, las células con positividad CD 133+ definen una población de células madre hemangioblásticas, con capacidad de diferenciarse a células hematopoyéticas y endoteliales<sup>47,48</sup>.

Los estudios con CMMAMO para regeneración cardíaca han sido múltiples y variados en su metodología, con variadas vías de implantación utilizadas. Si atendemos a la vía intramiocárdica, los estudios aleatorizados no son tan numerosos, y todos ellos se centran en el trasplante de células madre en fase crónica de la CI (*Tabla 9*). Stamm *et al.* en un estudio inicial, implantaron células madre intramiocárdicas enriquecidas CD133+ asociado a CRC en 12 pacientes y encontraron mejoría de la FEVI y aumento de la perfusión local a nivel del implante<sup>49</sup>. Posteriormente, el mismo grupo de trabajo, publicó los resultados del implante de CMMAMO intramiocárdicas en 6 pacientes, hallando mejoría de la FEVI en 4 de ellos y aumento significativo de la perfusión tisular y grosor miocárdico en 5 de los mismos<sup>80</sup>. Finalmente, en el año 2007, publicaron los resultados de un estudio con un total 43 pacientes aleatorizados a grupo control (CRC aislada) y grupo celular (CRC e inyección intramiocárdica de CMMAMO purificadas 133+), observando una mejoría de la FEVI mayor en el grupo de tratamiento activo a los 6 meses de seguimiento<sup>81</sup>. Zhao *et al.*<sup>82</sup> completaron un ensayo con 36 pacientes aleatorizados a CRC aislada o CRC e inyección intramiocárdica de CMMAMO. A los 6 meses, el grupo de inyección celular demostró una mejor clase funcional de la NYHA, FEVI, espesor miocárdico en la zona del infarto y contractilidad regional con respecto al grupo control. Durante el seguimiento se describieron dos episodios de arritmias ventriculares malignas en el grupo de tratamiento celular, que se resolvieron sin necesidad de implante de DAI. Zhi Qi *et al.* y Fujian Duan *et al.* reportaron una mayor mejoría en la FEVI y del remodelado ventricular en el grupo de CRC y CMMAMO intramiocárdicas frente al grupo CRC aislada en un ensayo clínico aleatorizado de 42

pacientes en dos publicaciones consecutivas<sup>62,63</sup>. Patel *et al.*<sup>46</sup> utilizaron CMMAMO con tipaje CD34+ mediante implante intramiocárdico directo asociadas a CRC sin CEC en dos grupos aleatorizados (control y células). Sus resultados mostraron una mejoría de la FEVI mayor en el grupo de tratamiento activo. En un ensayo aleatorizado con 20 pacientes, metodológicamente similar a los descritos anteriormente, Hendrikx *et al.* no encontraron mejoría significativa de la FEVI a los 4 meses pero sí un aumento del grosor miocárdico de la pared en la zona de inyección celular<sup>83</sup>. Ang *et al.*, en su ensayo aleatorizado con 63 pacientes no observaron una mejoría significativamente mayor en el grupo celular en cuanto a la FEVI, el grosor miocárdico ni la contractilidad regional del área infartada<sup>17</sup>.

*Tabla 9: Estudios con implante de células madre de la médula ósea por vía intramiocárdica asociados a cirugía de revascularización en fase crónica de la cardiopatía isquémica.*

<b>Autores</b>	<b>Año</b>	<b>Ref.</b>	<b>Número pacientes</b>	<b>Resultados</b>
Stamm C. <i>et al.</i>	2003	49	12	Mejoría de la FEVI y aumento de la perfusión tisular en zona de implante.
Stamm C. <i>et al.</i>	2003	80	6	Aumento de la perfusión tisular y grosor miocárdico en la zona de implante.
Stamm C. <i>et al.</i>	2007	81	43	Mejoría de la FEVI.
Zhao Q. <i>et al.</i>	2008	82	36	Mejoría de la FEVI, CF, espesor miocárdico y contractilidad regional.
Qi Z. <i>et al.</i>	2015	62	42	Mejoría de la FEVI.



## Discusión

---

Duan F. <i>et al.</i>	2015	63	42	Mejoría del remodelado ventricular.
Patel AN. <i>et al.</i>	2004	46	20	Mejoría de la FEVI.
Hendrikx M. <i>et al.</i>	2006	83	20	Aumento del grosor miocárdico sin mejoría de la FEVI.
Ang KL. <i>et al.</i>	2008	17	63	No mejoría de la FEVI ni del remodelado ventricular ni de la motilidad regional de la zona infartada.

Como puede observarse, existe una discrepancia en los resultados de los ensayos aleatorizados con grupo control e implante de CMMAMO intramiocárdicas. Esta discrepancia puede estar relacionada con las diferencias metodológicas. En los estudios de Stamm<sup>49,80,81</sup> los progenitores se obtuvieron la noche antes de la intervención quirúrgica y se cultivaron durante 24 horas, sin embargo en los de Hendrikx<sup>83</sup> y Ang<sup>17</sup> se obtuvieron minutos antes de la CRC. En los estudios de Zhi Qi<sup>62</sup> y Fujiam Duan<sup>63</sup> también se cosecharon después de la inducción anestésica y antes de la cirugía. En este sentido, la hipótesis de que la variabilidad en el protocolo de obtención de progenitores podía ser la causa de los resultados tan dispares, aunque verosímil, no parece del todo concluyente. Por otro lado, se han atribuido los excelentes resultados de Stamm a la selección de células madre purificadas 133+, ya que como se ha comentado previamente, esta estirpe posee un perfil neoangiogénico potente. De hecho, la mejoría de la función cardíaca ha sido atribuida al aumento de la neovascularización miocárdica local y no tanto a la diferenciación celular en algunos artículos<sup>84</sup>. Por este motivo surgieron estudios como el de Van Ramshorst *et al.*<sup>85</sup>, donde el implante de CMMAMO es intramiocárdico pero no asociado a CRC, ya que se randomizaron pacientes con

angina refractaria estable no revascularizable y tratamiento médico óptimo. El objetivo de este estudio era valorar si las CMMAMO implantadas mejoraban la sintomatología anginosa del paciente, centrándose en la capacidad angiogénica de los progenitores y no tanto en la capacidad de regeneración tisular (ya que los pacientes incluidos no habían sufrido IAM). Los resultados mostraron una mejoría significativa pero clínicamente modesta de la perfusión miocárdica. En estas líneas de investigación, surgieron nuevas dudas, poniendo en entredicho la diferenciación completa y funcional de las CMMAMO a cardiomiocitos<sup>86</sup>. Por este motivo, algunos grupos de trabajo establecieron la necesidad de acondicionar las células para que siguiesen una línea de diferenciación más establecida. En este sentido, algunos grupos de trabajo aplican un tratamiento previo celular con 5 azacitidina, buscando el aumento del porcentaje de diferenciación a células musculares cardíacas funcionales adultas, aunque este enfoque no está probado y los ensayos que existen son pre-clínicos en animales<sup>87</sup>.

La disparidad de resultados también puede estar relacionada con el diferente número de células implantadas entre uno y otro ensayo. Algunos autores han resaltado la importancia del recuento exhaustivo del número de progenitores implantados de cara a la mejoría de la función cardíaca<sup>10,50</sup>. Incluso se han aleatorizado pacientes en diferentes grupos de tratamiento en función del número de células que se les pretende implantar<sup>88</sup>. De hecho, M.R. Afzal *et al.* revelaron, tras un metaanálisis reciente de ensayos randomizados de células madre derivadas de médula ósea (por vía intracoronaria o intramiocárdica), la necesidad de implantar un número mínimo de 50 millones de células, por debajo del cual, no hay beneficio<sup>50</sup>. Cuando la vía intracoronaria es la elegida para el implante celular, algunos autores han reportado la importancia de determinar las características de la infusión y no exceder mucho el

número idóneo de células para evitar fenómenos de mionecrosis adicional durante la infusión, ya que dicha complicación ha sido descrita en modelos animales<sup>89</sup>.

Independientemente de la vía de implantación, el anidamiento celular en el miocardio es errático<sup>90,91,92</sup>. La inyección intramiocárdica directa ha sido descrita como un procedimiento seguro y eficaz tanto en animales como en seres humanos<sup>74,75,93,94</sup> y presenta el mayor porcentaje de anidamiento celular en el músculo cardíaco, superando a la vía periférica, transvenosa e intracoronaria<sup>92,95</sup>. Sin embargo, para la administración intramiocárdica es necesaria la visión directa del área infartada, y por consiguiente, la cirugía abierta. A pesar de todo, un gran número de células también mueren por hipoxia tisular, inflamación y estrés físico durante el implante intramiocárdico<sup>96</sup>. Las células progenitoras infundidas por vía intravenosa colonizan el miocardio infartado más intensamente que el miocardio sano<sup>97</sup>. Por consiguiente, las CMMAMO pueden ser movilizadas de la médula ósea mediante factores estimulantes de colonias en cantidades suficientes para posteriormente anidar en el miocardio dañado, o ser recolectadas periféricamente de la sangre e implantadas posteriormente por otra vía<sup>74,76,93</sup>. Este método era muy prometedor, por ser el menos invasivo y por el bajo coste que conllevaba en comparación con los demás; sin embargo, el proceso de localización de las células madre, el bajo porcentaje de anidamiento en el miocardio y la fuga de células hacia diferentes órganos con potenciales efectos secundarios no conocidos limitan la utilización de esta vía<sup>97</sup>.

El implante de células madre por vía endomiocárdica percutánea se ha descrito como un procedimiento seguro y ha sido utilizada en humanos con buenos resultados por parte de Perin *et al.*<sup>78</sup>. En este estudio se incluyeron 21 pacientes en fase crónica de CI y se procedió a un mapeo electromecánico de miocardio no viable para identificar las zonas idóneas de inyección celular mediante un catéter. En la evolución posterior se

observó una mejoría de la motilidad regional en las zonas de implante celular, así como una mejoría del remodelado ventricular y de la FEVI mediante realización de PET, ecocardiograma y nuevo mapeo electromecánico<sup>78</sup>. Un estudio similar, por vía endomiocárdica, pero aleatorizado con control y analizando subgrupos según el número de células implantadas (PROTECT-CAD), fue llevado a cabo por Tse *et al.* Este estudio observó una mejoría estadísticamente significativa de la FEVI, clase funcional según la NYHA y tolerancia al ejercicio de los paciente con tratamiento celular y CI crónica no revascularizable<sup>88</sup>. Es de suma importancia destacar que el citado estudio no está centrado en la regeneración tisular por parte de las células madre, sino en la disminución de la sintomatología anginosa y tolerancia al ejercicio de los pacientes; por lo tanto, el papel neoangiogénico de las CMMAMO toma especial relevancia en los sujetos de este ensayo.

Como se mencionó anteriormente, para llevar a cabo el implante de CMMAMO por vía intramiocárdica es necesaria la visión directa del área infartada y sus límites. Por ello, la mayoría de grandes estudios randomizados, prospectivos, con células madre y gran potencia estadística han utilizado la vía intracoronaria (*Tabla 10*). El estudio BOOST, diseñado con 60 pacientes aleatorizados a grupo control e implante celular mostró mejoría en la FEVI y remodelado ventricular en el grupo de tratamiento activo a corto plazo, pero no a los 18 meses ni a los 5 años del procedimiento<sup>58</sup>. Janssens *et al.* aleatorizaron 67 pacientes a recibir CMMAMO intracoronarias en las primeras 24h tras SCACEST asociado a ACTP primaria o placebo. No observaron mejoría en la FEVI pero sí vieron una disminución del tamaño del infarto en el grupo de tratamiento celular, argumentando que dicha práctica podría mejorar el remodelado ventricular tras el SCACEST<sup>98</sup>. El estudio TOPCARE AMI<sup>57</sup> con 59 pacientes aleatorizados a dos grupos de tratamiento (células madre hematopoyéticas sanguíneas periféricas y CMMAMO)

reportó una mejoría de la FEVI, una disminución de la zona del infarto en ambos grupos y una amplia seguridad a largo plazo (5 años) con la utilización de células madre, pero no una mejoría en la evolución de los volúmenes ventriculares. El estudio REGENT<sup>59</sup>, con 200 pacientes y metodología similar pero utilizando CMMAMO purificadas CD34+, afirmó que el implante no mejora significativamente la FEVI ni el remodelado ventricular, pero existe una tendencia a la mejoría especialmente en los pacientes con la FEVI más deteriorada (menor al 37%) y en aquellos en los que la revascularización percutánea fue más tardía. El estudio REPAIR AMI<sup>99</sup>, con un total de 204 pacientes incluidos, reportó una mejoría de la FEVI y de la contractilidad regional de la zona del IAM a los 4 meses del procedimiento tras el implante de CMMAMO, afirmando que el mejor factor pronóstico para predecir la mejoría del remodelado ventricular tras el infarto agudo, es el estudio del flujo miocárdico en la zona peri-infarto después del implante de células madre. El estudio HEBE aleatorizó 200 pacientes con IAM a 3 grupos: ACTP primaria aislada, ACTP asociada a implante intracoronario de CMMAMO y ACTP primaria asociada a implante de células madre de sangre periférica. No encontraron mejoría en la FEVI ni en la contractilidad regional del área infartada a los 4 meses<sup>100</sup>, pero reportaron una significativa disminución del VTD a los 5 años de seguimiento en el grupo de tratamiento con CMMAMO<sup>101</sup>. Fernández Avilés *et al.* en un estudio no aleatorizado con implante de CMMAMO por vía intracoronaria 15 días después del IAM, reportaron una mejoría de los volúmenes ventriculares, la FEVI y la contractilidad regional del área infartada en una serie de 20 pacientes comparados con grupo control<sup>102</sup>. Velu Nair *et al.* en un estudio aleatorizado con grupo control, multicéntrico, de 250 pacientes con implante intracoronario de CMMAMO entre la semana 1 y 3 después del IAM transmural, no encontraron diferencias en la mejoría de la FEVI ni el remodelado ventricular entre ambos grupos<sup>10</sup>. Es uno de los

pocos estudios aleatorizados, en el cual los progenitores celulares han sido implantados en fase subaguda del IAM.

Igualmente, en los últimos años se han publicado resultados neutros en la terapia celular por vía intracoronaria: Nuestro grupo de trabajo comparó tres diferentes estrategias de terapia celular (implante intracoronario de CMMAMO, movilización periférica de células madre mediante FECG y combinación de ambos), aleatorizadas con un grupo control y no hubo mejoría de función ventricular ni remodelado con respecto al tratamiento convencional<sup>103</sup>.

*Tabla 10: Ensayos clínicos con implante de células madre de la médula ósea por vía intracoronaria.*

<b>Autores/nombre del ensayo</b>	<b>Año</b>	<b>Ref.</b>	<b>Número pacientes</b>	<b>Resultados</b>
Kai W. <i>et al.</i> / BOOST	2004	58	60	Mejoría de la FEVI y remodelado ventricular a los 6 meses pero no a los 18 meses ni a los 5 años.
Janssens <i>et al.</i>	2006	98	67	Mejoría del tamaño del IAM pero no de la FEVI.
Leistner DM. <i>et al.</i> /TOPCARE AMI	2011	57	59	Mejoría de la FEVI y el tamaño del IAM pero no de los volúmenes ventriculares a los 5 años.
Tendera M. <i>et al.</i> /REGENT	2009	59	200	No mejoría de FEVI ni remodelado ventricular. Tendencia a la mejoría en pacientes con FEVI severamente deprimida.

## Discusión

Schächinger V. <i>et al.</i> / REPAIR-AMI	2006	99	204	Mejoría de la FEVI y de la contractilidad regional del área infartada.
Hirsch A. <i>et al.</i> / HEBE 4 meses	2011	100	200	No mejoría de la FEVI ni de la contractilidad regional del área infartada.
Delewi R. <i>et al.</i> / HEBE 5 años	2015	101	200	Mejoría del VTD.
Avilés FF. <i>et al.</i>	2004	102	20	Mejoría de la FEVI, los volúmenes ventriculares y la contractilidad regional del área infartada.
Nair V. <i>et al.</i>	2015	10	250	No mejoría de la FEVI ni del remodelado ventricular.
San Román JA. <i>et al.</i>		103	120	No mejoría de la FEVI ni de los volúmenes ventriculares.

Tres grandes metaanálisis y revisiones con CMMAMO por vía intracoronaria han sido publicados<sup>104</sup>: Abdel-Latif *et al.*<sup>105</sup> analizaron 18 estudios controlados (entre ellos 12 aleatorizados). Un estudio reveló una tasa significativamente mayor de reestenosis intra-stent en el grupo celular. En el estudio comparativo, la media de la FEVI mejoró un 3.66% (p=0.01) en el grupo celular, al igual que ocurrió con la reducción del tamaño del infarto (p=0.003) y el descenso en el VTS (p=0.006). El metaanálisis de Lipinski *et al.*<sup>106</sup> incluyó 10 estudios (7 aleatorizados). Los pacientes con terapia celular mejoraron más la FEVI, VTS y el tamaño de la zona infartada, aunque esto no conllevó menores

tasas de mortalidad ni de rehospitalización. Martin-Rendon *et al.*<sup>107</sup> realizaron una revisión, incluyendo 880 pacientes en múltiples ensayos con CMMAMO intracoronarias y su efecto sobre el IAM o CI. Concluyeron que el implante de CMMAMO era seguro y discretamente beneficioso en cuanto a la mejoría de la FEVI, remodelado ventricular post-IAM o motilidad regional de la zona infartada. Esta conclusión se debió a que los ensayos incluidos tuvieron un pequeño tamaño muestral, períodos cortos de seguimiento y número variable de células implantadas, lo cual, no aportó potencia suficiente para demostrar que la terapia tiene un efecto significativo sobre la morbimortalidad, incidencia de reinfartos, reestenosis intrastent o estancia hospitalaria.

Existe gran controversia en cuanto al momento idóneo de implantación de las células madre tras el IAM. Artículos recientes afirman que existe mejoría de la FEVI tras la implantación de células madre en las primeras 24 horas postinfarto y en los 3-7 días siguientes, pero no existe mejoría cuando el implante se lleva a cabo a partir de los 7 días del IAM<sup>108</sup>. Sin embargo, en el metaanálisis de M.R. Afzal *et al.*, las células madre implantadas en las primeras 48 horas tras el IAM disminuyen el tamaño del infarto, pero el implante entre el 3-10 días (subagudo) tras el IAM mejoraba más la FEVI y el remodelado ventricular frente al implante en fase aguda<sup>50</sup>. Surder *et al.*, en un estudio multicéntrico de 200 pacientes aleatorizado a 3 grupos (control, implante de células 3-7 días tras el infarto e implante de células 3-4 semanas después del infarto por vía intracoronaria) no encontraron diferencias en la FEVI ni en el remodelado ventricular con respecto al grupo control<sup>109</sup>. Aunque teóricamente sería lógico pensar que el implante celular precoz podría tener beneficios tempranos, el proceso inflamatorio agudo puede comprometer el anidamiento y la supervivencia celular<sup>52,110</sup>; de hecho, varios expertos afirman que las células madre anidan con mayor garantía en el



miocardio sano que en el miocardio dañado<sup>91</sup>. Por otro lado, el implante celular, cuando la fase cicatricial está establecida, puede comprometer el anidamiento celular por condiciones desfavorables sobre un tejido avascular y fibrótico<sup>111</sup>. En pacientes con IAM transmural, evolucionado y no revascularizado, la cirugía debería ser retrasada al menos de 3 a 7 días después de acontecer el infarto, siempre y cuando los pacientes no presenten indicios de complicaciones mecánicas y se mantengan hemodinámicamente estables<sup>112</sup>.

En el ensayo presentado no se observaron complicaciones derivadas de la extracción ni implante de las CMMAMO; sin embargo, algunos autores han reportado complicaciones derivadas de esta terapia. Las más frecuentemente descritas han sido las arritmias, especialmente cuando el progenitor celular eran los mioblastos esqueléticos<sup>16</sup>. Como se ha mencionado, la etiología de éstas sigue siendo una incógnita y parece obedecer a un conglomerado de factores, más que al implante del progenitor propiamente dicho. También se ha descrito el dolor óseo por la utilización de factores estimulantes de colonias (con el fin de reclutar progenitores hematopoyéticos en la sangre periférica), el aumento de la temperatura corporal, el incremento de los valores de fibrinógeno en sangre periférica y la elevación de la viscosidad sanguínea<sup>103</sup>. Algunos autores revelaron que el implante intracoronario de progenitores podría provocar una mayor tasa de re-estenosis intra-stent<sup>105</sup>. Dichos hallazgos no fueron reproducidos en otros estudios de nuestro grupo de trabajo<sup>113</sup>, por lo que no se puede asociar dicha complicación con el implante celular.

El estudio ya mencionado de M.R. Azfal *et al.*<sup>50</sup> es uno de los metaanálisis más actuales (y por tanto, posterior al inicio de nuestro ensayo) y representativos de la situación de la terapia celular derivada de la médula ósea como tratamiento regenerativo miocárdico. Dicha revisión aborda la mayoría de las cuestiones de interés en este

campo: tipo de progenitores implantados, vía de implantación, momento del trasplante, recuento celular y supervivencia de progenitores. En dicho estudio se analizaron 2602 pacientes de 48 ensayos aleatorizados. Las conclusiones fueron que las células madre de la médula ósea adultas mejoran la FEVI, el VTS, el VTD y el tamaño de la región infartada. Además, el implante celular mejoraba el tamaño de la región infartada especialmente si se llevaba a cabo a las primeras 48 horas después del infarto. La mejoría de la FEVI era mayor si el implante se realizaba más tarde (3-10 días después del IAM). Así mismo, se informó que el número mínimo de células necesarias para el implante debía ser 50 millones, siendo los beneficios limitados cuando se implantaba un número menor o mayor.

Actualmente, y con motivo de la disparidad de resultados en cuanto a la terapia celular aplicada al IAM, se encuentra en proceso el estudio BAMI. Se trata de un ensayo clínico multicéntrico, aleatorizado, controlado, con la participación de 3000 pacientes con FEVI menor del 45% y SCACEST que serán sometidos a ACTP primaria e implante intracoronario de CMMAMO (2-8 días tras la revascularización percutánea) frente a ACTP primaria aislada (grupo control). El objetivo primario es dilucidar definitivamente si el implante intracoronario de CMMAMO reduce la mortalidad por cualquier causa en este tipo de pacientes<sup>114</sup>.

## **LIMITACIONES**



### **7- LIMITACIONES.**

Los resultados del presente trabajo pueden significar una falta de eficacia de la terapia con CMMAMO en el contexto de factores de riesgo asociados a los pacientes, (edad, diabetes mellitus, hábito tabáquico, etc.) como se ha documentado en algunos artículos científicos<sup>115</sup> o puede deberse al escaso número de pacientes incluidos (debido, entre otros factores, a los férreos criterios de inclusión y al carácter unicéntrico del estudio). Aunque el tamaño de la muestra fue calculado a priori, la pérdida de pacientes durante el protocolo fue ligeramente superior a la esperada. Igualmente, una limitación importante es contar con un número mínimo de progenitores a implantar (25 millones) pero no haber acotado el límite superior de dicho recuento, de tal manera, que algunos de los pacientes recibieron un número celular sensiblemente mayor. Así mismo, a la hora de incluir un paciente en el estudio, se requiere una disfunción ventricular izquierda cuantificada en la ventriculografía. Es importante tener en cuenta que la FEVI y GWMSI pueden mejorar hasta que se realiza la RM basal y el ecocardiograma en estos pacientes. Dicha mejoría responde a la superación de la fase aguda del infarto, pero deja un margen de mejora menor al comparar con la FEVI hallada en las pruebas realizadas a los 9 meses de la intervención, ya que se parte de unos parámetros de contractilidad global basal menos deteriorados. Probablemente, esta limitación tendría menos trascendencia al aumentar el tamaño muestral del ensayo clínico.



## **CONCLUSIONES**





### **8- CONCLUSIONES.**

El ensayo clínico presentado sugiere que la administración de CMMAMO por vía intramiocárdica asociado a CRC en pacientes que han tenido un IAM transmural no revascularizado no mejora la FEVI (en reposo ni durante la ecocardiografía de estrés) ni parámetros de remodelado ventricular a medio plazo comparado con el tratamiento convencional. Existe tendencia estadística en la recuperación de segmentos miocárdicos acinéticos no viables tras el procedimiento a favor del grupo de tratamiento activo celular. Dicho parámetro refleja la magnitud del infarto y la capacidad de diferenciación celular de las células madre implantadas, sin embargo este hito no se traduce en una mejoría de los parámetros funcionales miocárdicos.

El implante intramiocárdico de CMMAMO asociado a CRC fue un procedimiento seguro y sin complicaciones en nuestro ensayo.

Futuros estudios aleatorizados, metodológicamente similares, pero multicéntricos y con un mayor número de pacientes ayudarán a establecer el posible beneficio de la terapia celular tras el IAM. Así mismo, la detección y cuantificación de la diferenciación celular y del anidamiento mediante métodos de inmunohistoquímica, marcaje radionuclear etc. mejoraría la sensibilidad y especificidad en los ensayos venideros.



## **PERSPECTIVAS FUTURAS**



## **9- PERSPECTIVAS FUTURAS.**

La ingeniería tisular es un campo multidisciplinario que combina biología, ciencia de los materiales y cirugía para proporcionar tejido vivo con el fin de restaurar, mantener o mejorar la función tisular. El objetivo principal es la regeneración tridimensional de tejido funcional “*ex vivo*” sobre polímeros biodegradables (matrices extracelulares), que pueden personalizarse en tamaño y forma en función de las necesidades del tejido a regenerar<sup>18,116</sup>. La reconstrucción tisular ideal del miocardio debería mostrar propiedades funcionales y morfológicas del músculo cardíaco nativo y seguir siendo viable después de la implantación. La integración de las características mecánicas, eléctricas, vasculares, de compatibilidad y funcionales de la arquitectura del órgano debería proporcionar la reparación del tejido dañado y la consecuente mejora de la FEVI y el remodelado ventricular tras el implante autólogo<sup>18,117</sup>. Las matrices extracelulares de biomateriales juegan un papel importante en la reconstrucción de miocardio por bioingeniería. La matriz ideal debería tener una textura y rigidez determinada<sup>118</sup> proporcionar un entorno adecuado para el desarrollo de tejidos, favorecer la unión celular, el crecimiento y la diferenciación, favorecer la vascularización “*in vivo*” y facilitar la integración de los tejidos con el huésped. Igualmente, debe favorecer el reemplazo gradual de la matriz (degradación) por tejido vivo del organismo receptor; además, no debe constituir un producto inmunogénico ni tóxico y debe ser biocompatible<sup>119</sup>. La neovascularización para la posterior nutrición del tejido es uno de los grandes retos de la ingeniería tisular. Múltiples estrategias con factores neoangiogénicos como el FCEV y el FCF están siendo ampliamente utilizadas.

Teóricamente, las células ideales para la ingeniería tisular de regeneración miocárdica serían los cardiomiocitos, ya que son el principal componente celular del corazón. Ya existen varios estudios que aplican la tecnología de reconstrucción tisular a

partir de cardiomiocitos fetales o neonatales en animales<sup>120</sup>. Sin embargo, aparecen múltiples limitaciones en este campo de investigación: la escasa capacidad de proliferación de los mismos (aunque provengan de progenitores fetales o neonatales), el desconocimiento de los mecanismos de regulación genética específicos que conllevan a la sincronía eléctrica del tejido cardíaco y la necesidad de pensar en el miocardio como un tejido multicelular (ya que posee fibroblastos, células endoteliales, células musculares lisas, macrófagos, etc.) a la hora de intentar reproducirlo “*ex-vivo*”<sup>18</sup>.

Las células madre también se han utilizado para generar tejido “*ex-vivo*” mediante ingeniería tisular. Estos progenitores con amplia capacidad de proliferación y diferenciación han sido sembrados y expandidos “*in vitro*” en matrices tridimensionales de variados biomateriales, por ejemplo en andamios de colágeno tridimensionales<sup>121</sup>. Se ha evaluado su crecimiento, su migración en presencia de factores quimiotácticos y los perfiles de expresión de factores implicados en la reparación tisular<sup>121</sup>. Posteriormente, en algunos ensayos, los tejidos obtenidos mediante bioingeniería tisular han sido implantados en corazones de animales. Células de la médula ósea de embriones y mioblastos fetales han sido utilizados en ratas<sup>122</sup> y corderos<sup>123</sup> respectivamente con resultados preliminares prometedores en cuanto al crecimiento, reparación y remodelación del tejido miocárdico dañado.

Los progenitores empleados hasta el momento en este campo tan prometedor, corresponden fundamentalmente a células madre derivadas de cordón umbilical y embriones, lo cual, hace complicada la investigación en humanos por los problemas éticos. De igual modo, debemos ser cautelosos de promover prematuramente la expansión tisular de células madre, ya que el riesgo de desarrollar fenotipos celulares no deseados, con la consecuente transformación neoplásica no se puede excluir, ya que los

mecanismos de diferenciación y proliferación celular no han sido claramente dilucidados y existe un riesgo potencial de crecimiento incontrolado<sup>18,115,124</sup>.

Por otro lado, una de las esperanzas futuras para la regeneración tisular es la terapia génica aplicada a las células madre. Los progenitores podrían ser dirigidos hacia la diferenciación a cardiomiocitos “*in vitro*” mediante la vehiculación de genes integrados en ADN viral<sup>125</sup> (por ejemplo integrando genes de expresión de conexina 43 en mioblastos, etc.) para permitir mejor adaptación funcional en el miocardio. Igualmente, las células podrían ser modificadas genéticamente para expresar proteínas que mejoren la función cardíaca (relacionados con receptores del sistema vegetativo, adrenérgicos, etc.), la angiogénesis (FCEV), el crecimiento celular, la supervivencia frente al medio isquémico (expresión de hemooxigenasa-1)<sup>126</sup>, etc.

En los últimos años se abrió una nueva línea de investigación: el trasplante de vesículas extracelulares liberadas por células madre con perfil de diferenciación cardiovascular. La hipótesis es sencilla; si somos capaces de descubrir qué mediadores extracelulares utilizan las células madre (por ejemplo el subtipo de progenitores cardiovasculares) para la replicación y regeneración tisular, quizás, trasplantando dichos mediadores (que son liberados mediante vesículas al medio extracelular) podemos activar las células miocárdicas y la angiogénesis después del IAM. Los resultados de algunos estudios en animales son ilusionantes<sup>127</sup>, pero aún queda mucho camino por recorrer en este campo.

Algunos reportes científicos han planteado la importancia del daño mitocondrial en la muerte de células miocárdicas tras la isquemia cardíaca. En esta línea de investigación se planteó el trasplante de mitocondrias autólogas sobre el miocardio dañado como terapia de regeneración tisular. Múltiples estudios en animales han sido realizados. Recientemente la primera serie de casos en humanos ha sido reportada. Se

trata de un trabajo realizado en pacientes con edad pediátrica y daño miocárdico tras isquemia-reperfusión después de ser sometidos a cirugía cardíaca. Se demostró que el implante temprano de mitocondrias autólogas en estos pacientes es seguro y además mejora la función ventricular después de varios días de la cirugía<sup>128</sup>. Aún faltan múltiples investigaciones en esta línea para certificar si el implante mitocondrial es relevante sobre la regeneración y recuperación miocárdica.

Aunque las células madre como estrategia de regeneración celular es un método atractivo que ha generado algunos resultados alentadores, se necesitan estudios mayores y evidencias más férreas para extender su uso. El desconocimiento de ciertos factores biomoleculares asociados a la diferenciación celular, el quimiotactismo, movilización, regulación del crecimiento etc. hacen su utilización limitada.

Avances recientes en la biotecnología celular, la terapia génica y el conocimiento de los mediadores del crecimiento y la diferenciación celular abren la puerta a nuevas perspectivas en el tratamiento de las enfermedades cardiovasculares. Aunque la ingeniería tisular tiene objetivos muy ambiciosos, como la fabricación de tejidos biocompatibles, la reconstrucción tisular e incluso la formación de órganos, la realidad actual es que estas investigaciones están lejos de la aplicabilidad clínica, quedando aún un largo camino por delante.



## **BIBLIOGRAFÍA**



### **10- BIBLIOGRAFÍA.**

- 1- Organización Mundial de la Salud 2017.  
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/es/>.
- 2- Cowie MR, Mosterd A, Wood DA, Deckers JW, Poole-Wilson PA, Sutton GC, *et al.* The epidemiology of heart failure. *Eur Heart J* 1997; 18(2):208-25.
- 3- Defunciones según la causa de muerte 2015. Instituto Nacional Español de Estadística 2015. [http://www.ine.es/prensa/edcm\\_2015.pdf](http://www.ine.es/prensa/edcm_2015.pdf).
- 4- McMurray JJ, Adamopoulos S, Anker SD, Auricchio A, Böhm M, Dickstein K, *et al.* Guía de práctica clínica de la ESC sobre diagnóstico y tratamiento de la insuficiencia cardiaca aguda y crónica 2012. *Rev Esp Cardiol.* 2012; 65:938.e1-938.e59.
- 5- Sayago-Silva I, García-López F, Segovia-Cubero J. Epidemiología de la insuficiencia cardiaca en España en los últimos 20 años. *Rev Esp Cardiol.* 2013;66:649-56.
- 6- Segovia J. Los números de la insuficiencia cardiaca: una oportunidad para mejorar. *Rev Clin Esp.* 2013; 213:25-7.
- 7- Cowie MR, Wood DA, Coats AJ, Thompson SG, Poole-Wilson PA, Suresh V, *et al.* Incidence and etiology of heart failure; a population-based study. *Eur Heart J.* 1999; 20:421-8.
- 8- Gomez-Soto FM, Andrey JL, Garcia-Egido AA, Escobar MA, Romero SP, Garcia-Arjona R, *et al.* Incidence and mortality of heart failure: A community-based study. *Int J Cardiol.* 2011; 151:40-5.
- 9- Ho KK, Pinsky JL, Kannel WB and Levy D. The epidemiology of heart failure: the Framingham study. *J Am Coll Cardiol.* 1993; 22:A6-A13.

- 10- Nair V, Madan H, Sofat S, Ganguli P, Jacob MJ, Datta R, *et al.* Efficacy of stem cell in improvement of left ventricular function in acute myocardial infarction - MI3 trial. *Indian J Med Res* 142, 2015 Aug; 165-174.
- 11- Hellermann JP, Jacobsen SJ, Redfield MM, Reeder GS, Weston SA, Roger VL, *et al.* Heart failure after myocardial infarction: clinical presentation and survival. *Eur J Heart Fail* 2005;7:119-25.
- 12- Weissman IL, Anderson DJ and Gage F. Stem and progenitor cells: origins, phenotypes, lineage commitments, and transdifferentiations. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2001; 17:387-403.
- 13- Chachques JC, Herreros J, Trainini JC. Regeneración cardiaca. Células madre adultas. *Magíster Eos*. 2005; 37-44.
- 14- Beltrami AP, Urbanek K, Kajstura J, Yan SM, Finato N, Bussani R, *et al.* Evidence that human cardiac myocytes divide after myocardial infarction. *N Engl J Med*. 2001 Jun 7;344(23):1750-7.
- 15- Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Limana F, Jakoniuk I, Quaini F *et al.* Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival. *Proc Nat Acad Sci* 2001; 98:10344-10349.
- 16- Menasché P, Hagege AA, Vilquin JT, Desnos M, Abergel E, Pouzet B, *et al.* Autologous skeletal myoblast transplantation for severe postinfarction left ventricular dysfunction. *J Am Coll Cardiol*. 2003 Apr 2; 41(7):1078-83.
- 17- Ang KL, Chin D, Leyva F, Foley P, Kubal C, Chalil S, *et al.* Randomized, controlled trial of intramuscular or intracoronary injection of autologous bone marrow cells into scarred myocardium during CABG versus CABG alone. *Nature Clinical Practice* 2008; 5:663-670.

- 18- Wu KH, Liu YL, Zhou B, Han ZC. Cellular therapy and myocardial tissue engineering: the role of adult stem and progenitor cells. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2006 Nov; 30(5):770-81.
- 19- Winters AA, Bou-Ghannam S, Thor H, Hawayek JA, Atkinson DL, Bartlett CE, *et al*. Evaluation of multiple biological therapies for ischemic cardiac disease. *Cell Transplant* 2016 May; 10.
- 20- Kehat I, Kenyagin-Karsenti D, Snir M, Segev H, Amit M, Gepstein A, *et al*. Human embryonic stem cells can differentiate into myocytes with structural and functional properties of cardiomyocytes. *J Clin Invest* 108(3), 407-14.
- 21- Shamblott MJ, Axelman J, Littlefield JW, Blumenthal PD, Huggins GR, Cui Y, *et al*. Human embryonic germ cell derivatives express a broad range of developmentally distinct markers and proliferate extensively in vitro. *Proc Natl Acad Sci* 2001; 98(1), 113-8.
- 22- Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS *et al*. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998; 282(5391), 1145-7.
- 23- Kessler PD and Byrne BJ. Myoblast cell grafting into heart muscle: cellular biology and potential applications. *Annu Rev Physiol* 1999 ; 61, 219-42.
- 24- Scorsin M, Hagege A, Vilquin JT, Fiszman M, Marotte F, Samuel JL, *et al*. Comparison of the effects of fetal cardiomyocyte and skeletal myoblast transplantation on postinfarction left ventricular function. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000; 119(6), 1169-75.
- 25- Quaini F, Urbanek K, Beltrami AP, Finato N, Beltrami CA, Nadal-Ginard B *et al*. Chimerism of the transplanted heart. *N Engl J Med*. 2002; 346:5-15.

- 26- Seale P. and Rudnicki, MA. A new look at the origin, function, and "stem-cell" status of muscle satellite cells. *Dev Biol* 2000; 218(2), 115-24.
- 27- Bischoff R. Interaction between satellite cells and skeletal muscle fibers. *Development* 1990; 109(4), 943-52.
- 28- Van den Bos EJ, Davis BH, Taylor DA. Transplantation of skeletal myoblasts for cardiac repair. *J Heart Lung Transplant* 2004; 23:1217-27.
- 29- Pagani FD, DerSimonian H, Zawadzka A, Wetzel K, Edge AS, Jacoby DB, *et al.* Autologous skeletal myoblasts transplanted to ischemia-damaged myocardium in humans. Histological analysis of cell survival and differentiation. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41:879-88.
- 30- Jolesz F and Sreter FA. Development, innervation, and activity-pattern induced changes in skeletal muscle. *Annu Rev Physiol* 1981 ; 43, 531-52.
- 31- Menasché P, Hagege AA, Scorsin M, Pouzet B, Desnos M, Duboc D, *et al.* Myoblast transplantation for heart failure. *Lancet* 2001; 357(9252), 279-80.
- 32- Rajnoch C, Chachques JC, Berrebi A, Bruneval P, Benoit MO and Carpentier A. Cellular therapy reverses myocardial dysfunction. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2001; 121(5), 871-8.
- 33- Dorfman J, Duong M, Zibaitis A, Pelletier MP, Shum-Tim D, Li C, *et al.* Myocardial tissue engineering with autologous myoblast implantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1998; 116(5), 744-51.
- 34- Murry CE, Wiseman RW, Schwartz SM and Hauschka SD. Skeletal myoblast transplantation for repair of myocardial necrosis. *J Clin Invest* 1996; 98(11), 2512-23.

- 35- Reinecke H, MacDonald GH, Hauschka SD and Murry CE. Electromechanical coupling between skeletal and cardiac muscle. Implications for infarct repair. *J Cell Biol* 2000; 149(3), 731-40.
- 36- Herreros J, Prosper F, Pérez A, Gavira JJ, García-Velloso MJ, Barba J, *et al.* Autologous intramyocardial injection of cultured skeletal muscle-derived stem cells in patients with non-acute myocardial infarction. *Eur Heart J* 2003; 24: 2012-2020.
- 37- Dib N, Michler RE, Pagani FD, Wright S, Kereiakes DJ, Lengerich R, *et al.* Safety and feasibility of autologous myoblast transplantation in patients with ischemic cardiomyopathy: four-year follow-up. *Circulation* 2005; 112:1748-55.
- 38- Leobon B, Garcin I, Menasché P, Vilquin JT, Audinat E, Charpak S, *et al.* Myoblasts transplanted into rat infarcted myocardium are functionally isolated from their host. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 7808-11.
- 39- Murtuza B, Suzuki K, Bou-Gharios G, Beauchamp JR, Smolenski RT, Partridge TA, *et al.* Transplantation of skeletal myoblasts secreting an IL-1 inhibitor modulates adverse remodeling in infarcted murine myocardium. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101:4216-21.
- 40- Quirici N, Soligo D, Caneva L, Servida F, Bossolasco P, Deliliers GL, *et al.* Differentiation and expansion of endothelial cells from human bone marrow CD133(C) cells. *Br J Haematol* 2001; 115:186-94.
- 41- Kawamoto A, Tkebuchava T, Yamaguchi J, Nishimura H, Yoon YS, Milliken C, *et al.* Intramyocardial transplantation of autologous endothelial progenitor cells for therapeutic neovascularization of myocardial ischemia. *Circulation* 2003; 107:461-8.

- 42- Jackson KA, Majka SM, Wang H, Pocius J, Hartley CJ, Majesky MW, *et al.* Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells. *J Clin Invest* 2001; 107:1395-402.
- 43- Kocher AA, Schuster MD, Szabolcs MJ, Takuma S, Burkhoff D, Wang J, *et al.* Neovascularization of ischemic myocardium by human bone-marrow-derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function. *Nat Med* 2001; 7:430-6.
- 44- Anversa P and Nadal-Ginard B. Myocyte renewal and ventricular remodeling. *Nature* 2002; 415: 240-243.
- 45- Galiñanes M, Loubani M, Davies J, Chin D, Pasi J and Bell PR. Autotransplantation of unmanipulated bone marrow into scarred myocardium is safe and enhances cardiac function in humans. *Cell Transplant.* 2004; 13(1):7-13.
- 46- Patel AN, Geffner L, Vina RF, Saslavsky J, Urschel HC Jr, Kormos R, *et al.* Surgical treatment for congestive heart failure with autologous adult stem cell transplantation: a prospective randomized study. *Thorac Cardiovasc Surg* 2005; 130;6:1631-1638.
- 47- Yin AH, Miraglia S, Zanjani ED, Almeida-Porada G, Ogawa M, Leary AG, *et al.* AC133, a novel marker for human hematopoietic stem and progenitor cells. *Blood* 90(12), 5002-12.
- 48- Gehling UM, Ergun S, Schumacher U, Wagener C, Pantel K, Otte M, *et al.* In vitro differentiation of endothelial cells from AC133-positive progenitor cells. *Blood* 95(10), 3106-12.
- 49- Stamm C, Kleine HD, Westphal B, Petzsch M, Kittner C, Nienaber CA, *et al.* CABG and bone marrow stem cell transplantation after myocardial infarction. *Thorac Cardiovasc Surg* 2004; 52:152-158.



- 50- Afzal MR, Samanta A, Shah ZI, Jeevanantham V, Abdel-Latif A, Zuba-Surma EK, *et al.* Adult Bone Marrow Cell Therapy for Ischemic Heart Disease: Evidence and Insights From Randomized Controlled Trials. *Circ Res.* 2015 Aug; 28;117(6):558-75.
- 51- Hodgetts SI, Beilharz MW, Scalzo AA, Grounds MD. Why do cultured transplanted myoblasts die in vivo? DNA quantification shows enhanced survival of donor male myoblasts in host mice depleted of CD4+ and CD8+ cells or Nk1.1+ cells. *Cell Transplant* 2000; 9:489-502.
- 52- Zhang M, Methot D, Poppa V, Fujio Y, Walsh K, Murry CE *et al.* Cardiomyocyte grafting for cardiac repair: graft cell death and anti-death strategies. *J Mol Cell Cardiol* 2001; 33:907-21.
- 53- Azarnoush K, Maurel A, Sebbah L, Carrion C, Bissery A, Mandet C, *et al.* Enhancement of the functional benefits of skeletal myoblast transplantation by means of coadministration of hypoxia-inducible factor 1-alpha. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2005; 130:173-9.
- 54- Tang YL, Tang Y, Zhang YC, Qian K, Shen L, Phillips MI *et al.* Improved graft mesenchymal stem cell survival in ischemic heart with a hypoxia-regulated heme oxygenase-1 vector. *J Am Coll Cardiol* 2005; 46:1339-50.
- 55- Ayach BB, Yoshimitsu M, Dawood F, Sun M, Arab S, Chen M, *et al.* Stem cell factor receptor induces progenitor and natural killer cell-mediated cardiac survival and repair after myocardial infarction. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103:2304-9.
- 56- Song H, Kwon K, Lim S, Kang SM, Ko YG, Xu Z, *et al.* Transfection of mesenchymal stem cells with the FGF-2 gene improves their survival under hypoxic conditions. *Mol Cells* 2005; 19:402-7.

- 57- Leistner DM, Fischer-Rasokat U, Honold J, Seeger FH, Schächinger V, Lehmann R, *et al.* Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI): final 5-year results suggest long-term safety and efficacy. *Clin Res Cardiol.* 2011 Oct;100(10):925-34.
- 58- Wollert KC, Meyer GP, Lotz J, Ringes-Lichtenberg S, Lippolt P, Breidenbach C, *et al.* Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomized controlled clinical trial. *Lancet.* 2004 Jul; 10-16;364(9429):141-8.
- 59- Tendera T, Wojakowski W, Ruzyllo W, Chojnowska L, Kepka C, Tracz W, *et al.* Intracoronary infusion of bone marrow-derived selected CD34+CXCR4+ cells and non-selected mononuclear cells in patients with acute STEMI and reduced left ventricular ejection fraction: results of randomized, multicentre Myocardial Regeneration by Intracoronary Infusion of Selected Population of Stem Cells in Acute Myocardial Infarction (REGENT) Trial. *Eur Heart J.* 2009 Jun; 30(11):1313-21.
- 60- Li SH, Lai TY, Sun Z, Han M, Moriyama E, Wilson B, *et al.* Tracking cardiac engraftment and distribution of implanted bone marrow cells: Comparing intra-aortic, intravenous, and intramyocardial delivery. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2009 May; 137(5):1225-33.
- 61- Hou D, Youssef EA, Brinton TJ, Zhang P, Rogers P, Price ET, *et al.* Radiolabeled cell distribution after intramyocardial, intracoronary, and interstitial retrograde coronary venous delivery: implications for current clinical trials. *Circulation.* 2005 Aug 30; 112(9 Suppl):I150-6.

- 62- Qi Z, Duan F, Liu S, Lv X, Wang H, Gao Y, *et al.* Effects of bone marrow mononuclear cells delivered through a graft vessel for patients with previous myocardial Infarction and chronic heart failure: an echocardiographic study of left ventricular function. *Echocardiography*. 2015 Jun; 32(6):937-46.
- 63- Duan F, Qi Z, Liu S, Lv X, Wang H, Gao Y, *et al.* Effectiveness of bone marrow mononuclear cells delivered through a graft vessel for patients with previous myocardial infarction and chronic heart failure: an echocardiographic study of left ventricular remodeling. *Med Ultrason* 2015, Vol. 17, n°2, 160-166.
- 64- Beltrami AP, Barlucchi L, Torella D, Baker M, Limana F, Chimenti S, *et al.* Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. *Cell* 2003; 114:763-76.
- 65- Jones EA, Kinsey SE, English A, Jones RA, Straszynski L, Meredith DM, *et al.* Isolation and characterization of bone marrow multipotential mesenchymal progenitor cells. *Arthritis Rheum* 2002; 46:3349-60.
- 66- Yeh ETH, Zhang S, Wu HD, Korbling M, Willerson JT, Estrov Z, *et al.* Transdifferentiation of human peripheral blood CD34+-enriched cell population into cardiomyocytes, endothelial cells, and smooth muscle cells in vivo. *Circulation* 2003; 108:2070-3.
- 67- Korbling M, Estrov Z. Adult stem cells for tissue repair: a new therapeutic concept? *N Engl J Med* 2003; 349:570-82.
- 68- Lunde K, Solheim S, Aakhus S, Arnesen H, Abdelnoor M, Egeland T, *et al.* Intracoronary injection of mononuclear bone marrow cells in acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2006; 355:1199-209.

- 69- Cai M, Shen R, Song L, Lu M, Wang J, Zhao S, *et al.* Bone marrow mesenchymal stem cells (BM-MSCs) improve heart function in swine myocardial infarction model through paracrine effects. *Sci Rep.* 2016 Jun 20; 6:28250.
- 70- Liu B, Duan CY, Luo CF, Ou CW, Sun K, Wu ZY, *et al.* Effectiveness and safety of selected bone marrow stem cells on left ventricular function in patients with acute myocardial infarction: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Int J Cardiol.* 177 (2014) 764-770.
- 71- Kim SW, Houge M, Brown M, Davis ME, Yoon YS. Cultured human bone marrow-derived CD31+ cells are effective for cardiac and vascular repair through enhanced angiogenic, adhesion, and anti-inflammatory effects. *J Am Coll Cardiol.* 2014 Oct 21; 64(16):1681-94.
- 72- Toma C, Pittenger MF, Cahill KS, Byrne BJ, Kessler PD. Human mesenchymal stem cells differentiate to a cardiomyocyte phenotype in the adult murine heart. *Circulation* 2002; 105:93-8.
- 73- Kuramochi Y, Fukazawa R, Migita M, Hayakawa J, Hayashida M, Uchikoba Y, *et al.* Cardiomyocyte regeneration from circulating bone marrow cells in mice. *Pediatr Res* 2003; 54:319-25.
- 74- Pompilio G, Cannata A, Peccatori F, Bertolini F, Nascimbene A, Capogrossi MC, *et al.* Autologous peripheral blood stem cell transplantation for myocardial regeneration: a novel strategy for cell collection and surgical injection. *Ann Thorac Surg* 2005; 78:1808-12.
- 75- Stamm C, Westphal B, Kleine HD, Petzsch M, Kittner C, Klinge H, *et al.* Autologous bone marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration. *Lancet* 2003; 361:45-6.

- 76- Kang HJ, Kim HS, Zhang SY, Park KW, Cho HJ, Koo BK, *et al.* Effects of intracoronary infusion of peripheral blood stem-cells mobilised with granulocyte colony stimulating factor on left ventricular systolic function and restenosis after coronary stenting in myocardial infarction: the MAGIC cell randomized clinical trial. *Lancet* 2004; 363:751-6.
- 77- Chen SL, Fang WW, Ye F, Liu YH, Qian J, Shan SJ, *et al.* Effect on left ventricular function of intracoronary transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cell in patients with acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2004; 94:92-5.
- 78- Perin EC, Dohmann HF, Borojevic R, Silva SA, Sousa AL, Mesquita CT, *et al.* Transendocardial, autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic ischemic heart failure. *Circulation* 2003 May 13;107(18):2294-302.
- 79- Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, *et al.* Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999; 284:143-7.
- 80- Stamm C, Westphal B, Kleine HD, Petzsch M, Kittner C, Klinge H, *et al.* Autologous bone-marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration. *Lancet* 2003; 361: 45-46.
- 81- Stamm C, Kleine HD, Choi YH, Dunkelmann S, Lauffs JA, Lorenzen B, *et al.* Intramyocardial delivery of CD133+ bone marrow cells and coronary artery bypass grafting for chronic ischemic heart disease: safety and efficacy studies. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2007; 133:717-25.
- 82- Zhao Q, Sun Y, Xia L, Chen A, Wang Z. Randomized study of mononuclear bone marrow cell transplantation in patients with coronary surgery. *Ann Thorac Surg* 2008; 86:1833-40.

- 83- Hendrikx M, Hensen K, Clijsters C, Jongen H, Koninckx R, Bijnens E, *et al.* Recovery of regional but not global contractile function by the direct intramyocardial autologous bone marrow transplantation: results from a randomized controlled clinical trial. *Circulation* 2006; 114:I101-7.
- 84- Kamihata H, Matsubara H, Nishiue T, Fujiyama S, Tsutsumi Y, Ozono R, *et al.* Implantation of bone marrow mononuclear cells into ischemic myocardium enhances collateral perfusion and regional function via side supply of angioblasts, angiogenic ligands, and cytokines. *Circulation* 2001; 104:1046-52.
- 85- Van Ramshorst J, Bax JJ, Beeres SL, Dibbets-Schneider P, Roes SD, Stokkel MP, *et al.* Intramyocardial bone marrow cell injection for chronic myocardial ischemia: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2009; 301:1997-2004.
- 86- Chien KR. Stem cells: lost in translation. *Nature* 2004; 428:607-8.
- 87- Wakitani S, Saito T, Caplan AI. Myogenic cells derived from rat bone marrow mesenchymal stem cells exposed to 5-azacytidine. *Muscle Nerve* 1995; 18:1417-26.
- 88- Tse HF, Thambar S, Kwong YL, Rowlings P, Bellamy G, McCrohon J, *et al.* Prospective randomized trial of direct endomyocardial implantation of bone marrow cells for treatment of severe coronary artery diseases (PROTECT-CAD trial). *Eur Heart J*. 2007; 28:2998-3005.
- 89- Vulliet PR, Greeley M, Halloran SM, MacDonald KA, Kittleson MD. Intracoronary arterial injection of mesenchymal stromal cells and microinfarction in dogs. *Lancet* 2004; 363:783-4.
- 90- Penicka M, Widimsky P, Kobylka P, Kozak T, Lang O. Early tissue distribution of bone marrow mononuclear cells after transcatheter transplantation

in a patient with acute myocardial infarction. *Circulation*. 2005 Jul 26; 112(4):e63-5.

91- Laflamme MA, Chen KY, Naumova AV, Muskheli V, Fugate JA, Dupras SK, *et al*. Cardiomyocytes derived from human embryonic stem cells in pro survival factors enhance function of infarcted rat hearts. *Nat Biotechnol*. 2007 Sep; 25(9):1015-24.

92- Li SH, Lai TY, Sun Z, Han M, Moriyama E, Wilson B, *et al*. Tracking cardiac engraftment and distribution of implanted bone marrow cells: comparing intra-aortic, intravenous, and intramyocardial delivery. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2009 May; 137(5):1225-33.

93- Ozbaran M, Omay SB, Nalbantgil S, Kultursay H, Kumanlioglu K, Nart D, *et al*. Autologous peripheral stem cell transplantation in patients with congestive heart failure due to ischemic heart disease. *Eur J Cardiothorac Surg* 2004; 25:342-50.

94- Zhang H, Song P, Tang Y, Zhang XL, Zhao SH, Wei YJ, *et al*. Injection of bone marrow mesenchymal stem cells in the borderline area of infarcted myocardium: heart status and cell distribution. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2007 Nov; 134(5):1234-40.

95- Hou D, Youssef EA, Brinton TJ, Zhang P, Rogers P, Price ET, *et al*. Radiolabeled cell distribution after intramyocardial, intracoronary, and interstitial retrograde coronary venous delivery: implications for current clinical trials. *Circulation* 2005 Aug 30; 112(9 Suppl):I150-6.

96- Suzuki K, Murtuza B, Beauchamp JR, Brand NJ, Barton PJ, Varela-Carver A, *et al*. Role of interleukin-1beta in acute inflammation and graft death after cell transplantation to the heart. *Circulation* 2004; 110:219-24.

- 97- Barbash IM, Chouraqui P, Baron J, Feinberg MS, Etzion S, Tessone A, *et al.* Systemic delivery of bone marrow-derived mesenchymal stem cells to the infarcted myocardium: feasibility, cell migration, and body distribution. *Circulation* 2003; 108:863-8.
- 98- Janssens S, Dubois C, Bogaert J, Theunissen K, Deroose C, Desmet W, *et al.* Autologous bone marrow-derived stem-cell transfer in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: double-blind, randomized controlled trial. *Lancet* 2006; 367:113-121.
- 99- Schächinger V, Erbs S, Elsässer A, Haberbosch W, Hambrecht R, Hölschermann H, *et al.* REPAIR-AMI investigators. Intracoronary bone marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2006; 355:1210-1221.
- 100- Hirsch A, Nijveldt R, van der Vleuten PA, Tijssen JG, van der Giessen WJ, Tio RA, *et al.* HEBE Investigators. Intracoronary infusion of mononuclear cells from bone marrow or peripheral blood compared with standard therapy in patients after acute myocardial infarction treated by primary percutaneous coronary intervention: results of the randomized controlled HEBE trial. *Eur Heart J.* 2011 Jul; 32(14):1736-47.
- 101- Delewi R, van der Laan AM, Robbers LF, Hirsch A, Nijveldt R, van der Vleuten PA, *et al.* HEBE investigators. Long term outcome after mononuclear bone marrow or peripheral blood cells infusion after myocardial infarction. *Heart.* 2015 Mar; 101(5):363-8.
- 102- Avilés FF, San Román JA, García-Frade J, Fernández ME, Peñarrubia MJ, De la Fuente L, *et al.* Experimental and clinical regenerative capability of



human bone marrow cells after myocardial infarction.. *Circ Res.* 2004 Oct 1; 95(7):742-8.

103- San Román JA, Sánchez PL, Villa A, Sanz-Ruiz R, Fernández-Santos ME, Gimeno F, *et al.* Comparison of different bone marrow derived stem cell approaches in reperfused STEMI. A multicenter, prospective, randomized, open-labeled TECAM trial. *J Am Coll Cardiol.* 2015 Jun 9; 65(22):2372-82.

104- Herrmann JL, Abarbanell AM, Weil BR, Wang Y, Wang M, Tan J, *et al.* Cell-Based Therapy for Ischemic Heart Disease: A Clinical Update. *Ann Thorac Surg* 2009; 88:1714-22.

105- Abdel-Latif A, Bolli R, Tleyjeh IM, Montori VM, Perin EC, Hornung CA *et al.* Adult bone marrow derived cells for cardiac repair: a systematic review and meta-analysis. *Arch Intern Med* 2007; 167:989-97.

106- Lipinski MJ, Biondi-Zoccai GG, Abbate A, Khianey R, Sheiban I, Bartunek J *et al.* Impact of intracoronary cell therapy on left ventricular function in the setting of acute myocardial infarction: a collaborative systematic review and meta-analysis of controlled clinical trials. *J Am Coll Cardiol* 2007; 50:1761-7.

107- Martin-Rendon E, Brunskill S, Doree C, Hyde C, Watt S, Mathur A *et al.* Stem cell treatment for acute myocardial infarction. *Cochrane Database. Syst Rev* 2008:Oct 8; (4) CD006536.

108- Huang R, Yao K, Sun A, Qian J, Ge L, Zhang Y, *et al.* Timing for intracoronary administration of bone marrow mononuclear cells after acute ST-elevation myocardial infarction: a pilot study. *Stem Cell Res Ther.* 2015 May 29; 6:112.

109- Sürder D, Manka R, Moccetti T, Lo Cicero V, Emmert MY, Klersy C, *et al.* The effect of bone marrow derived mononuclear cell treatment, early or late

after acute myocardial infarction: twelve months CMR and long-term clinical results. *Circ Res*. 2016 Jun 6.

110- Frantz S, Bauersachs J and Ertl G. Post-infarct remodeling: contribution of wound healing and inflammation. *Cardiovasc Res*. 2009 Feb 15; 81(3):474-81.

111- Gonzales C and Pedrazzini T. Progenitor cell therapy for heart disease. *Exp Cell Res*. 2009 Nov 1; 315(18):3077-85.

112- Windecker S, Kolh P, Alfonso F, Collet JP, Cremer J, Falk V, *et al*. 2014 ESC/EACTS Guidelines on myocardial revascularization. *Eur Hear J*. 2014; 35:2541-2619.

113- Villa A, Arnold R, Sánchez PL, Gimeno F, Ramos B, Cantero T, *et al*. Comparison of neointimal hyperplasia with drug-eluting stents versus bare metal stents in patients undergoing intracoronary bone-marrow mononuclear cell transplantation following acute myocardial infarction. *Am J Cardiol*. 2009 Jun 15; 103(12):1651-6.

114- Mathur A, Arnold R, Assmus B, Bartunek J, Belmans A, Böniig H, *et al*. The effect of intracoronary infusion of bone marrow-derived mononuclear cells on all-cause mortality in acute myocardial infarction: rationale and design of the BAMI trial. *Eur J Heart Fail*. 2017 Nov; 19(11):1545-1550.

115- Siepe M, Heilmann C, Von Samson P, Menasché P and Beyersdorf F. Stem cell research and cell transplantation for myocardial regeneration. *Eur J Cardiothorac Surg* 2005; 28:318-324.

116- Langer R, Vacanti JP. Tissue engineering. *Science* 1993; 260:920-6.

117- Zimmermann WH, Didie M, Doker S, Melnychenko I, Naito H, Rogge C, *et al*. Heart muscle engineering: an update on cardiac muscle replacement therapy. *Cardiovasc Res* 2006; 71:419-29.

- 118- Zhang S, Ma X, Guo J, Yao K, Wang C, Dong Z, *et al.* Bone marrow CD34+ cell subset under induction of moderate stiffness of extracellular matrix after myocardial infarction facilitated endothelial lineage commitment in vitro. *Stem Cell Res Ther.* 2017 Dec 13; 8(1):280.
- 119- Ozawa T, Mickle DA, Weisel RD, Koyama N, Ozawa S, Li RK, *et al.* Optimal biomaterial for creation of autologous cardiac grafts. *Circulation* 2002; 106: I176-82.
- 120- Zimmermann WH, Didie M, Wasmeier GH, Nixdorff U, Hess A, Melnychenko I, *et al.* Cardiac grafting of engineered heart tissue in syngenic rats. *Circulation* 2002; 106:I151-17.
- 121- Di Spigna G, Iannone M, Ladogana P, Salzano S, Ventre M, Covelli B, *et al.* Human cardiac multipotent adult stem cells in 3D matrix: new approach of tissue engineering in cardiac regeneration post-infarction. *J Biol Regul Homeost Agents.* 2017 Oct-Dec; 31(4):911-921.
- 122- Krupnick AS, Kreisel D, Engels FH, Szeto WY, Plappert T, Popma SH, *et al.* A novel small animal model of left ventricular tissue engineering. *J Heart Lung Transplant* 2002; 21:233-43.
- 123- Fuchs JR, Nasser BA, Vacanti JP, Fauza DO. Postnatal myocardial augmentation with skeletal myoblast-based fetal tissue engineering. *Surgery* 2006; 140:100-7.
- 124- Morrison SJ, Kimble J. Asymmetric and symmetric stem-cell divisions in development and cancer. *Nature* 2006; 441:1068-74.
- 125- Suzuki K, Brand NJ, Allen S, Khan MA, Farrell AO, Murtuza B, *et al.* Overexpression of connexin 43 in skeletal myoblasts: relevance to cell transplantation to the heart. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2001; 122:759-66.

- 126- Tang YL, Tang Y, Zhang YC, Qian K, Shen L, Phillips MI. Improved graft mesenchymal stem cell survival in ischemic heart with a hypoxia regulated heme oxygenase-1 vector. *J Am Coll Cardiol* 2005; 46:1339-50.
- 127- El Harane N, Kervadec A, Bellamy V, Pidial L, Neametalla HJ, Perier MC, *et al.* Acellular therapeutic approach for heart failure: in vitro production of extracellular vesicles from human cardiovascular progenitors. *Eur Heart J.* 2018 Feb; 6.
- 128- Emani SM, Piekarski BL, Harrild D, Del Nido PJ, McCully JD. Autologous mitochondrial transplantation for dysfunction after ischemia-reperfusion injury. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2017; 154:286-9.

## **ANEXOS**



## **ANEXO 1**

### **CLASIFICACIÓN FUNCIONAL DE LA INSUFICIENCIA CARDÍACA SEGÚN LA NEW YORK HEART ASSOCIATION**





**Clase I.**

Sin limitación. Las actividades físicas habituales no causan disnea, palpitaciones o dolor anginoso.

**Clase II.**

Ligera limitación de la actividad física. El paciente se encuentra bien en reposo, la actividad física habitual le causa disnea, cansancio, palpitaciones o angina.

**Clase III.**

Limitación marcada de la actividad física. El enfermo se encuentra bien en reposo pero actividades menores le causan disnea, palpitaciones o dolor anginoso.

**Clase IV.**

Incapacidad de cualquier actividad física sin síntomas. Los síntomas pueden estar presentes incluso en reposo. Con cualquier actividad, los síntomas se incrementan.



**ANEXO 2**

**DEFINICIÓN Y NOTIFICACIÓN DE  
ACONTECIMIENTOS/EVENTOS ADVERSOS DURANTE EL  
ENSAYO CLÍNICO**



### **Definición de acontecimiento adverso.**

Todos los acontecimientos adversos (AA) que sucedan durante el estudio deben ser registrados en el apartado de AA del cuaderno de recogida de datos (CRD), sin tener en cuenta si el investigador los considera consecuencia de la medicación de estudio ó no.

Un acontecimiento adverso es todo cambio adverso desde la situación inicial del paciente, tras la administración del producto durante el ensayo clínico. Un AA puede ser un signo, un síntoma, descubrimiento de laboratorio, descubrimiento de ECG, ó cualquier manifestación de enfermedad que suceda durante el uso del producto. El término “producto” incluye el producto de investigación, el placebo ó el producto de comparación.

Los AA pueden ser notificados de forma espontánea por el paciente, ó descubrirse como resultado de una interrogación general del investigador ó mediante reconocimiento físico. Los signos y síntomas presentes en el reclutamiento, selección y antes de la administración del producto de ensayo no se califican como AA; no obstante, serán registrados en las páginas de condiciones médicas previas y coexistentes del CRD de cada paciente. Cualquier condición médica presente previa a la administración del producto en estudio que permanece invariable ó mejora no se considerará como AA. Comenzando después de que se haya administrado el producto en estudio por primera vez, y para todas las evaluaciones siguientes durante el estudio, todas las nuevas condiciones que no estuvieran presentes antes de la administración del producto en estudio ó el empeoramiento de cualquier condición que existiera previamente se considerarán AA y deben registrarse en el formulario de AA del CRD del paciente.

Siempre que sea posible, de cada AA deberá constar, también, su duración (fechas de comienzo y finalización), su frecuencia (único episodio, intermitente, ó continuo), su

intensidad (leve, moderado, ó severo), una valoración de su causa (un indicio subyacente del estudio, enfermedad coexistente, medicación concomitante, el producto en estudio u otras condiciones), su relación con el producto en estudio (no relacionado, posiblemente relacionado, ó relacionado) y si requerirá terapia específica.

### **Acontecimientos adversos graves o inesperados.**

Se considera acontecimiento adverso grave o serio a todo AA que en una dosis cualquiera represente un riesgo significativo, contraindicación, efecto secundario ó precaución. “serio” se basa en el resultado paciente/acontecimiento ó criterios de acción, normalmente asociados con acontecimientos que suponen una amenaza de la vida del paciente ó funcionamiento. Seriedad (no severidad) sirve como guía para definir las obligaciones de notificación según la legislación vigente:

- Resulta en la muerte del paciente.
- Amenaza para la vida: el paciente estuvo a punto de morir en el momento del acontecimiento; no se refiere a acontecimientos que hipotéticamente pudieran haber causado la muerte si hubieran sido más severos.
- Implica o prolonga la hospitalización del paciente: el paciente debe ser hospitalizado ó se prolonga la hospitalización debido al AA.
- Implica la persistencia de una incapacidad: el AA produce una significativa afectación clínica estructural o funcional. Aparece una discapacidad substancial que incapacita para la vida normal.
- Cáncer: cualquier tumor maligno, independientemente de la severidad ó de su manifestación clínica.

- Anomalía congénita/defecto de nacimiento: cualquier malformación anatómica ó malformación de órganos que le suceda a la descendencia de un paciente del estudio.
- Sobredosis del producto en estudio: tanto si es accidental como intencional.
- Contraindicación: cuando se observe una contraindicación de cualquier índole.
- AA que necesiten intervención médica o quirúrgica para evitar un perjuicio permanente de una función corporal ó el daño permanente de una estructura corporal ó para prevenir la aparición de un AA serio. No se incluirán la interrupción de la terapia, los cambios en dosificaciones ó tratamiento de rutina con el producto de prescripción médica.

Cualquier AA serio, incluyendo las anormalidades serias de laboratorio, que le suceda a un paciente durante el estudio ó durante los treinta días que siguen a la finalización de su participación en el estudio, debe ser informado al promotor mediante telefax en las 24 horas siguientes del conocimiento del acontecimiento, incluso cuando el AA serio no parezca tener relación con el producto en estudio. Debe completarse telefoneando y enviando una copia de la hoja de trabajo del AA serio (tan rellena como sea posible) mediante telefax al promotor y al Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC).

La hoja de trabajo de AA serio será entregada como fuente de documentación, y debería estar tan completa como sea posible y firmada por el investigador. El investigador debería guardar el original.

Todas las evaluaciones adicionales siguientes también tendrán que reportarse mediante correspondencia en los tres días laborables después de ocurrir el AA grave ó tan pronto como sea posible. Se debe realizar un seguimiento cuidadoso del paciente hasta la desaparición de la enfermedad y/ó la identificación de la etiología.

### **Notificación rápida de acontecimientos adversos graves.**

El investigador está obligado a notificar antes de 24 horas al “*Chiltern International*” los AA graves ó inesperados. A su vez, el “*Chiltern International*” notificará dichos AA graves al promotor, siendo el promotor el responsable de la notificación a la Dirección General de Farmacia y Productos Sanitarios de los acontecimientos graves e inesperados que puedan estar relacionados con los productos en investigación que hayan ocurrido tanto en España y en otros países en el formulario de notificación recogido en la sección F en los plazos que se establezcan, sin perjuicio de la comunicación a las Comunidades Autónomas. Los acontecimientos adversos graves esperados, los no graves y aquellos que se consideren no relacionados con los productos en estudio serán incluidos de forma tabulada en el informe anual ó final del ensayo clínico.

### **Criterios de valoración de acontecimiento adverso.**

La intensidad de un AA se define como valoración cualitativa del nivel de molestia de un AA determinado por el investigador ó descrito por el paciente. La valoración de la intensidad se lleva a cabo indistintamente de la relación con el producto en estudio ó la seriedad del acontecimiento. Se deberían evaluar todos los AA de acuerdo a la escala de la siguiente *tabla*.



*Tabla: Códigos de intensidad de AA, descripciones y definiciones.*

Código de intensidad	Descripción de intensidad	Definición
1	Leve	Síntoma escasamente detectable en el paciente; no afecta los actos ni las funciones. No es necesario prescribir medicación normalmente para aliviar el síntoma pero podría administrarse dependiendo de la personalidad del paciente.
2	Moderada	Síntoma de intensidad suficiente para causar molestias al paciente; no afecta el desempeño de las actividades diarias; el paciente está capacitado para continuar el estudio; podría ser necesario un tratamiento para el síntoma.
3	Severa	El síntoma provoca un malestar severo. Podría ser de tal intensidad que el paciente no pueda continuar en el estudio. La intensidad podría provocar la interrupción del tratamiento con el producto de ensayo; se podría administrar tratamiento para el síntoma y/o la hospitalización del paciente.

La relación del uso del producto en estudio para cada AA debería determinarse por el investigador empleando las definiciones de la siguiente *tabla*.

*Tabla: Códigos de relación de AA, descripciones y definiciones.*

Código de relación	Descripción de la relación	Definición
1	No relacionado	El acontecimiento está, claramente, relacionado con otros factores como el estado clínico del paciente, las intervenciones terapéuticas, enfermedad concomitante, administración de medicaciones concomitantes al paciente y no sigue un modelo de respuesta asociado al producto en estudio.
2	Improbablemente relacionado	El acontecimiento sigue una secuencia temporal razonable desde el tiempo de administración del producto en estudio aunque la relación de causalidad es improbable.  En este caso el uso de otros medicamentos, sustancias químicas o enfermedades subyacentes pueden ofrecer explicaciones posibles.
3	Posiblemente relacionado	El acontecimiento sigue una secuencia temporal razonable desde el tiempo de administración del producto en estudio y/o sigue un modelo de respuesta asociado al producto en estudio.

## Anexos

		<p>Pero podría ser producido por otros factores tales como el estado clínico del paciente, intervenciones terapéuticas o medicaciones concomitantes administradas al paciente.</p>
4	Probablemente relacionado	<p>El acontecimiento sigue una secuencia temporal razonable desde el tiempo de administración del producto en estudio y/ó sigue un modelo de respuesta asociado al producto en estudio, difícilmente atribuible a las enfermedades concurrentes ó a otros medicamentos ó sustancias químicas.</p>
5	Relacionado	<p>El acontecimiento sigue una secuencia temporal razonable desde el tiempo de administración del producto en estudio; además sigue un modelo de respuesta asociado al producto en estudio y no puede atribuirse, razonablemente, a otros factores tales como el estado clínico del paciente, intervenciones terapéuticas ó medicaciones concomitantes administradas al paciente.</p> <p>Puede ocurrir inmediatamente después de la administración del producto en estudio, ó mejora al dejar de administrar el producto en estudio, o reaparece al repetir la exposición al producto, ó aparece una reacción positiva en la zona de aplicación.</p>

La decisión de llevar a cabo un reintento formal de la medicación de estudio debe tomarse conjuntamente entre los monitores médicos, administrativos del promotor y el investigador, una vez revisado el historial completo del paciente.

Se deberá llevar a cabo un seguimiento de todos los pacientes que experimenten, o mantengan un AA clínicamente importante, una vez fuera del estudio (sin tener en cuenta si el paciente interrumpe ó completa el estudio), hasta que se solucione el AA, se estabilice, y/ó se identifique la etiología del AA.

Deberá registrarse la siguiente información en el formulario de AA o medicaciones previas ó concomitantes del CRD:

- Información referente al estado y resultado del AA que comenzó durante el estudio.
- Información referente a cualquier medicación que se empleó en el tratamiento del AA.

La determinación del momento adecuado para discontinuar el post-estudio de seguimiento de los pacientes con AA estables pero no resueltos se obtendrá y documentará mediante consulta con el promotor.

**Formulario de notificación de acontecimientos adversos a las autoridades sanitarias.**

<b>NOTIFICACIÓN DE ACONTECIMIENTOS ADVERSOS PRODUCTO EN FASE DE INVESTIGACIÓN</b>	Protocolo n°	N° notificación (laboratorio)
	Paciente n°	N° Notificación

**I. Información sobre el acontecimiento adverso:**

1. Iniciales del paciente	País	2. Fecha de nacimiento			2a Edad	3. Sexo	4-6 Inicio			8-13 Consecuencias
		Día	Mes	Año			Día	Mes	Año	
7. Descripción del Acontecimiento Adverso (incluyendo datos relevantes de exploración o de laboratorio)										<input type="checkbox"/> Fallecimiento  <input type="checkbox"/> La vida del paciente ha estado en peligro  <input type="checkbox"/> Hospitalización ó prolongación la hospitalización  <input type="checkbox"/> Incapacidad permanente ó significativa  <input type="checkbox"/> Persistencia del acontecimiento adverso  <input type="checkbox"/> Recuperación

**II. Información del producto en investigación:**

14. Nombre		20. ¿Remitió el acontecimiento al suspender la medicación?
15. Dosis diaria	16. Vía de administración	<input type="checkbox"/> sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No procede
17. Enfermedad en estudio		21 ¿Reapareció el acontecimiento al administrar de nuevo la medicación?
18. Fechas del tratamiento (Desde / hasta)	19 Duración del tratamiento	<input type="checkbox"/> sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No procede

**III. Historia Clínica y medicación concomitante:**

22. Medicamentos concomitantes y fecha de administración
23. Datos importantes de la historia clínica (ej.: diagnóstico, alergias, embarazo, enfermedades, concomitantes, etc.)

**IV. Información sobre el promotor e investigador:**

24a Nombre y dirección del promotor		24b Nombre y dirección del investigador
24d Código de laboratorio	25a Tipo de informe <input type="checkbox"/> Inicial <input type="checkbox"/> Seguimiento	24c. Técnico del promotor que informa Nombre. Telf. Firma:
24e Fecha del informe	24f Fecha de entrada DGFPS	25b <input type="checkbox"/> Se adjunta informe complementario





**ANEXO 3**

**CONDICIONES DE MONITORIZACIÓN, AUDITORÍA Y  
MODIFICACIONES DEL PROTOCOLO DEL ENSAYO CLÍNICO**



### **Procedimientos de monitorización.**

En el momento de iniciar el estudio, un representante del promotor (monitor) revisará exhaustivamente el protocolo y CRD con los investigadores y su personal.

Durante el curso del estudio, el monitor visitará regularmente a los investigadores. El investigador principal debe asignar una parte razonable de su tiempo y de los miembros específicos de su personal involucrados en el estudio, para las visitas de monitorización.

En el momento de cada visita de monitorización, el monitor revisará el CRD de cada paciente del estudio para certificar que se han completado todos los pasos y que los datos proporcionados son exactos y obtenidos del modo especificado en el protocolo.

El investigador debe estar de acuerdo en permitir el acceso directo del monitor al hospital pertinente y a otros registros clínicos para confirmar que los procesos requeridos en el estudio están siendo llevados a cabo, y que hay coherencia entre estos registros y los CRD. Los pasos que deben comprobarse de este modo incluyen:

- Consentimiento informado firmado por el paciente.
- Fuente de documentación del tiempo y fecha de consentimiento informado obtenido y nombre de la persona que obtiene el consentimiento informado.
- La declaración en los informes del hospital/clínico de que el paciente está participando en el estudio clínico.
- Valores de todas las variables predefinidas (definidas por el promotor) y registradas en el CRD y en los informes del Hospital Clínico Universitario de Valladolid.
- Programación y dosis de la medicación de estudio y la medicación concomitante de acuerdo a los registros dispensados.
- Acontecimientos adversos.

La documentación que deberá estar disponible para su revisión incluye:

- Cuaderno de Recogida de Datos.
- Formulario de Recogida de Datos.
- Cuadernos de trabajo.
- Todas las grabaciones de las observaciones de las actividades clínicas.
- Todos los informes y grabaciones necesarias para la evaluación y reconstrucción del estudio clínico, incluyendo pero no limitado a:
  - Informes de laboratorio.
  - Registros de ECG.
  - Notas de progreso de pacientes.
  - Informes de farmacia.
  - Registros de monitorización.
  - Programación acordada.
  - Correspondencia entre el promotor e investigadores.
  - Documentos reguladores.
  - Protocolo firmado.
  - Enmienda(s) firmadas.
  - Correspondencia y autorizaciones del CEIC.

Las entradas de datos incorrectos, inapropiados ó ilegibles del CRD resultarán en preguntas devueltas al investigador para su resolución.

Como resultado de los procesos de investigación no deberá abandonar el centro de estudio ningún dato revelando la identidad de los pacientes. El promotor mantendrá la confidencialidad de todos los registros de los pacientes.

El promotor recogerá los CRD completos en cuanto el monitor haya validado los datos. Normalmente, en cada visita de monitorización, se recogerán los CRD de los

pacientes que hayan completado las visitas. El investigador tendrá en su posesión una copia de cada CRD. El investigador debe asegurarse de que los CRD y otra documentación del estudio están guardados y en lugar seguro.

Todos los comentarios relacionados con la conducción del estudio se registrarán en la página de comentarios. Cualquier comentario relacionado con una entrada en el CRD se incluirá una referencia a la página del CRD a la que se refiere.

Durante el curso del estudio, el personal responsable del promotor estará disponible para comentar cualquier cuestión relativa a la conducción del estudio.

### **Procedimientos de auditoría.**

Además de los procesos rutinarios de control expuestos anteriormente, el promotor lleva a cabo controles para asegurar la calidad de todos los estudios clínicos que patrocina. Otros representantes del promotor podrán llevar a cabo una revisión ó un organismo regulador podría desear llevar a cabo una inspección. Los procedimientos para tal visita son similares a los de la visita de monitorización, y los datos que hayan sido confirmados por el monitor regular del patrocinador podrían ser comprobados de nuevo.

El investigador está de acuerdo con que el promotor, sus empleados o agentes y las autoridades sanitarias reguladoras tengan el derecho, durante el transcurso del estudio y después de éste, de revisar y examinar los registros médicos pertinentes relativos a este estudio clínico. Con el documento de consentimiento informado se obtendrá una declaración de cada paciente participante en el estudio permitiendo la publicación de sus registros médicos. Se requiere que el investigador informe inmediatamente al promotor de una inspección solicitada por una autoridad reguladora.

### **Condiciones de archivo de datos y documentos.**

Especificar las condiciones de archivo de datos, su manejo y procesamiento y correcciones.

- El investigador de ensayo es responsable del archivo de la documentación del ensayo.
- El investigador se ocupará de que los códigos de identificación de los sujetos se conserven durante al menos quince años después de concluido ó interrumpido el ensayo.
- Las historias clínicas de los pacientes y demás datos originales se conservarán el máximo período de tiempo que permita el hospital, la institución ó la consulta privada donde se haya realizado el ensayo.
- El promotor ó el propietario de los datos conservará toda la restante documentación relativa al ensayo durante el período de validez del producto.

Estos documentos incluirán:

- El protocolo, incluyendo su justificación, objetivos, diseño estadístico y metodología del ensayo, con las condiciones en las que se efectúe y gestione, así como los pormenores de los productos de investigación que se empleen.
- Los procedimientos normalizados de trabajo.
- Todos los informes escritos sobre el protocolo los procedimientos.
- El manual del investigador.
- El CRD de cada sujeto.
- El informe final.
- El certificado de auditoría, cuando proceda.

- El promotor ó el propietario subsiguiente conservará el informe final hasta cinco años después de haberse agotado el plazo de validez de medicamento.
- Se documentará todo cambio que se produzca en la posesión de los datos.
- Todos los datos y documentos se pondrán a disposición de las autoridades competentes si éstas así lo solicitan.
- Se asegurará, en todo caso, la confidencialidad de los datos y documentos contenidos en el archivo.

### **Modificaciones del protocolo.**

Cualquier cambio ó adición en este protocolo requiere una enmienda al protocolo por escrito que debe ser aprobada por el promotor y el investigador antes de que el cambio ó adición se puedan considerar efectivos.

Si una enmienda afecta significativamente la seguridad de los pacientes, el propósito de la investigación ó la calidad científica del estudio, debe ser aprobada formalmente por el CEIC de todos los centros participantes y, de acuerdo a la legislación local, por las autoridades reguladoras. Se debe entregar una copia de la aprobación del CEIC por escrito al promotor. Ejemplos de enmiendas que requieren aprobación:

- Aumento de dosis del producto o de duración de la exposición de los pacientes.
- Cambio significativo en el diseño del estudio.
- Aumento en el número de procedimientos invasivos a los que están expuestos los pacientes.
- Adición o supresión de un procedimiento de prueba por monitorización de seguridad.

Una enmienda pasa a formar parte integral del protocolo una vez aprobada por el CEIC.

Las enmiendas administrativas al protocolo que no requieran aprobación del CEIC pueden comunicarse a estos organismos para su información.

Los requisitos mencionados anteriormente no imposibilitan cualquier acción inmediata realizada por el investigador ó el promotor en interés de la seguridad de un paciente. En los casos en los que el investigador lleve a cabo un cambio inmediato del protocolo de este tipo, se debería notificar tanto al promotor como al CEIC del investigador en los siguientes diez días laborables.

Las desviaciones del protocolo que afecten a la variable principal de eficacia ó a los parámetros de seguridad podrían someter los datos a una posible exclusión del análisis. El investigador debe dar explicaciones al promotor de qué tipo de desviaciones del protocolo son y por qué ocurrieron. Las desviaciones del protocolo, tanto si afectan a la variable principal de eficacia ó a los parámetros de seguridad como a la conducción general del estudio, se documentarán antes de desenmascarar los códigos de medicación.

### **Condiciones de publicación.**

La publicación de los ensayos clínicos autorizados se realizará en revistas científicas y con mención del Comité Ético de Investigación Clínica correspondiente. Cuando se hagan públicos estudios y trabajos de investigación sobre medicamentos dirigidos a la comunidad científica, se harán constar los fondos obtenidos por el autor para su realización y la fuente de financiación. Se mantendrá en todo momento el anonimato de los sujetos participantes en el ensayo. Los resultados ó conclusiones de los ensayos clínicos se comunicarán prioritariamente en publicaciones científicas antes



de ser divulgados al público no sanitario. No se darán a conocer de modo prematuro ó sensacionalista procedimientos de eficacia todavía no determinada. La publicidad de productos en fase de investigación clínica está absolutamente prohibida, tal como se recoge en la Ley 34/1988 del 11 de Noviembre, General de Publicidad.



## **ANEXO 4**

### **CONSIDERACIONES ÉTICAS**



### **Consideraciones generales.**

Los investigadores y los colaboradores se comprometen a observar con rigor la Declaración de Helsinki (*World Medical Association, 18th Assembly, 1964*) en su última versión revisada (Fortaleza, Brasil, 2013), las directivas legales al respecto sobre ensayos clínicos en humanos y las normas de Buena Práctica Clínica CPMP/ICH/135/95 vigente.

El investigador será responsable de que la realización del ensayo clínico se ajuste al protocolo y en caso de que el Investigador considere la posibilidad de una modificación del protocolo se lo deberá comunicar al promotor, así como atenerse a lo estipulado en el Real Decreto 1090/2015 del 4 de Diciembre sobre la realización de Ensayos Clínicos en España.

### **Consentimiento informado.**

En la visita de selección deberá obtenerse el consentimiento informado del paciente antes de llevar a cabo cualquier evaluación específica del protocolo empleando la apropiada versión del consentimiento informado aprobada por el CEIC.

El investigador debe explicar a cada paciente (ó a su representante legal autorizado) la naturaleza del estudio, su propósito, procesos, duración esperada y los riesgos potenciales y beneficios envueltos de la participación en el estudio junto con cualquier molestia que pueda conllevar. Se debe informar a cada paciente de que la participación en este estudio es voluntaria y que puede retirarse del estudio en cualquier momento y que la retirada de consentimiento no afecta a su derecho de recibir el tratamiento médico más apropiado ni a su relación con el doctor.

Este consentimiento informado deberá concederse mediante una declaración escrita estándar. Debe estar escrita de modo que el paciente la pueda entender con

facilidad. Se debe conceder tiempo suficiente al paciente para que lea y entienda la declaración antes de firmar su consentimiento y datar el documento. El paciente recibirá una copia de la declaración escrita una vez firmada.

Si el consentimiento firmado no es posible, es aceptable obtener consentimiento oralmente. En este caso, una declaración adicional firmada por un testigo independiente debería constituir el acto del consentimiento informado. El investigador deberá explicar el motivo por el que el consentimiento directo firmado no es posible. Los procedimientos para la obtención del consentimiento informado oral deberán ser especificados por el CEIC. El investigador deberá asegurar que estos procedimientos específicos han sido seguidos.

Ningún paciente entrará en el estudio hasta que no se haya obtenido su consentimiento informado.

### **Comités éticos.**

Esta hoja de información al paciente sobre el protocolo y la hoja de consentimiento informado deben ser remitidos a un Comité Ético (CE) independiente. El investigador debe obtener una notificación de aprobación por escrito del CE antes del comienzo del estudio.

Antes del comienzo del estudio, se enviarán a las autoridades reguladoras el protocolo y el certificado de aprobación del CE, si es necesario de acuerdo con las normativas locales.

El investigador debe informar inmediatamente al CE de todos los cambios ocurridos en la investigación (enmiendas al protocolo) y no hará dichos cambios sin la aprobación del CE excepto cuando sean necesarios para eliminar riesgos inmediatos claros para los pacientes del estudio o por cambios administrativos.

Los acontecimientos adversos razonablemente relacionados con el fármaco experimental serán comunicados por el investigador al CE. El investigador proporcionará al CE un resumen breve explicando los resultados obtenidos en el estudio.

Se exige que el investigador mantenga registros precisos y completos de toda la correspondencia escrita enviada y recibida del CE, y debe acceder a compartir estos documentos y todos los informes con el promotor.

### **Confidencialidad.**

Los datos contenidos en la historia clínica del sujeto serán considerados estrictamente confidenciales, pudiendo ser auditados por el promotor ó representante del promotor, CEIC ó Autoridades Sanitarias si así lo creen conveniente.

Toda la información referente al producto en estudio así como a la aplicación de patente, fórmulas, procesos de fabricación, datos científicos básicos, formulaciones, información, o métodos de estudio proporcionados por el promotor y que no se hayan publicado anteriormente se considera información confidencial. La información desarrollada durante la conducción del estudio clínico es, también, considerada confidencial y será empleada, únicamente, por el promotor en conexión con el desarrollo del producto en estudio. Para permitir el uso de la información derivada de este estudio clínico y para asegurar un análisis completo y exhaustivo, el investigador está obligado a proporcionar al promotor los resultados completos de las pruebas y todos los datos recopilados en el estudio. Esta información confidencial deberá permanecer como propiedad exclusiva del promotor, no deberá divulgarse a terceros sin el consentimiento previo del promotor, y no deberá emplearse excepto en la conducción del estudio.





**ANEXO 5**

**DECLARACIÓN DEL HELSINKI**





Adoptada por la 18ª Asamblea Médica Mundial, Helsinki, Finlandia, junio 1964 y enmendada posteriormente por la

29ª Asamblea Médica Mundial, Tokio, Japón, octubre 1975.

35ª Asamblea Médica Mundial, Venecia, Italia, octubre 1983.

41ª Asamblea Médica Mundial, Hong Kong, septiembre 1989.

48ª Asamblea General Somerset West, Sudáfrica, octubre 1996.

52ª Asamblea General, Edimburgo, Escocia, octubre 2000.

Nota de Clarificación, agregada por la Asamblea General de la AMM, Washington 2002.

Nota de Clarificación, agregada por la Asamblea General de la AMM, Tokio 2004.

59ª Asamblea General, Seúl, Corea, octubre 2008.

64ª Asamblea General, Fortaleza, Brasil, octubre 2013.

### **Introducción.**

1. La Asociación Médica Mundial (AMM) ha promulgado la Declaración de Helsinki como una propuesta de principios éticos para investigación médica en seres humanos, incluida la investigación del material humano y de información identificables.

La Declaración debe ser considerada como un todo y un párrafo debe ser aplicado con consideración de todos los otros párrafos pertinentes.

2. Conforme al mandato de la AMM, la Declaración está destinada principalmente a los médicos. La AMM insta a otros involucrados en la investigación médica en seres humanos a adoptar estos principios.

### **Principios generales.**

3. La Declaración de Ginebra de la Asociación Médica Mundial vincula al médico con la fórmula “velar solícitamente y ante todo por la salud de mi paciente”, y el Código Internacional de Ética Médica afirma que: “El médico debe considerar lo mejor para el paciente cuando preste atención médica”.

4. El deber del médico es promover y velar por la salud, bienestar y derechos de los pacientes, incluidos los que participan en investigación médica. Los conocimientos y la conciencia del médico han de subordinarse al cumplimiento de ese deber.

5. El progreso de la medicina se basa en la investigación que, en último término, debe incluir estudios en seres humanos.

6. El propósito principal de la investigación médica en seres humanos es comprender las causas, evolución y efectos de las enfermedades y mejorar las intervenciones preventivas, diagnósticas y terapéuticas (métodos, procedimientos y tratamientos). Incluso, las mejores intervenciones probadas deben ser evaluadas continuamente a través de la investigación para que sean seguras, eficaces, efectivas, accesibles y de calidad.

7. La investigación médica está sujeta a normas éticas que sirven para promover y asegurar el respeto a todos los seres humanos y para proteger su salud y sus derechos individuales.

8. Aunque el objetivo principal de la investigación médica es generar nuevos conocimientos, este objetivo nunca debe tener primacía sobre los derechos y los intereses de la persona que participa en la investigación.

9. En la investigación médica, es deber del médico proteger la vida, la salud, la dignidad, la integridad, el derecho a la autodeterminación, la intimidad y la confidencialidad de la información personal de las personas que participan en

investigación. La responsabilidad de la protección de las personas que toman parte en la investigación debe recaer siempre en un médico u otro profesional de la salud y nunca en los participantes en la investigación, aunque hayan otorgado su consentimiento.

10. Los médicos deben considerar las normas y estándares éticos, legales y jurídicos para la investigación en seres humanos en sus propios países, al igual que las normas y estándares internacionales vigentes. No se debe permitir que un requisito ético, legal o jurídico nacional o internacional disminuya o elimine cualquiera medida de protección para las personas que participan en la investigación establecida en esta Declaración.

11. La investigación médica debe realizarse de manera que reduzca al mínimo el posible daño al medio ambiente.

12. La investigación médica en seres humanos debe ser llevada a cabo sólo por personas con la educación, formación y calificaciones científicas y éticas apropiadas. La investigación en pacientes o voluntarios sanos necesita la supervisión de un médico u otro profesional de la salud competente y calificado apropiadamente.

13. Los grupos que están representados en la investigación médica deben tener un acceso apropiado a la participación en la investigación.

14. El médico que combina la investigación médica con la atención médica debe involucrar a sus pacientes en la investigación sólo en la medida en que esto acredite un justificado valor potencial preventivo, diagnóstico o terapéutico y si el médico tiene buenas razones para creer que la participación en el estudio no afectará de manera adversa la salud de los pacientes que toman parte en la investigación.

15. Se debe asegurar compensación y tratamiento apropiados para las personas que son dañadas durante su participación en la investigación.

### **Riesgos, Costos y Beneficios.**

16. En la práctica de la medicina y de la investigación médica, la mayoría de las intervenciones implican algunos riesgos y costos.

La investigación médica en seres humanos sólo debe realizarse cuando la importancia de su objetivo es mayor que el riesgo y los costos para la persona que participa en la investigación.

17. Toda investigación médica en seres humanos debe ser precedido de una cuidadosa comparación de los riesgos y los costos para las personas y los grupos que participan en la investigación, en comparación con los beneficios previsibles para ellos y para otras personas o grupos afectados por la enfermedad que se investiga.

Se deben implementar medidas para reducir al mínimo los riesgos. Los riesgos deben ser monitoreados, evaluados y documentados continuamente por el investigador.

18. Los médicos no deben involucrarse en estudios de investigación en seres humanos a menos de que estén seguros de que los riesgos han sido adecuadamente evaluados y de que es posible hacerles frente de manera satisfactoria.

Cuando los riesgos que implican son más importantes que los beneficios esperados o si existen pruebas concluyentes de resultados definitivos, los médicos deben evaluar si continúan, modifican o suspenden inmediatamente el estudio.

### **Grupos y personas vulnerables.**

19. Algunos grupos y personas sometidas a la investigación son particularmente vulnerables y pueden tener más posibilidades de sufrir abusos o daño adicional.

Todos los grupos y personas vulnerables deben recibir protección específica.

20. La investigación médica en un grupo vulnerable sólo se justifica si la investigación responde a las necesidades o prioridades de salud de este grupo y la investigación no

puede realizarse en un grupo no vulnerable. Además, este grupo podrá beneficiarse de los conocimientos, prácticas o intervenciones derivadas de la investigación.

### **Requisitos científicos y protocolos de investigación.**

21. La investigación médica en seres humanos debe conformarse con los principios científicos generalmente aceptados y debe apoyarse en un profundo conocimiento de la bibliografía científica, en otras fuentes de información pertinentes, así como en experimentos de laboratorio correctamente realizados y en animales, cuando sea oportuno. Se debe cuidar también del bienestar de los animales utilizados en los experimentos.

22. El proyecto y el método de todo estudio en seres humanos deben describirse claramente y ser justificados en un protocolo de investigación.

El protocolo debe hacer referencia siempre a las consideraciones éticas que fueran del caso y debe indicar cómo se han considerado los principios enunciados en esta Declaración. El protocolo debe incluir información sobre financiamiento, patrocinadores, afiliaciones institucionales, posibles conflictos de interés e incentivos para las personas del estudio y la información sobre las estipulaciones para tratar o compensar a las personas que han sufrido daños como consecuencia de su participación en la investigación.

En los ensayos clínicos, el protocolo también debe describir los arreglos apropiados para las estipulaciones después del ensayo.

### **Comités de ética de investigación.**

23. El protocolo de la investigación debe enviarse, para consideración, comentario, consejo y aprobación al comité de ética de investigación pertinente antes de comenzar el

estudio. Este comité debe ser transparente en su funcionamiento, debe ser independiente del investigador, del patrocinador o de cualquier otro tipo de influencia indebida y debe estar debidamente calificado. El comité debe considerar las leyes y reglamentos vigentes en el país donde se realiza la investigación, como también las normas internacionales vigentes, pero no se debe permitir que éstas disminuyan o eliminen ninguna de las protecciones para las personas que participan en la investigación establecidas en esta Declaración.

El comité tiene el derecho de controlar los ensayos en curso. El investigador tiene la obligación de proporcionar información del control al comité, en especial sobre todo incidente adverso grave. No se debe hacer ninguna enmienda en el protocolo sin la consideración y aprobación del comité. Después que termine el estudio, los investigadores deben presentar un informe final al comité con un resumen de los resultados y conclusiones del estudio.

### **Privacidad y confidencialidad.**

24. Deben tomarse toda clase de precauciones para resguardar la intimidad de la persona que participa en la investigación y la confidencialidad de su información personal.

### **Consentimiento informado.**

25. La participación de personas capaces de dar su consentimiento informado en la investigación médica debe ser voluntaria. Aunque puede ser apropiado consultar a familiares o líderes de la comunidad, ninguna persona capaz de dar su consentimiento informado debe ser incluida en un estudio, a menos que ella acepte libremente.

26. En la investigación médica en seres humanos capaces de dar su consentimiento informado, cada participante potencial debe recibir información adecuada acerca de los



objetivos, métodos, fuentes de financiamiento, posibles conflictos de intereses, afiliaciones institucionales del investigador, beneficios calculados, riesgos previsibles e incomodidades derivadas del experimento, estipulaciones post estudio y todo otro aspecto pertinente de la investigación. El participante potencial debe ser informado del derecho de participar o no en la investigación y de retirar su consentimiento en cualquier momento, sin exponerse a represalias. Se debe prestar especial atención a las necesidades específicas de información de cada participante potencial, como también a los métodos utilizados para entregar la información.

Después de asegurarse de que el individuo ha comprendido la información, el médico u otra persona calificada apropiadamente debe pedir entonces, preferiblemente por escrito, el consentimiento informado y voluntario de la persona. Si el consentimiento no se puede otorgar por escrito, el proceso para lograrlo debe ser documentado y atestiguado formalmente.

Todas las personas que participan en la investigación médica deben tener la opción de ser informadas sobre los resultados generales del estudio.

27. Al pedir el consentimiento informado para la participación en la investigación, el médico debe poner especial cuidado cuando el participante potencial está vinculado con él por una relación de dependencia o si consiente bajo presión. En una situación así, el consentimiento informado debe ser pedido por una persona calificada adecuadamente y que nada tenga que ver con aquella relación.

28. Cuando el participante potencial sea incapaz de dar su consentimiento informado, el médico debe pedir el consentimiento informado del representante legal. Estas personas no deben ser incluidas en la investigación que no tenga posibilidades de beneficio para ellas, a menos que ésta tenga como objetivo promover la salud del grupo representado por el participante potencial y esta investigación no puede realizarse en personas

capaces de dar su consentimiento informado y la investigación implica sólo un riesgo y costo mínimos.

29. Si un participante potencial que toma parte en la investigación considerado incapaz de dar su consentimiento informado es capaz de dar su asentimiento a participar o no en la investigación, el médico debe pedirlo, además del consentimiento del representante legal. El desacuerdo del participante potencial debe ser respetado.

30. La investigación en individuos que no son capaces física o mentalmente de otorgar consentimiento, por ejemplo los pacientes inconscientes, se puede realizar sólo si la condición física/mental que impide otorgar el consentimiento informado es una característica necesaria del grupo investigado. En estas circunstancias, el médico debe pedir el consentimiento informado al representante legal. Si dicho representante no está disponible y si no se puede retrasar la investigación, el estudio puede llevarse a cabo sin consentimiento informado, siempre que las razones específicas para incluir a individuos con una enfermedad que no les permite otorgar consentimiento informado hayan sido estipuladas en el protocolo de la investigación y el estudio haya sido aprobado por un comité de ética de investigación. El consentimiento para mantenerse en la investigación debe obtenerse a la brevedad posible del individuo o de un representante legal.

31. El médico debe informar cabalmente al paciente los aspectos de la atención que tienen relación con la investigación. La negativa del paciente a participar en una investigación o su decisión de retirarse nunca debe afectar de manera adversa la relación médico-paciente.

32. Para la investigación médica en que se utilice material o datos humanos identificables, como la investigación sobre material o datos contenidos en biobancos o depósitos similares, el médico debe pedir el consentimiento informado para la recolección, almacenamiento y reutilización. Podrá haber situaciones excepcionales en

las que será imposible o impracticable obtener el consentimiento para dicha investigación. En esta situación, la investigación sólo puede ser realizada después de ser considerada y aprobada por un comité de ética de investigación.

### **Uso del placebo.**

33. Los posibles beneficios, riesgos, costos y eficacia de toda intervención nueva deben ser evaluados mediante su comparación con las mejores intervenciones probadas, excepto en las siguientes circunstancias:

Cuando no existe una intervención probada, el uso de un placebo, o ninguna intervención, es aceptable; o cuando por razones metodológicas científicamente sólidas y convincentes, sea necesario para determinar la eficacia y la seguridad de una intervención el uso de cualquier intervención menos eficaz que la mejor probada, el uso de un placebo o ninguna intervención.

Los pacientes que reciben cualquier intervención menos eficaz que la mejor probada, el placebo o ninguna intervención, no correrán riesgos adicionales de daño grave o irreversible como consecuencia de no recibir la mejor intervención probada.

Se debe tener muchísimo cuidado para evitar abusar de esta opción.

### **Estipulaciones post ensayo.**

34. Antes del ensayo clínico, los auspiciadores, investigadores y los gobiernos de los países anfitriones deben prever el acceso post ensayo a todos los participantes que todavía necesitan una intervención que ha sido identificada como beneficiosa en el ensayo. Esta información también se debe proporcionar a los participantes durante el proceso del consentimiento informado.

**Inscripción y publicación de la investigación y difusión de resultados.**

35. Todo estudio de investigación con seres humanos debe ser inscrito en una base de datos disponible al público antes de aceptar a la primera persona.

36. Los investigadores, autores, auspiciadores, directores y editores todos tienen obligaciones éticas con respecto a la publicación y difusión de los resultados de su investigación. Los investigadores tienen el deber de tener a la disposición del público los resultados de su investigación en seres humanos y son responsables de la integridad y exactitud de sus informes. Todas las partes deben aceptar las normas éticas de entrega de información. Se deben publicar tanto los resultados negativos e inconclusos como los positivos o de lo contrario deben estar a la disposición del público. En la publicación se debe citar la fuente de financiamiento, afiliaciones institucionales y conflictos de intereses. Los informes sobre investigaciones que no se ciñan a los principios descritos en esta Declaración no deben ser aceptados para su publicación.

**Intervenciones no probadas en la práctica clínica.**

37. Cuando en la atención de un paciente las intervenciones probadas no existen u otras intervenciones conocidas han resultado ineficaces, el médico, después de pedir consejo de experto, con el consentimiento informado del paciente o de un representante legal autorizado, puede permitirse usar intervenciones no comprobadas, si, a su juicio, ello da alguna esperanza de salvar la vida, restituir la salud o aliviar el sufrimiento. Tales intervenciones deben ser investigadas posteriormente a fin de evaluar su seguridad y eficacia. En todos los casos, esa información nueva debe ser registrada y, cuando sea oportuno, puesta a disposición del público.

**ANEXO 6**

**CLASIFICACIÓN DE KILLIP-KIMBALL DEL INFARTO AGUDO  
DE MIOCARDIO**



**Killip I.**

- Presión arterial estable.
- Auscultación pulmonar sin estertores.
- Auscultación cardiaca sin tercer tono.
- Ausencia de galope ventricular.
- No hay evidencia de insuficiencia cardíaca.

**Killip II.**

- Estertores en menos del 50% de los campos pulmonares (congestión pulmonar basal).
- Disnea.
- Auscultación cardiaca con tercer tono.
- Galope ventricular.
- Evidencia de insuficiencia cardiaca moderada.

**Killip III.**

- Estertores en más del 50% de los campos pulmonares (edema agudo de pulmón).
- Auscultación cardiaca con tercer tono.
- Galope ventricular en la auscultación cardíaca.
- Insuficiencia cardíaca franca.

**Killip IV.**

- Shock cardiogénico.
- Piel fría y cianótica, sudoración fría y sensorio sensorio deprimido (signos de pobre perfusión periférica).
- Diuresis inferior de 20 ml/h.



**ANEXO 7**

**CONSENTIMIENTO INFORMADO ORIGINAL DEL ENSAYO  
CLÍNICO**



**Enmienda Relevante nº2 de Fecha 10 de Julio de 2008**

CONFIDENCIAL

**Final**

HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE Y CONSENTIMIENTO INFORMADO.

**“EFECTO DEL TRASPLANTE DE CÉLULAS MADRE MONONUCLEADAS AUTÓLOGAS DERIVADAS DE LA MÉDULA ÓSEA MEDIANTE INYECCIÓN INTRAMIOCÁRDICA DIRECTA ASOCIADO A REVASCULARIZACIÓN CORONARIA QUIRÚRGICA SOBRE LA FUNCIÓN MIOCÁRDICA Y EL REMODELADO VENTRICULAR POSTINFARTO DE MIOCARDIO TRANSMURAL EN FASE SUBAGUDA”.**

Estimado paciente: queremos proponerle su participación en un estudio de investigación dirigido a pacientes que han sufrido un infarto agudo de miocardio y que como usted, precisan revascularización quirúrgica (“puentes”), con el propósito de valorar la eficacia de un nuevo tratamiento que genéricamente se denominan TERAPIA CON CÉLULAS MADRE. En concreto, pretendemos comparar una nueva alternativa de tratamiento tras un infarto con la utilizada de forma habitual. Si acepta participar usted recibiría una de estas dos:

- El tratamiento habitual que reciben los pacientes, decidido por sus médicos en sesión médico-quirúrgica consistente en revascularización quirúrgica de las

arterias enfermas de su corazón, incluyendo medidas dietéticas, cambio a un estilo de vida saludable y medicamentos con un beneficio demostrado.

- El tratamiento anterior, al que se le añade la administración de células madre a su corazón durante la intervención quirúrgica.

### **Información general sobre el infarto agudo de miocardio y su tratamiento.**

Los médicos que le han atendido han detectado que usted ha sufrido un **infarto agudo de miocardio (“ataque cardiaco”)**. El infarto de miocardio es la destrucción de una parte del corazón, lo que se debe a que un coágulo de sangre “atasca” uno de los conductos que irrigan el corazón (arterias coronarias), como consecuencia la sangre deja de irrigar el corazón y parte de éste se destruye irreversiblemente.

El pronóstico del infarto de miocardio inicialmente y a largo plazo depende de la cantidad de corazón que se ha destruido. Cuando ésta es pequeña, los pacientes tienen menos riesgo inicial y mayor probabilidad de recuperarse con una buena calidad de vida. Cuando el infarto ha destruido una gran cantidad de corazón, las probabilidades de recuperarse con una calidad de vida aceptable son más bajas.

Los médicos que le han atendido han determinado que usted tiene enfermedad arterial coronaria (obstrucciones en las arterias que llevan sangre al corazón). También han determinado que usted no es un buen candidato para recibir tratamiento a través de una revascularización percutánea (angioplastia con balón o con stent). Su enfermedad coronaria necesita un tratamiento quirúrgico, es decir, en el quirófano colocaremos unos puentes (bypass) que permitirán sortear las obstrucciones que tienen sus arterias coronarias. Dichas decisiones han sido tomadas de manera consensuada por los Cardiólogos y Cirujanos Cardiacos del Hospital Clínico de Valladolid según criterios clínicos.

### **Información sobre la insuficiencia cardiaca postinfarto.**

Usted ha padecido un infarto. Pese a haberse podido recuperar una parte del tejido que ha resultado dañado, una parte de su corazón ha quedado “inutilizada” (muerte celular) de forma irreversible.

Creemos que debido a ello, en su caso existe una pérdida importante de la fuerza de bomba del corazón que podría dar lugar a la dilatación progresiva del mismo y a lo que conocemos como insuficiencia cardiaca. En la insuficiencia cardiaca el corazón tiene dificultad para proporcionar sangre a los órganos y partes de nuestro cuerpo en cantidad suficiente para que éstos funcionen de forma correcta. Como consecuencia, las personas que padecen insuficiencia cardiaca se sienten débiles, cansadas ó notan dificultad para respirar. Las actividades diarias, como andar, subir escaleras, cargar con la compra, etc., podrían en un futuro resultar difíciles de realizar.

La prevención o el tratamiento de la insuficiencia cardiaca se pueden realizar mediante fármacos que mejoran los síntomas y retrasan el deterioro del corazón. A pesar de estos tratamientos, el daño que se ha producido en el corazón por el infarto aún permanece y puede ocurrir que, a largo plazo, las medicinas ya no sean eficaces.

### **Información sobre las células madre de médula ósea.**

¿Por qué le proponemos participar en un estudio con células madre?

Los médicos que le atienden le han aplicado las medidas de tratamiento y de estudio que requiere esta enfermedad. Han decidido también repararle las arterias enfermas de su corazón en el quirófano mediante “puentes”. Ahora se le propone participar en un estudio basado en la utilización de células madre porque las pruebas que se le han realizado indican que en su caso el área destruida es grande y porque

creemos que estas células podrían ayudar a reparar la parte de su corazón destruida por el infarto y ayudar a evitar el desarrollo de insuficiencia cardiaca.

### ¿Qué son las células madre?

Son unas células especiales que se encuentran en la mayoría de los órganos del cuerpo humano. Tienen como misión reparar los daños que constantemente se están produciendo. Se trata de unas células primitivas que quedaron en la reserva cuando se estaba formando nuestro cuerpo, y que cuando detectan una lesión, se transforman en células adultas y sustituyen a aquellas que se han perdido. Por desgracia, en el corazón estas células son insuficientes para sustituir y reparar las células que se pierden en un infarto de miocardio.

La médula ósea es un tejido que se encuentra dentro de los huesos y cuya misión principal es producir las células que circulan por la sangre (glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas). Las células madre que hay en la médula ósea tienen la ventaja de que además de poderse convertir en esas células sanguíneas, han demostrado tener capacidad de transformarse en células de otros tejidos, incluido las del corazón, por lo que si se colocan en sus arterias (coronarias) ó se aumenta el número de células disponibles en la circulación sanguínea podrían ayudar a reparar la zona destruida por el infarto de miocardio.

### ¿Cómo se obtienen las células madre para reparar el corazón?

Se sabe que después un infarto, el corazón produce unas sustancias llamadas citoquinas (moléculas con múltiples funciones como la comunicación entre diferentes células y/o tejidos) que estimulan a la médula ósea para que produzca más células madre, las cuales emigran al corazón y anidan en la zona destruida para repararla.

También se ha observado que las células madre pueden reparar el tejido destruido cuando se implantan directamente.

Lo que vamos a hacer en este estudio es extraer las células de su médula e implantarlas en el corazón. La extracción se realiza mediante la punción de la médula ósea. Consiste en puncionar con una aguja en el hueso para extraer lo que hay en su interior, que es la médula ósea donde están las células que luego vamos a introducir en su corazón. La zona donde se va a realizar la punción, previamente se anestesia localmente y solo notará un pequeño dolor durante la extracción.

### ¿Por qué necesitamos realizar este estudio?

El estudio en el que le proponemos participar es necesario para saber definitivamente si las células madre de médula ósea son realmente beneficiosas para prevenir el desarrollo de insuficiencia cardiaca en los pacientes que han padecido un infarto agudo de miocardio de gran tamaño.

Usted está siendo invitado a participar en un estudio en el cual algunas de las células de su médula ósea serán inyectadas dentro de su corazón para intentar mejorar el aporte de sangre a su corazón, en asociación a la revascularización quirúrgica (que es el tratamiento convencional).

### **Descripción del estudio:**

En este estudio promovido por el Grupo TECAM (TErapia Celular Aplicada al Miocardio) lo que se pretende es comparar la evolución de los pacientes con infarto después de asignarles al azar (por sorteo) a recibir el tratamiento quirúrgico convencional del infarto agudo de miocardio, o a recibir el tratamiento convencional

junto con la administración intramiocárdica (dentro del corazón) de células madre de médula ósea durante la intervención quirúrgica.

Un total de 20 pacientes participarán en este estudio. Todos los pacientes recibirán una inyección intramiocárdica. De estos 20 pacientes, la mitad serán sometidos a revascularización quirúrgica convencional recibiendo la inyección intramiocárdica de suero fisiológico y la otra mitad recibirá la inyección intramiocárdica de células madre. Por tanto, si usted acepta participar en este estudio, será asignado por azar (como tirar un moneda al aire) a recibir tratamiento convencional o tratamiento convencional junto con la terapia celular.

Es importante que sepa usted que LAS CÉLULAS QUE SE EXTRAIGAN DE SU MÉDULA ÓSEA NO SERÁN SOMETIDAS A NINGÚN TIPO DE CULTIVO Ó MANIPULACIÓN CON SUSTANCIAS Ó PRODUCTOS PELIGROSOS. Simplemente se incubarán con calor durante 24 horas y se seleccionarán aquellas que se consideran más eficaces para reconstruir su corazón y se depositarán en una solución líquida que permita implantarlas de una forma segura en su corazón.

En el caso de que usted sea una mujer en edad fértil, antes de formar parte de forma voluntaria en el estudio, se realizaría un test de embarazo (análisis de orina) para poder realizar estos tratamientos con seguridad.

### **Visitas y pruebas**

- Durante su ingreso en el hospital, en los días después del infarto, a cada paciente se le realizará: Control clínico completo con valoración del estado clínico, exploración física exhaustiva, ECG, radiografía de tórax, Holter de ECG de 24 horas. Analítica que incluirá perfil renal, colesterol, hemograma, fórmula leucocitaria. Resonancia magnética cardiaca con realce tardío con gadolinio.



Ecocardiograma de estrés con dobutamina a bajas dosis (estudio de viabilidad). Una vez finalizado el tratamiento asignado durante su hospitalización, cada paciente deberá seguir de forma estricta las recomendaciones sobre el tratamiento farmacológico y acudirá regularmente a las visitas de seguimiento (a los tres y nueve meses después de la intervención).

- A los tres meses de la cirugía: Control clínico (valoración estado clínico, optimización de tratamiento, registro de eventos adversos, exploración física exhaustiva, ECG, Holter-ECG 24 horas). Analítica que incluirá perfil renal, colesterol, hemograma, fórmula leucocitaria.
- A los nueve meses de la cirugía: Control clínico completo, valoración del estado clínico, revisión de tratamiento farmacológico, registro de eventos adversos, exploración física exhaustiva, ECG, radiografía de tórax, Holter de ECG de 24 horas. Analítica que incluirá perfil renal, colesterol, hemograma, fórmula leucocitaria. Resonancia magnética cardiaca con realce tardío con gadolinio. Cateterismo cardíaco: con ventriculografía y coronariografía selectiva. Ecocardiograma de estrés con dobutamina a bajas dosis (estudio de viabilidad).

### **Riesgos e inconvenientes de este tratamiento.**

Como ocurre con cualquier intervención, el implante de células madre de médula ósea en el corazón no está exento de riesgos. Los riesgos potenciales son los siguientes:

- Complicaciones a largo plazo de los implantes celulares en el corazón. Las complicaciones a largo plazo que podría tener esta técnica no se conocen exactamente, ya que el primer trasplante intramiocárdico de células madre de médula ósea en humanos se realizó en el año 2001. Sin embargo, existe una experiencia de más de 20 años con un procedimiento similar (el trasplante

autólogo (de sus propias células) de médula ósea para pacientes con enfermedades de la sangre), sin que se hayan observado problemas secundarios a largo plazo. Por otra parte, hasta ahora ninguno de los pacientes a los que se les ha implantado células de médula ósea en el corazón ha desarrollado problemas o efectos adversos derivados del implante.

- Sin embargo, no puede descartarse por completo la aparición de otros riesgos impredecibles durante este estudio. Por consiguiente, debe informar inmediatamente al médico que le atiende de cualquier sensación o reacción inusual.

### **Duración y detalles de la participación.**

Su participación en este estudio es voluntaria. No percibirá ninguna compensación económica por su participación en este estudio. Usted no pagará nada por las visitas ni por cualquier procedimiento necesario para el estudio (incluyendo los análisis de laboratorio). Le informamos de que la realización de este estudio conlleva un trabajo de investigación específico y que tanto el hospital como los profesionales que participan en el mismo, incluido el investigador, no recibirán compensación económica por parte del promotor.

Su evolución será evaluada y registrada inmediatamente después de que acepte participar, a lo largo de su estancia en el hospital, en el momento del alta hospitalaria y durante las visitas de seguimiento.

Como paciente de este estudio, sus responsabilidades son: acudir a todas las visitas del estudio, informar al médico del estudio de todo lo que le haya ocurrido y, en cada visita del estudio, de todos los medicamentos que esté tomando y de todos los efectos secundarios que pueda experimentar.

Toda la información obtenida es estrictamente confidencial. En los informes de este ensayo no se revelará su nombre. No se desvelará su identidad a terceros. Todos los datos relacionados con su historial médico estarán a disposición de las autoridades sanitarias, Comités Éticos de Investigación Clínica, promotor o personas autorizadas, siempre y cuando acepten no revelar su nombre. El tratamiento, comunicación y cesión de los datos de carácter personal de los sujetos participantes, se ajustará a lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de Diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal. Según la citada Ley, el consentimiento para el tratamiento de sus datos personales y para su cesión es revocable. En cualquier momento Usted puede ejercer el derecho de acceso, rectificación y cancelación de sus datos, dirigiéndose a su médico.

**SU PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO NO SUPONDRÁ EN NINGÚN CASO RETIRARLE NINGÚN TRATAMIENTO QUE PUEDA SER BENEFICIOSO PARA USTED.**

Es importante insistir en que su participación en este estudio de investigación es completamente voluntaria. Si usted no quiere participar, o quiere retirarse prematuramente del estudio, ello no influirá de forma negativa en su posterior tratamiento médico.

Si durante el desarrollo del estudio se produjera un cambio que pueda afectar de alguna forma a su decisión de participar, Usted sería inmediatamente informado y probablemente se le solicite que firme un nuevo consentimiento.

El médico del estudio podrá interrumpir su participación en el estudio y le podrá pedir que abandone el estudio sin su consentimiento. Se le podrá pedir que deje el estudio si no sigue las instrucciones o si el estudio muestra signos de causarle un daño médico importante. Además, el promotor del estudio podrá decidir finalizar el estudio en cualquier momento.

En el caso de una lesión física causada exclusivamente por su participación en este estudio, usted tiene derecho a una compensación. Para ello el promotor del estudio tiene una póliza de seguro de responsabilidad civil con número 33.510.108 con la compañía ZURICH España sita en Vía Augusta, 200, 08021 Barcelona. Esto es aplicable cuando resulta algún daño derivado de la administración de un medicamento o la realización de un procedimiento según el protocolo del estudio. El promotor del Estudio no le compensará de los daños causados por procedimientos llevados a cabo fuera de lo acordado en el protocolo del estudio.

En este estudio participan 22 pacientes de dos centros, a través de sus unidades de Cardiología y Cirugía Cardíaca, Cuidados Intensivos y Hematología según el caso: Hospital General Universitario Gregorio Marañón de Madrid, y Hospital Clínico Universitario de Valladolid (Valladolid). También forma parte del equipo de trabajo únicamente como asesor científico el Instituto de Biología y Genética Molecular (IBGM) de la Universidad de Valladolid.

En el caso de que usted tenga algunas preguntas o quejas respecto al estudio, por favor, no dude en consultar con el doctor \_\_\_\_\_, con quien podrá ponerse en contacto llamando al número de teléfono \_\_\_\_\_.

HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL PACIENTE

Título del estudio: **“EFECTO DEL TRASPLANTE DE CÉLULAS MADRE MONONUCLEADAS AUTÓLOGAS DERIVADAS DE LA MÉDULA ÓSEA MEDIANTE INYECCIÓN INTRAMIOCÁRDICA DIRECTA ASOCIADO A REVASCULARIZACIÓN CORONARIA QUIRÚRGICA SOBRE LA FUNCIÓN MIOCÁRDICA Y EL REMODELADO VENTRICULAR POSTINFARTO DE MIOCARDIO TRANSMURAL EN FASE SUBAGUDA”.**

Número de protocolo:

Yo,.....(Nombre y apellidos).....he leído la hoja de información que se me ha entregado.

He podido hacer preguntas sobre el estudio.

He recibido suficiente información sobre el estudio.

He hablado con ..... (Nombre del investigador principal).....

Entiendo que mi participación es voluntaria.

Entiendo que me puedo retirar del estudio cuando:

1. Lo desee
2. Sin dar explicaciones.
3. Sin que ello afecte a mi atención médica.

Doy mi libre consentimiento para participar en este estudio. Doy a su vez mi libre consentimiento a los investigadores para acceder a mis datos personales de tipo médico dentro de los límites regulados por la Ley de Protección de Datos (15/1999).

.....  
(Fecha) (Firma del paciente)

.....  
(Fecha) (Firma del investigador)

HOJA DE CONSENTIMIENTO ORAL ANTE TESTIGOS.

Título del estudio: **“ESTUDIO ALEATORIZADO DEL EFECTO DEL TRASPLANTE DE CÉLULAS MADRE MONONUCLEADAS AUTÓLOGAS DERIVADAS DE LA MÉDULA ÓSEA MEDIANTE INYECCIÓN DIRECTA INTRAMIOCÁRDICA EN ASOCIACIÓN CON REVASCULARIZACIÓN QUIRÚRGICA CONVENCIONAL SOBRE EL REMODELADO VENTRICULAR POSTINFARTO DE MIOCARDIO EN FASE SUBAGUDA”**

Número de protocolo:

Yo, .....(Nombre y apellidos del informante).....,

por la presente, declaro, bajo mi propia responsabilidad, que:

.....(Nombre del participante en el ensayo) .....,

ha recibido la hoja de información sobre el ensayo.

Ha podido hacer preguntas sobre el estudio.

Ha recibido suficiente información sobre el estudio.

Ha sido informado por.....

(Nombre del investigador)

Él/Ella entiende que la participación es voluntaria.

Él/Ella entiende que él/ella puede retirarse del estudio:

- 1 Cuando lo desee.
- 2 Sin tener que explicar el motivo.
3. Sin que ello afecte a su atención médica.

Ha dado su consentimiento libremente para participar en el estudio. A su vez otorga su libre consentimiento a los investigadores para acceder a sus datos personales de tipo médico dentro de los límites regulados por la Ley de Protección de Datos (15/1999).

.....  
(Fecha) (Firma del testigo)

.....  
(Fecha) (Firma del investigador)



**ANEXO 8**

**BOLETÍN OFICIAL DEL ESTADO ESPAÑOL. REGLAMENTO  
SOBRE ENSAYOS CLÍNICOS CON MEDICAMENTOS**



## I. DISPOSICIONES GENERALES

### MINISTERIO DE SANIDAD, SERVICIOS SOCIALES E IGUALDAD

**14082** *Real Decreto 1090/2015, de 4 de diciembre, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos, los Comités de Ética de la Investigación con medicamentos y el Registro Español de Estudios Clínicos.*

La investigación clínica con medicamentos constituye el elemento básico que permite que los medicamentos sean autorizados por las agencias de medicamentos, que sean comercializados por sus titulares con las garantías que la legislación exige y que lleguen finalmente a la práctica clínica para beneficio de los pacientes. Permite también investigar nuevas formas de uso o formas de uso más eficientes una vez que los medicamentos se encuentran ya comercializados. En definitiva, la investigación clínica permite generar conocimiento de alta calidad para desarrollar herramientas terapéuticas que mejoren las ya disponibles y que contribuyan a la prevención, el alivio y la curación de las enfermedades y a la mejora de la calidad de vida de la población.

Para ello, la investigación clínica debe desarrollarse en un entorno que garantice la protección de las personas que participan en ella y en consonancia con elementos como la Declaración de Helsinki, aprobada por la Asociación Médica Mundial, y el Convenio del Consejo de Europa para la protección de los derechos humanos y la dignidad del ser humano con respecto a las aplicaciones de la biología y la medicina, suscrito en Oviedo. Asimismo, debe garantizar los principios básicos recogidos en la Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica, y en la Ley 26/2011, de 1 de agosto, de adaptación normativa a la Convención Internacional sobre los Derechos de las Personas con Discapacidad. Finalmente, debe también garantizar que los resultados que de ella se deriven sean de calidad y útiles para los fines expresados anteriormente por lo que debe desarrollarse en un contexto de máxima transparencia.

Al mismo tiempo, es necesario fomentar la investigación clínica de medicamentos huérfanos y de medicamentos destinados al tratamiento de grupos de población como niños, mujeres y ancianos que tradicionalmente han estado poco representados en la investigación clínica.

La armonización europea en materia de ensayos clínicos se debe tanto a la normativa general sobre medicamentos como, específicamente, a la Directiva 2001/20/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 4 de abril de 2001, relativa a la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas de los Estados miembros sobre la aplicación de buenas prácticas clínicas en la realización de ensayos clínicos con medicamentos de uso humano. En España, el Real Decreto 223/2004, de 6 de febrero, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos, vino a incorporar en su totalidad al ordenamiento jurídico interno esta directiva, estableciendo los principios y requisitos básicos que han regulado hasta hoy la realización de ensayos clínicos con medicamentos y a los Comités Éticos de Investigación Clínica como garantes de su calidad ética y científica. Posteriormente, la Ley 29/2006, de 26 de julio, de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios, al igual que en la actualidad el texto refundido aprobado por el Real Decreto Legislativo 1/2015, de 24 de julio, amparó en su título III los ensayos clínicos con medicamentos bajo la rúbrica «De las garantías de la investigación de los medicamentos de uso humano» y, adicionalmente, la Orden SCO/256/2007, de 5 de febrero, por la que se establecen los principios y las directrices detalladas de buena práctica clínica y los requisitos para autorizar la fabricación o importación de medicamentos en investigación de uso humano incorporó en su totalidad al ordenamiento jurídico nacional la Directiva 2005/28/CE de la Comisión, de 8 de abril, por la que se establecen los principios y las directrices detalladas de las buenas prácticas clínicas respecto a los

medicamentos en investigación de uso humano, así como los requisitos para autorizar la fabricación o importación de dichos productos.

Sin embargo, la regulación de los ensayos clínicos con medicamentos ha sido objeto en los últimos años de algunas críticas y análisis públicos que se han centrado en la complejidad del procedimiento de autorización del ensayo, lo que imponía una carga burocrática desproporcionada a la autorización que ha dificultado la investigación clínica en la Unión Europea. Aunque la Comisión Europea publicó diferentes documentos para mejorar y armonizar aún más la aplicación de la legislación, finalmente se ha publicado el Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014, sobre los ensayos clínicos de medicamentos de uso humano, y por el que se deroga la Directiva 2001/20/CE y en el que se plantean cambios profundos buscando la simplificación de los procedimientos sin restar garantías para los participantes en los ensayos clínicos.

El nuevo Reglamento establece, por un lado, procedimientos comunes para la autorización de ensayos clínicos en toda Europa instando a que los Estados miembros cooperen en la evaluación mediante una posición única y común, pero deja fuera de esta cooperación, por otro, aquellos aspectos de carácter intrínsecamente nacional que requieren una evaluación por parte de cada Estado miembro. Además, con el fin de fomentar la investigación clínica en la Unión Europea, fija unos plazos de evaluación muy tasados, mantiene el concepto de autorización tácita y no establece plazos mínimos para la autorización.

La nueva regulación europea introduce también algunos cambios en las definiciones que son de gran relevancia, especialmente pero no solo, para la investigación promovida por investigadores académicos. Así, introduce el concepto de «ensayo clínico de bajo nivel de intervención» sobre el que llama a adoptar normas menos rigurosas en aspectos como la monitorización, el contenido del archivo maestro o la trazabilidad, sin menoscabo de la seguridad de los individuos que participan en ellos.

En definitiva, y al optar la Comisión Europea por la fórmula jurídica de reglamento, los aspectos regulados en este son de aplicación directa para los Estados miembros y redundarán en una menor variabilidad en la aplicación de las normas. Sin embargo, el propio reglamento deja al desarrollo nacional aspectos básicos como son la organización por la que cada Estado llega a la posición única en la evaluación, la evaluación de los aspectos éticos y el consentimiento informado o, entre otros, los mecanismos de compensación. Por otro lado, dado que la fecha de aplicación del reglamento se pospone hasta no antes de mayo de 2016, manteniendo la posibilidad de que el promotor solicite la autorización de un ensayo clínico al amparo de la Directiva 2001/20/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 4 de abril de 2001, al menos en los tres años siguientes a la fecha de publicación del reglamento, deben mantenerse de forma temporal algunos aspectos de la transposición de la citada directiva.

Los cambios adoptados en el Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014, requieren consecuentemente de la introducción de modificaciones sustanciales en la legislación nacional con el objeto de hacer posible su cumplimiento cuando el reglamento sea de aplicación. Sin embargo, después de diez años de la entrada en vigor del Real Decreto 223/2004, de 6 de febrero, se habían identificado también algunas posibles mejoras a efectuar en el procedimiento de autorización de los ensayos clínicos en España. Estas, en línea con las que ha recogido el nuevo reglamento, abarcan aspectos como el incremento de la eficiencia en los procesos de comunicación y evaluación o la delimitación de las responsabilidades de todos los agentes implicados. Todo ello ha hecho aconsejable no esperar a la fecha de aplicación del reglamento para acometer aquellos cambios necesarios en la legislación nacional con el objetivo de adaptarse rápidamente a la nueva regulación y mantener una posición competitiva de España en el contexto europeo y mundial de la investigación clínica.

En este sentido, hay dos aspectos del desarrollo nacional de la legislación que merecen un comentario aparte. Por un lado, era necesario acometer la integración de los Comités Éticos de Investigación Clínica en el desarrollo de la Ley 14/2007, de 3 de julio,

de investigación biomédica. Esta ley determina en su disposición transitoria tercera que los Comités Éticos de Investigación Clínica dejarán de existir en el momento en que se constituyan los Comités de Ética de la Investigación. En el desarrollo de la Ley 14/2007, de 3 de julio, se prevé además la creación de una Autoridad Nacional de Comités de Ética de la Investigación que se encargue de los aspectos generales de coordinación y del registro de los Comités. Sin embargo, dadas las peculiaridades de la investigación clínica con medicamentos y las necesidades impuestas en el nuevo reglamento, la coordinación de la decisión única para los ensayos clínicos con medicamentos, así como de otros aspectos de supervisión relativos a aquellos Comités de Ética de la Investigación acreditados para la evaluación de estudios con medicamentos le corresponderá, según este real decreto, a la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Además, se establecen los requisitos adicionales que deberán cumplir los Comités de Ética de la Investigación para poder ser acreditados como Comités de Ética de la investigación con medicamentos, teniendo en cuenta las especificidades aplicables a la investigación clínica con medicamentos y productos sanitarios, y tomando como referencia los criterios de acreditación que se determinen en el desarrollo de la citada ley.

Finalmente, este real decreto desarrolla un aspecto del texto refundido de la Ley de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios, que, en su artículo 62, sienta las bases del registro nacional público y libre de ensayos clínicos con medicamentos de uso humano como una medida necesaria para la transparencia. Para ello establece que la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios debe poner a disposición de los ciudadanos en su página web cierta información sobre los ensayos clínicos autorizados. En este real decreto se desarrolla reglamentariamente el Registro español de estudios clínicos desde una perspectiva más amplia para permitir también el registro de los estudios observacionales con medicamentos que son clasificados por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Además, en la creación de este registro se ha tenido en cuenta la utilidad pública que se plantea en el texto refundido de la Ley de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios, para los ensayos clínicos con medicamentos extendiéndola, de manera voluntaria, a todos los estudios clínicos prospectivos fuera del ámbito de los medicamentos. Así, el registro será obligatorio y completo en lo que se refiere a estudios clínicos con medicamentos, pero queda abierto a su utilización como registro voluntario para cualquier otro tipo de estudio clínico cuando sus promotores deseen utilizarlo con los fines establecidos en la Plataforma de Registros Internacionales de Ensayos Clínicos de la Organización Mundial de la Salud.

Para la Organización Mundial de la Salud, el registro, la publicación y el acceso del público a los contenidos relevantes de los ensayos clínicos es una responsabilidad científica, ética y moral. La propia Organización Mundial de la Salud ha establecido cuál es el conjunto mínimo de datos de un ensayo clínico que deben hacerse públicos. Este estándar es el mismo que han adoptado el Parlamento y el Consejo Europeos para hacer públicos los datos contenidos en la base de datos EudraCT que contiene la información de los ensayos clínicos con medicamentos en los que participa algún centro ubicado en el Espacio Económico Europeo y que han sido autorizados por la autoridad nacional competente. El contenido del Registro español de estudios clínicos se ajusta a los estándares fijados en la plataforma internacional de registros de ensayos clínicos de la Organización Mundial de la Salud. También se ha tenido en cuenta que el solicitante de una autorización de ensayo clínico con medicamentos o de clasificación para estudios observacionales ya proporciona la información sobre el estudio clínico con medicamentos a la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios de acuerdo con la normativa española y europea al respecto. Por ello, se utilizarán las tecnologías de la información y la comunicación para agilizar la tramitación.

Este real decreto persigue, por tanto, adaptar la legislación española para hacer viable la aplicación actual y futura del Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014, y desarrollar aquellos aspectos que el reglamento deja a la legislación nacional. Con ello se pretende impulsar y facilitar la investigación clínica con medicamentos en España, la generación de conocimiento, la transparencia, la

seguridad de los participantes y la utilidad de los resultados. En definitiva, consolidar la confianza de la sociedad en la investigación y favorecer su progreso.

De conformidad con lo dispuesto en el artículo 149.1.16.<sup>a</sup> de la Constitución, este real decreto se dicta de acuerdo con la competencia exclusiva que ostenta el Estado en materia de legislación sobre productos farmacéuticos, garantizando, en lo que concierne al tratamiento de los datos personales, el respeto a la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal, y su normativa de desarrollo.

De acuerdo con lo dispuesto en la Ley 16/2003, de 28 de mayo, de cohesión y calidad del Sistema Nacional de Salud, el presente real decreto ha sido objeto de informe previo por parte del Comité Consultivo y del Pleno del Consejo Interterritorial del Sistema Nacional de Salud. Además, la Agencia Española de Protección de Datos ha emitido su informe preceptivo, en virtud de lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, y en el Estatuto de la citada Agencia, aprobado por el Real Decreto 428/1993, de 26 de marzo.

En el proceso de elaboración de esta norma se ha consultado, entre otros, a las comunidades autónomas, a las ciudades de Ceuta y Melilla, y a los sectores afectados.

En su virtud, a propuesta del Ministro de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad, con la aprobación previa del Ministro de Hacienda y Administraciones Públicas, de acuerdo con el Consejo de Estado y previa deliberación del Consejo de Ministros, en su reunión del día 4 de diciembre de 2015,

DISPONGO:

CAPÍTULO I

### Disposiciones generales

#### Artículo 1. *Objeto.*

1. Este real decreto se aplicará a los ensayos clínicos con medicamentos de uso humano que se realicen en España y tiene por objeto:

a) Desarrollar las disposiciones específicas para la aplicación en España del Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014, sobre los ensayos clínicos de medicamentos de uso humano, y por el que se deroga la Directiva 2001/20/CE, relativas a los ensayos clínicos con medicamentos de uso humano que se realicen en España.

b) Regular los Comités de Ética de la Investigación con medicamentos, así como el Registro español de estudios clínicos, conformado tanto por los ensayos clínicos como por los estudios posautorización observacionales que se realicen con medicamentos de uso humano.

A estos efectos, no tendrá la consideración de ensayo clínico con medicamentos la administración de un medicamento en investigación a pacientes individuales, en el ámbito de la práctica médica y con el único propósito fundamental de conseguir un beneficio terapéutico para el paciente. En ese supuesto, el uso de medicamentos no autorizados o en condiciones de uso distintas de las autorizadas se registrará por lo dispuesto en el Real Decreto 1015/2009, de 19 de junio, por el que se regula la disponibilidad de medicamentos en situaciones especiales.

2. La práctica médica y la libertad profesional de prescripción del médico u otros profesionales sanitarios no ampararán, en ningún caso, la realización de ensayos clínicos no autorizados ni la utilización de remedios secretos o no declarados a la autoridad sanitaria.

#### Artículo 2. *Definiciones.*

1. A los efectos de lo dispuesto en este real decreto se entiende por:

a) «Medicamento de uso humano»: Toda sustancia o combinación de sustancias que se presente como poseedora de propiedades para el tratamiento o prevención de

enfermedades en seres humanos o que pueda usarse en seres humanos o administrarse a seres humanos con el fin de restaurar, corregir o modificar las funciones fisiológicas ejerciendo una acción farmacológica, inmunológica o metabólica, o de establecer un diagnóstico médico.

b) «Radiofármaco»: Cualquier producto que, cuando esté preparado para su uso con finalidad terapéutica o diagnóstica, contenga uno o más radionucleidos (isótopos radiactivos).

c) «Reacción adversa»: Cualquier respuesta nociva y no intencionada a un medicamento.

d) «Reacción adversa grave»: Cualquier reacción adversa que ocasione la muerte, pueda poner en peligro la vida, exija la hospitalización del paciente o la prolongación de la hospitalización ya existente, ocasione una discapacidad o invalidez significativa o persistente, o constituya una anomalía congénita o defecto de nacimiento. A efectos de su notificación, se tratarán también como graves aquellas sospechas de reacción adversa que se consideren importantes desde el punto de vista médico, aunque no cumplan los criterios anteriores, como las que ponen en riesgo al paciente o requieren una intervención para prevenir alguno de los desenlaces anteriores y todas las sospechas de transmisión de un agente infeccioso a través de un medicamento.

e) «Acondicionamiento primario»: El envase o cualquier otra forma de acondicionamiento que se encuentre en contacto directo con el medicamento.

f) «Embalaje exterior»: El embalaje en que se encuentre el acondicionamiento primario.

g) «Producto sanitario»: Cualquier instrumento, dispositivo, equipo, programa informático, material u otro artículo, utilizado solo o en combinación, incluidos los programas informáticos destinados por su fabricante a finalidades específicas de diagnóstico y/o terapia y que intervengan en su buen funcionamiento, destinado por el fabricante a ser utilizado en seres humanos con fines de:

1.º Diagnóstico, prevención, control, tratamiento o alivio de una enfermedad.

2.º Diagnóstico, control, tratamiento, alivio o compensación de una lesión o de una deficiencia.

3.º Investigación, sustitución o modificación de la anatomía o de un proceso fisiológico.

4.º Regulación de la concepción, y que no ejerza la acción principal que se desee obtener en el interior o en la superficie del cuerpo humano por medios farmacológicos, inmunológicos, ni metabólicos, pero a cuya función puedan contribuir tales medios.

h) «Estudio clínico»: Toda investigación relativa a personas destinada a:

1.º Descubrir o comprobar los efectos clínicos, farmacológicos o demás efectos farmacodinámicos de uno o más medicamentos.

2.º Identificar cualquier reacción adversa a uno o más medicamentos.

3.º Estudiar la absorción, la distribución, el metabolismo y la excreción de uno o más medicamentos, con el objetivo de determinar la seguridad y/o eficacia de dichos medicamentos.

i) «Ensayo clínico»: Un estudio clínico que cumpla cualquiera de las siguientes condiciones:

1.º Se asigna de antemano al sujeto de ensayo a una estrategia terapéutica determinada, que no forma parte de la práctica clínica habitual del Estado miembro implicado.

2.º La decisión de prescribir los medicamentos en investigación se toma junto con la de incluir al sujeto en el estudio clínico.

3.º Se aplican procedimientos de diagnóstico o seguimiento a los sujetos de ensayo que van más allá de la práctica clínica habitual.

j) «Ensayo clínico de bajo nivel de intervención»: Un ensayo clínico que cumpla todas las condiciones siguientes:



- 1.º Los medicamentos en investigación, excluidos los placebos, están autorizados.
- 2.º Según el protocolo del ensayo clínico:
  - 1.ª Los medicamentos en investigación se utilizan de conformidad con los términos de la autorización de comercialización, o
  - 2.ª el uso de los medicamentos en investigación se basa en pruebas y está respaldado por datos científicos publicados sobre la seguridad y eficacia de dichos medicamentos en investigación en alguno de los Estados miembros implicados.
- 3.º Los procedimientos complementarios de diagnóstico o seguimiento entrañan un riesgo o carga adicional para la seguridad de los sujetos que es mínimo comparado con el de la práctica clínica habitual en alguno de los Estados miembros implicados.
  - k) «Estudio observacional»: Un estudio clínico distinto de un ensayo clínico.
  - l) «Medicamento en investigación»: El que se está sometiendo a prueba o utilizando como referencia, incluso como placebo, en un ensayo clínico.
  - m) «Práctica clínica habitual»: el tratamiento que suele seguirse para tratar, prevenir o diagnosticar una enfermedad o problema de salud.
  - n) «Medicamento de terapia avanzada en investigación»: Medicamento en investigación que responde a la definición de medicamento de terapia avanzada del artículo 2, apartado 1, letra a), del Reglamento (CE) n.º 1394/2007 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 13 de noviembre de 2007, sobre medicamentos de terapia avanzada y por el que se modifican la Directiva 2001/83/CE y el Reglamento (CE) n.º 726/2004.
  - ñ) «Medicamento auxiliar»: Medicamento utilizado para las necesidades de un ensayo clínico tal y como se describe en el protocolo, pero no como medicamento en investigación.
    - o) «Medicamento en investigación autorizado»: Medicamento autorizado de conformidad con el Reglamento (CE) n.º 726/2004, o bien, en cualquier Estado miembro implicado, de conformidad con la Directiva 2001/83/CE, con independencia de los cambios de etiquetado, que se utiliza como medicamento en investigación.
    - p) «Medicamento auxiliar autorizado»: Medicamento autorizado de conformidad con el Reglamento (CE) n.º 726/2004 o bien, en cualquier Estado miembro implicado, de conformidad con la Directiva 2001/83/CE, con independencia de los cambios de etiquetado, que se utiliza como medicamento auxiliar.
    - q) «Estado miembro implicado»: Estado miembro en el que se ha presentado una solicitud de autorización de ensayo clínico o de modificación sustancial en virtud, respectivamente, de los capítulos II y III del Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014.
    - r) «Modificación sustancial»: Todo cambio de cualquier aspecto del ensayo clínico que se realice tras la notificación de la decisión a que se hace referencia en los artículos 8, 14, 19, 20 o 23 del Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014, y que pueda tener repercusiones importantes en la seguridad o los derechos de los sujetos de ensayo o en la fiabilidad y solidez de los datos obtenidos en el ensayo clínico.
    - s) «Promotor»: Individuo, empresa, institución u organización responsable de iniciar, gestionar y organizar la financiación de un ensayo clínico.
    - t) «Investigador»: Persona encargada de la realización del ensayo clínico en un centro de ensayos clínicos.
    - u) «Investigador principal»: Investigador responsable de un equipo de investigadores que realizan un ensayo clínico en un centro de ensayos clínicos.
    - v) «Sujeto de ensayo»: Persona que participa en un ensayo clínico, bien como receptor del medicamento en investigación o bien como control.
    - w) «Consentimiento informado»: La expresión libre y voluntaria por parte de un sujeto de ensayo clínico de su voluntad de participar en un ensayo clínico determinado, tras haber sido informado de todos los aspectos del mismo que sean pertinentes para su decisión de



participar o, en el caso de los sujetos de ensayo menores o incapaces, una autorización o acuerdo de sus representantes legalmente designados de incluirlos en el ensayo clínico.

x) «Protocolo»: Documento donde se describen los objetivos, el diseño, la metodología, las consideraciones estadísticas y la organización de un ensayo clínico. El término «protocolo» comprende las sucesivas versiones de los protocolos y sus modificaciones.

y) «Manual del investigador»: Recopilación de datos clínicos y no clínicos sobre el medicamento en investigación que sean pertinentes para el estudio de dicho medicamento en seres humanos.

z) «Fabricación»: La fabricación total o parcial, así como las operaciones de división, acondicionamiento y etiquetado (incluido el enmascaramiento).

aa) «Inicio de un ensayo clínico»: Primer acto de selección de un posible sujeto para un ensayo clínico concreto, salvo que el protocolo lo defina de otro modo.

ab) «Finalización de un ensayo clínico»: Última visita del último sujeto de ensayo, o un momento posterior según lo defina el protocolo.

ac) «Finalización anticipada de un ensayo clínico»: Terminación prematura de un ensayo clínico por cualquier motivo antes de que se cumplan las condiciones señaladas en el protocolo.

ad) «Paralización temporal de un ensayo clínico»: Interrupción no prevista en el protocolo de la realización de un ensayo clínico por el promotor, que tiene la intención de reanudarlo.

ae) «Suspensión de un ensayo clínico»: Interrupción de la realización de un ensayo clínico por un Estado miembro.

af) «Buena práctica clínica»: Conjunto detallado de requisitos de calidad éticos y científicos del diseño, la dirección, el desarrollo, la monitorización, la auditoría, el registro, el análisis y el informe de los ensayos clínicos que garanticen la protección de los derechos, la seguridad y el bienestar de los sujetos de ensayo, así como la fiabilidad y solidez de los datos obtenidos en el ensayo clínico.

ag) «Inspección»: Revisión oficial por una autoridad competente de los documentos, las instalaciones, los archivos, los sistemas de garantía de calidad y cualesquiera otros recursos que la autoridad competente considere relacionados con el ensayo clínico y que puedan encontrarse en el lugar del ensayo clínico, en las instalaciones del promotor o de la organización de investigación por contrato o en cualquier otro establecimiento que la autoridad competente considere oportuno inspeccionar.

ah) «Acontecimiento adverso»: Cualquier incidente perjudicial para la salud que sobreviene a un sujeto de ensayo al que se ha administrado un medicamento, aunque no tenga necesariamente relación causal con el mismo.

ai) «Acontecimiento adverso grave»: Cualquier incidente perjudicial para la salud que, a cualquier dosis, haga necesaria la hospitalización o la prolongación de esta, produzca invalidez o incapacidad permanente o importante, dé lugar a una anomalía o malformación congénita, ponga en peligro la vida o produzca la muerte.

aj) «Reacción adversa grave e inesperada»: Reacción adversa grave cuya naturaleza, gravedad o desenlace no sean coherentes con la información de seguridad de referencia.

ak) «Informe del estudio clínico»: Informe del ensayo clínico presentado en un formato de búsqueda fácil y preparado de conformidad con el anexo I, parte I, módulo 5, de la Directiva 2001/83/CE, y presentado en una solicitud de autorización de comercialización.

2. Se aplicarán, además, las siguientes definiciones:

a) «Comité de Ética de la Investigación (en adelante CEI)»: Órgano independiente y de composición multidisciplinar cuya finalidad principal es la de velar por la protección de los derechos, seguridad y bienestar de los sujetos que participen en un proyecto de investigación biomédica y ofrecer garantía pública al respecto mediante un dictamen sobre la documentación correspondiente del proyecto de investigación, teniendo en cuenta los

puntos de vista de las personas legas, en particular, los pacientes, o las organizaciones de pacientes.

b) «Comité de Ética de la Investigación con medicamentos (en adelante CEIm)»: Comité de Ética de la Investigación que además está acreditado de acuerdo con los términos de este real decreto para emitir un dictamen en un estudio clínico con medicamentos y en una investigación clínica con productos sanitarios.

c) «Copromotores»: Aquellos promotores que realizan conjuntamente un ensayo clínico y que se encuentran sometidos a las obligaciones del promotor con arreglo a este real decreto, salvo que mediante contrato escrito establezcan sus responsabilidades respectivas.

d) «Investigación clínica con productos sanitarios»: Cualquier investigación sistemática en uno o más sujetos humanos con objeto de evaluar la seguridad o las prestaciones de un producto.

e) «Investigación clínica sin ánimo comercial»: Investigación llevada a cabo por los investigadores sin la participación de la industria farmacéutica o de productos sanitarios que reúne todas las características siguientes:

1.º El promotor es una universidad, hospital, organización científica pública, organización sin ánimo de lucro, organización de pacientes o investigador individual.

2.º La propiedad de los datos de la investigación pertenece al promotor desde el primer momento del estudio.

3.º No hay acuerdos entre el promotor y terceras partes que permitan el empleo de los datos para usos regulatorios o que generen una propiedad industrial.

4.º El diseño, la realización, el reclutamiento, la recogida de datos y la comunicación de resultados de la investigación se mantienen bajo el control del promotor.

5.º Por sus características, estos estudios no pueden formar parte de un programa de desarrollo para una autorización de comercialización de un producto.

f) «Investigador coordinador»: Investigador responsable de la coordinación de los investigadores de los centros participantes en un ensayo multicéntrico.

g) «Investigador clínico contratado»: Aquel investigador contratado por el centro o entidades de investigación relacionadas con este para la realización de uno o varios ensayos clínicos, siempre que cuenten con la titulación exigible para el desarrollo de las funciones que le son asignadas y pueda desarrollar estas en el marco asistencial del centro.

h) «Menor»: Sujeto de ensayo, que según la Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica, no ha alcanzado la edad legal para dar su consentimiento informado.

i) «Monitor»: Profesional capacitado con la necesaria formación y competencia clínica y/o científica, elegido por el promotor, que se encarga del seguimiento directo de la realización del ensayo. Sirve de vínculo entre el promotor y el investigador principal, cuando éstos no concurren en la misma persona. En ningún caso el monitor debe formar parte del equipo investigador.

j) «Organización de investigación por contrato (en adelante CRO)»: Persona física o jurídica contratada por el promotor para realizar funciones o deberes del promotor en relación con el ensayo clínico.

k) «Persona con la capacidad modificada para dar su consentimiento»: Sujeto de ensayo que, por razones distintas a las de la edad legal para dar su consentimiento informado, no es capaz de prestar su consentimiento informado, según la ley nacional.

l) «Registro español de estudios clínicos»: Base de datos cuyo titular es la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, accesible desde su página web, de uso libre y gratuito para todo usuario, cuyo objetivo es servir de fuente de información en materia de estudios clínicos a los ciudadanos.

A los efectos de este Registro, se considerará «otro tipo de estudio clínico» como cualquier investigación que de forma prospectiva asigne a las personas participantes a una

o más intervenciones relacionadas con la salud que no sean medicamentos para estudiar sus efectos en indicadores de salud.

m) «Representante legal del promotor»: Persona acreditada por el promotor, con objeto de representarle cuando dicho promotor no esté establecido en un Estado miembro de la Unión Europea.

n) «Representante legalmente designado»: Persona física o jurídica, autoridad o institución que, de acuerdo con la ley nacional, tiene la capacidad de otorgar el consentimiento informado en nombre de la persona con la capacidad modificada para dar su consentimiento o el menor.

ñ) «Subestudio»: Estudio que forma parte del ensayo clínico pero que puede estar relacionado o no con el objetivo principal de este, en el que participan de forma voluntaria una parte de las personas incluidas en el ensayo clínico y para el que se solicita un consentimiento informado adicional, por ejemplo, subestudios farmacocinéticos o farmacogenéticos.

## CAPÍTULO II

### Protección de los sujetos del ensayo y consentimiento informado

#### Artículo 3. *Requisitos generales.*

1. Solo se podrá iniciar un ensayo clínico objeto de esta regulación cuando el CEIm y la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios hayan considerado que se cumplen la totalidad de las siguientes condiciones:

a) El ensayo clínico es ética y metodológicamente correcto y está diseñado para que se obtengan datos fiables y sólidos.

b) Los beneficios para el sujeto del ensayo o para la salud pública esperados justifican los riesgos y los inconvenientes previsibles, y se supervisa de forma constante el cumplimiento de esta condición. No obstante, los derechos, la seguridad, la dignidad y el bienestar de los sujetos prevalecen sobre cualquier otro interés.

c) Se obtiene y documenta el consentimiento informado de cada uno de los sujetos del ensayo, libremente expresado, antes de su inclusión en el ensayo en los términos previstos en los artículos 4 a 8.

d) Se respetan los derechos del sujeto a su integridad física y mental, y a su intimidad, y se protegen los datos de carácter personal que le conciernen, de acuerdo con la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal, y su normativa de desarrollo, así como con la normativa europea vigente en la materia.

e) El ensayo clínico ha sido diseñado para reducir al mínimo posible el dolor, la incomodidad, el miedo y cualquier otro riesgo previsible para los sujetos del ensayo y tanto el nivel de riesgo como el grado de incomodidad están específicamente definidos en el protocolo y bajo supervisión constante.

f) La atención sanitaria que se dispensa y las decisiones médicas que se adoptan sobre las personas son responsabilidad de un médico, de un odontólogo debidamente cualificado o de otro profesional sanitario, siempre en orden a sus competencias para ofrecer los cuidados necesarios.

g) Se han facilitado al sujeto de ensayo o, si este no es capaz de dar su consentimiento informado, a su representante legalmente designado, los datos de contacto de una entidad que puede proporcionarle información adicional en caso de necesidad. En el caso de personas con discapacidad, esta información complementaria se ofrecerá según las reglas marcadas por el principio de diseño para todos, de manera que les resulte accesible y comprensible.

h) No se ha ejercido en los sujetos del ensayo influencia indebida alguna, inclusive de carácter económico, para que participen en el ensayo.

En este sentido, las personas que participen en ensayos con un posible beneficio potencial directo para el sujeto de investigación o sus representantes legales podrán recibir

del promotor el reintegro de los gastos extraordinarios y pérdidas de productividad que se deriven de la participación de la persona en el ensayo. En situaciones especiales, el CElm podrá informar favorablemente la compensación a los sujetos del ensayo por las molestias derivadas de su participación en el mismo, siempre y cuando se asegure que dicha compensación no influye en la decisión del sujeto de participar en el estudio.

La contraprestación que se hubiera pactado por la participación voluntaria en el ensayo clínico se percibirá en todo caso, si bien se reducirá proporcionalmente, según la participación del sujeto en la experimentación, en el supuesto de que decida revocar su consentimiento y abandonar el ensayo.

i) Se ha contratado el seguro o garantía financiera equivalente al que se refiere el artículo 9.2, o se dispone de la cobertura prevista en el artículo 9.4 para los «ensayos clínicos de bajo nivel de intervención».

2. Los ensayos clínicos deberán realizarse de acuerdo con la Declaración de Helsinki sobre los principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos, aprobada por la Asamblea General de la Asociación Médica Mundial y teniendo en cuenta el Convenio de Oviedo para la protección de los derechos humanos y la dignidad del ser humano con respecto a las aplicaciones de la Biología y la Medicina, así como a cualesquiera otras normas que pudieran resultar de aplicación.

3. En el caso de que en el ensayo clínico se prevea la recogida de muestras biológicas se establecerán las previsiones oportunas para que una vez finalizado el ensayo su utilización en investigación se adecue a lo previsto en el Real Decreto 1716/2011, de 18 de noviembre, por el que se establecen los requisitos básicos de autorización y funcionamiento de los biobancos con fines de investigación biomédica y del tratamiento de las muestras biológicas de origen humano, y se regula el funcionamiento y organización del Registro Nacional de Biobancos para investigación biomédica, especialmente en lo que se refiere a los apartados correspondientes del consentimiento informado y posibles documentos de transferencia de material biológico.

#### Artículo 4. *Consentimiento informado.*

1. La obtención y el contenido del consentimiento informado seguirá lo estipulado en el artículo 29 del Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014, así como en los artículos 8 y 9 de la Ley 41/2002, de 14 de noviembre.

2. Cuando quien haya de otorgar el consentimiento sea una persona discapacitada, la información se le ofrecerá en formatos adecuados, según las reglas marcadas por el principio de diseño para todos, de manera que le resulte accesible y comprensible, y se arbitrarán las medidas de apoyo pertinentes para favorecer que pueda prestar por sí su consentimiento.

3. En el caso de menores o personas con la capacidad modificada y para dar su consentimiento, habiendo dado el consentimiento su representante legalmente designado, cuando estos alcancen o recuperen la capacidad de consentir, deberá recabarse su consentimiento para continuar participando en el ensayo clínico.

4. Se comunicará a la persona que participa en el ensayo, particularmente en el caso de personas con especial vulnerabilidad, las vías de acceso a la práctica clínica habitual para su patología.

5. La persona participante en un ensayo clínico, por sí misma o con la asistencia de su representante legalmente designado, o de la persona vinculada a ella por razones familiares o de hecho, podrán revocar su consentimiento en cualquier momento, sin expresión de causa y sin que por ello se derive para la persona participante responsabilidad ni perjuicio alguno. La retirada del consentimiento no afectará a las actividades realizadas en base a su consentimiento antes de haberlo retirado, garantizando a su vez que ni los datos ni las muestras obtenidas en base a dicho consentimiento podrán emplearse en análisis ni estudios posteriores a la fecha de retirada a menos que se obtenga su

consentimiento para hacer uso de ellos posteriormente o, si la finalidad es legítima, se pueda obtener la información de fuentes accesibles al público.

6. Cuando en el ensayo clínico se prevea la recogida de muestras biológicas se deberá informar al posible participante de lo previsto en relación con el uso futuro de las muestras. De acuerdo con el Real Decreto 1716/2011, de 18 de noviembre, las muestras podrán destruirse después de finalizado el ensayo, incorporarse a una colección o a un biobanco autorizado. En los dos últimos casos se informará del biobanco o de la persona responsable de la colección, así como de la ubicación donde serán custodiadas las muestras.

7. Cuando un ensayo clínico vaya a llevarse a cabo exclusivamente en España, sin perjuicio de lo dispuesto en los apartados anteriores y no obstante lo dispuesto en el artículo 3 y en los artículos 5 a 8 de este real decreto, se podrá permitir que el investigador obtenga el consentimiento informado por los medios simplificados que se indican en el apartado 2 del artículo 30 del Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014, siempre y cuando se cumplan todas las condiciones establecidas en el apartado 3 del citado artículo 30.

#### Artículo 5. *Ensayos clínicos con menores.*

1. Solo podrá realizarse un ensayo clínico con menores si, además de las condiciones establecidas en los artículos 3 y 4 de este real decreto, se cumplen todas las que se enumeran en el artículo 32 del Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014.

2. El CEIm que se encargue de evaluar la parte II del informe de evaluación de un ensayo clínico con menores debe contar entre sus miembros con expertos en pediatría o haber recabado asesoramiento sobre las cuestiones clínicas, éticas y psicosociales en el ámbito de la pediatría.

3. Será necesario que se haya obtenido el consentimiento informado previo de los padres que no estuvieran privados de la patria potestad o del representante legal del menor, a quien deberá oírse si, siendo menor de doce años, tuviera suficiente juicio. El documento de consentimiento informado de los padres será válido siempre que vaya firmado por uno de ellos con el consentimiento expreso o tácito del otro que debe quedar suficientemente documentado, según lo dispuesto en el artículo 156 del Código Civil. Cuando las condiciones del sujeto lo permitan y, en todo caso, cuando el menor tenga doce o más años, deberá prestar además su consentimiento para participar en el ensayo.

#### Artículo 6. *Ensayos clínicos con personas con la capacidad modificada para dar su consentimiento.*

1. Solo podrá realizarse un ensayo clínico en adultos que no estén en condiciones de dar su consentimiento informado y que no lo hayan dado, ni se hayan negado a darlo, con anterioridad al comienzo de la ausencia de capacidad, cuando, además de lo indicado en los artículos 3 y 4 de este real decreto, se cumplan todas las condiciones enumeradas en el artículo 31 del Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014.

2. El protocolo debe ser aprobado por un CEIm que cuente con expertos en la enfermedad en cuestión o que haya recabado asesoramiento de este tipo de expertos sobre las cuestiones clínicas, éticas y psicosociales en el ámbito de la enfermedad y del grupo de pacientes afectados.

3. Será necesario que se haya obtenido el consentimiento informado previo del representante legal de la persona participante en un ensayo clínico o el consentimiento de la persona vinculada a ella por razones familiares o de hecho, según proceda. En todo caso, el investigador se asegurará razonablemente de que no existen instrucciones previas de la persona expresadas al respecto antes de presentar una modificación de su capacidad, teniendo estas que ser respetadas. Esta eventualidad y la forma de proceder deben hallarse previstas en la documentación del ensayo aprobada por el CEIm.



Artículo 7. *Ensayos clínicos en situaciones de urgencia.*

1. No obstante lo dispuesto en el artículo 3.1.c) y en los artículos 4 a 6 de este real decreto, cuando el ensayo clínico tenga un interés específico para la población en la que se realiza la investigación, y lo justifiquen razones de necesidad en la administración del medicamento en investigación, podrá someterse a una persona a un ensayo clínico sin obtener el consentimiento informado previo cuando se cumplan todas las condiciones enumeradas en el artículo 35, apartados 1 y 2, del Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014.

2. En este caso, siempre que las circunstancias lo permitan, se consultará previamente a las personas vinculadas a él por razones familiares o de hecho.

3. Esta eventualidad y la forma de proceder deben hallarse previstas en la documentación del ensayo aprobada por el CEIm, y la persona, o su representante legalmente designado será informado en cuanto sea posible y deberá otorgar su consentimiento para continuar en el ensayo, si procediera, o ratificarlo en todo caso.

4. Si el sujeto de ensayo o, en su caso, su representante legalmente designado no otorgan su consentimiento, serán informados de su derecho a objetar al uso de los datos obtenidos del ensayo clínico.

Artículo 8. *Ensayos clínicos con mujeres embarazadas o en período de lactancia.*

Solo podrá realizarse un ensayo clínico con mujeres embarazadas o en período de lactancia si, además de las condiciones establecidas en los artículos 3 a 6 de este real decreto, se cumplen todas las condiciones enumeradas en el artículo 33 del Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014.

### CAPÍTULO III

#### **Indemnización por daños y perjuicios y régimen de responsabilidad**

Artículo 9. *Indemnización por daños y perjuicios.*

1. En los ensayos clínicos distintos de los «ensayos clínicos de bajo nivel de intervención» el promotor velará para que el sujeto de ensayo sea indemnizado por los eventuales daños y perjuicios sufridos como consecuencia del ensayo. Esta indemnización será independiente de la capacidad financiera del promotor, del investigador y del centro.

2. El promotor del ensayo es el responsable de que se haya contratado un seguro o garantía financiera que cubra los daños y perjuicios señalados en el apartado 1, al mismo tiempo que las responsabilidades en que pudieran incurrir el promotor, el investigador principal y sus colaboradores, incluyendo a los investigadores clínicos contratados, y el hospital o centro donde se lleve a cabo el ensayo clínico, lo cual deberá documentar previamente a la realización del ensayo, salvo que se trate de «ensayos clínicos de bajo nivel de intervención».

3. En el caso de ensayos clínicos encuadrados dentro de la definición de «investigación clínica sin ánimo comercial» se podrá presentar una solicitud sin haber contratado el seguro o garantía financiera a que hace referencia el apartado 2. Sin embargo, en caso de ser favorable el dictamen del CEIm, la resolución de autorización quedará supeditada a la presentación de dicha documentación al propio CEIm en un plazo de treinta días naturales no pudiendo iniciarse el estudio hasta que este considere que se cuenta con el seguro o garantía financiera exigidos.

4. Los daños y perjuicios sobre el sujeto de estudio que pudieran resultar como consecuencia de un ensayo clínico de bajo nivel de intervención no precisarán estar cubiertos por un contrato de seguro o garantía financiera a los que se refiere el apartado 2 si los mismos estuvieran cubiertos por el seguro de responsabilidad civil profesional individual o colectivo o garantía financiera equivalente del centro sanitario donde se lleve a cabo el ensayo clínico.

5. Cuando el promotor e investigador principal sean la misma persona y el ensayo clínico se realice en un centro sanitario dependiente de una administración pública, esta podrá adoptar las medidas que considere oportunas para facilitar la garantía de los riesgos específicos derivados del ensayo en los términos señalados en los apartados anteriores, con el objeto de fomentar la investigación.

6. Las actuaciones de los «investigadores clínicos contratados» referidas a aquella asistencia médica al sujeto que, concurriendo en el tiempo con el desarrollo del ensayo, se lleve a cabo por razones ajenas al mismo o no traiga causa del mismo, deberán estar amparadas por un seguro como el que ampara al resto del personal de plantilla del centro para los aspectos no cubiertos por el seguro del ensayo clínico.

#### Artículo 10. *Régimen de responsabilidad.*

1. Se presume, salvo prueba en contrario, que los daños que afecten a la salud del sujeto del ensayo durante su realización y en el año siguiente a la finalización del tratamiento se han producido como consecuencia del ensayo. Sin embargo, una vez concluido el año, el sujeto del ensayo está obligado a probar el nexo entre el ensayo y el daño producido.

2. A los efectos del régimen de responsabilidad previsto en este artículo, serán objeto de resarcimiento todos los gastos derivados del menoscabo en la salud o estado físico de la persona sometida al ensayo clínico, así como los perjuicios económicos que se deriven directamente de dicho menoscabo, siempre que este no sea inherente a la patología objeto de estudio o a la evolución propia de su enfermedad como consecuencia de la ineficacia del tratamiento.

3. El importe mínimo que se garantizará en concepto de responsabilidad será de 250.000 euros por persona sometida a ensayo clínico, pudiendo ser percibido en forma de indemnización a tanto alzado o de renta equivalente al mismo capital. Podrá establecerse un capital asegurado máximo o importe máximo de la garantía financiera por ensayo clínico y anualidad de 2.500.000 euros.

### CAPÍTULO IV

#### Comités de Ética de la Investigación con medicamentos

#### Artículo 11. *Supervisión y coordinación de los Comités de Ética de la Investigación con medicamentos.*

1. Los CEIm serán supervisados en los aspectos éticos, de formación y materiales de igual forma que el resto de los Comités de Ética de la Investigación (CEI), de acuerdo con la normativa reguladora de estos últimos.

2. La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios facilitará el procedimiento de evaluación y la emisión del dictamen por parte del CEIm en los ensayos clínicos con medicamentos con el objeto de integrar la evaluación de uno y otro en una decisión única por ensayo clínico, válida para todo el Estado. Para que la evaluación integrada sea positiva, deberán serlo por separado la evaluación de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios y el dictamen del CEIm.

3. Para la coordinación del dictamen en los ensayos clínicos con medicamentos, la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios desarrollará las siguientes actividades:

a) Facilitar el intercambio de información entre la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios y los CEIm.

b) Coordinar con las comunidades autónomas, los órganos supervisores de los CEI y los propios CEIm el desarrollo y mantenimiento de un sistema de información único e integrado para los ensayos clínicos con medicamentos.

c) Gestionar la base de datos de ensayos clínicos con medicamentos de la red nacional de CEIm.

d) Proporcionar asesoramiento a los CEIm en cuestiones de procedimiento relativas a los ensayos clínicos con medicamentos.

e) Cualquier otra que, en relación con las actividades de los CEIm, se le atribuya por la normativa vigente.

*Artículo 12. Funciones de los Comités de Ética de la Investigación con medicamentos.*

1. Los CEIm, además de las funciones que pudieran tener encomendadas en su calidad de CEI, desempeñarán las siguientes funciones en relación con la evaluación de estudios clínicos con medicamentos o productos sanitarios:

a) Evaluar los aspectos metodológicos, éticos y legales y emitir el dictamen correspondiente.

b) Evaluar las modificaciones sustanciales de los estudios clínicos autorizados y emitir el dictamen correspondiente.

c) Realizar un seguimiento del estudio, desde su inicio hasta la recepción del informe final.

2. Para el desempeño de estas funciones en materia de estudios clínicos con medicamentos deberán tener en cuenta lo establecido en el capítulo V.

*Artículo 13. Acreditación de los Comités de Ética de la Investigación con medicamentos.*

1. Además de los requisitos establecidos para la acreditación de los CEI en la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica y en su normativa de desarrollo, los CEIm deberán cumplir los requisitos de acreditación específicos que se fijan en este real decreto.

2. Los CEIm serán acreditados por la autoridad sanitaria competente en cada comunidad autónoma o, en el caso de los centros dependientes de la Administración General del Estado, por el órgano competente de la misma. La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios en coordinación con las comunidades autónomas, a través del Comité Técnico de Inspección, fijará los criterios específicos comunes para la acreditación, inspección y renovación de la acreditación de estos comités.

3. Esta acreditación deberá ser renovada periódicamente por la autoridad sanitaria competente, sin perjuicio del procedimiento previsto para el mantenimiento de su acreditación como CEI, según los procedimientos y plazos que se determinen en el Comité Técnico de Inspección. Tanto la acreditación inicial como sus renovaciones deberán ser notificadas a la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, que las hará públicas en su página web, así como a quien determine la normativa vigente reguladora de los CEI.

*Artículo 14. Secretaría técnica.*

1. Cada CEIm acreditado debe contar con una secretaría técnica profesional y estable integrada en el organigrama de la institución a la que el mismo esté adscrito o de sus instituciones de apoyo.

2. La secretaría técnica tendrá las siguientes funciones:

a) Gestionar la actividad del CEIm.

b) Actuar como interlocutora en nombre del CEIm en lo referente a la comunicación con todos los agentes interesados, incluyendo la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios.

c) Asegurarse de que se celebren las reuniones presenciales y no presenciales necesarias para que el CEIm cumpla con su cometido en los tiempos establecidos.

d) Rendir, en colaboración con los miembros del CEIm, los informes que se le soliciten desde la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios o cualquier otra autoridad competente para mantener su acreditación como CEIm.



3. La secretaría técnica deberá disponer de los siguientes medios e infraestructura:

- a) Una jefatura desempeñada por un titulado superior con conocimientos de medicina, metodología de la investigación, bioética, farmacología y regulación de medicamentos y de la investigación biomédica en general.
- b) Instalaciones específicas que permitan la realización de su trabajo en condiciones que garanticen la confidencialidad. Deberán disponer de un espacio apropiado para la realización de las reuniones y para el manejo y archivo de documentos confidenciales.
- c) Equipamiento informático con capacidad suficiente para manejar toda la información recibida y generada por el comité y conexión al sistema de información de la base de datos nacional de estudios clínicos con medicamentos y al «portal de la UE» y la «base de datos de la UE», cuando estén disponibles.
- d) Un presupuesto económico específico anual, aprobado por la dirección de la institución, destinado a las actividades de formación que se organicen para los miembros del CEIm así como, en su caso, presupuesto destinado a dietas por asistencia de sus miembros o posibles expertos o invitados.

*Artículo 15. Composición de los Comités de Ética de la Investigación con medicamentos.*

1. El CEIm estará constituido por un mínimo de diez miembros, al menos uno de los cuales será un miembro lego, ajeno a la investigación biomédica o a la asistencia clínica, que representará los intereses de los pacientes.

Entre los miembros del citado comité figurarán médicos, uno de los cuales será farmacólogo clínico, un farmacéutico de hospital o de atención primaria y un diplomado o graduado en enfermería.

Si en el centro existe una Comisión de Investigación o un Comité de Ética Asistencial, un miembro de cada uno de ellos deberá formar parte del CEIm.

Al menos dos miembros deben ser ajenos a las profesiones sanitarias, uno de los cuales deberá ser licenciado o graduado en derecho.

Además, al menos uno de sus miembros debe tener formación acreditada en bioética.

2. La composición del CEIm deberá asegurar la independencia de sus decisiones, así como su competencia y experiencia en relación con los aspectos metodológicos, éticos y legales de la investigación, la farmacología y la práctica clínica asistencial en medicina hospitalaria y extrahospitalaria.

3. Los CEIm contarán con una presidencia, una vicepresidencia y una secretaría técnica que tendrán, al mismo tiempo, la consideración de miembros del comité.

La presidencia ostentará la representación del comité y su titular será elegido por los vocales de forma que se garantice la independencia.

La vicepresidencia será elegida en forma similar y realizará las funciones de la presidencia en los supuestos de vacante, ausencia o enfermedad de su titular.

La jefatura de la secretaría técnica corresponderá a la persona mencionada en el artículo 14.3.a).

Todos los miembros del comité tendrán un voto de igual valor con excepción de la persona titular de la secretaría técnica que tendrá voz, pero no voto.

4. Los CEIm garantizarán un sistema de renovación de sus miembros que permita nuevas incorporaciones de forma regular, a la vez que se mantiene la experiencia del comité.

5. La pertenencia a un CEIm será incompatible con cualquier clase de intereses derivados de la fabricación y venta de medicamentos y productos sanitarios. Sus miembros deberán garantizar la confidencialidad de la información a la que tengan acceso y deberán hacer pública una declaración de conflicto de interés.

6. Las autoridades competentes en materia de CEIm establecerán criterios por los que las actividades de sus miembros puedan tener una repercusión positiva en su carrera profesional.

Artículo 16. *Normas generales de funcionamiento de los Comités de Ética de la Investigación con medicamentos.*

1. Ni el CEIm en su conjunto ni ninguno de sus miembros podrán percibir directa ni indirectamente remuneración alguna por parte del promotor del estudio.

2. La percepción de tasas por el ejercicio de cualquiera de las funciones de los CEIm a las que se refiere el artículo 12 se regirá por lo dispuesto en el artículo 33.

El acuerdo entre el centro y el promotor para el abono de los gastos administrativos será no obstante posible pero deberá siempre regularse como una condición económica más de las previstas en el contrato al que hace referencia el artículo 32.1 o ser publicada por la autoridad sanitaria competente, central o autonómica, en sus respectivos boletines oficiales y, en cualquier caso, nunca podrán establecerse bajo concepto supeditado al cumplimiento de cualesquiera de las funciones del CEIm a las que se refiere el artículo 12.

3. Los CEIm deberán elaborar y seguir para su funcionamiento unos procedimientos normalizados de trabajo que, como mínimo, se referirán a:

- a) La composición y requisitos que deben cumplir sus miembros.
- b) La periodicidad de las reuniones presenciales y no presenciales que como mínimo deberán asegurar el cumplimiento de los plazos de evaluación de este real decreto. Los CEIm harán públicos los calendarios de sus reuniones con información sobre su disponibilidad para la evaluación de nuevos estudios clínicos en cada una de ellas.
- c) El procedimiento para convocar a sus miembros.
- d) Los aspectos relativos al funcionamiento administrativo.
- e) Los casos en que se pueda realizar una revisión rápida de la documentación correspondiente a un estudio clínico y el procedimiento que debe seguirse en estos casos, entre los que se encuentran los «ensayos clínicos de bajo nivel de intervención».
- f) La evaluación inicial de los protocolos y sistema de seguimiento de los estudios.
- g) Los mecanismos de toma de decisiones ordinarias y extraordinarias que deberán incluir un procedimiento escrito para la adopción de decisiones.
- h) La preparación y aprobación de las actas de las reuniones.
- i) El archivo y conservación de la documentación del comité y de la relacionada con los estudios clínicos evaluados, de acuerdo con el apartado 7.
- j) Un procedimiento para declarar una incompatibilidad sobrevenida sobre un miembro del «CEIm» y las garantías para asegurar la confidencialidad en su funcionamiento interno.

4. Cuando el CEIm no reúna los conocimientos y experiencia necesarios para evaluar un determinado estudio clínico recabará el asesoramiento de al menos alguna persona experta no perteneciente al comité, que respetará el principio de confidencialidad. Este asesoramiento será considerado específicamente cuando:

- a) El comité evalúe protocolos de investigación clínica con procedimientos quirúrgicos, técnicas diagnósticas, productos sanitarios o terapias avanzadas. En este caso contará con el asesoramiento de al menos una persona experta en el procedimiento o tecnología que se vaya a evaluar.
- b) El comité evalúe ensayos clínicos que se refieran a sujetos con especial vulnerabilidad. En este caso contará con el asesoramiento de al menos una persona con experiencia en el tratamiento de la población que se incluya en el ensayo y, en su caso, en el tratamiento de la enfermedad.

5. El investigador principal o los colaboradores de un estudio clínico no podrán participar en la evaluación, ni en el dictamen de su propio protocolo, aun cuando sean miembros del comité. Cuando se den dichas circunstancias, en el acta donde se refleje la evaluación del ensayo por el comité quedará constancia de que este principio se ha respetado.

6. Las reuniones no presenciales podrán celebrarse mediante multiconferencia telefónica, videoconferencia o cualquier otro sistema análogo, de forma que los miembros

del CEIm asistan a dicha reunión mediante el indicado sistema, siempre y cuando se asegure la comunicación entre ellos en tiempo real y, por tanto, la unidad de acto.

Cada reunión del CEIm quedará recogida en el acta correspondiente en la que se detallarán, como mínimo, los miembros, presenciales o no, y asesores asistentes, en su caso, se indicará que para cada estudio evaluado se han ponderado los aspectos contemplados en la normativa aplicable y se recogerá la decisión adoptada sobre cada estudio.

7. Los comités conservarán todos los documentos esenciales relacionados con cada estudio clínico evaluado durante, al menos, tres años tras la finalización del mismo o durante un período más largo si así lo establece la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios en colaboración con las comunidades autónomas. El contenido del archivo relativo a ensayos clínicos se indicará en las instrucciones para la realización de ensayos clínicos en España que se publiquen por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios.

## CAPÍTULO V

### **Presentación, validación y procedimiento de evaluación y autorización de los ensayos clínicos con medicamentos**

#### *Sección 1.ª Disposiciones comunes*

Artículo 17. *Requisitos para la realización de ensayos clínicos.*

1. Los ensayos clínicos con medicamentos estarán sujetos a autorización previa por parte de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, tras una evaluación científica y ética de las partes I y II.

2. Para poder iniciar un ensayo clínico con medicamentos en un centro se precisará:

a) El dictamen favorable emitido por un CEIm del territorio nacional conforme a lo indicado en el artículo 24 que será único y vinculante.

b) La resolución de autorización de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios.

c) La conformidad de la dirección del centro participante que se expresará mediante la firma del contrato entre el promotor y el centro al que se refiere el artículo 32. Solo en ensayos clínicos en los que el promotor/investigador pertenezca al centro y no se requiera firma de contrato se precisará la conformidad expresa de la dirección del centro participante.

Este contrato podrá formalizarse en cualquier momento y será efectivo cuando el ensayo clínico sea autorizado por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios y disponga del dictamen favorable del CEIm para la realización del ensayo en dicho centro.

3. Quedan prohibidos los ensayos clínicos con medicamentos de terapia génica que produzcan modificaciones en la identidad génica de la línea germinal de la persona.

Artículo 18. *Colaboración e intercambio de información entre la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios y los CEIm.*

1. La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios establecerá los mecanismos y procedimientos de colaboración e intercambio de información en materia de estudios clínicos con medicamentos e investigaciones clínicas con productos sanitarios con los CEIm, que se harán públicos.

2. Todo ello se plasmará en un «memorando de colaboración» que recoja e identifique las responsabilidades de los CEIm y de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, así como aquellos aspectos que, de acuerdo con lo previsto en los artículos 22 y siguientes, serán objeto de evaluación y responsabilidad por cada uno de ellos, con el fin de garantizar la mayor eficiencia y garantías en la evaluación y permitir, en los ensayos

clínicos multinacionales llevados a cabo en la Unión Europea, disponer de una decisión única para España.

3. El «memorando de colaboración» establecerá qué partes del expediente de solicitud deberán ser presentadas en castellano y cuáles podrán ser aceptadas en una lengua generalmente comprendida en el ámbito médico como se recoge en el Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014.

*Artículo 19. Intercambio de información entre la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios y las comunidades autónomas.*

1. La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios establecerá con los órganos competentes de las comunidades autónomas el marco de colaboración y un procedimiento de intercambio de información en materia de estudios clínicos con medicamentos e investigaciones clínicas con productos sanitarios.

2. En las instrucciones para la realización de ensayos clínicos en España publicadas por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios constarán los puntos de contacto de las comunidades autónomas a los que deberá remitirse la información mientras no esté disponible dicho proceso.

*Artículo 20. Aspectos de un ensayo clínico que requieren evaluación.*

1. El CEIm y la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios evaluarán la documentación del ensayo clínico.

2. La evaluación se diferenciará en dos partes, denominadas como parte I y parte II del informe de evaluación:

a) La parte I incluirá los aspectos que se enumeran dentro del artículo 6 del Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014.

b) La parte II incluirá los aspectos que se enumeran dentro del artículo 7 del Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014. La evaluación relacionada con lo recogido en el párrafo h) del apartado 1 de dicho artículo 7 debe incluir las previsiones en relación con la recogida, almacenamiento y posible uso futuro de las muestras biológicas de los sujetos del ensayo obtenidas en el propio centro o en centros colaboradores, incluidas las muestras de preselección de sujetos, asegurando que no se lleve a cabo procedimiento alguno que impida en el futuro la aplicación de lo dispuesto en artículo 3.2 del Real Decreto 1716/2011, de 18 de noviembre.

3. La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios y los CEIm acordarán en el «memorando de colaboración» la distribución de responsabilidades para la evaluación de las solicitudes.

4. De acuerdo con el artículo 29.5 del Real Decreto-ley 9/2014, de 4 de julio, por el que se establecen las normas de calidad y seguridad para la donación, la obtención, la evaluación, el procesamiento, la preservación, el almacenamiento y la distribución de células y tejidos humanos y se aprueban las normas de coordinación y funcionamiento para su uso en humanos, en los ensayos clínicos de terapia celular, además de lo dispuesto en el apartado 2, la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios solicitará informe a la Organización Nacional de Trasplantes. Este informe deberá emitirse en la forma y plazos necesarios para cumplir con los requisitos fijados en el Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014.

#### *Sección 2.ª Procedimiento de autorización de un ensayo clínico*

*Artículo 21. Presentación de las solicitudes y recepción de las notificaciones.*

1. Los promotores presentarán sus solicitudes y comunicaciones y recibirán las notificaciones a través del portal mencionado en el artículo 80 del Reglamento (UE)

n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014 («el portal de la UE»), dirigidas a la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios y al CEIm que haya aceptado la evaluación.

2. La documentación que debe acompañar a la solicitud de autorización y dictamen del ensayo clínico está recogida en el anexo I del Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014, en las directrices europeas vigentes y, en su caso, en las instrucciones para la realización de ensayos clínicos en España que, en desarrollo del citado anexo I, se publiquen por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios.

#### Artículo 22. *Validación de la solicitud.*

1. La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios valorará la aceptación o no del carácter de «ensayo clínico» para el estudio y verificará que la solicitud es completa respecto a los documentos de la parte I para realizar la evaluación a la que hace referencia el artículo 6 del Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014.

2. El CEIm verificará que la solicitud es completa respecto a los documentos de la parte II para realizar la evaluación a que hace referencia el artículo 7 del citado Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014.

3. La validación se realizará de forma que se cumplan los plazos y el procedimiento previsto en el artículo 5 del Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014.

#### Artículo 23. *Parte I del informe de evaluación.*

1. La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios será la encargada de comunicar al promotor la parte I del informe de evaluación, integrando aquellos aspectos que hayan sido evaluados por el CEIm, de forma que se notifique al promotor en los plazos y según el procedimiento indicado en el artículo 6 del Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014.

2. La participación del CEIm en la evaluación sobre la parte I estará fijada en el memorando de colaboración al que hace referencia el artículo 18, así como los plazos para transmitir a la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios su informe, de tal manera que pueda cumplirse lo indicado en el apartado anterior.

3. En el caso de una evaluación coordinada por un Estado miembro notificante se tendrá en cuenta lo indicado en el apartado 2 del artículo 8 del Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014.

#### Artículo 24. *Parte II del informe de evaluación.*

El CEIm será responsable de elaborar la parte II del informe de evaluación de forma que se cumplan los plazos y el procedimiento previsto en el artículo 7 del Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014.

#### Artículo 25. *Resolución de autorización.*

1. La persona titular de la Dirección de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, en un plazo de cinco días según lo previsto en el artículo 8 del Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014, dictará resolución autorizando el ensayo clínico, autorizándolo con condiciones o denegando su autorización.

2. La resolución dictada pondrá fin a la vía administrativa, por lo que el interesado podrá interponer recurso potestativo de reposición de acuerdo con lo establecido en los artículos 116 y 117 de la Ley 30/1992, de 26 de noviembre, de Régimen Jurídico de las Administraciones Públicas y del Procedimiento Administrativo Común, o contencioso-



administrativo, de conformidad con la Ley 29/1998, de 13 de julio, de la Jurisdicción Contencioso-administrativa.

3. La autorización del ensayo clínico se entenderá sin perjuicio de la aplicación, cuando proceda, de la Ley 9/2003, de 25 de abril, por la que se establece el régimen jurídico de la utilización confinada, liberación voluntaria y comercialización de organismos modificados genéticamente.

#### Artículo 26. *Modificación de las condiciones de autorización de ensayos clínicos.*

1. Cualquier «modificación sustancial» en las condiciones autorizadas para un ensayo clínico no podrá llevarse a efecto sin el previo dictamen favorable del CEIm y la autorización de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios.

Sin embargo, si se dieran circunstancias que pudieran poner en peligro la seguridad de los sujetos participantes, el promotor y el investigador adoptarán las medidas urgentes oportunas para proteger a los sujetos de cualquier riesgo inmediato. El promotor informará lo antes posible tanto a la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios como al CEIm de dichas circunstancias y de las medidas adoptadas.

2. Como norma general, el CEIm y la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios evaluarán aquellos aspectos sobre los que ya se hubieran pronunciado en el informe de evaluación inicial al que se hace referencia en los artículos 23 y 24, sin perjuicio de que el «memorando de colaboración» al que se hace referencia en el artículo 18 determine un reparto distinto de las tareas.

3. La solicitud deberá presentarse ante la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios y ante el CEIm que evaluó la solicitud inicial según lo indicado en el capítulo III y en el artículo 25 del Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014, en las directrices europeas vigentes y, en su caso, en la parte correspondiente de las instrucciones para la realización de ensayos clínicos en España publicadas por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios.

4. La validación y evaluación de la parte II de la modificación sustancial por el CEIm, cuando proceda, será conforme a los plazos y procedimiento de evaluación establecidos en los artículos 20, 21 y 22 del Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014.

5. La validación y evaluación de la parte I de la modificación sustancial por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios será conforme a lo indicado en los artículos 17, 18, 21 y 22 del Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014.

6. La resolución de autorización se emitirá teniendo en cuenta lo indicado en los artículos 19, 20 y 23 del Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014, y según lo indicado en el artículo 25 de este real decreto. No obstante, en el caso de modificaciones relevantes que solo impliquen cambios en aspectos incluidos en la parte II del informe de evaluación, la autorización se entenderá concedida o denegada en la fecha en que el CEIm comunique al promotor su dictamen con las conclusiones de la parte II del informe de evaluación.

#### Artículo 27. *Suspensión y revocación de la autorización del ensayo clínico.*

1. La autorización del ensayo clínico se suspenderá o revocará, de oficio o a petición justificada del promotor, mediante resolución de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios en los supuestos indicados en el artículo 77 del Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014.

2. La resolución por la que se suspenda o revoque la autorización del ensayo se adoptará por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios previa instrucción del oportuno procedimiento, con audiencia al interesado que deberá pronunciarse en el plazo de siete días naturales a contar desde la notificación del inicio del procedimiento.

Una vez adoptada la citada resolución, la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios notificará la decisión adoptada, con expresa indicación de los motivos, al CEIm, a la Comisión Europea, a la Agencia Europea de Medicamentos, a las autoridades sanitarias de las comunidades autónomas y a las autoridades sanitarias de los demás Estados miembros.

3. Las autoridades sanitarias de las comunidades autónomas podrán dictar resolución de suspensión cautelar del ensayo clínico en los casos previstos en el apartado 1 y lo notificarán de inmediato, acompañado de un informe motivado debidamente detallado, a la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, la cual, conforme a lo establecido en el apartado 2, resolverá la suspensión o revocación de la autorización del ensayo o, en su caso, el levantamiento de la medida cautelar.

4. La resolución dictada pondrá fin a la vía administrativa por lo que el interesado podrá interponer recurso potestativo de reposición de acuerdo con lo establecido en los artículos 116 y 117 de la Ley 30/1992, de 26 de noviembre, o contencioso-administrativo, de conformidad con la Ley 29/1998, de 13 de julio.

#### Artículo 28. *Medidas correctoras a adoptar por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios.*

1. La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, de oficio, o a petición justificada del CEIm podrá exigir al promotor una modificación de cualquier aspecto del ensayo.

2. La resolución por la que se exija la modificación de cualquier aspecto del ensayo se adoptará previa instrucción del oportuno procedimiento, con audiencia al interesado, que deberá pronunciarse en el plazo de siete días naturales a contar desde la notificación del inicio del procedimiento.

3. La resolución dictada pondrá fin a la vía administrativa por lo que el interesado podrá interponer recurso potestativo de reposición de acuerdo con lo establecido en los artículos 116 y 117 de la Ley 30/1992, de 26 de noviembre, o contencioso-administrativo, de conformidad con la Ley 29/1998, de 13 de julio.

#### Artículo 29. *Comunicación de incumplimientos graves.*

1. Los incumplimientos graves del protocolo autorizado o del presente real decreto que hayan ocurrido en España deben comunicarse por el promotor, sin demoras indebidas y a más tardar en el plazo de siete días naturales a partir de la fecha en que haya tenido conocimiento del incumplimiento, a la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios y al CEIm por los medios indicados en el artículo 21.

2. A estos efectos se entenderá por incumplimiento grave aquel que puede comprometer significativamente la seguridad y los derechos de los sujetos de ensayo o la fiabilidad y solidez de los datos obtenidos en el ensayo clínico.

3. La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios informará a las autoridades sanitarias de las comunidades autónomas de aquellos incumplimientos graves que afecten directamente a centros que pertenezcan a su comunidad.

#### Artículo 30. *Finalización, paralización temporal y finalización anticipada de un ensayo clínico y presentación de resultados.*

1. El promotor comunicará la fecha de finalización del ensayo clínico en España, la fecha de finalización en todos los países en que se haya realizado el ensayo, así como cualquier paralización temporal del ensayo y los resultados del mismo según los plazos y el procedimiento indicado en los artículos 37 y 38 del Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014.

2. En caso de finalización anticipada del ensayo, la comunicación indicará los motivos de dicha acción y especificará las medidas de seguimiento sin perjuicio de que posteriormente sea remitido el informe de resultados requerido en los anexos IV y V del

Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014. Esta información será transmitida a las autoridades sanitarias de las comunidades autónomas de acuerdo con lo especificado en el artículo 19. La fecha de finalización del ensayo clínico y los motivos en el caso de finalización anticipada deberán ser publicados por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios.

## CAPÍTULO VI

### De la continuación del tratamiento tras el ensayo

Artículo 31. *Continuación del tratamiento con un medicamento sin autorización de comercialización en España después de terminado el ensayo.*

Toda continuación en la administración de un medicamento en investigación sin autorización de comercialización en España a los sujetos que han finalizado su participación en un ensayo clínico, en tanto no se comercialice de forma efectiva el medicamento en España para esas condiciones de uso, se regirá por las normas establecidas en el Real Decreto 1015/2009, de 19 de junio, por el que se regula la disponibilidad de medicamentos en situaciones especiales. El suministro de los citados medicamentos deberá ajustarse a lo establecido en el párrafo f) del artículo 39.3, si el promotor obtiene alguna información de la administración y el uso del citado medicamento en estas condiciones.

## CAPÍTULO VII

### Aspectos económicos

Artículo 32. *Aspectos económicos del ensayo clínico.*

1. Todos los aspectos económicos relacionados con el ensayo clínico quedarán reflejados en un contrato entre el promotor y cada uno de los centros donde se vaya a realizar el ensayo.

Se remitirá al CEIm una memoria económica del proyecto que incluya todos los aspectos reflejados en el contrato de todos los centros participantes.

2. Las administraciones sanitarias competentes de cada servicio de salud establecerán los requisitos comunes y condiciones de financiación y acordarán un modelo de contrato único válido para todo el Sistema Nacional de Salud. Este modelo de contrato único será elaborado de conformidad con los principios generales de coordinación que acuerde el Consejo Interterritorial del Sistema Nacional de Salud y deberá contar, con carácter previo a su utilización, con la aprobación de este.

3. En el contrato constará:

a) El presupuesto inicial del ensayo, que especificará los costes indirectos que aplicará el centro, así como los costes directos extraordinarios, considerando como tales aquellos gastos ajenos a los que hubiera habido si el sujeto no hubiera participado en el ensayo, como:

- 1.º Análisis y exploraciones complementarias añadidas.
- 2.º Cambios en la duración de la atención a los enfermos.
- 3.º Reembolso por gastos a los pacientes.
- 4.º Compra de aparatos y compensación para los sujetos del ensayo e investigadores.

b) Los términos y plazos de los pagos.

c) Cualquier otra responsabilidad subsidiaria que contraigan las partes, de acuerdo con las condiciones establecidas en cada centro.



4. No podrá requerirse por los centros importes adicionales a los previstos en la memoria económica presentada al CEIm, salvo los que en su caso se aprueben de conformidad con lo previsto en el artículo 31 y lo referido en el artículo 16.

#### Artículo 33. *Tasas.*

1. De conformidad con el artículo 87 del Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014, se exigirá el pago de una única tasa por la evaluación de un ensayo clínico, con independencia de que sean diversos organismos los que intervengan en la evaluación. Esta tasa será fijada en la legislación vigente de forma transparente y sobre la base del principio de recuperación de los costes. El promotor deberá abonarla a la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios que será encargada de transferir al CEIm la parte correspondiente a su evaluación.

2. En ningún caso podrá requerirse el pago de tasas que no estén amparadas en el marco legal correspondiente por parte de los centros respecto a la realización del ensayo ni en relación con el cumplimiento de cualquiera de las funciones de un CEIm relacionadas con las evaluaciones referidas en el artículo 12.

3. Los estudios clínicos que se correspondan con la definición de «investigación clínica sin ánimo comercial» se beneficiarán de las exenciones de tasas o tasas reducidas, de acuerdo con lo previsto en el texto refundido de la Ley de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios, aprobado por el Real Decreto Legislativo 1/2015, de 24 de julio.

### CAPÍTULO VIII

#### Medicamentos utilizados en un ensayo clínico

#### Artículo 34. *Fabricación e importación de los medicamentos en investigación o medicamentos auxiliares.*

1. La fabricación e importación de medicamentos en investigación para su utilización en el ámbito de un ensayo clínico únicamente podrá realizarse por aquellos fabricantes e importadores de medicamentos que dispongan de la correspondiente autorización de acuerdo con lo establecido en el Real Decreto 824/2010, de 25 de junio, por el que se regulan los laboratorios farmacéuticos, los fabricantes de principios activos de uso farmacéutico y el comercio exterior de medicamentos y medicamentos en investigación.

2. No se exigirá la citada autorización para el reetiquetado o el reacondicionamiento, en caso de que se realice en un servicio de farmacia autorizado de un centro participante, siempre que los medicamentos en investigación estén destinados a ser utilizados únicamente en hospitales, centros de salud o clínicas que participen en el mismo ensayo clínico.

3. Cuando en el contexto de un ensayo clínico específico cuyo promotor sea un investigador o un grupo de investigadores un servicio de farmacia autorizado de un centro participante desee realizar una operación de fabricación distinta de las contempladas anteriormente, deberá solicitar una autorización previa a la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios y únicamente se podrá utilizar el medicamento en el ensayo clínico concreto. La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios acordará con las comunidades autónomas los procedimientos de verificación de las normas de correcta fabricación de medicamentos aplicables en estos casos.

4. Asimismo, no precisan disponer de la autorización como fabricante e importador de medicamentos contemplada en el apartado 1 los centros vinculados al Sistema Nacional de Salud donde se elaboren medicamentos de terapia avanzada en fase de investigación para su utilización en ensayos clínicos autorizados por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, sin perjuicio de la exigencia de normas de calidad específicas.

5. En la fabricación de medicamentos en investigación se han de seguir las normas de correcta fabricación de la Unión Europea aplicables.

6. El fabricante deberá disponer de manera permanente y continua de una persona cualificada o de un director técnico, conforme a lo establecido en el Real Decreto 824/2010, de 25 de junio. Las responsabilidades de esta persona cualificada o director técnico se encuentran establecidas en el citado real decreto.

En el caso de un medicamento en investigación procedente de un tercer país y que cuente con una autorización de comercialización en ese país, cuando no pueda obtenerse la documentación por la que se certifica que cada lote de fabricación se fabricó según prácticas correctas de fabricación al menos equivalentes a las anteriormente citadas, la persona cualificada o director técnico deberá velar por que cada lote de fabricación haya sido objeto de todos los análisis, pruebas o comprobaciones pertinentes y necesarios para confirmar su calidad.

7. La autorización para la importación de los medicamentos en investigación, para su utilización en el ámbito de un ensayo clínico, se entenderá otorgada si a los sesenta días naturales a contar desde la recepción de la solicitud la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios no comunica objeciones motivadas al promotor, siempre y cuando el ensayo haya sido autorizado.

8. La solicitud de autorización de importación de medicamentos en investigación podrá solicitarse en unidad de acto con la solicitud de realización del ensayo clínico al que estén destinados.

La autorización de fabricación o importación de medicamentos hemoderivados, estupefacientes o psicótopos se regirán por su normativa específica en la materia.

#### Artículo 35. *Etiquetado.*

1. El etiquetado de los medicamentos en investigación o auxiliares se ajustará a lo indicado en los artículos 66 a 68 del Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014, teniendo en cuenta lo establecido en las directrices detalladas de las normas de correcta fabricación aplicables a medicamentos en investigación de la Unión Europea y, en su caso, las instrucciones de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios.

2. Salvo excepciones justificadas, deberá figurar al menos en la lengua oficial del Estado.

#### Artículo 36. *Adquisición de medicamentos para ensayos clínicos.*

1. Los almacenes mayoristas y los laboratorios farmacéuticos podrán suministrar al promotor de un ensayo clínico autorizado medicamentos incluidos en dicho ensayo, previa presentación por el mismo de la autorización emitida por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios para el ensayo.

2. Cuando los medicamentos que se vayan a utilizar en un ensayo clínico procedan de un tercer país se tendrá en cuenta lo establecido en el artículo 34 en lo relativo a la importación de medicamentos en investigación.

#### Artículo 37. *Medicación sobrante de un ensayo clínico.*

1. En caso de medicamentos en investigación y medicamentos auxiliares comercializados en España, una vez finalizado el ensayo clínico se podrán usar en la práctica clínica habitual, en las condiciones estipuladas en su autorización de comercialización, aquellos envases sobrantes que estén inalterados, es decir, que no hayan sido modificados ni en su envase primario ni secundario, y siempre bajo la autorización expresa y previa por parte del promotor.

2. En caso de medicamentos en investigación no comercializados en España, una vez finalizado el ensayo clínico el promotor podrá solicitar la utilización de los envases sobrantes inalterados para la continuación del tratamiento fuera del ensayo de acuerdo con lo indicado en el artículo 31.

## CAPÍTULO IX

**Normas de buena práctica clínica**Artículo 38. *Normas de buena práctica clínica.*

1. El promotor de un ensayo clínico y el investigador garantizarán que el ensayo clínico se lleva a cabo de conformidad con el protocolo y con los principios de la buena práctica clínica.

2. Sin perjuicio de otras disposiciones, el promotor y el investigador, al elaborar el protocolo y aplicar este real decreto y el protocolo, tendrán debidamente en cuenta las normas de calidad y las directrices de la Conferencia Internacional de Armonización (ICH) sobre buena práctica clínica.

3. En el caso de ensayos clínicos con medicamentos de terapia avanzada se seguirán adicionalmente las normas de buena práctica clínica específicas para medicamentos de terapia avanzada.

4. La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios hará accesible públicamente las directrices sobre buena práctica clínica previstas en este artículo.

Artículo 39. *Promotor.*

1. El promotor, o su representante legal, habrá de estar establecido en uno de los Estados miembros de la Unión Europea.

2. Corresponde al promotor firmar las solicitudes de dictamen y autorización dirigidas al CEIm y a la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios.

3. Son responsabilidades del promotor:

a) Establecer y mantener un sistema de garantías y control de calidad, con procedimientos normalizados de trabajo escritos, de forma que los ensayos sean realizados y los datos generados, documentados y comunicados de acuerdo con el protocolo, las normas de buena práctica clínica y lo dispuesto en este real decreto. Deberá disponer de procedimientos normalizados de trabajo que garanticen estándares de calidad en todas las fases de la documentación de un acontecimiento adverso, recogida de datos, validación, evaluación, archivo, comunicación y seguimiento.

b) Firmar, junto con el investigador que corresponda, el protocolo y cualquiera de sus modificaciones.

c) Seleccionar al investigador más adecuado según su cualificación y medios disponibles, y asegurarse de que este llevará a cabo el estudio tal como está especificado en el protocolo.

d) Proporcionar la información básica y clínica disponible del producto en investigación y actualizarla a lo largo del ensayo.

e) Solicitar el dictamen del CEIm y la autorización de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, así como comunicarles el inicio del ensayo, los incumplimientos graves al protocolo, y demás información necesaria, recabando las autorizaciones que procedan, sin perjuicio de las comunicaciones que deban realizar a las comunidades autónomas, de acuerdo con el artículo 19.

f) Suministrar de forma gratuita los medicamentos en investigación, garantizar que se han cumplido las normas de correcta fabricación y que las muestras están adecuadamente envasadas y etiquetadas. También es responsable de la conservación de muestras y sus protocolos de fabricación y control, del registro de las muestras entregadas y de asegurarse que en el centro donde se realiza el ensayo existirá un procedimiento correcto de manejo, conservación y uso de dichas muestras.

En los ensayos clínicos cuyo promotor sea un investigador del centro o una entidad no lucrativa de carácter científico, o en aquellos en los que exista común acuerdo con la dirección del centro donde vaya a desarrollarse el ensayo clínico, se podrán acordar con el centro otras formas de suministro, especialmente cuando el tratamiento de los pacientes en el ensayo, o parte de él, fuera el que recibirían en caso de haber decidido no participar en el ensayo.

g) Asegurar que la participación de un sujeto en el ensayo clínico no supondrá un coste para él adicional al que hubiera debido afrontar en el contexto de la práctica clínica habitual.

h) Designar el monitor que vigilará la marcha del ensayo.

i) Comunicar las sospechas de reacciones adversas graves e inesperadas de conformidad con lo establecido en los artículos 49 a 53.

j) Proporcionar al investigador, a la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios y al CEIm, de forma inmediata, cualquier información de importancia relacionada con el ensayo clínico a la que tenga acceso durante el mismo.

k) Cumplir con las obligaciones de indemnización por daños y perjuicios en los términos previstos en el artículo 9. Proporcionar al investigador cobertura legal y económica en estos casos excepto cuando la lesión sea consecuencia de negligencia o mala práctica del investigador.

l) Acordar con el investigador las obligaciones en cuanto al tratamiento de datos, elaboración de informes y publicación de resultados. En cualquier caso, el promotor es responsable de elaborar el informe final y los informes anuales del ensayo así como comunicarlos a quien corresponda.

m) El promotor dispondrá de un punto de contacto donde los sujetos del ensayo puedan obtener mayor información sobre este, que podrá delegar opcionalmente en el investigador.

n) Cumplir con las obligaciones que impone el Registro español de estudios clínicos para la publicación de los ensayos de los que es promotor.

ñ) Acordar con el investigador, la dirección del centro y el CEIm modos de distribución alternativa en los casos en los que el centro no disponga de un Servicio de Farmacia. En este caso, será posible el envío de los medicamentos en investigación por el promotor al centro de investigación asumiendo el investigador de dicho centro las responsabilidades relativas a la correcta administración, custodia y entrega de dichos medicamentos, de acuerdo con lo especificado en el protocolo del estudio.

4. El promotor de un ensayo clínico podrá delegar la totalidad o una parte de sus tareas en un particular, organización de investigación por contrato (CRO), institución u organismo, que deberá disponer de un sistema de garantía y control de calidad.

5. Las obligaciones del promotor establecidas en las normas de buena práctica clínica que se hayan delegado serán de aplicación al particular, CRO, empresa, institución u organismo contratado. No obstante, en estos casos, el promotor seguirá siendo el responsable de garantizar que la realización del ensayo clínico y los datos finales generados en dicho estudio se ajustan a lo dispuesto en este real decreto. Cualquier delegación de funciones del promotor en relación con un ensayo clínico debe quedar específicamente documentada en un contrato entre ambas partes.

6. El promotor y el investigador pueden ser la misma persona.

7. Si un ensayo clínico tiene más de un promotor, todos los copromotores asumirán la responsabilidad del promotor establecida en el presente artículo, a menos que decidan otra cosa en un contrato que establezca sus responsabilidades respectivas. Si el contrato no especifica a qué copromotor se atribuye una determinada responsabilidad, esta recae en todos ellos.

8. Sin perjuicio de lo dispuesto en el apartado 7, todos los copromotores serán conjuntamente responsables de designar:

a) Un promotor responsable para el cumplimiento de las obligaciones del promotor en cuanto a los procedimientos de autorización establecidos en el capítulo V.

b) Un promotor responsable para ser el punto de contacto que reciba y responda todas las preguntas de los sujetos de ensayo, los investigadores, el CEIm o la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios relacionadas con el ensayo clínico.

c) Un promotor responsable para aplicar las medidas correctoras que se le impongan.

**Artículo 40. Monitor.**

1. Son responsabilidades del monitor:
  - a) Trabajar de acuerdo con los procedimientos normalizados de trabajo del promotor, visitar al investigador antes, durante y después del ensayo, en función del tipo de estudio, para comprobar el cumplimiento del protocolo, garantizar que los datos son registrados de forma correcta y completa, así como asegurarse de que se ha obtenido el consentimiento informado de todos los sujetos antes de su inclusión en el ensayo.
  - b) Cerciorarse de que los investigadores y el centro donde se realizará la investigación son adecuados para este propósito durante el periodo de realización del ensayo.
  - c) Asegurarse de que tanto el investigador principal como sus colaboradores han sido informados adecuadamente y garantizar en todo momento una comunicación rápida entre investigador y promotor, especialmente en materia de supervisión de la seguridad del ensayo.
  - d) Verificar que el investigador cumple el protocolo y todas sus modificaciones aprobadas.
  - e) Comprobar que el almacenamiento, distribución, devolución y documentación de los medicamentos en investigación es seguro y adecuado.
  - f) Remitir al promotor informes de las visitas de monitorización y de todos los contactos relevantes con el investigador.
2. El monitor no podrá formar parte, en ningún caso, del equipo investigador.

**Artículo 41. Investigador.**

1. El investigador dirige y se responsabiliza de la realización práctica del ensayo clínico en un determinado ámbito.
2. Solamente podrá actuar como investigador un médico o una persona que ejerza una profesión reconocida en España para llevar a cabo las investigaciones en razón de su formación científica y de su experiencia en la atención sanitaria requerida.
3. Son responsabilidades del investigador:
  - a) Firmar junto con el promotor el protocolo del ensayo.
  - b) Conocer a fondo las propiedades de los medicamentos en investigación.
  - c) Garantizar que el consentimiento informado se recoge de conformidad a lo establecido en este real decreto.
  - d) Recoger, registrar y notificar los datos de forma correcta y garantizar su veracidad.
  - e) Seguir las instrucciones respecto a la comunicación de acontecimientos adversos establecidas en el protocolo.
  - f) Comunicar inmediatamente al promotor los incumplimientos graves al protocolo.
  - g) Garantizar que todas las personas implicadas respetarán la confidencialidad de cualquier información acerca de los sujetos del ensayo, así como la protección de sus datos de carácter personal.
  - h) Informar regularmente al CEIm de la marcha del ensayo.
  - i) Corresponsabilizarse con el promotor de la elaboración del informe final del ensayo, dando su acuerdo con su firma.
4. Cada persona que participe en la realización de un ensayo estará capacitada por su titulación, formación y experiencia para ejecutar sus tareas. Asimismo, el investigador garantizará que sus colaboradores estén informados sobre el protocolo, sobre los medicamentos en investigación y acerca de sus funciones en el estudio.
5. El investigador principal podrá delegar tareas en los miembros del equipo de investigadores. Dicha delegación no exime al investigador de ser responsable de la realización del ensayo conforme a la legislación vigente. En la hoja de delegación de responsabilidades del investigador de cada ensayo clínico deben constar no solo el personal participante sino también los investigadores colaboradores a los que haya



delegado el desarrollo de alguna función, así como sus funciones y responsabilidades. Si hay cambios, deben quedar reflejados.

6. El personal contratado debe ser autorizado por la dirección del centro sanitario, especificando si tiene o no acceso a la historia clínica y datos de carácter personal de los sujetos incluidos en el ensayo. Esta autorización puede materializarse de dos formas, mediante:

- a) La firma de un contrato, si es personal contratado por el centro.
- b) Documento independiente de acceso si es personal contratado por terceros.

#### Artículo 42. *Publicaciones.*

1. El promotor está obligado a publicar los resultados, tanto positivos como negativos, de los ensayos clínicos autorizados, preferentemente, en revistas científicas antes de ser divulgados al público no sanitario, con independencia de las obligaciones de publicación del informe de los resultados en el Registro español de estudios clínicos (REec) y de lo establecido al respecto en el Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014.

2. Cuando se hagan públicos estudios y trabajos de investigación sobre medicamentos, dirigidos a la comunidad científica, se harán constar los fondos obtenidos por el autor, por o para su realización, y la fuente de financiación.

3. Se mantendrá en todo momento el anonimato de los sujetos participantes en el ensayo.

4. No se darán a conocer de modo prematuro o sensacionalista tratamientos de eficacia todavía no determinada, ni se exagerará esta. No se dará publicidad a resultados intermedios que puedan comprometer la fiabilidad de los resultados finales del ensayo.

5. La publicidad de medicamentos de uso humano en investigación queda permanentemente prohibida, tal como se establece en el texto refundido de la Ley de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios, en el Real Decreto 1416/1994, de 25 de junio, por el que se regula la publicidad de los medicamentos de uso humano, en el Real Decreto 1907/1996, de 2 de agosto, sobre publicidad y promoción comercial de productos, actividades o servicios con pretendida finalidad sanitaria, y en la Ley 34/1988, de 11 de noviembre, General de Publicidad.

6. En todos los casos, para hacer públicos los resultados generales de las investigaciones una vez concluidas, se seguirán las directrices de la Comisión Europea y, en su caso, las instrucciones de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios.

7. Cuando un subestudio de un ensayo clínico finalice en fecha posterior al resto del ensayo será necesario que el resumen de sus resultados se publique en el año siguiente a su finalización, sin que esto suponga retraso en la presentación de los resultados del resto del ensayo.

#### Artículo 43. *Contenido y conservación del archivo maestro del ensayo clínico.*

1. El archivo maestro del ensayo clínico cumplirá con lo establecido en los artículos 57 y 58 del Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014. Su contenido deberá tener en cuenta las orientaciones suplementarias al respecto publicadas por la Comisión Europea.

2. El promotor y el investigador conservarán el contenido del archivo maestro en formato papel o digital de cada ensayo clínico durante al menos veinticinco años tras la finalización del ensayo, o durante un período más largo si así lo disponen otros requisitos aplicables, como en el caso de que el estudio se presente como base para el registro de un medicamento en que se deberá cumplir el anexo I del Real Decreto 1345/2007, de 11 de octubre, o un acuerdo entre el promotor, el investigador y el centro.

3. El contenido del archivo maestro se conservará de tal forma que se pueda poner fácilmente a disposición de las autoridades competentes, en caso de que lo soliciten.

4. La historia clínica del sujeto del ensayo deberá ser custodiada con arreglo a lo dispuesto en la Ley 41/2002, de 14 de noviembre, y conforme al período máximo permitido por el hospital, la institución o la consulta privada.

5. Se documentará toda transferencia de la propiedad del contenido del archivo maestro y el nuevo propietario asumirá las responsabilidades establecidas en el presente artículo.

6. El promotor nombrará a las personas de su organización responsables de los archivos y el acceso a los mismos deberá limitarse a las personas designadas.

7. Los soportes utilizados para conservar los documentos esenciales serán, con carácter general, en formato electrónico y deberán garantizar que los documentos permanecen completos y legibles durante el período previsto de conservación y que estén a disposición de las autoridades competentes en caso de que los soliciten. Cualquier modificación de los registros habrá de ser trazable, permitiendo conocer el dato inicial y el corregido, así como la fecha y la firma del autor.

Esta documentación debe archivar, preferentemente agrupada por protocolos, en un lugar que permita garantizar la confidencialidad de la información durante el tiempo de archivo requerido.

En el caso que haya procesos judiciales abiertos se conservarán los documentos esenciales mientras no haya una decisión judicial firme.

## CAPÍTULO X

### Verificación del cumplimiento de las normas de buena práctica clínica

Artículo 44. *Disposiciones generales en materia de inspección.*

1. La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios y las autoridades sanitarias competentes de las comunidades autónomas, en el ámbito de sus respectivas competencias, verificarán la aplicación de este real decreto, de las normas de buena práctica clínica y de las normas de correcta fabricación en los ensayos clínicos que se realicen en España, a través de las correspondientes inspecciones.

2. Las autoridades de la Administración General del Estado y de las comunidades autónomas competentes se auxiliarán mutuamente a efectos de estas inspecciones.

3. En la actividad de inspección de buena práctica clínica se deberán cumplir los requisitos en cuanto a la protección de los datos de carácter personal, establecidos en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre.

4. Las inspecciones se realizarán de conformidad con las directrices elaboradas a nivel europeo para apoyar el reconocimiento mutuo de las conclusiones de las inspecciones dentro de la Unión Europea.

5. La relación con las autoridades competentes de los Estados miembros de la Unión Europea en materia de inspección de buena práctica clínica se llevará a cabo a través de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios.

6. Cuando una autoridad sanitaria de un Estado miembro de la Unión Europea solicite información relativa a una inspección mediante escrito motivado, la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios remitirá el informe correspondiente. Para ello solicitará, en su caso, el citado informe a las autoridades competentes de la comunidad autónoma en que esté radicado el centro.

7. Del mismo modo, cuando sea necesario pedir información a otro Estado miembro sobre una inspección realizada en el mismo, la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios se dirigirá al organismo competente de dicho Estado, mediante escrito motivado, y requerirá la información correspondiente.

8. Las autoridades competentes de terceros países que vayan a realizar inspecciones de buena práctica clínica en España deberán notificarlo a la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios con tiempo suficiente. El promotor será el responsable de informar a la autoridad competente del tercer país de esta obligación de

notificación. La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios informará de la inspección a la comunidad autónoma donde se encuentre el centro a inspeccionar.

9. La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios informará a la Agencia Europea de Medicamentos de las inspecciones efectuadas en España y de sus resultados. Para ello, las comunidades autónomas enviarán a la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios la información de las inspecciones que realicen en el formato acordado en el Comité Técnico de Inspección.

#### Artículo 45. *Procedimiento de inspección.*

1. Las inspecciones serán llevadas a cabo por inspectores debidamente cualificados y designados para tal efecto en los lugares relacionados con la realización de los ensayos clínicos y, entre otros, en el centro o centros en los que se lleve a cabo el ensayo, en el lugar de fabricación del medicamento en investigación, cualquier laboratorio de análisis utilizado en el ensayo clínico, en el CEIm, así como en las instalaciones del promotor y/o de las organizaciones o empresas de investigación implicadas por contrato en la realización del ensayo.

2. Al término de cada inspección los inspectores levantarán un acta de inspección reglamentaria que será firmada por el inspector o inspectores actuantes, así como por los inspeccionados. En ella se harán constar los hechos y hallazgos más relevantes que hayan resultado de las actuaciones inspectoras.

3. Posteriormente, los inspectores redactarán un informe sobre el cumplimiento de las buenas prácticas clínicas y de los requisitos establecidos en este real decreto que se ajustará al formato europeo acordado a nivel comunitario. Antes de adoptar el informe, se dará a la entidad inspeccionada correspondiente la oportunidad de presentar comentarios al mismo.

4. Este informe deberá ponerse a disposición de las partes inspeccionadas, de las autoridades competentes en España y del promotor, salvaguardando los aspectos confidenciales. Previa solicitud motivada, el informe podrá ponerse a disposición del CEIm correspondiente, si no hubiere sido objeto directo de la inspección, así como de las autoridades sanitarias de la Unión Europea, de la Agencia Europea de Medicamentos y de las autoridades sanitarias con las que existan acuerdos.

5. En el caso de que en la inspección se hayan encontrado incumplimientos graves, según se define en el artículo 52.2 del Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014, o haya dado lugar a la adopción de las medidas cautelares contempladas en el artículo 109 del texto refundido de la Ley de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios, la autoridad sanitaria que adoptó la medida cautelar deberá informar de modo inmediato de la misma al promotor, al CEIm y a las otras autoridades sanitarias en función de sus competencias.

## CAPÍTULO XI

### Comunicaciones

#### Artículo 46. *Sistemas de información.*

1. La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios será el punto nacional de contacto que establece el artículo 83 del Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014.

2. Todas las comunicaciones entre los agentes implicados en la solicitud, evaluación y autorización de los ensayos clínicos con medicamentos se llevarán a cabo, cuando estén disponibles, a través del portal de la UE y la base de datos de la UE a los que se hace referencia en los artículos 80 y 81 del Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014.



3. Hasta que los sistemas de información a los que se hace referencia en el apartado 2 estén disponibles o como complemento de aquellos:

a) La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios incluirá en la base de datos europea de ensayos clínicos (EudraCT) los datos relativos a los ensayos clínicos con medicamentos de uso humano que se lleven a cabo en el territorio nacional.

b) La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios mantendrá el sistema de información de ensayos clínicos con medicamentos de uso humano que se lleven a cabo en el territorio nacional. Este sistema de información servirá como único punto de contacto para el promotor en todo lo relacionado con sus ensayos clínicos, redirigiendo la información, según proceda, a la propia Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios y a los CEIm, así como a las autoridades competentes de las comunidades autónomas y al REec.

4. El sistema de información al que se hace referencia en el apartado anterior servirá igualmente para todo tipo de comunicación y transmisión de resoluciones entre la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios y los CEIm con el promotor, así como las comunicaciones y transmisión de dictámenes u otros documentos entre el CEIm y la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios.

#### Artículo 47. *Registro español de estudios clínicos.*

1. La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios mantendrá en su página web un registro de estudios clínicos con medicamentos de uso humano.

2. El REec incluirá la siguiente información:

a) De modo obligatorio, los ensayos clínicos con medicamentos de uso humano que sean autorizados por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, de acuerdo con este real decreto.

b) De modo obligatorio, los estudios posautorización de tipo observacional que se vayan a realizar y hayan sido clasificados por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios.

c) De forma voluntaria, al igual que otras bases de datos similares, otro tipo de estudios clínicos promovidos por entidades públicas o privadas, nacionales o internacionales, siempre y cuando tengan al menos un centro participante radicado en España que incluya casos o, aun no incluyendo casos, tenga una contribución española que se considere como significativa.

3. El registro de un ensayo o estudio clínico en el REec será compatible con su inclusión en otros registros nacionales o internacionales. El REec incluirá información prospectiva en su ámbito de aplicación desde su puesta en funcionamiento.

4. El REec incluirá para cada estudio la información relacionada en el anexo, que incluye el conjunto de datos requeridos en la plataforma internacional de registros de ensayos clínicos de la Organización Mundial de la Salud. La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios publicará la correspondencia entre estos campos y los del formulario de solicitud de autorización del ensayo clínico remitido a la misma para el caso de los ensayos clínicos con medicamentos, así como los del formulario de solicitud de clasificación de estudios observacionales.

5. En todos los casos, los promotores deberán hacer públicos en este registro los resultados de las investigaciones registradas una vez concluidas. Para ello, se seguirá el estándar y los plazos indicados en las directrices de la Comisión Europea y, en su caso, en las instrucciones publicadas por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios.

#### Artículo 48. *Procedimiento para la publicación de un estudio en el REec.*

1. El REec está dirigido a proporcionar información fiable y comprensible a los ciudadanos por lo que la información contenida en algunos campos podrá estar limitada en

cuanto a extensión y deberá estar redactada en un lenguaje sencillo y accesible al ciudadano sin especiales conocimientos científicos.

Con el objetivo de que el REec sea incluido en la Plataforma Internacional de Registros de ensayos clínicos de la Organización Mundial de la Salud, toda la información estará disponible en español y en inglés.

2. El promotor será el responsable de la calidad, exactitud y actualización periódica de toda la información del estudio que se incluya en el REec. La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios verificará antes de su inclusión que los datos son completos y adecuados para sus objetivos.

3. El registro del estudio deberá tramitarse, en todo caso, después de haber obtenido todas las autorizaciones que procedan según la normativa vigente y antes de la inclusión del primer sujeto en el mismo, con independencia de que el estudio haya sido registrado con anterioridad en otro registro público, incluido o no en la Plataforma Internacional de Registros de ensayos clínicos de la Organización Mundial de la Salud.

4. Con carácter general, la publicación de los estudios clínicos se realizará de acuerdo con alguno de los procedimientos establecidos en los apartados 5, 6 y 7.

5. La información de los ensayos clínicos con medicamentos, común con el Registro de Ensayos Clínicos de la Unión Europea, será publicada por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios en el momento de la autorización del ensayo. El promotor de un ensayo clínico con medicamentos dispondrá de un plazo máximo de catorce días naturales a partir de la notificación de esta autorización para completar la información adicional necesaria en el REec, con un breve resumen sobre el ensayo y centros participantes.

6. Para la inscripción en el REec de estudios posautorización de tipo observacional, el promotor incluirá los datos del estudio en aquel antes de su inicio o en un plazo máximo de catorce días naturales tras la obtención de las autorizaciones correspondientes según la normativa vigente para aquellos estudios que precisan autorización previa.

7. El promotor del tipo de estudios contemplados en el artículo 47.2.c) podrá de forma voluntaria optar por la inscripción de sus datos en el REec una vez que el estudio cuente con un dictamen favorable de un CEI y, en su caso, la autorización administrativa correspondiente. El dictamen del CEI será remitido a la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios al solicitar la inscripción en el registro.

No obstante, la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios se reserva la potestad última de verificar la información recibida y admitir su publicación en el «REec» o, en el supuesto de que la información no pueda ser validada, a no incluirla.

En cualquier caso, la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios publicará un documento que relacione las normas a cumplimentar para la inscripción de los estudios en el REec.

8. La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios podrá decidir hacer pública una información parcial sobre un ensayo clínico o un estudio posautorización de tipo observacional en el que el promotor haya incumplido los plazos de remisión de la información, haciendo constar expresamente los datos del promotor así como los motivos por los que la información del registro es parcial. Y ello con independencia del ejercicio de aquellas acciones sancionadoras a que pudiera haber lugar, en aplicación de la legislación vigente.

9. Es responsabilidad del promotor actualizar periódicamente la información incluida en el REec. Esta actualización será obligatoria respecto a la fecha de inicio del estudio en España, los centros participantes, la fecha de finalización del reclutamiento en España, las modificaciones sustanciales que conlleven un cambio en los datos incluidos en el registro y la fecha de finalización del estudio en España. La actualización se realizará de forma global y, en todo caso, con una periodicidad anual hasta la conclusión del estudio y la publicación de sus resultados.

## CAPÍTULO XII

### Vigilancia de la seguridad de los medicamentos en investigación

Artículo 49. *Obligaciones de los investigadores en el registro y comunicación de acontecimientos adversos.*

1. El investigador registrará y documentará los acontecimientos adversos o los resultados de laboratorio anómalos que el protocolo considere cruciales para la evaluación de seguridad y los comunicará al promotor con arreglo a los requisitos de comunicación y dentro de los plazos especificados en el protocolo, conforme a lo indicado en el artículo 41 del Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014.

2. El investigador comunicará al promotor los acontecimientos adversos graves sin demoras indebidas y en un plazo de veinticuatro horas a partir del momento en que tenga conocimiento de dichos acontecimientos, salvo que, para determinados acontecimientos adversos graves, el protocolo disponga que no se requiere una comunicación inmediata. El investigador, cuando proceda, enviará al promotor un informe de seguimiento para permitirle evaluar si el acontecimiento adverso grave tiene repercusiones en la relación beneficio-riesgo del ensayo clínico. En las comunicaciones iniciales y en las de seguimiento se identificará a los sujetos del ensayo únicamente mediante el código de identificación del sujeto en el ensayo, específico para cada uno de ellos.

3. En caso de que se haya comunicado el fallecimiento de un sujeto participante en un ensayo clínico, el investigador proporcionará al promotor y al CEIm toda la información complementaria que se le solicite.

4. Si el investigador tiene conocimiento de un acontecimiento adverso grave que guarde una supuesta relación causal con el medicamento en investigación, que se haya producido tras la finalización del ensayo clínico en un sujeto tratado por él, comunicará al promotor sin demora indebida dicho acontecimiento adverso grave.

5. En cualquier caso, deberá tenerse en cuenta lo especificado en las directrices de la Comisión Europea o, en su caso, en los procedimientos establecidos en las instrucciones para la realización de ensayos clínicos en España publicadas por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios.

Artículo 50. *Otras obligaciones del promotor en el registro, evaluación y comunicación de acontecimientos adversos.*

1. El promotor mantendrá un registro detallado de todos los acontecimientos adversos que le sean comunicados por los investigadores. Estos acontecimientos adversos se presentarán a la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios cuando esta así lo solicite.

2. El promotor tiene la obligación de evaluar de forma continua el balance entre los beneficios y los riesgos del ensayo, lo que incluye una evaluación continua de la seguridad de los medicamentos en investigación utilizando toda la información a su alcance. Asimismo, debe comunicar sin demoras indebidas en el plazo de quince días naturales a la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios y al CEIm, por los medios indicados en el artículo 21, cualquier información que afecte de manera importante a la relación beneficio/riesgo del ensayo, con excepción de las sospechas de reacciones adversas graves e inesperadas que se comunicarán conforme al artículo 51. Dicha comunicación se realizará de acuerdo con las directrices de la Comisión Europea o, en su caso, con los procedimientos establecidos en las instrucciones para la realización de ensayos clínicos en España publicadas por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios.

3. El promotor deberá comunicar rápidamente a los investigadores cualquier información importante que pudiera afectar negativamente a la seguridad de los sujetos o a la realización del ensayo. La comunicación de dicha información será concisa y práctica. La comunicación se ajustará a los criterios y al procedimiento especificado en las directrices de la Comisión Europea.

Artículo 51. *Notificación de sospechas de reacción adversa graves e inesperadas a la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios.*

1. El promotor notificará a la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios todas las sospechas de reacciones adversas graves y, a la vez, inesperadas, asociadas a los medicamentos en investigación de las que haya tenido conocimiento, que hayan ocurrido en el ensayo clínico, tanto si ocurren en España como en otros países. Adicionalmente, se notificarán las sospechas de reacciones adversas graves y, a la vez, inesperadas ocurridas fuera del ensayo conforme a los criterios establecidos en las directrices de la Comisión Europea.

2. En todos los casos, dicha notificación se realizará a través de la base de datos europea Eudragilance\_CTM.

3. El plazo de notificación de las sospechas de reacciones adversas graves e inesperadas por el promotor a la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios dependerá de la gravedad de la reacción y se determinará como sigue:

a) En caso de sospechas de reacciones adversas graves e inesperadas mortales o que pongan en peligro la vida, lo antes posible y, en cualquier caso, en el plazo de siete días después de que el promotor haya tenido conocimiento de la reacción.

b) En caso de sospechas de reacciones adversas graves e inesperadas no mortales o que no pongan en peligro la vida, a más tardar quince días después de que el promotor haya tenido conocimiento de la reacción.

c) En caso de sospechas de reacciones adversas graves e inesperadas, mortales o que pongan en peligro la vida, que en un principio no hayan sido consideradas tales, lo antes posible y, en cualquier caso, a más tardar siete días después de que el promotor haya tenido conocimiento de que la reacción es mortal o pone en peligro la vida.

Cuando sea preciso para garantizar la notificación rápida, el promotor podrá realizar una notificación inicial incompleta que deberá ser completada en lo posible en los ocho días siguientes.

4. La notificación de reacciones adversas graves e inesperadas por parte del promotor a la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios se ajustarán, en todo caso, a los criterios y al procedimiento especificado en los artículos 42, 45 y 46 del Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014.

Artículo 52. *Intercambio de información sobre ensayos clínicos con los órganos competentes de las comunidades autónomas.*

1. La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios proveerá un sistema por el que las sospechas de reacciones adversas, que sean a la vez graves e inesperadas, asociadas al medicamento en investigación y que hayan ocurrido en pacientes incluidos en el ensayo clínico en España estén disponibles para los órganos competentes de las comunidades autónomas en tiempo real a través del sistema de información de ensayos clínicos.

2. Mientras no se disponga de un sistema de intercambio de información electrónico válido para todas las comunidades autónomas, tal como se indica en el artículo 19, la notificación a las comunidades autónomas por parte del promotor se realizará según los criterios que se fijen en las instrucciones correspondientes de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios.

Artículo 53. *Informe anual de seguridad y otros informes de seguridad.*

1. Los promotores de ensayos clínicos prepararán un informe anual de seguridad en el que se evalúe la seguridad del medicamento en investigación teniendo en cuenta toda la información disponible. Dicho informe se comunicará a la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios y al CEIm.

2. Independientemente del informe anual de seguridad, el promotor preparará un informe de evaluación «ad hoc» siempre que exista un problema de seguridad relevante. Este informe se presentará inmediatamente a la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios y al CEIm según lo indicado en el apartado anterior.

3. La presentación del informe anual de seguridad y otros informes de seguridad por parte del promotor se ajustará, en todo caso, a los criterios y al procedimiento especificado en los artículos 43, 45 y 53 del Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014.

4. Los promotores de ensayos clínicos en los que los medicamentos en investigación, excluidos los placebos, estén autorizados y, según el protocolo del ensayo clínico, se utilicen de conformidad con los términos de la autorización de comercialización podrán presentar un informe simplificado conforme a las instrucciones para la realización de ensayos clínicos en España que publique la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios.

## CAPÍTULO XIII

### Infracciones

Artículo 54. *Infracciones administrativas en materia de ensayos clínicos.*

Constituirán infracciones administrativas las previstas en el capítulo II del título IX del texto refundido de la Ley de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios, y serán sancionadas de acuerdo con lo establecido en el artículo 114 de ese mismo texto refundido.

Disposición adicional primera. *Comités Éticos de Investigación Clínica.*

1. En el plazo de dos años a contar desde la entrada en vigor de este real decreto, los Comités Éticos de Investigación Clínica podrán ser acreditados como CEIm por las autoridades sanitarias competentes de las comunidades autónomas, teniendo en cuenta para ello los criterios establecidos en el capítulo IV.

2. Una vez transcurrido el referido plazo de dos años, aquellos Comités Éticos de Investigación Clínica que no sean acreditados como CEIm podrán continuar asumiendo aquellas funciones de los Comités de Ética de la Investigación no relacionadas con la evaluación de estudios clínicos con medicamentos o productos sanitarios hasta que se cumplan las previsiones establecidas en la disposición transitoria tercera de la Ley 14/2007, de 3 de julio.

3. Las referencias a los Comités Éticos de Investigación Clínica previstas en el texto refundido de la Ley de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios, se entenderán realizadas a los CEIm en los términos previstos en este real decreto.

Disposición adicional segunda. *Estudios observacionales.*

Sin perjuicio de lo que se establece en el capítulo IV y en los artículos 18, 47 y 48, los estudios observacionales definidos en el párrafo k) del artículo 2.1 se registrarán por su normativa específica.

Disposición adicional tercera. *Ensayos clínicos con productos sanitarios.*

1. Las investigaciones clínicas con productos sanitarios se registrarán por los principios éticos, metodológicos y de protección de los sujetos del ensayo contemplados en este real decreto, teniendo en cuenta lo establecido en la reglamentación de productos sanitarios.

2. El CEIm emitirá dictamen sobre las investigaciones clínicas con productos sanitarios. Para ello, se tendrá en cuenta, en particular, lo establecido en el artículo 16.4.a). Cuando estas investigaciones se realicen en varios centros, el dictamen será emitido por un CEIm del territorio nacional y será único y vinculante.



3. El inicio de investigaciones clínicas con productos sanitarios que ostenten el marcado CE y se utilicen en las mismas indicaciones contempladas en el procedimiento de evaluación de la conformidad se notificará a la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios siempre y cuando en estas investigaciones se practique alguna intervención que modifique la práctica clínica habitual.

Disposición adicional cuarta. *Órganos colegiados de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios.*

En el plazo de un año a partir de la entrada en vigor de este real decreto, la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios planteará al Ministerio de Hacienda y Administraciones Públicas una propuesta de racionalización de los órganos colegiados de ella dependientes, de acuerdo con lo previsto en el Real Decreto 776/2011, de 3 de junio, por el que se suprimen determinados órganos colegiados y se establecen criterios para la normalización en la creación de órganos colegiados en la Administración General del Estado y sus Organismos públicos.

Disposición adicional quinta. *No incremento de gasto de personal.*

Las medidas incluidas en esta norma no podrán suponer incremento de dotaciones ni de retribuciones ni de otros gastos de personal.

Disposición adicional sexta. *Aplicación de este real decreto a los servicios sanitarios de las Fuerzas Armadas.*

En tanto no se desarrollen las previsiones contenidas en la disposición adicional segunda del texto refundido de la Ley de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios, en la aplicación de este real decreto a los servicios sanitarios de las Fuerzas Armadas se observarán las siguientes normas:

- a) Corresponderá al Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad la acreditación como CEIm de los servicios sanitarios de las Fuerzas Armadas.
- b) El Ministerio de Defensa, a través de la Inspección General de Sanidad de la Defensa, ejercerá las competencias en materia de inspección, recepción de comunicaciones y notificaciones y las demás que este real decreto atribuye a las comunidades autónomas, en su ámbito de competencias.

Disposición adicional séptima. *Adopción de instrucciones de desarrollo.*

Se faculta a la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios para la adopción de las normas de buena práctica clínica y las instrucciones para la realización de ensayos clínicos en España, que mantendrá actualizadas en su página web.

Disposición transitoria primera. *Régimen transitorio relativo a las funciones de evaluación de estudios clínicos con medicamentos o productos sanitarios de los Comités Éticos de Investigación Clínica.*

Durante los dos años siguientes a la entrada en vigor de este real decreto, los Comités Éticos de Investigación Clínica ya acreditados a la entrada en vigor de esta norma asumirán las funciones de los Comités de Ética de la Investigación con medicamentos relacionadas con la evaluación de estudios clínicos con medicamentos o productos sanitarios y serán supervisados y coordinados, en lo que respecta a dichas funciones, del mismo modo que estos.

Disposición transitoria segunda. *Procedimiento para las solicitudes de autorización y modificación de ensayos clínicos, comunicaciones y notificaciones antes de la plena funcionalidad del portal de la UE y de la base de datos de la UE.*

1. Hasta la fecha de plena aplicación del Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014, de conformidad con lo dispuesto en su artículo 99, la presentación de solicitudes y comunicaciones y la recepción de notificaciones, citadas en los artículos 21.1, 26.3, 30.1, 51.2, 51.4 y 53.3 de este real decreto, se ajustarán a lo previsto en los párrafos siguientes teniendo en cuenta lo dispuesto en el artículo 46, apartados 3 y 4:

a) Las solicitudes de autorización y dictamen del ensayo clínico, así como todas las comunicaciones posteriores, se presentarán por el promotor únicamente por vía o medio electrónico y de forma simultánea a la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios y al CEIm que acepte la evaluación a propuesta del promotor, conforme a lo previsto en el artículo 27.6 de la Ley 11/2007, de 22 de junio, de acceso electrónico de los ciudadanos a los Servicios Públicos, salvo que se justifique que no se tiene garantizado el acceso y disponibilidad de los medios tecnológicos precisos. En cualquier caso, si no se produjera esta presentación simultánea, se tendrá en consideración, a efectos de tramitación del procedimiento, la fecha de la solicitud presentada en último lugar.

b) Para realizar el envío por medios electrónicos se encuentra habilitado el Portal de Ensayos Clínicos con medicamentos del Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad, al que puede accederse en la sede electrónica de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios.

Alternativamente se podrá realizar el envío telemático sin certificado digital reconocido presentando en el registro de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios o de los CEIm, según corresponda, el justificante del envío telemático firmado de forma manuscrita.

c) Las notificaciones de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios al promotor se realizarán de forma electrónica. Para ello, el promotor deberá comparecer en la sede electrónica de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Asimismo, el CEIm realizará sus notificaciones por correo electrónico.

d) Para realizar el envío por medios electrónicos y recibir notificaciones electrónicas, los promotores deberán contar con un equipo informático, conexión a Internet y certificado digital reconocido emitido por alguno de los prestadores que se encuentran inscritos en el registro de la Secretaría de Estado de Telecomunicaciones y para la Sociedad de la Información conforme a lo establecido en el artículo 30 de la Ley 59/2003, de 19 de diciembre, de firma electrónica. Además, para recibir notificaciones electrónicas, los promotores deben disponer de cuenta de correo electrónico y haber manifestado su consentimiento al presentar la solicitud.

e) Cuando un promotor, por falta de recursos, no pueda efectuar una notificación de sospecha de reacción adversa grave e inesperada a la base de datos Eudravigilance\_CTM, podrá notificarla a la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios siguiendo el procedimiento establecido en las instrucciones para la realización de ensayos clínicos en España publicadas por dicha Agencia.

2. En consonancia con lo previsto en el artículo 98 del Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014, durante el año siguiente a la fecha de plena aplicación del citado reglamento el promotor podrá optar por solicitar la autorización de un ensayo clínico de conformidad con el artículo 21.1 de este real decreto o de la forma indicada en el apartado anterior. En este último caso, las notificaciones posteriores referentes al ensayo seguirán realizándose de acuerdo con lo previsto en esta disposición hasta tres años después de la fecha de aplicación plena del citado Reglamento (UE).

Disposición transitoria tercera. *Procedimiento para la autorización de un ensayo clínico antes de la plena funcionalidad del portal de la UE y de la base de datos de la UE.*

Hasta la fecha de plena aplicación del Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014, de conformidad con lo dispuesto en su artículo 99, el procedimiento de autorización de un ensayo clínico, regulado en los artículos 21 a 30 de este real decreto, deberá ajustarse a las siguientes reglas:

a) Para la validación de una solicitud, el promotor deberá presentar una solicitud que contenga todos los documentos necesarios respecto a la parte I y parte II. En el caso de ensayos clínicos con un medicamento no autorizado en algún país del Espacio Económico Europeo que contenga un principio activo o una combinación de principios activos no autorizados en España, solicitará la calificación de producto en fase de investigación clínica para dicho medicamento.

La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios y el CEIm notificarán al promotor si la solicitud de la parte I y de la parte II, respectivamente, son completas en el plazo máximo de diez días naturales. Si alguna de las partes está incompleta se lo comunicarán al promotor fijando un plazo máximo de diez días naturales para que el promotor presente sus observaciones. Este plazo se ampliará a treinta días naturales en el caso de ensayos clínicos que cumplan con la definición de «Investigación Clínica no comercial».

Si el promotor no contesta en el plazo indicado se considerará que ha desistido de su solicitud, notificándose así. Si el promotor presenta documentación complementaria que permita completar la solicitud, el CEIm o la Agencia, según corresponda, comunicará al promotor en el plazo de cinco días naturales el calendario de evaluación, que empezará a contar a partir del día siguiente a la fecha de recepción de dicha documentación que tendrá, a efectos de lo previsto en este artículo, la consideración de fecha de solicitud válida.

b) En relación con la parte I del informe de evaluación, regulada en el artículo 23 de este real decreto, la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios será la encargada de enviar al promotor las conclusiones de la parte I del informe de evaluación, integrando aquellos aspectos que hayan sido evaluados por el CEIm en los plazos indicados en el artículo 6 del Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014. No obstante, el plazo de evaluación se contará a partir de la fecha de solicitud válida.

c) Respecto a la parte II del informe de evaluación, regulada en el artículo 24, debe tenerse en cuenta que el plazo de evaluación se contará a partir de la fecha de solicitud válida.

d) Acerca de la resolución de autorización, regulada en el artículo 25, la persona titular de la Dirección de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, en un plazo de cinco días a partir de la última fecha de notificación al promotor de las conclusiones de la parte I o parte II, dictará resolución autorizando el ensayo clínico, autorizándolo con condiciones o denegando su autorización.

e) No podrá iniciarse un ensayo clínico sin la previa autorización por escrito de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios en los siguientes casos:

1.º Ensayos clínicos en los que dicha Agencia haya comunicado objeciones al promotor dentro del plazo de cuarenta y cinco días al que se refiere el artículo 6 del Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014.

2.º Ensayos clínicos con medicamentos que requieren la calificación de producto en fase de investigación clínica.

3.º Ensayos clínicos con medicamentos de terapia avanzada, así como ensayos clínicos con medicamentos que contengan organismos modificados genéticamente.

En estos supuestos, una vez transcurrido el plazo de cinco días previsto en el párrafo d) sin que se notifique al interesado la resolución, se podrá entender desestimada la solicitud.



Para la autorización de posteriores ensayos clínicos con un medicamento en investigación previamente calificado como producto en fase de investigación clínica deberá actualizarse, cuando resulte necesario, la documentación citada en el artículo 22.1.

f) En relación con la modificación de las condiciones de autorización de ensayos clínicos, regulada en el artículo 26, se tendrá en cuenta que el plazo de evaluación se contará a partir de la fecha de solicitud válida.

g) En último término, y en relación con la aplicación del artículo 30, se tendrá en cuenta que, independientemente del resultado del ensayo clínico, en el plazo de un año a partir de su finalización el promotor remitirá a la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios y al CEIm el resumen de los resultados del ensayo conforme a lo establecido en las directrices europeas vigentes.

Disposición derogatoria única. *Derogación normativa.*

Quedan derogadas cuantas disposiciones de igual o inferior rango se opongan a lo establecido en este real decreto y, en particular, el Real Decreto 223/2004, de 6 de febrero, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos, así como la Orden SCO/256/2007, de 5 de febrero, por la que se establecen los principios y las directrices detalladas de buena práctica clínica y los requisitos para autorizar la fabricación o importación de medicamentos en investigación de uso humano.

Disposición final primera. *Modificación del Estatuto de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios aprobado por Real Decreto 1275/2011, de 16 de septiembre, por el que se crea la Agencia estatal Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios y se aprueba su Estatuto.*

Se añade un nuevo artículo al Estatuto de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios aprobado por Real Decreto 1275/2011, de 16 de septiembre, por el que se crea la Agencia estatal Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios y se aprueba su Estatuto, en el tenor siguiente:

«Artículo 28 bis. *El Comité de Productos Sanitarios.*

1. El Comité de Productos Sanitarios es el órgano colegiado para el asesoramiento técnico, científico y clínico en materia de seguridad, eficacia y calidad de productos sanitarios en todos los procedimientos desarrollados por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, tanto en calidad de autoridad competente, como en calidad de organismo notificado.

2. Son funciones del Comité de Productos Sanitarios:

a) Proponer a la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios la realización de los estudios e investigaciones que estime necesarios en relación con los productos sanitarios.

b) Asesorar a la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios en los aspectos relacionados con la seguridad, la eficacia clínica, el funcionamiento, la calidad, la información y el correcto uso de los productos sanitarios.

c) Asesorar a la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios en el ejercicio de la función de evaluación de los incidentes adversos que a esta le compete en el marco del Sistema de Vigilancia de productos sanitarios, así como en la evaluación de los riesgos que puedan presentar los productos sanitarios comercializados.

d) Prestar asesoramiento técnico a los representantes españoles en los grupos de trabajo y reuniones en materia de productos sanitarios que se celebren en la Unión Europea y otros organismos internacionales.

e) Informar sobre métodos de ensayo y normas técnicas.

f) Asesorar acerca de las medidas a adoptar encaminadas a la salvaguardia de la salud pública y la protección de los pacientes y usuarios en materia de productos

sanitarios, así como en las recomendaciones a emitir para la protección de la salud de la población, la utilización segura de los productos y el seguimiento y tratamiento de los pacientes.

g) Emitir informe a solicitud de la Dirección de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, en los procedimientos de certificación "CE" de los productos sanitarios.

h) Informar sobre cualquier otra cuestión en materia de productos sanitarios.

3. El Comité de Productos Sanitarios estará constituido por los siguientes vocales:

a) Cinco vocales por razón de su cargo:

1.º La persona titular de la Dirección de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios o persona en quien delegue.

2.º La persona que ostente la jefatura del Departamento de Productos Sanitarios de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios.

3.º La persona responsable del Área de vigilancia y control del mercado del Departamento de Productos Sanitarios de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios.

4.º La persona responsable del Área de certificación de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios.

5.º La persona que presida el Comité Técnico de Inspección.

b) Cuatro vocales en representación de:

1.º El Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad.

2.º El Instituto de Salud Carlos III, a propuesta de su máximo órgano de dirección.

3.º El Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses, a propuesta de su máximo órgano de dirección.

4.º El Consejo Superior de Investigaciones Científicas, a propuesta de su máximo órgano de dirección.

4. En virtud de lo dispuesto en el artículo 29.3, el Comité podrá requerir la colaboración de cuantos expertos considere oportunos.

5. Actuará como Presidente la persona titular de la Dirección de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, o persona a quien designe esta como sustituta, y como Secretario uno de los vocales de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. En caso de vacante, ausencia o enfermedad, la presidencia del Comité corresponderá a la persona que ostente la jefatura del Departamento de Productos Sanitarios de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios.

6. El Comité de Productos Sanitarios llevará a cabo las reuniones que sus funciones de asesoramiento requieran, en respuesta a las necesidades de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, funcionando en Pleno o en Comisiones conforme a la normativa que establezca su Reglamento de Funcionamiento Interno.

Igualmente, podrá celebrar sus reuniones a distancia y emitir los informes y adoptar decisiones por procedimiento escrito, sin necesidad de recurrir a la reunión presencial de sus miembros.»

Disposición final segunda. *Título competencial.*

Este real decreto se dicta al amparo de lo dispuesto en el artículo 149.1.16.<sup>a</sup> de la Constitución Española, que atribuye al Estado competencia exclusiva en materia de legislación sobre productos farmacéuticos.

Disposición final tercera. *Facultad de desarrollo.*

Se faculta a la persona titular del Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad para dictar las disposiciones necesarias para el desarrollo de este real decreto, así como para actualizar su anexo, conforme al avance de los conocimientos científicos y técnicos y de acuerdo con las orientaciones de la Unión Europea. En particular, se faculta a la persona titular del Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad para revisar los límites establecidos en el artículo 10.3.

Disposición final cuarta. *Entrada en vigor.*

El presente real decreto entrará en vigor a los veinte días de su publicación en el «Boletín Oficial del Estado», salvo el apartado 1 del artículo 21, el artículo 22, los apartados 1 y 3 del artículo 23 y el apartado 1 del artículo 25 que entrarán en vigor en la fecha en que el Reglamento (UE) n.º 536/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014, sea plenamente aplicable de conformidad con lo dispuesto en su artículo 99.

Dado en Madrid, el 4 de diciembre de 2015.

FELIPE R.

El Ministro de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad,  
ALFONSO ALONSO ARANEGUI

## ANEXO

### Datos que incluirá el REec

1. Número de identificación del estudio en el registro primario.
2. Fecha de registro en el REec.
3. Números de identificación secundarios.
4. Resumen breve con justificación de la realización del estudio.
5. Fuente de financiación o de soporte material.
6. Promotor.
7. Contacto para consultas del público en general.
8. Contacto para consultas científicas.
9. Título público del estudio.
10. Título científico del estudio y acrónimo, si el estudio lo tuviera.
11. Países donde se prevé reclutar sujetos participantes.
12. Centros del ensayo.
13. Enfermedad o problema de salud objeto del estudio.
14. Intervenciones que se investigan.
15. Criterios principales de inclusión y de exclusión.
16. Tipo y ámbito del estudio.
17. Fecha de reclutamiento del primer participante en España.
18. Tamaño de la muestra (número de sujetos a incluir).
19. Estado del estudio (no iniciado; reclutamiento iniciado; reclutamiento concluido, interrumpido o suspendido temporalmente; finalizado en España; finalizado en todos los países participantes).
20. Objetivo y variables principales y momentos en los que se va a realizar la evaluación.
21. Objetivos y variables secundarios del estudio y momentos en los que se va a realizar la evaluación.
22. Fecha del dictamen del CEIm y de la autorización por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios o por la comunidad autónoma correspondiente (cuando proceda).
23. Portal del estudio (si procede).
24. Resultados del estudio (el registro contendrá un vínculo a las publicaciones científicas del estudio. La presentación de los resultados se ajustará, en su caso, al estándar Unión Europea).
25. Fecha de la última modificación del registro en el REec.

**ANEXO 9**

**PUBLICACIÓN CIENTÍFICA EN REVISTA INTERNACIONAL  
REFERENTE A LA TESIS PRESENTADA**



ORIGINAL ARTICLE  
CARDIAC SECTION

## Effect of direct intramyocardial autologous stem cell grafting in the sub-acute phase after myocardial infarction

Gregorio LAGUNA<sup>1\*</sup>, Salvatore DI STEFANO<sup>1</sup>, Laura MAROTO<sup>2</sup>, Enrique FULQUET<sup>1</sup>, Jose R. ECHEVARRÍA<sup>1</sup>, Ana REVILLA<sup>3</sup>, Noelia URUEÑA<sup>3</sup>, Teresa SEVILLA<sup>3</sup>, Román ARNOLD<sup>3</sup>, Benigno RAMOS<sup>3</sup>, Hipólito GUTIÉRREZ<sup>3</sup>, Ana SERRADOR<sup>3</sup>, Jose A. SAN ROMÁN<sup>3</sup><sup>1</sup>Department of Cardiac Surgery, Clinic University Hospital of Valladolid, Valladolid, Spain; <sup>2</sup>Department of Cardiac Surgery, MediClin Herzzentrum Coswig, Coswig (Anhalt), Germany; <sup>3</sup>Department of Cardiology, Clinic University Hospital of Valladolid, Valladolid, Spain\*Corresponding author: Gregorio Laguna, Avenue Ramón y Cajal, 47003, Valladolid, Spain. E-mail: [goyotxmed@hotmail.com](mailto:goyotxmed@hotmail.com)

## ABSTRACT

**BACKGROUND:** To assess the efficacy and safety of intramyocardial autologous bone marrow mononuclear stem cells (BMMNC) grafting combined with coronary artery bypass grafting (CABG) on ventricular remodeling and global and regional wall motion after acute transmural myocardial infarction (AMI).**METHODS:** Randomized controlled trial including 20 patients with non-revascularized transmural AMI, left ventricular ejection fraction (LVEF) lower than 50% and surgical indication for CABG. The stem cell group was treated with BMMNC grafting by direct intramyocardial injection between the 10<sup>th</sup> and 15<sup>th</sup> days after AMI (subacute phase) combined with CABG under cardiopulmonary bypass; the control group was only treated with CABG. Magnetic resonance imaging with gadolinium and stress echocardiography were performed presurgery and 9 months postsurgery.**RESULTS:** Seventeen patients completed the follow-up. The baseline characteristics of both groups were homogeneous. No significant differences were found in the increase in LVEF (control: 6.99±4.60, cells: 7.47±6.61, P=0.876) or in the decrease in global (control: 0.28±0.39, cells: 0.22±0.28, P=0.759) or regional (control: 0.52±0.38, cells: 0.74±0.60, P=0.415) wall motion indices between the control and stem cell groups of AMI patients. No differences were found in the recovered non-viable segments (control: 1.29±1.11, cells: 2.50±1.41, P=0.091) or in the decrease in end-diastolic (control: 14.05±19.72, cells: 18.40±29.89, P=0.725) or end-systolic (control: 15.42±13.93, cells: 23.06±25.03, P=0.442) volumes. No complications from stem cell grafting were observed.**CONCLUSIONS:** The results from our study reported herein suggest that intramyocardial BMMNC administration during CABG in patients with AMI causes no medium- to long-term improvement in ventricular remodeling.*(Cite this article as:* Laguna G, Di Stefano S, Maroto L, Fulquet E, Echevarría JR, Revilla A, *et al.* Effect of direct intramyocardial autologous stem cell grafting in the sub-acute phase after myocardial infarction. *J Cardiovasc Surg* 2018;59:259-67. DOI: 10.23736/S0021-9509.17.10126-6)**Key words:** Myocardial infarction - Coronary artery bypass - Stem cells.

Acute myocardial infarction (AMI) is characterized by irreparable loss of cardiomyocytes. Many patients undergo negative ventricular remodeling after AMI, despite adequate treatment.<sup>1, 2</sup> In patients with AMI, endogenous bone marrow stem cells increase the regeneration rate to repair damaged muscle and avoid ventricular remodeling. However, the differentiation and function of new cardiomyocytes seem to be scarce

and precarious.<sup>3</sup> Therefore, the idea of regenerating and recovering damaged heart tissue through stem cell grafting, which will thus avoid or minimize ventricular remodeling after infarction, was proposed almost two decades ago. Studies in animals and humans have reported improved left ventricular ejection fraction (LVEF), ventricular remodeling, myocardial thickness and infarct size after autologous stem cell grafting in



patients with AMI or chronic ischemic heart disease.<sup>4</sup> The intracoronary technique is the most widely used for autologous stem cell grafting.<sup>5-7</sup> However, this technique has shown a lower percentage of myocardial cell engraftment than the intramyocardial technique.<sup>8,9</sup> Few studies have been published that report stem cell grafting through the direct intramyocardial technique combined with myocardial revascularization surgery (coronary artery bypass grafting [CABG]).<sup>10-13</sup> Stem cell grafting was performed during the chronic phase of heart failure after AMI in all studies. No randomized controlled trials with intramyocardial autologous bone marrow stem cell grafting combined with CABG with cardiopulmonary bypass (CPB) during the subacute phase (10-15 days after AMI) have been published. Furthermore, studies on the use of stem cells in this field are heterogeneous in terms of the design, method, class and most effective cell type, graft safety, cell count, grafting time and cell grafting technique. The study we report herein is a double-blind, randomized, single-center, controlled clinical trial. The main objective is to assess the effect of autologous bone marrow mononuclear stem cell (bone marrow mononuclear cell [BMMNC]) grafting (by direct intramyocardial injection) combined with CABG on the LVEF, ventricular remodeling and regional wall motion of the infarcted area in patients with non-revascularized transmural AMI during the subacute phase. Furthermore, the baseline and maximal contractility in the infarcted area with stress echocardiography, the number of non-viable infarcted segments recovered after the procedure, the rate of postoperative complications, and the safety profile of BMMNC extraction and grafting were analyzed.

### Materials and methods

The study reported herein is a single-center, prospective, double-blind, randomized, controlled clinical trial with centralized data analysis (ICICORELAB, Valladolid, Spain; www.icicorelab.es). The study was approved by clinical research ethics committee of the Clinic University Hospital of Valladolid. A total of 20 patients with signed informed consent and non-revascularized transmural expired AMI, altered wall motion of the infarcted region, indication for myocardial revascularization surgery (decision made by the Heart Team) and LVEF lower than 50% assessed by ventriculography

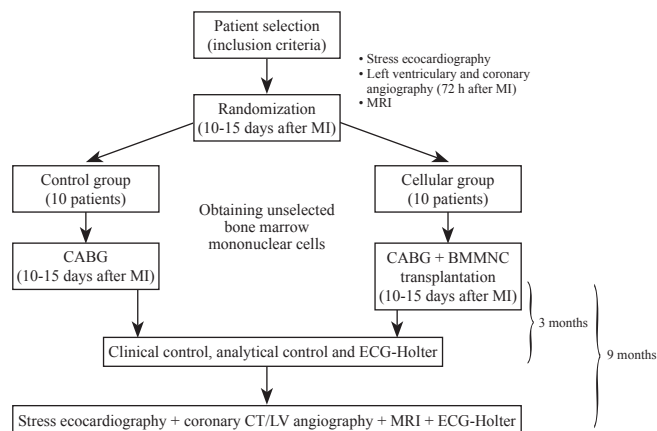


Figure 1.—Study flowchart. MI: myocardial infarction. MRI: magnetic resonance imaging; CABG: coronary artery bypass grafting; BMMNC: bone marrow mononuclear cell; ECG: electrocardiogram; CT: computed tomography; LV: left ventricular.

from 2007 to 2015 were included. Patients were randomized into two groups within 10 days of transmural AMI (Figure 1). The active treatment group (stem cell group) was treated with BMMNC grafting by direct intramyocardial injection between the 10<sup>th</sup> and 15<sup>th</sup> days after AMI (subacute phase) combined with CABG under CPB and were compared with a control group that was treated only with CABG.

Comprehensive patient follow-up was performed up to 9 postoperative months.

The testing protocol and clinical assessment at admission included cardiac catheterization (during the first 72 hours after AMI) and baseline presurgery cardiac magnetic resonance imaging (MRI). At 9 months of follow-up, coronary angiography or coronary computed tomography (CT) was performed to rule out residual coronary disease. A baseline and 9-month stress echocardiogram was performed using low doses of dobutamine.

The baseline and 9-month MRI scans were performed using the General Electric (GE) Signa 4.0 scanner with phased-array body antenna and electrocardiographic coupling. Gradient echo sequences during apnea in longitudinal horizontal (4 chambers) and vertical (2 chambers) planes and a multistage gradient-echo sequence on the short axis of the left ventricle with full ventricle coverage from the base to the apex were performed. An MRI expert performed the analysis centrally. Semi-quantitative analysis of segmental contractility following a 17-segment model and quantitative analysis



of ventricular volumes, cardiac mass and LVEF were performed using the software MASS 6.1.2. The left ventricular end-systolic (LVESV) and end-diastolic (LVEDV) volumes, LVEF, viability of the infarcted area and global (GWMSI) and regional (RWMSI) wall motion score indices of the infarcted segments were assessed by injecting the contrast agent gadolinium. Akinetic segments with late transmural enhancement greater than 50% of the ventricular wall thickness were considered non-viable infarcted segments. The division of the myocardium into 17 segments used in this study was the division proposed by the American Society of Echocardiography. Each segment was analyzed and scored from 1 to 4 according to the mobility to calculate the Motion Score Index: 1=normal, 2=hypokinesia, 3=akinesia and 4=dyskinesia. The Motion Score Index of the ventricular wall was calculated by adding the score of each segment and dividing that value by the number of segments analyzed. A higher Motion Score Index corresponds to worse myocardial contractility. The 17 myocardial segments were analyzed to calculate the GWMSI. However, only the non-viable infarcted segments were considered for calculations of the RWMSI of the infarcted area.

#### *Autologous bone marrow mononuclear stem cell extraction and grafting*

Bone marrow (50 mL) was obtained 24 hours before surgery under local anesthesia by puncture of the iliac crest of the patient. The mononuclear fraction of the bone marrow diluted in phosphate-buffered saline (PBS)/heparin was prepared using Ficoll medium. The final product was resuspended in heparinized Ringer's lactate solution prepared for its infusion. A cell suspension with a final volume of 10 mL in 1% albumin diluted in physiological serum was prepared for intramyocardial injection. The cell count was adjusted to 1 million cells per milliliter. Stem cells were typed using an immunoassay to assess the percentage of CD34+, CD117+ and CD133+ cells grafted in each patient.

#### *Direct transepical intramyocardial injection*

The injection site was defined prior to surgery using ultrasound and MRI. The non-viable site (AMI region) was identified during the surgery; subsequently, the to-

tal volume of cells (10 mL) was injected using a retrobulbar 23 gauge needle, with 10 punctures that crossed the non-viable region with its akinetic segments and the peri-infarct region. One milliliter was injected progressively into each of these channels with 5 millimeters deep, while the needle was withdrawn so that cells were injected throughout the myocardial thickness. The controls received a sham injection with saline and the same technique described above.

TABLE I.—Preoperative, operative and postoperative characteristics.

Clinical data (% or mean [SD])	CABG + BMMNC (N.=8)	CABG (N.=9)	P value
Male	87.5	88.9	1
Age (years)	62.63 (8.35)	64.78 (11.48)	0.669
Diabetes mellitus	37.5	11.1	0.294
Smoking	75	55.6	0.620
Hypertension	25	33.3	1
Hypercholesterolemia	37.5	44.4	1
Body Mass Index	29.28 (4.40)	27.17 (4.08)	0.321
Ischemic cardiopathy history	12.5	11.1	1
Killip I	75	77.8	1
Killip II	25	22.2	1
Right dominance	100	77.8	0.471
Coronary artery disease			
Left main artery and 3 vessels, disease	12.5	44.4	0.620
3 vessels, disease	75	55.6	
Obstructed artery			
Right coronary artery	62.5	33	
Anterior descending artery	37.5	66.7	0.347
Number of grafts			
Three	62.5	44.4	
Four	37.5	55.6	0.637
Preoperative LVEF (ventriculography)	45.69 (4.93)	40.11 (8.50)	0.125
Preoperative LVEF (MRI)	49.23 (8.94)	46.46 (8.78)	0.530
Preoperative CK (U/L)	1063.88 (945.7)	1086.33 (1222.2)	0.967
Preoperative CK-MB (U/L)	100.89 (70.40)	142.86 (166.28)	0.518
Cardiopulmonary by-pass time (min)	118.38 (33.05)	120.78 (24.78)	0.867
Aortic cross clamp time (min)	76.50 (15.61)	75.22 (12.81)	0.855
Ventilation time (hours; median (IQL))	2 (2-3)	5 (4-7.5)	0.356
ICU stay (days)	2.25 (1.67)	2.56 (1.50)	0.697

Numerical variables are expressed as the mean (SD), except ventilation time variable. The categorical variables are expressed as percentage. Killip: severity of myocardial infarction according to the Killip-Kimball classification. CABG: coronary artery bypass grafting. BMMNC: bone marrow mononuclear cell LVEF: left ventricular ejection fraction. MRI: magnetic resonance imaging. CK: creatine kinase. SD: standard deviation. IQL: interquartile range. ICU: Intensive Care Unit.

### Statistical analysis

The sample size was calculated using the software C4-Study Design Pack (Glaxo Wellcome, v. 1.1) according to the mean improvement in LVEF and regional motion in the most recently published studies and assuming a 10% follow-up loss. The level of significance was set at 5% (alpha error=0.05) with 80% power (beta error=0.20). Statistical analysis was performed using the IBM software SPSS Statistics v. 21. Categorical variables are expressed as the absolute and percentage values and continuous variables as the mean±standard deviation (SD) and/or median and interquartile range (IQL) depending on the normality. The assumption of normality for quantitative variables was assessed by kurtosis and skewness analysis and using the Shapiro-Wilk Test. The comparison between both groups (CABG + BMMNC vs. CABG alone) was performed using the  $\chi^2$  test and Fisher's Exact Test in the case of qualitative variables and the Student *t*-test for quantitative variables or, its non-parametric counterpart, the Mann-Whitney U Test for variables that failed to meet the normality requirement.

### Results

In total, 20 patients were randomized: 17 patients completed the 9-month follow-up. Three patients were

excluded, two from the stem cell group (one was subjected to combined surgery with aortic replacement, and the other had an ischemic stroke in the right middle cerebral artery within 2 months of the surgical procedure) and one from the group treated with CABG alone (death during anesthetic induction). No significant differences in baseline characteristics were found when comparing both groups (Table I). One patient from each group had a single stent because of acute coronary syndrome without prior ST segment elevation. The MRI study could not be completed in a patient from the stem cell group due to claustrophobia. Additionally, two patients from the control group was unable to perform the 9-month MRI. One of them, due to the implantation of an automatic defibrillator for recurrent ventricular tachycardias. The mean distribution of cell types was 0.78% CD34+, 0.39% CD133+ and 1.56% CD117+ cells.

No significant differences in the enhanced improvement in LVEF, LVESV, LVEDV, GWMSI and RWMSI were found when comparing the control and stem cell groups (Table II, Figures 2-6).

Similarly, no significant differences were found when comparing the difference (presurgery and at 9 months) in stress GWMSI and stress RWMSI (Table II, Figures 7, 8). A similar result was found when comparing the difference (presurgery and at 9 months) in the mean of non-viable akinetic segments recovered between both

TABLE II.—Preoperative (baseline) and 9-month follow-up functional parameters of both groups.

Outcome variable	CABG + BMMNC (N.=8) Mean (SD)			CABG (N.=9) Mean (SD)			P value
	Baseline	9 months	P value	Baseline	9 months	P value	
LVEF (%)	49.23 (8.94)	56.70 (7.12)	0.015	48.29 (7.61)	55.28 (7.29)	0.007	
Change in LVEF	7.47 (6.61)			6.99 (4.60)			0.876
LVESV (mL)	84.96 (34.25)	61.90 (18.90)	0.035	80.30 (24.03)	64.88 (19.79)	0.010	
Change in LVESV	23.06 (25.03)			15.42 (13.93)			0.442
LVEDV (mL)	160.77 (50.71)	142.37 (32.28)	0.125	149.89 (30.02)	135.85 (33.29)	0.065	
Change in LVEDV	18.40 (29.89)			14.05 (19.72)			0.725
GWMSI	1.47 (0.24)	1.25 (0.17)	0.068	1.61 (0.35)	1.33 (0.25)	0.046	
Change in GWMSI	0.22 (0.28)			0.28 (0.39)			0.759
RWMSI	2.52 (0.40)	1.78 (0.47)	0.010	2.43 (0.43)	1.91 (0.69)	0.011	
Change in RWMSI	0.74 (0.60)			0.52 (0.38)			0.415
GWMSI- maximum stress	1.44 (0.18)	1.29 (0.23)	0.075	1.49 (0.34)	1.31 (0.30)	0.031	
Change in GWMSI-maximum stress	0.15 (0.20)			0.18 (0.21)			0.736
RWMSI-maximum stress	2.49 (0.44)	1.90 (0.67)	0.038	2.34 (0.71)	1.88 (0.66)	0.010	
Change in RWMSI maximum stress	0.59 (0.65)			0.45 (0.41)			0.610

All parameters are expressed as the mean (SD). The maximum stress global and Regional Motion Wall Index were measured by stress echocardiography with low-dose dobutamine. A change of parameters refers to the difference of the main endpoint at baseline and at the 9-month follow-up between groups. The others parameters were measured by magnetic resonance imaging with gadolinium.

SD: standard deviation; CABG: coronary artery bypass grafting; BMMNC: bone marrow mononuclear cell; LVEF: left ventricular ejection fraction; LVESV: left ventricular end-systolic volume; LVEDV: left ventricular end-diastolic volume; GWMSI: Global Wall Motion Score Index; RWMSI: Regional Wall Motion Score Index.

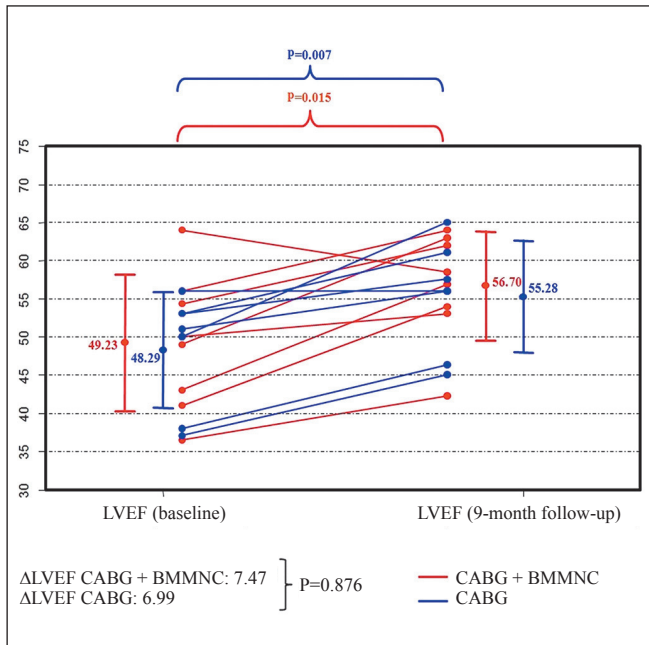


Figure 2.—Evolution of mean LVEF before and after surgery in both groups. All parameters are expressed as the mean. CABG: coronary artery bypass grafting; BMMNC: bone marrow mononuclear cell; LVEF: left ventricular ejection fraction. Δ: parameter difference before and after surgery within a group.

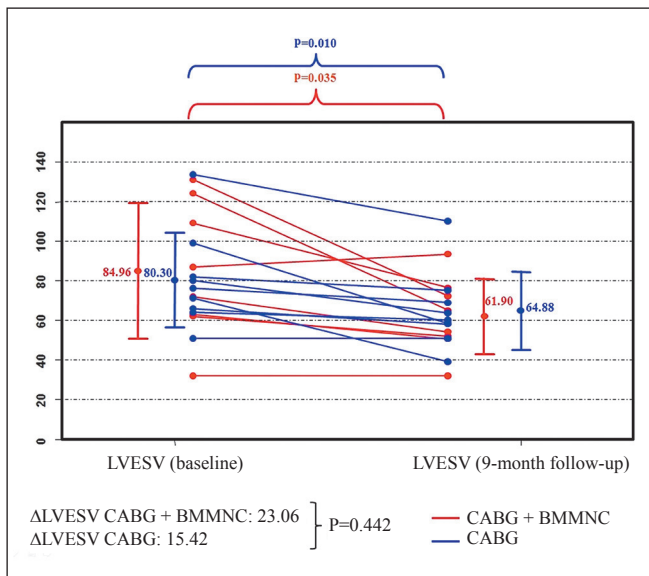


Figure 3.—Evolution of mean LVESV before and after surgery in both groups. All parameters are expressed as the mean. CABG: coronary artery bypass grafting; BMMNC: bone marrow mononuclear cell; LVESV: left ventricular end-systolic volume. Δ: Parameter difference before and after surgery within a group.

groups (stem cell group:  $2.50 \pm 1.41$  vs. control group:  $1.29 \pm 1.11$ ,  $P=0.091$ ) and in total necrotic mass between both groups (stem cell group:  $2.57 \pm 4.68$  vs. control group:  $8.51 \pm 7.28$ ,  $P=0.095$ ).

The artery responsible for the AMI and the infarcted site were revascularized by coronary artery bypass surgery or grafting (CABG) in all patients. The left internal mammary artery was used to revascularize the anterior descending artery, with 84% of the bypasses becoming permeable at 9 months in the stem cell group and 89% in the control group ( $P=0.583$ ). The mean of permeable bypasses at 9 months was  $2.88 \pm 0.99$  in the stem cell group and  $3.11 \pm 0.782$  ( $P=0.591$ ) in the control group. Both mammary arteries were used in 50% of the patients from the stem cell group. One left mammary graft was occluded in the stem cell group in the coronary control at 9 months, and another right mammary graft had a significant lesion. In the case of left mammary artery occlusion, the patient had a previous AMI and required percutaneous intervention on the graft, and the patient subsequently developed dilated cardiomyopathy with increased ventricular volumes and LVEF worsening 9 months after the surgery. Both mammary arteries were used in 37% of the patients from the control group. Two

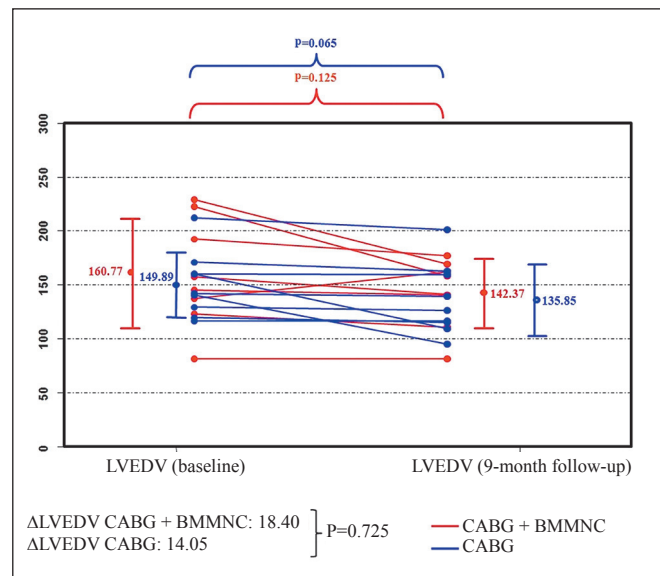


Figure 4.—Evolution of mean LVEDV before and after surgery in both groups. All parameters are expressed as the mean. CABG: coronary artery bypass grafting; BMMNC: bone marrow mononuclear cell; LVEDV: left ventricular end-diastolic volume. Δ: parameter difference before and after surgery within a group.

This document is protected by international copyright laws. No additional reproduction is authorized. It is permitted for personal use to download and save only one file and print only one copy of this Article. It is not permitted to make additional copies (either sporadically or systematically, either printed or electronic) of the Article for any purpose. It is not permitted to distribute the electronic copy of the article through online internet and/or intranet file sharing systems, electronic mailing or any other means which may allow access to the Article. The use of all or any part of the Article for any Commercial Use is not permitted. The production of derivative works from the Article is not permitted. The production of reprints for personal or commercial use is not permitted. It is not permitted to remove, cover, overlay, obscure, block, or change any copyright notices or terms of use which the Publisher may post on the Article. It is not permitted to frame or use framing techniques to enclose any trademark, logo or other proprietary information of the Publisher.



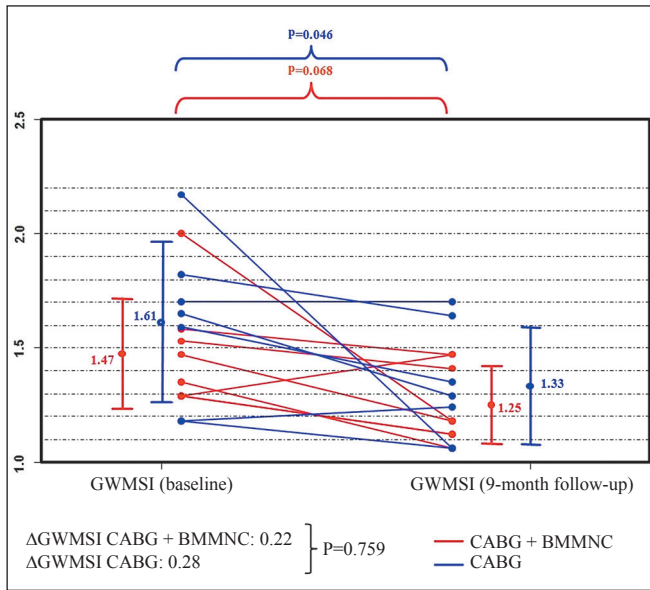


Figure 5.—Evolution of the mean GWMSI before and after surgery in both groups. All parameters are expressed as the mean. CABG: coronary artery bypass grafting; BMMNC: bone marrow mononuclear cell; GWMSI: Global Wall Motion Score Index.  $\Delta$ : parameter difference before and after surgery within a group.

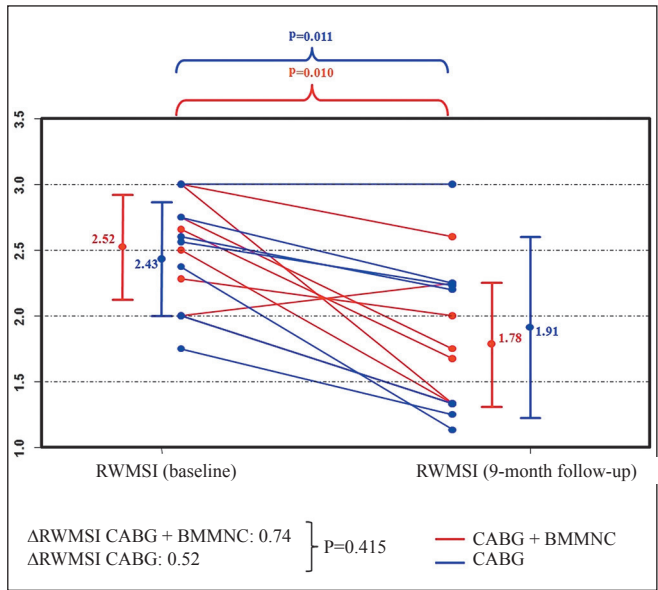


Figure 6.—Evolution of the mean RWMSI before and after surgery in both groups. All parameters are expressed as the mean. CABG: coronary artery bypass grafting; BMMNC: bone marrow mononuclear cell; RWMSI: Regional Wall Motion Score Index.  $\Delta$ : Parameter difference before and after surgery within a group.

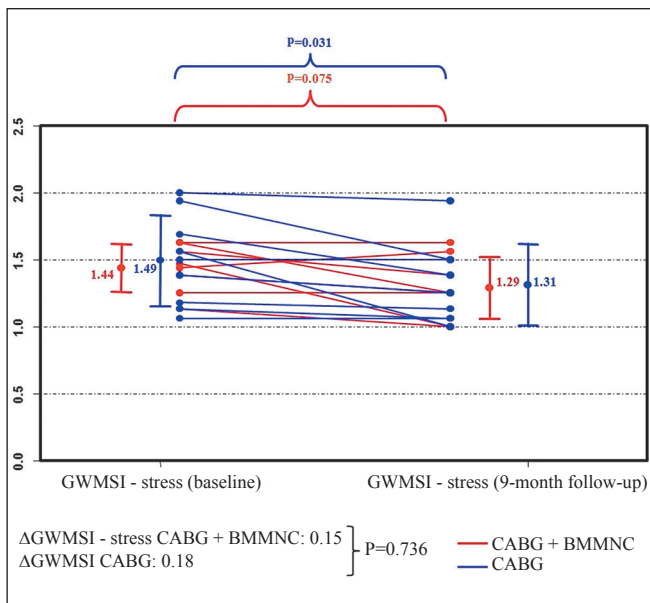


Figure 7.—Evolution of the mean GWMSI at maximum stress before and after surgery in both groups. All parameters are expressed as the mean. CABG: coronary artery bypass grafting; BMMNC: bone marrow mononuclear cell; GWMSI-stress: Global Wall Motion Score Index at maximum stress.  $\Delta$ : Parameter difference before and after surgery within a group.

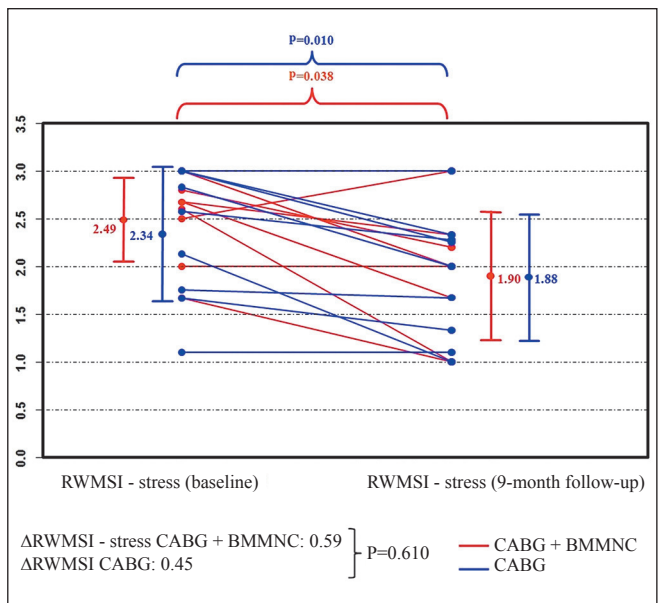


Figure 8.—Evolution of the mean RWMSI at maximum stress before and after surgery in both groups. All parameters are expressed as the mean. CABG: coronary artery bypass grafting; BMMNC: bone marrow mononuclear cell; RWMSI-stress: Regional Wall Motion Score Index at maximum stress.  $\Delta$ : Parameter difference before and after surgery within a group.

This document is protected by international copyright laws. No additional reproduction is authorized. It is permitted for personal use to download and save only one file and print only one copy of this Article. It is not permitted to make additional copies (either sporadically or systematically, either printed or electronic) of the Article for any purpose. It is not permitted to distribute the electronic copy of the article through online internet and/or intranet file sharing systems, electronic mailing or any other means which may allow access to the Article. The use of all or any part of the Article for any Commercial Use is not permitted. The production of derivative works from the Article is not permitted. The production of reprints for personal or commercial use is not permitted. It is not permitted to remove, cover, overlay, obscure, block, or change any copyright notices or terms of use which the Publisher may post on the Article. It is not permitted to frame or use framing techniques to enclose any trademark, logo or other proprietary information of the Publisher.

left mammary arteries with significant lesions requiring percutaneous intervention were noted 9 months after the surgery in the control group, and the patients were asymptomatic at all times. Two venous grafts in the control group and two in the stem cell group (all directed over the infarcted area) were occluded at 9 months, with no relevant clinical or functional consequences in any patient.

No complications associated with BMMNC extraction and grafting were observed. In the control group, defibrillator implantation was required 5 months after the surgery for recurrent ventricular tachycardias, confirming graft permeability. Two atrial fibrillation (AF) episodes were noted in the immediate postoperative period (one in each group), which were pharmacologically reversed, and one episode of deep right lower extremity venous thrombosis was found at the 3-month follow-up in the control group. Furthermore, a superficial infection of the surgical wound, which evolved favorably, was also reported in the stem cell group.

### Discussion

The results from the study reported herein suggest that intramyocardial stem cell administration during revascularization surgery in patients with AMI causes no long-term improvement in ventricular remodeling. Few randomized, controlled clinical trials involving direct grafting of stem cells intramyocardially in combination with CABG have been published.<sup>10-13</sup> Ang *et al.* reported neutral results similar to our findings.<sup>13</sup> However, Zhi Qi *et al.* showed greater improvement in LVEF and ventricular remodeling in the stem cell group than the control group.<sup>10, 11</sup> Patel *et al.*<sup>12</sup> used CD34+ bone marrow stem cells through direct intramyocardial graft combined with CABG without CPB in two randomized groups (control and stem cell groups). Their results showed an improvement in LVEF in the stem cell group. No study performed grafting during the first days after AMI.

The optimal time for stem cell grafting after AMI is controversial. In a recent meta-analysis with a total of 2602 patients, M.R. Afzal *et al.* reported that stem cells grafted during the first 48 h after AMI may improve the extent of necrosis resulting from AMI but that grafting between 3-10 days after AMI improves the LVEF and ventricular remodeling to a greater extent than grafting

during the acute phase.<sup>4</sup> Although it is logical to presume that early cell implantation could have early benefits, the acute inflammatory process may compromise engraftment and cell survival.<sup>14</sup> Indeed, several studies showed that stem cells engrafted more securely in healthy than in damaged myocardium.<sup>15</sup> Conversely, a cicatricial cell graft may compromise cell engraftment due to the unfavorable conditions in avascular and fibrotic tissue.<sup>16</sup> Furthermore, when the patients have a non-revascularized transmural expired AMI and indication for surgical myocardial revascularization, the surgical procedure should not be performed at least 3-7 days after AMI whenever the patients have not infarct complications and are hemodynamically stable.<sup>17</sup>

Although cell engraftment in the myocardium is unpredictable (regardless of grafting technique),<sup>8, 15, 18</sup> direct intramyocardial injection has been described as a safe and effective procedure,<sup>19</sup> and provides the highest percentage of cell engraftment in cardiac muscle, surpassing the results for the peripheral, transvenous and intracoronary cell techniques.<sup>8, 9</sup> However, an unobstructed view of the infarcted site and its boundaries is necessary to use this technique.

Thus, most prospective studies on stem cells reported in the medical literature use the intracoronary technique. Francisco Fernández Avilés *et al.* reported an improvement in ventricular volumes, LVEF and regional wall motion of the infarcted site in a series of 20 patients compared with the control group in a non-randomized trial with intracoronary BMMNC grafting 15 days after AMI.<sup>20</sup> The TOPCARE AMI Trial,<sup>5</sup> with 59 patients randomized into two cell treatment groups (peripheral stem cells and BMMNCs) reported improved LVEF, decreased infarct size in both groups and long-term (5-year) safety using stem cells. The BOOST Trial,<sup>6</sup> which was designed with 60 patients randomized into a control group and a bone marrow mononuclear stem cell group found an improvement in LVEF and ventricular remodeling in the short term but not at 18 months or 5 years after the procedure. The REGENT Trial,<sup>7</sup> reported differences in LVEF, albeit not in ventricular remodeling, for comparisons with the control group. Furthermore, the improvement in LVEF in the stem cell group was greater when the patients had an LVEF lower than 37%. The REPAIR AMI Trial,<sup>21</sup> reported an improvement in the LVEF and regional wall motion at the AMI site 4 months after the stem cell grafting procedure and

concluded that the best prognostic factor for predicting ventricular remodeling improvement after AMI is the myocardial flow in the peri-infarction zone after stem cell grafting. Velu Nair *et al.*<sup>2</sup> performed a randomized, multicenter, controlled study of 250 patients with BMMNCs grafted between weeks 1 and 3 after transmural AMI and found no differences in LVEF or ventricular remodeling between the two groups.

Similarly, neutral results for intracoronary stem cell therapy have been published in recent years.<sup>22</sup> Our research group compared three different randomized, controlled stem cell strategies and found no improvement in ventricular function or decrease in ventricular volumes compared with those for the conventional treatment (control group).

### Limitations of the study

Thus, the findings of the present study may result from a lack of efficacy of treatment with BMMNC in this context or the limited number of patients included in the study. Another important limitation is the relatively high baseline LVEF assessed by MRI, which may have further limited the power of the study. Although the size of our sample was calculated a priori, the loss of patients was higher and the difference between groups was smaller than expected. Maybe BMMNC obtained from their patient population that is aged, are smokers and have diabetes have a low therapeutic potency too.

### Conclusions

In conclusion, in our study the intramyocardial stem cells implant during surgical revascularization in patients with AMI fails to improve ventricular remodeling parameters. However, this study is attractive because of the implantation of stem cells was carried out in sub-acute phase of infarction. Further randomized studies with a larger number of patients and assessments of clinical events will help to establish the possible benefits of stem cell therapy in the sub-acute phase after AMI.

### References

- Hellermann JP, Jacobsen SJ, Redfield MM, Reeder GS, Weston SA, Roger VL. Heart failure after myocardial infarction: clinical presentation and survival. *Eur J Heart Fail* 2005;7:119-25.
- Nair V, Madan H, Sofat S, Ganguli P, Jacob MJ, Datta R, *et al.* Efficacy

- of stem cell in improvement of left ventricular function in acute myocardial infarction - MI3 trial. *Indian J Med Res* 2015;142:165-174.
- Beltrami AP, Urbaneck K, Kajstura J, Yan SM, Finato N, Bussani R, *et al.* Evidence that human cardiac myocytes divide after myocardial infarction. *N Engl J Med* 2001;344:1750-7.
- Afzal MR, Samanta A, Shah ZI, Jeevanantham V, Abdel-Latif A, Zuba-Surma EK, *et al.* Adult Bone Marrow Cell Therapy for Ischemic Heart Disease: Evidence and Insights From Randomized Controlled Trials. *Circ Res* 2015;28:117:558-75.
- Leistner DM, Fischer-Rasokat U, Honold J, Seeger FH, Schächinger V, Lehmann R, *et al.* Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI): final 5-year results suggest long-term safety and efficacy. *Clin Res Cardiol* 2011;100:925-34.
- Wollert KC, Meyer GP, Lotz J, Ringes-Lichtenberg S, Lippolt P, Breidenbach C, *et al.* Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomised controlled clinical trial. *Lancet* 2004;364:141-8.
- Tendera M, Wojakowski W, Rużyło W, Chojnowska L, Kepka C, Tracz W, *et al.* Intracoronary infusion of bone marrow-derived selected CD34+CXCR4+ cells and non-selected mononuclear cells in patients with acute STEMI and reduced left ventricular ejection fraction: results of randomized, multicentre Myocardial Regeneration by Intracoronary Infusion of Selected Population of Stem Cells in Acute Myocardial Infarction (REGENT) Trial. *Eur Heart J* 2009;30:1313-21.
- Li SH, Lai TY, Sun Z, Han M, Moriyama E, Wilson B, *et al.* Tracking cardiac engraftment and distribution of implanted bone marrow cells: Comparing intra-aortic, intravenous, and intramyocardial delivery. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2009;137:1225-33.
- Hou D, Youssef EA, Brinton TJ, Zhang P, Rogers P, Price ET, *et al.* Radiolabeled cell distribution after intramyocardial, intracoronary, and interstitial retrograde coronary venous delivery: implications for current clinical trials. *Circulation* 2005;30:112:1150-6.
- Qi Z, Duan F, Liu S, Lv X, Wang H, Gao Y, *et al.* Effects of Bone Marrow Mononuclear Cells Delivered through a Graft Vessel for Patients with Previous Myocardial Infarction and Chronic Heart Failure: An Echocardiographic Study of Left Ventricular Function. *Echocardiography* 2015;32:937-46.
- Duan F, Qi Z, Liu S, Lu X, Wang H, Gao Y, *et al.* Effectiveness of bone marrow mononuclear cells delivered through a graft vessel for patients with previous myocardial infarction and chronic heart failure: an echocardiographic study of left ventricular remodeling. *Med Ultrason* 2015;17:2:160-6.
- Patel AN, Geffner L, Vina RF, Saslavsky J, Urschel HC Jr, Kormos R, *et al.* Surgical treatment for congestive heart failure with autologous adult stem cell transplantation: a prospective randomized study. *Thorac Cardiovasc Surg* 2005;130:6:1631-8.
- Ang KL, Chin D, Leyva F, Foley P, Kubal C, Chalil S, *et al.* Randomized, controlled trial of intramuscular or intracoronary injection of autologous bone marrow cells into scarred myocardium during CABG versus CABG alone. *Nature Clinical Practice* 2008;5:663-70.
- Frantz S, Bauersachs J, Ertl G. Post-infarct remodelling: contribution of wound healing and inflammation. *Cardiovasc Res* 2009;81:474-81.
- Laflamme MA, Chen KY, Naumova AV, Muskheli V, Fugate JA, Dupras SK, *et al.* Cardiomyocytes derived from human embryonic stem cells in pro survival factors enhance function of infarcted rat hearts. *Nat Biotechnol* 2007;25:1015-24.
- Gonzales C, Pedrazzini T. Progenitor cell therapy for heart disease. *Exp Cell Res* 2009;315:3077-85.
- Windecker S, Kolh P, Alfonso F, Collet JP, Cremer J, Falk V, *et al.* 2014 ESC/EACTS Guidelines on myocardial revascularization. *Eur Heart J* 2014;35:2541-9.
- Penicka M, Widimsky P, Kobyłka P, Kozak T, Lang O. Early Tissue Distribution of Bone Marrow Mononuclear Cells After Transcatheter Transplantation in a Patient With Acute Myocardial Infarction. *Circulation* 2005;112:e63-5.
- Zhang H, Song P, Tang Y, Zhang XL, Zhao SH, Wei YJ, *et al.* Injec-

- tion of bone marrow mesenchymal stem cells in the borderline area of infarcted myocardium: Heart status and cell distribution. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2007;134:1234-40.
20. Fernández-Avilés F, San Román JA, García-Frade J, Fernández ME, Peñarrubia MJ, de la Fuente L, *et al*. Experimental and Clinical Regenerative Capability of Human Bone Marrow Cells After Myocardial Infarction. *Circ Res* 2004;95:742-8.
  21. Schächinger V, Erbs S, Elsässer A, Haberbosch W, Hambrecht R, Hölschermann H, *et al*. REPAIR-AMI Investigators. Intracoronary bone marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2006;355:1210-21.
  22. J San Roman JA, Sánchez PL, Villa A, Sanz-Ruiz R, Fernandez-Santos ME, Gimeno F, *et al*. Comparison of Different Bone Marrow Derived Stem Cell Approaches in Reperfused STEMI. A Multicenter, Prospective, Randomized, Open-Labeled TECAM Trial. *J Am Coll Cardiol* 2015;65:2372-82.

---

*Conflicts of interest.*—The authors certify that there is no conflict of interest with any financial organization regarding the material discussed in the manuscript.  
 Manuscript accepted: November 10, 2017. - Manuscript revised: October 5, 2017. - Manuscript received: July 22, 2017.

