

Trasplante de células madre de médula ósea asociado a derivación coronaria para el tratamiento de la insuficiencia cardíaca de tipo isquémico

Alfonso Rivas-Plata¹, Jorge Castillo², Marcos Pariona³, Ausberto Chunga⁴, Enrique Velarde¹, Miguel Otoyá¹, Jorge Achata¹, Hugo Ríos², Gustavo Rivara³, Francisco Rojas⁵

¹Departamento de Cirugía de Tórax y Cardiovascular

²Servicio de Hematología

³Servicio de Cardiología

⁴Servicio de Banco de Órganos e Inmunología

⁵Servicio de Anestesiología

Hospital Edgardo Rebagliati Martins. Lima, Perú

Introducción. El trasplante celular consiste en la inyección de células madre de médula ósea en los bordes de la zona fibrótica del infarto con la finalidad de promover el desarrollo de angiogénesis para mejorar la capacidad funcional de los pacientes con insuficiencia cardíaca.

Métodos. De junio de 2004 a julio de 2006, 28 pacientes con infarto de miocardio previo y fracción de eyección (20-30%) fueron operados en el Departamento de Cirugía de Tórax y Cardiovascular del Hospital Edgardo Rebagliati Martins. En 17 de ellos se realizó derivación coronaria (DC) asociada a trasplante de células madre de médula ósea (grupo de estudio), y en 11 se realizó DC (grupo control). Las células madre fueron implantadas en las zonas periinfarto sin viabilidad miocárdica y las DC fueron colocadas en las zonas viables.

Resultados. El índice de contractilidad pre y postoperatorio fue de 2,17-2,25 y de 2,19-1,60 en el grupo control y estudio, respectivamente. La fracción de eyección se incrementó en 8,6 y 56,4% del basal en el grupo control y de estudio ($p = 0,007$). La clase funcional de la NYHA mejoró de 3,0 a 2,3 y de 3,2 a 1,6 en el grupo control y estudio, respectivamente ($p = 0,024$).

Conclusiones. El trasplante de células madre asociado a DC en pacientes con infarto de miocardio previo mejora significativamente la función ventricular izquierda en relación con el grupo control, y podría retrasar o evitar la indicación del trasplante cardíaco.

Bone-marrow stem-cell transplantation associated to coronary artery bypass in the treatment of ischemic congestive heart failure

Introduction. Cell transplantation consists is injection of bone-marrow stem-cells injection into the fibrotic border of an infarcted area, in order to promote angiogenesis for improvement of the functional capacity in patients with cardiac failure.

Methods. From June 2004 to July 2006, 28 patients with previous myocardial infarction and ejection fraction (20-30%) were operated at the Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery - Edgardo Rebagliati Hospital. In 17, coronary artery bypass grafts (CABG) associated to bone-marrow stem-cells transplantation (study group) and in 11 CABG (control group) were performed. The stem-cells were implanted in the peri-infarction non-viable myocardium and CABG in the viable myocardium.

Results. The pre and postoperative contractile index was 2.17-2.25 and 2.19-1.60 in the control and study group, respectively. The ejection fraction improved in 8.6 and 56.4% of the baseline in the control and study groups ($p < 0.007$). NYHA functional class improved from 3.0 to 2.3 and from 3.2 to 1.6 in the control and study groups, respectively ($p = 0.0024$).

Conclusions. Stem-cell transplantation associated to CABG in patients with previous myocardial infarction improves the left ventricular function in relation to the control group, and could delay or avoid heart transplantation.

Correspondencia:
Alfonso Rivas-Plata
Avda. La Floresta, 395-101
33 Lima, Perú
E-mail: cvserv@dnet.com.pe

Recibido: 26 julio 2007
Aceptado: 8 octubre 2008

Palabras clave: Insuficiencia cardíaca. Derivación coronaria. Células madre.

Key words: Heart failure. Coronary artery bypass graft. Stem-cells.

INTRODUCCIÓN

La insuficiencia cardíaca (IC) es causa importante de morbilidad y mortalidad. En EE.UU. 5 millones de personas tienen este diagnóstico y 500.000 nuevos casos son diagnosticados cada año¹. La IC es altamente prevalente en los ancianos, entre el 6-10% de los mayores de 65 años tienen esta enfermedad² y alrededor del 80% de los pacientes hospitalizados por IC descompensada tienen más de 65 años³. La enfermedad coronaria es el diagnóstico primario en aproximadamente dos tercios de los pacientes con IC y disfunción sistólica.

El concepto clásico que considera al corazón adulto como un órgano posmitótico está siendo fuertemente cuestionado por información proveniente de estudios experimentales y clínicos que demuestran que el corazón adulto tiene capacidad de regenerarse^{4,5}. Las células madre hematopoyéticas son las más estudiadas hasta ahora, y se ha demostrado que pueden diferenciarse en tejido muscular esquelético⁶, hepático⁷, cerebral⁸ y miocárdico⁹. Actualmente se acepta que existen células madre cardíacas que generan nuevos miocitos en respuesta a estímulos fisiológicos y patológicos.

El uso del trasplante de mioblastos en humanos fue comunicado por primera vez por Menasché, et al., en 2001¹⁰. Desde entonces se han publicado estudios que confirman la eficacia y seguridad de los procedimientos de implante celular, tanto con células madre de médula ósea como con mioblastos, con resultados promisorios a corto plazo. Los mecanismos involucrados en la diferenciación de células madre adultas en células maduras y especializadas de tejidos distintos a donde se originaron no están claros¹¹⁻¹⁴. La posibilidad de promover el desarrollo de cardiomiocitos en el corazón adulto se considera una estrategia promisoriosa en el tratamiento de IC y cardiopatía isquémica¹⁵.

En Perú, el Departamento de Cirugía de Tórax y Cardiovascular del Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins inició el programa de trasplante celular asociado a DC para pacientes con IC grave de causa isquémica en noviembre de 2004. El objetivo del presente trabajo es demostrar que el trasplante de células madre asociado a DC se asocia a una mejoría de la función ventricular en comparación con el grupo control.

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente es un estudio prospectivo y longitudinal que incluye a pacientes con IC grave postinfarto de

miocardio que fueron sometidos a DC, con o sin trasplante de células madre de médula ósea (TCMMO), en el Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins entre junio de 2004 y julio de 2006. Se compararon dos grupos: el grupo I (grupo estudio), que incluyó a los pacientes que recibieron DC y TCMMO, y el grupo II (grupo control), que recibió DC solamente. Ambos grupos tenían características clínicas similares, incluyendo el número de infartos de 2,2 para el grupo control y 2,3 para el grupo de estudio (Tabla I). Los criterios de inclusión fueron: 1) disfunción sistólica grave del ventrículo izquierdo, con fracción de eyección (FE) entre 20-30% medida por ecocardiografía y ventriculografía isotópica; 2) infarto de miocardio previo con zonas acinéticas no viables demostradas por ecocardiografía de esfuerzo con dobutamina y SPECT con talio-201; 3) indicación concomitante de DC en zonas de miocardio viable, y 4) IC en grado funcional III-IV (NYHA).

Los criterios de exclusión fueron: 1) episodio previo de taquicardia/fibrilación ventricular; 2) infarto de miocardio de menos de 4 semanas; 3) enfermedad infecciosa activa; 4) cáncer, y 5) índice de volumen sistólico final superior a 100 cc/m². Se administró una infusión de levosimendan en las 24 h previas a la cirugía. El estudio fue aprobado por el comité de ética hospitalario y todos los pacientes firmaron un consentimiento informado.

Las variables estudiadas fueron: índice de contractilidad por ecocardiografía, fracción de eyección y clase funcional NYHA.

Preparación de las células madre

Inmediatamente antes de la cirugía y durante la inducción anestésica, se realizó aspirado de médula ósea de las crestas ilíacas en los pacientes del grupo de estudio. El aspirado se realizó utilizando jeringas impregnadas con solución de heparina (5.000 U/cc) y fue diluido inmediatamente con un volumen igual de medio de HANKS (Hyclone HyQ HBBS/modificado). Los hematíes fueron eliminados mediante centrifugación por gradiente de densidad luego de añadirle un volumen igual de solución Ficoll (Lymphoprep™) densidad 1.077 g/ml a 20 °C durante 20 min. Las células lavadas con medio de HANKS fueron centrifugadas a 1.000 rpm durante 10 min. Las células de médula ósea fueron resuspendidas en 6 ml de medio y colocadas en jeringas de 0,2 ml BD Ultra-fine II (aguja 27).

TABLA I. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS PREOPERATORIAS DEL GRUPO CONTROL Y GRUPO ESTUDIO

	Grupo control	Grupo estudio	p
	DAC	DAC + Células madre	
Edad (años ± SD)	67,5 ± 7	68,2 ± 6,4	NS
Sexo masculino (%)	100	94,6	NS
Hipertensión (%)	100	100	NS
Diabetes mellitus (%)	62,5	72,2	NS
Insuficiencia mitral leve	6	8	NS
Dislipemia (%)	50	66,6	NS
Tabaco	75	77,7	NS
Clase funcional NYHA	3 ± 0,5	3,2 ± 0,5	0,682
Fracción de eyección (%)	29 ± 2	26,4 ± 4	0,131
Infartos/paciente	2,2	2,3	NS
Anastomosis/paciente	2,5	2,6	NS

Inyección intramiocárdica de células madre de médula ósea

Se usó cardioplejía sanguínea normotérmica anterógrada y retrógrada y reperfusión con glutamato/aspartato en todos los pacientes durante la DC. En el grupo estudio, luego de finalizar la DC y abandonar la circulación extracorpórea, se aplicaron de 10-15 inyecciones de células madre de médula ósea en los bordes de las áreas de miocardio no viable de manera oblicua usando una aguja n.º 27, se usó el dispositivo Starfish (Medtronic Inc, Minneapolis, USA) durante la inyección de las células para evitar hipotensión y obtener una mejor hemodinámica ventricular.

Seguimiento

En ambos grupos se realizó un control mensual de ecocardiograma y un control trimestral de SPECT con talio-201.

Análisis estadístico

Las variables continuas son presentadas como la media ± DS. Las comparaciones estadísticas entre los grupos estudio y control fueron hechas mediante la prueba t de Student o pruebas no paramétricas como el test de Mann-Whitney. Las diferencias entre las variables de dos grupos fueron evaluadas por una prueba t para muestras independientes. Un valor de p inferior a 0,05 fue considerado estadísticamente significativo.

RESULTADOS

Entre junio de 2004 y julio de 2006, 17 pacientes con disfunción sistólica grave del ventrículo izquierdo post-infarto de miocardio fueron sometidos a DC y TCMMO (grupo estudio), mientras que 11 pacientes con caracte-

rísticas clínicas similares recibieron DC solamente (grupo control) (Tabla I).

Se aspiró un volumen promedio de 272 ml de médula ósea (90-420 ml), luego del proceso de leucoconcentración se obtuvo un producto final de 6 ml, el cual contenía $357,64 \times 10^6$ células mononucleares ($93-1.300 \times 10^6$) con $6,8 \times 10^6$ células CD34+ ($0,53-17,06 \times 10^6$) y una viabilidad del 98% (65-100%).

Se realizaron 44 anastomosis en el grupo estudio con un promedio de 2,6 anastomosis por paciente, cinco con mamaria interna a descendente anterior y 39 con vena safena, 10 a descendente anterior, seis a diagonales, 14 a marginales, tres a coronaria derecha, cinco a descendente posterior y una a ventricular posterior. Se realizaron tres endarterectomías, dos a coronaria derecha y una a descendente anterior. Se realizaron 27 anastomosis, con un promedio de 2,5 anastomosis/paciente en el grupo control, siete con mamaria interna izquierda a descendente anterior, una con mamaria interna derecha a coronaria derecha y 19 con vena safena, dos a descendente anterior, dos a diagonales, nueve a marginales, tres a coronaria derecha, dos a descendente posterior y una a ventricular posterior (Tabla II). El volumen sistólico final en el grupo de estudio en reposo fue de 128,18 ml en el preoperatorio y de 114,28 ml en el postoperatorio (variación del 12,72%), siendo el volumen sistólico final al esfuerzo de 134,2 ml en el preoperatorio y de 112,11 ml en el postoperatorio (variación de 16,46%) (Fig. 2). La incidencia de insuficiencia mitral leve fue de 6/11 pacientes en el grupo control (54,5%) frente a 4/17 en el grupo de estudio (23,5%). La mortalidad en el grupo control fue de 18,1% (2/11) por insuficiencia cardíaca y de 11,7% (2/17) en el grupo de estudio por causas no cardíacas, una por cáncer de colon y otra por accidente cerebrovascular, siendo la sobrevivencia de 88% (15/17) y 82% (9/11) para los grupos de estudio y control, respectivamente, a los 15 y 16 meses. No hubo complicaciones relacionadas con el aspirado de médula ósea, la cirugía cardíaca, o durante el implante de las células madre. Todos los pacientes tuvieron una evolución satisfactoria, con una estadía promedio en cuidados intensivos de 3 ± 2 días.

En el grupo estudio la FE promedio se incrementó en 16/17 pacientes, un 56,4% ($26,4 \pm 4\%$ a $41,3 \pm 11,5\%$), y en el grupo control la FE promedio aumentó sólo 8,6% ($29 \pm 2\%$ a $31,5 \pm 4,3\%$), siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p = 0,007$) (Fig. 3). La clase funcional de IC (NYHA) mejoró en el grupo estudio de 3,2 a 1,6, la cual fue estadísticamente significativa con respecto a la obtenida en el grupo control, de 3 a 2,3 ($p = 0,024$) (Fig. 4).

Los estudios comparativos de SPECT con talio-201 mostraron notable mejoría de la perfusión en las zonas con defectos fijos antes de la cirugía en los pacientes

TABLA II. ANASTOMOSIS CORONARIAS

Control 27		Estudio 44	
MII-DA	7	MII-DA	5
MID-CD	1	VS-DA	10
VS-DA	2	VS-DG	6
VS-DG	2	VS-MG	14
VS-MG	9	VS-CD	3
VS-CD	3	VS-DP	5
VS-DP	2	VS-VP	1
VS-VP	1		
Promedio/paciente	2,5	Promedio/paciente	2,6

MII: mamaria interna izquierda; MID: mamaria interna derecha; DA: descendente anterior; VS: vena safena; DG: diagonal; MG: marginal; DP: descendente posterior; CD: coronaria derecha; VP: ventricular posterior.

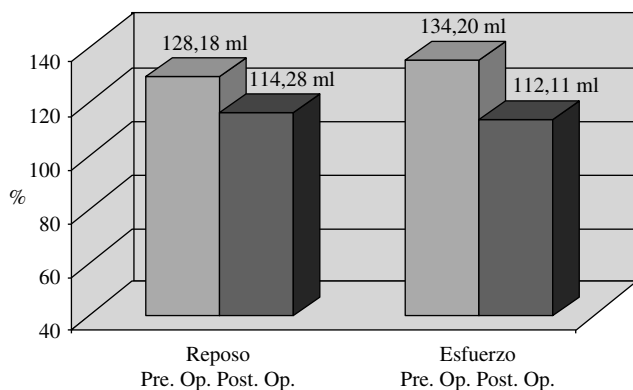


Figura 2. Volumen sistólico final VI.

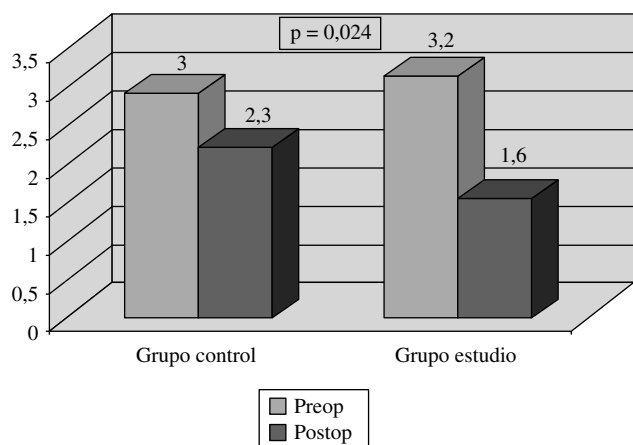


Figura 4. Comparación de la mejoría en la clase funcional (NYHA) entre el grupo control y estudio.

con DC y TCMMO. Asimismo los controles ecocardiográficos mostraron mejoría en la motilidad regional en las zonas previamente acinéticas, siendo la variación del índice de contractilidad de 2,17 a 2,25 en el grupo control y de 2,19 a 1,60 en el grupo de estudio en el pre y postoperatorio, respectivamente ($p = 0,003$) (Fig. 1).

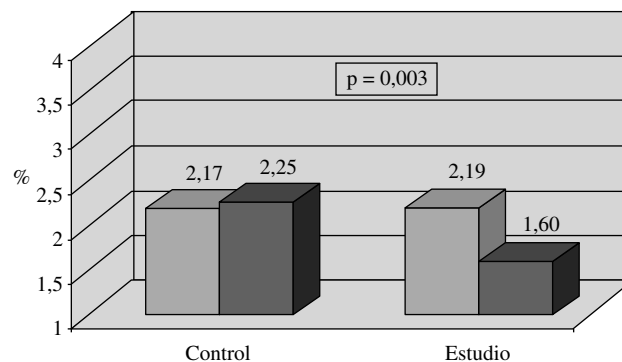


Figura 1. Índice de contractilidad VI.

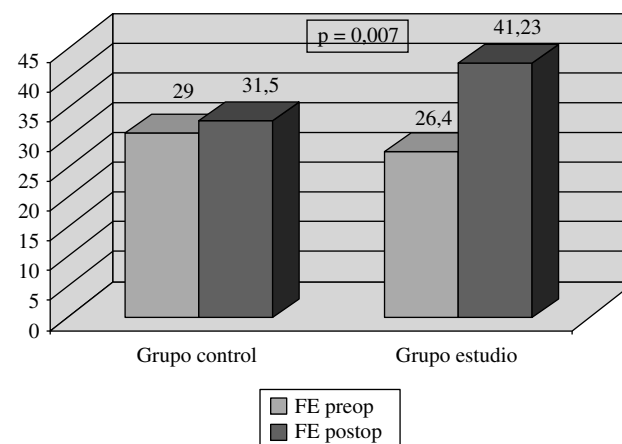


Figura 3. Comparación del incremento de la FE entre los grupos control y estudio.

No se presentaron complicaciones significativas durante el seguimiento tales como arritmias u otras.

DISCUSIÓN

La DC asociada a TCMMO está despertando interés en varios grupos quirúrgicos a nivel mundial, sin embargo, hay pocos estudios publicados de esta nueva técnica quirúrgica en la literatura. En el presente trabajo, todos los pacientes del grupo estudio tenían infartos de miocardio previos y disfunción sistólica grave del ventrículo izquierdo (FE: 20-30%). Las células madre fueron inyectadas en los bordes del miocardio acinético, no viable, y las DAC en las zonas isquémicas viables.

Patel, et al.¹⁶ aspiraron un volumen promedio de médula ósea de 550 ml, a diferencia de Michael, et al.¹³, que comunicaron un volumen promedio de 128 ml. En el presente estudio se aspiró un volumen promedio de 272 ml. Esta amplia variación del volumen de aspirado de médula ósea en diferentes estudios demuestra que el volumen, así como el número de células a trasplantar, para obtener éxito con esta técnica es todavía desconocido,

inclusive, el tipo de célula madre más apropiado para el trasplante es desconocido. Por esta razón, usamos el *pool* completo de células mononucleares en nuestra serie.

La significativa mejoría de la FE observada en el presente trabajo es similar a la obtenida por Patel, et al.¹⁶, que comunicaron un incremento de la FE en el grupo con TCMMO y DAC de 56,8%, en contraste con un incremento de 21,2% de la FE del grupo control (sólo DC), en un seguimiento a 6 meses ($p < 0,01$). Asimismo, Stamm, et al.¹⁷ comunican una significativa mejoría en la FE, de 39,7-48,7% ($p = 0,007$) luego de la realización de DC, conjuntamente con la inyección intramiocárdica de células CD133+. Al igual que en nuestra serie, ambos estudios no comunican efectos adversos serios durante la cirugía o el seguimiento.

Los mecanismos involucrados en la mejoría de la función cardíaca han sido postulados en tres hipótesis: 1) miogénesis, lo que implica la generación de nuevos cardiomiocitos a partir de las células implantadas mediante mecanismos de plasticidad o fusión. Sin embargo, no ha sido posible aún demostrar la formación de nuevos cardiomiocitos en cantidad suficiente para explicar el efecto benéfico en la función cardíaca; 2) angiogénesis. Aunque este mecanismo ha sido probado en diferentes estudios, no puede por sí mismo explicar la regeneración observada en las áreas de miocardio no viable, y 3) el efecto paracrino que las células trasplantadas tendrían sobre las células miocárdicas. Estos efectos estarían mediados por citocinas y factores de crecimiento segregados por las células trasplantadas, y permitirían el reclutamiento de células madre cardíacas y estimularían su replicación para regenerar y reparar las células miocárdicas dañadas; además prevendrían la apoptosis miocárdica y tendrían efecto antiinflamatorio.

Aunque los resultados iniciales del TCMMO asociado a DC muestran una significativa mejoría en la función y perfusión miocárdica, más estudios clínicos son necesarios para confirmar la seguridad y eficacia del procedimiento y comprender los mecanismos implicados en los efectos benéficos observados en el presente estudio.

CONCLUSIONES

El TCMMO asociado a DC es una técnica segura y efectiva en pacientes con disfunción sistólica grave del

ventrículo izquierdo (FE 20-30%) con una significativa mejoría en la función y perfusión miocárdica, así como en la calidad de vida de los pacientes. Finalmente, el éxito de esta promisoriosa técnica quirúrgica podría retrasar o evitar el trasplante cardíaco.

BIBLIOGRAFÍA

- Hunt SA, Abraham WT, Chin MH, et al. ACC/AHA 2005 Guideline update for the diagnosis and management of chronic heart failure in the adult. *Circulation*. 2005;112:154-235.
- Kannel WB. Epidemiology and prevention of cardiac failure: Framingham study insights. *Eur Heart J*. 1987;8 Suppl F:23-6.
- Haldeman GA, Croft JB, Giles WH, Rashidee A. Hospitalization of patients with heart failure: National Hospital Discharge Survey, 1985 to 1995. *Am Heart J*. 1999;137:352-60.
- Anversa P, Kajstura J. Ventricular myocytes are not terminally differentiate in the adult mammalian heart. *Circ Res*. 1998;83:1-14.
- Beltrami AP, Urbanek K, Kajstura J, et al. Evidence that human cardiac myocytes divide after myocardial infarction. *N Engl J Med*. 2001;344:1750-7.
- Ferrari G, Cusella-De Angelis G, Coletta M, et al. Muscle regeneration by bone marrow derived myogenic progenitors. *Science*. 1998;279:1528-30.
- Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M, et al. Purified hematopoietic stem-cells can differentiate into hepatocytes *in vivo*. *Nat Med*. 2000;6:1229-34.
- Mezey E, Chandross KJ, Harta G, et al. Turning blood into brain: cells bearing neuronal antigens generated *in vivo* from bone marrow. *Science*. 2000;290:1779-82.
- Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature*. 2001;410:701-5.
- Menasché P, Hagège AA, Scorsin M, et al. Myoblast transplantation for heart failure. *Lancet*. 2001;357:279-80.
- Chachques JC, Herreros J, Trainini JC. Cardiomioplastia celular. *Rev Argent Cardiol*. 2003;71:138-45.
- Lago N, Trainini J, Genovese J, et al. Tratamiento de la disfunción ventricular postinfarto mediante el cardioimplante de mioblastos autólogos. *Rev Argent Cardiol*. 2004;72:124-30.
- Michael SL, Michael L, Raj RM. Stem-cells transplantation in myocardial infarction. *Rev Cardiovasc Med*. 2004;5(2):82-98.
- Prósper F, Herreros J. Células madre adultas. *Rev Argent Cardiol*. 2004;72:68-73.
- Nadal-Ginard B. Inducción de nuevos cardiomiocitos en el corazón adulto: futuro de la regeneración miocárdica como alternativa al trasplante. *Rev Esp Cardiol*. 2001;54:543-50.
- Patel AN, Geffner L, Viña RF, et al. Surgical treatment for congestive heart failure with autologous adult stem-cell transplantation: a prospective randomised study. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2005;130:1631-8.
- Stamm C, Kleine HD, Westphal B, et al. CABG and bone marrow stem-cell transplantation after myocardial infarction. *Thorac Cardiovasc Surg*. 2004;52:152-8.