

Centro de Investigaciones Medico Quirúrgicas

## *Implante de células madre en el tratamiento del infarto agudo del miocardio*

**Dr. C. Angel Obregón Santos\***, **Dr. Mario Wilford de León\*\***, **Dr. Ronald Aroche Aportela\*\*\***, **Dra. Rosa Isla García\*\*\*\***, **Dr. Héctor Conde Cerdeira\*\*\*\*\***, **Dra. Elena Vila García\*\*\*\*\***.

- \* Especialista de 2do grado en Cardiología. Profesor Titular, Investigador Titular.  
 \*\* Especialista de 1er grado en Medicina Interna. Hematólogo. Profesor Auxiliar.  
 \*\*\* Especialista de 1er grado en Cardiología y en Medicina General Integral. Profesor Instructor.  
 \*\*\*\* Especialista de 1er grado en Inmunología. Profesor Instructor.  
 \*\*\*\*\* Especialista de 2do grado en Cardiología. Profesor Instructor.  
 \*\*\*\*\* Especialista de 1er grado en Medicina General Integral. Diplomado en Cardiopatología

### RESUMEN

Múltiples estudios demuestran la posibilidad de regeneración de los cardiomiocitos a partir de células madre. Se realiza un estudio longitudinal prospectivo observacional en pacientes que sufrieron infarto agudo del miocardio, atendidos en el servicio de urgencias del Hospital CIMEQ, en el período del 2004 hasta enero del 2007 con el objetivo de evaluar la seguridad y eficacia de la implantación intracoronaria de células madre, durante el infarto agudo del miocardio. Se incluyen pacientes con un primer infarto Q de 1 a 7 días de evolución y edades entre 18 y 70 años. Los enfermos son evaluados previo al proceder y a los 6 meses por la clínica, electrocardiograma, ecocardiograma, ergometría y coronariografía. Se coloca stent liberador de droga en la lesión culpable y se estimula la médula ósea con factor estimulante de colonias de granulocitos. Se implantan por vía intracoronaria las células mononucleares obtenidas mediante aféresis. Se han incluido siete pacientes con edad media de 49±8 años, 6 del sexo masculino. Cinco enfermos rebasan el año de seguimiento. La lesión culpable se localizó en arteria descendente anterior en cuatro pacientes, coronaria derecha en dos y circunfleja en un paciente. Al ingreso la mayoría presentó un grado e» II según Killip-Kimbal. Se implantaron entre 1.7 y 1.9 X 10<sup>6</sup> /L células mononucleadas, de ellas entre 0.8 y 1.8 % tuvieron marcador CD34+. Se obtuvo una mejoría de la función ventricular demostrado por los métodos evaluados, sin eventos cardiovasculares mayores, por lo que se concluye que la implantación por vía intracoronaria de células madre, obtenidas por aféresis, luego de estimulación de la médula ósea durante el infarto agudo del miocardio demostró ser un proceder eficaz y seguro. Palabras clave: infarto agudo del miocardio, células madre

### ABSTRACT

A lot of investigations demonstrate the possibility of regeneration of the cardiomyocyte from stem cells. A longitudinal, prospective, observational study was conducted in patients with acute myocardial infarction in CIMEQ'S hospital since January 2004 up to January 2007 with the purpose to evaluate the security and efficacy of the intracoronary transfer of autologous bone-marrow-cells during acute myocardial infarction. Patients within seven days of the onset of symptoms of a first ST-segment elevation myocardial infarction, and between 18 and 70 years old. The patients are evaluated previous to apply the procedure and 6 months for clinic, electrocardiography, echocardiography, ergometry and coronariography. The drug eluting stent is placed on the culprit lesion and the bone marrow is stimulated with granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF). The mononuclear's cells which are obtained have been implanted using the intracoronary way. The implantation by means of the intracoronary way of stem cells, after of stimulation of bone marrow during acute myocardial infarction demonstrated to be an effective and safety procedure. Key words: acute myocardial infarction, stem cells

## INTRODUCCION

La Cardiopatía Isquémica (CI), constituye la primera causa de muerte en los países industrializados al igual que en Cuba. En nuestro país ocurren más de 15, 000 fallecimientos anuales según el anuario estadístico del MINSAP publicado el pasado año.<sup>(1)</sup>

En los últimos 20 años se han alcanzado grandes progresos en la restauración del flujo al músculo cardíaco infartado, logrando restablecer y mantener permeable la arteria tratada en más del 95%. No obstante, es frecuente que aún tras la restauración de la circulación coronaria persista el daño del miocardio, resultando en la formación de una cicatriz con grados variables de disfunción ventricular.<sup>(2)</sup>

El Infarto Agudo del Miocardio (IAM) produce una pérdida aguda de miocitos en la zona afectada, los que son sustituidos por tejido conectivo<sup>(3)</sup>. Actualmente la posibilidad de inducir el desarrollo de cardiomiocitos en el corazón adulto se ha considerado como una estrategia prometedora en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, en especial de la cardiopatía isquémica<sup>(4)</sup>.

Sin embargo, las características específicas de las células cardíacas y la idea que se ha mantenido a lo largo de muchos años sobre su incapacidad para entrar en el ciclo celular y dividirse de forma activa, han hecho que este enfoque haya sido descartado<sup>(5)</sup>. Varios estudios en animales y humanos han abierto nuevos horizontes en este tema; se conoce que un IAM típico que conduce o provoca una Insuficiencia Cardíaca (IC), causa la muerte de aproximadamente un billón de cardiomiocitos<sup>(6)</sup>.

Anversa y su grupo plantean que desde el momento del nacimiento hasta la edad adulta, existe un equilibrio entre los estímulos que promueven el crecimiento de tamaño de los miocitos y los que pueden conducir a la apoptosis o muerte programada o la necrosis<sup>(7)</sup>.

La incapacidad del miocardio para generar rápidamente los miocitos que perecen por una agresión por IAM, hace imprescindible la búsqueda de una solución. Teniendo en cuenta

que la pérdida de un billón de cardiomiocitos puede provocar una IC o la muerte, ha surgido la idea de la transferencia de células al músculo cardíaco mediante diferentes métodos y entre ellos se per-

fila el aporte de Células Madre (CM), las que han mostrado su eficacia en la mejoría clínica de los pacientes tratados.

Múltiples esfuerzos se han realizado en distintas direcciones para minimizar el área dañada y devolver la funcionalidad al músculo cardíaco, dentro de las que se incluyen recientes ensayos clínicos con la novedosa opción terapéutica de infundir o inyectar nuevas células viables en el miocardio dañado como una forma de estimular la regeneración y reparación del tejido.<sup>(8-11)</sup>

Strauer y colaboradores, publicaron en Alemania en el 2002, el primer estudio en humanos de trasplante autólogo de CM provenientes de la médula ósea, en pacientes con infarto agudo del miocardio, con impresionantes resultados: a las 10 semanas se observó una disminución del tamaño del IAM, así como un incremento de la fracción de eyección ventricular, del índice cardíaco y del volumen sistólico, en comparación con los pacientes que no recibieron terapia celular. Esta mejoría de la función ventricular se atribuyó al aumento de la perfusión medida mediante isótopos radiactivos.

Se han publicado seis estudios clínicos<sup>(12-17)</sup> en los que se han utilizado las vías percutánea, intracavitaria o intramiocárdica, implantándose células mononucleadas de médula ósea, células enriquecidas en progenitores hematopoyéticos o endoteliales, o mioblastos, y los resultados se han monitorizado mediante técnicas de imagen y función, como resonancia magnética, ecocardiografía o tomografía por emisión de positrones. Todos los pacientes han recibido tratamientos adicionales además de las CM.

Dada la importancia y novedad de esta técnica terapéutica se diseñó la presente investigación con el objetivo de evaluar la seguridad y eficacia de la implantación de células madres durante el infarto agudo del miocardio por vía endovascular, en el Centro de Investigaciones Médico Quirúrgicas.

## MÉTODOS

Se realizó un estudio longitudinal, prospectivo, observacional en pacientes que sufrieron infarto agudo del miocardio, atendidos en el servicio de urgencias del Hospital CIMEQ, en el período del 2004 hasta enero del 2007.

El universo estuvo conformado por los 65 pacientes que acudieron al Cuerpo de Guardia del hospital, con diagnóstico de IAM. Se estudiaron siete pacientes que cumplieron los siguientes criterios de inclusión: edad entre 18 y 70 años, un primer infarto agudo del miocardio con elevación de ST, entre 1 y 7 días de evolución, sin contraindicaciones para intervencionismo coronario percutáneo y consentimiento informado.

Se excluyeron los pacientes tratados con angioplastia primaria, diagnóstico no confirmado de infarto agudo del miocardio con supradesnivel del ST, complicaciones mecánicas, otras enfermedades que dificulten la evaluación y el procedimiento y pacientes que se negaron a participar en el estudio.

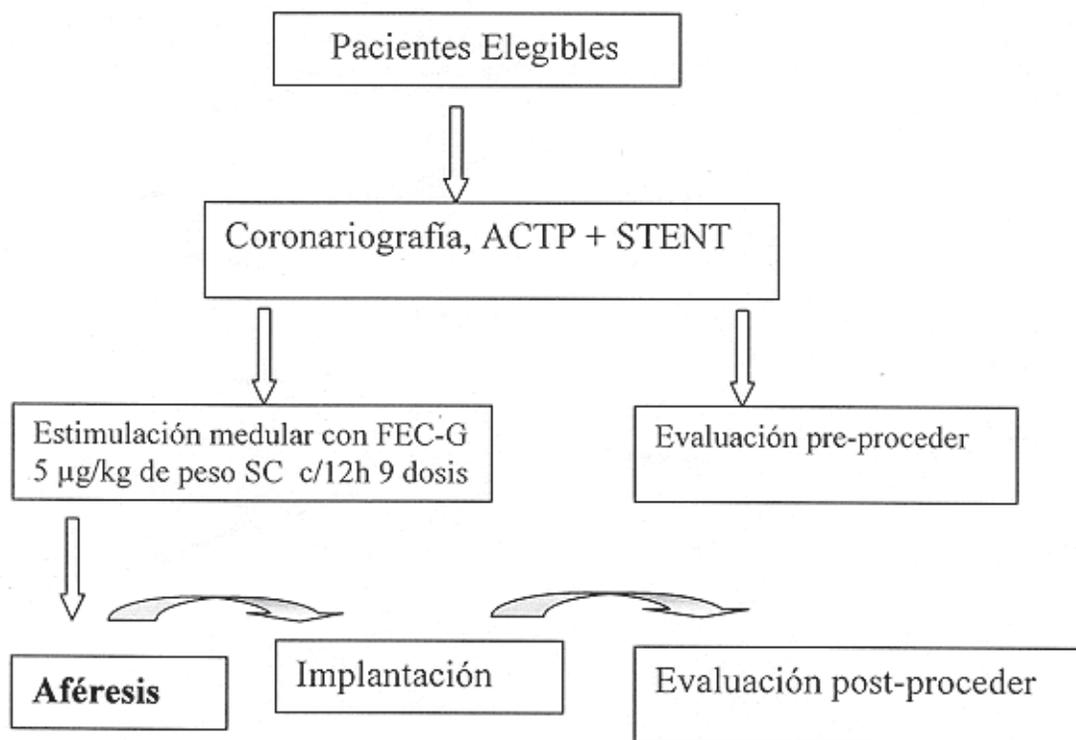
Los pacientes seleccionados fueron evaluados previo a la implantación del stent y a los seis meses por la clínica, electrocardiograma, ecocardiograma, ergometría mediante el protocolo de Bruce y coronariografía. Se implantó stent liberador de rapamacina con la técnica y medicación habitual en la arteria culpable del infarto después de haber sido elegido como paciente incluido.

El estudio angiográfico se realizó en el equipo

INTEGRIS HM 3000-PHILIPS. Se utilizó contraste yodado iónico (urografina 76 % de la Schering). Se administró factor estimulante de colonia de granulocitos a dosis de 5 µg/Kg por vía endovenosa cada 12 horas durante 5 días, hasta alcanzar un conteo de neutrófilos mayor de  $0,5 \times 10^9$  /L y de células de CD 34+ entre  $2-2,5 \times 10^6$  /L.

Se realizó aféresis de células mononucleadas en equipo, Fresenius HemoCare COM.TEC 4/11.03. El concentrado de células madre así obtenidas se diluyó en una solución de suero fisiológico y heparina no fraccionada. A través de un balón inflado dentro del stent implantado en la arteria coronaria afectada, se inyectó lentamente la solución con las células, antes de 4 horas de finalizada la aféresis.

Se analizaron las características demográficas, fracción de eyección del ventrículo izquierdo, índice de contractilidad regional, sintomatología, eventos cardiovasculares mayores (muerte, infarto, necesidad de revascularización de la lesión ya tratada, arritmias malignas) y capacidad funcional pre-procedimiento y a los seis meses de realizado el proceder. Esta investigación fue aprobada por el comité de ética del centro.



## RESULTADOS

Las características demográficas y clínicas de los pacientes se muestran en la tabla 1, en que se observa un predominio del sexo masculino y el hábito de fumar.

En relación a la localización del infarto en cuatro  
Tabla 1. Características clínicas y demográficas

Edad	49 ±8
Sexo masculino	6 (85.7 %)
HTA	4 (57.1 %)
Fumadores	5 (71.4 %)
Dislipidemias	4 (57.1%)
Diabetes Mellitus	2 (28.5%)
Clasificación KK* ? II	7 (85.7 %)

Fuente: Historias Clínicas

pacientes fue de cara anterior y en tres de cara inferior. La lesión culpable se localizó en arteria descendente anterior en cuatro pacientes, derecha en dos y circunfleja en uno.

Tras realizar el procedimiento de aféresis se obtuvo una concentración de células mononucleadas de médula ósea entre 1,7 y 1,9 x 10<sup>9</sup>/L, de ellas entre 0,8 y 1,8% tuvieron marcador CD34+. El volumen de la solución heparinizada osciló entre 10 y 12 ml (Tabla 2)

En la tabla 3 se observan las variables Fracción de Eyección de Ventrículo Izquierdo (FEVI) e Índice de Contractilidad Regional (ICR), mostrando un incremento de la FEVI a los seis meses en relación a los valores pre-proceder, con un incremento medio del 11.57% como se muestra en el gráfico 1. También el ICR fue menor en el seguimiento.

Un incremento medio del 11.57% de la FEVI se logró a los seis meses del implante como se muestra en el gráfico 1.

La capacidad funcional evaluada por ergometría mejoró durante el seguimiento en todos los casos. En la evaluación pre-proceder se encontraban en grado II-III, demostrándose que todos los pacientes alcanzaron el grado funcional I a los seis meses del procedimiento, como puede observarse en la tabla 4.

Tabla 2. Características de las células implantadas

Paciente	No. CMMM	%CD34+	Volumen inyectado (ml)
1	1.8 X 10	0.8	10
2	1.7 X 10	1.2	10
3	1.9 X 10	1.8	11
4	1.8 X 10	1.6	11
5	1.9 X 10	1.4	12
6	1.8 X 10	0.7	11
7	1.8 X 10	1.2	12

Fuente: Historias Clínicas.

CMMO: Células mononucleadas de médula ósea

Tabla 3. Evaluación de la función ventricular por ecocardiografía.

Pac.	FEVI (%)		ICR	
	Antes	6 meses	Antes	6 meses
1	39	52	1.5	1
2	55	57	1.13	1
3	43	62	1.37	1
4	53	60	1.13	1
5	48	65	1.25	1.13
6	45	54	1.37	1
7	47	55	1.29	1

Fuente: Historia Clínicas

Gráfico 1. Variación de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo

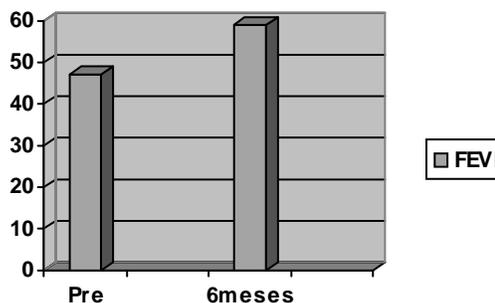


Tabla 4. Evaluación de la capacidad funcional

Paciente	Pre-procedimiento	A los 6 meses
1	III	I
2	II	I
3	II	I
4	II	I
5	II	I
6	II	I
7	II	I

El seguimiento de la evolución se ha realizado entre 8 y 32 meses. En este período no se han presentado eventos cardiovasculares mayores. La supervivencia es del 100% en todos los pacientes de la muestra.

### DISCUSIÓN

Este estudio sugiere que la implantación por vía intracoronaria de células madre autólogas movilizadas desde la médula ósea, mediante el uso de factor estimulante de colonias de granulocitos y obtenidas de la sangre periférica a través de aféresis es una técnica eficaz, factible y segura. No se presentaron complicaciones durante el ingreso hospitalario, ni durante el seguimiento a largo plazo.

Fernández Avilés y colaboradores reportan que el análisis de la evolución de los parámetros ventriculares en los pacientes sin viabilidad pudiera demostrar la posibilidad de que un tejido que se creía irreversiblemente dañado recupere su función. En nuestro estudio se demostró una mejoría en la fracción de eyección del ventrículo izquierdo, el índice de contractilidad regional y la capacidad funcional en la evaluación a los 6 meses en comparación con los valores basales, coincidiendo con la mayoría de los reportes clínicos que han utilizado una metodología similar (18-20).

El incremento de la capacidad funcional de los pacientes y la mejoría de la función ventricular a los seis meses sugieren que el implante de células madre pudiera aumentar la capacidad contráctil del miocardio.

La evolución favorable no debe atribuirse al aumento de la contractilidad de territorios basalmente normales ya que se ha observado una mejoría en el índice de contractilidad regional (expresado en una disminución de su valor absoluto) en el seguimiento, lo que indica que los territorios basalmente acinéticos han mejorado su función.

Estudios previos han mostrado que incrementos de la FEVI hasta del 4% pueden ser alcanzados cuando se reestablece la permeabilidad de la arteria coronaria infartada hasta la cuarta hora de comenzados los síntomas (21). En esta investigación no debe considerarse que los incrementos sean atribuibles a dicha causa debido a que los pacientes fueron sometidos a intervencionismo coronario percutáneo como mínimo 24 horas después del comienzo de los síntomas.

Coincidiendo con el estudio BOOST (22), la función ventricular basal de nuestros pacientes fue evaluada entre el 3er. y 5to. día siguiente a la revascularización, período en que es probable se haya recuperado la zona de miocardio aturdido. (23).

La experiencia en el uso de factor estimulante de colonias de granulocitos en pacientes con infarto agudo del miocardio estuvo limitada a pocos trabajos (24) hasta la publicación del estudio MAGIC (25) que reportó un incremento de la reestenosis intrastent. Nuestro grupo de investigación a diferencia del citado reporte no ha encontrado necesidad de revascularización repetida de la lesión tratada en ningún caso, lo cual atribuimos a la utilización de stent liberador de rapamicina. Estos resultados coinciden con los estudios previos que reportan bajo índice de arritmias y complicaciones cardiovasculares mayores (9,10,17-19).

### Conclusiones

En conclusión parece ser que la aplicación de la terapia celular intracoronaria basada en la estimulación de médula ósea mediante FEVG es un tratamiento factible, seguro y eficaz para el infarto agudo del miocardio. Es necesario la realización de investigaciones clínicas aleatorizadas en el implante de células madre intracoronaria como tratamiento del infarto agudo del miocardio, que respondan a muchas cuestiones prácticas que aún están sin respuestas.

Esta investigación es la primera que se hace en nuestro país utilizando la vía percutánea para la implantación intracoronaria de CM y a partir de ella podremos incorporar otros hospitales de Cuba que cumplan las condiciones para la realización de un estudio multicéntrico con el objetivo de evaluar la eficacia de esta técnica.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. MINSAP. Anuario estadístico, La Habana, 2006.
2. Giugliano RP, Braunwald E. Selecting the best reperfusion strategy in ST-elevation myocardial infarction: it's all a matter of time. *Circulation* 2003;108:2828-30.
3. Barrera JDS, Rivas EE, Alvarez JAG, Hernández RG. Rehabilitación cardíaca en el anciano. *Rev Cubana Cardiol Cir Cardiovas* 2001; 15 (1): 31-5.
4. Nadal-Ginard B. Inducción de nuevos cardiomiocitos en el corazón adulto: futuro de la regeneración miocárdica como alternativa al trasplante. *Rev Esp Cardiol* 2001;54:543-550.
5. Anversa P, Palackal T, Sonnenblick EH, Olivetti G, Meggs LG, Capasso JM. Myocyte cell loss and myocyte cellular hyperplasia on the hypertrophied aging rat heart. *Circ Res* 1990;67:871-885.
6. Jessup M, Arozena S. Heart Failure. *N Engl J Med* 2003; 348 (20):2007-2018.
7. Endo T, Nadal Ginard B, Reversal of myogenic terminal differentiation by SV 40 large T antigen results in mitosis and apoptosis. *J Cell Sci* 1998; 111: 1081-1093.
8. Assmus B, Schachinger V, Teupe C, et al. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI). *Circulation* 2002; 106:3009-17.
9. Schachinger V, Assmus B, Britten MB, et al. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction: final one-year results of the TOPCARE-AMI Trial. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44:1690-1699.
10. Assmus B, Honold J, Schachinger V et al. Transcoronary transplantation of Progenitor Cells in Patients with Persistent Left Ventricular Dysfunction after Myocardial Infarction: A Randomized Controlled Trial (TOPCARE-CHD). *Circulation* 2005; 112 (Suppl II):II-632.
11. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S et al. Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98: 10344-49.
12. Strauer BE, Brehm M, Zeus T, Kosterling M, Hernández A, Sorg RV, et al. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in human. *Circulation* 2002;106:1921-1925.
13. Stamm C, Westphal B, Kleine HD, Petzch M, Kittner H, et al. Autologous bone-marrow stem cell transplantation for myocardial regeneration. *Lancet* 2003; 361:45-6.
14. Tse hf, Kwong YL, Chan JK, Lo G, Ho CL, Lau CP. Angiogenesis in ischaemic myocardium by intramyocardial autologous bone marrow mononuclear cell implantation. *Lancet* 2003; 361:47-9
15. Menasche 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; 41: 1078-83.
16. Pagani FD, Dersimonian H, Zawadzka A, Wetzel K, Edge ASB, Jacoby DB, et al. Autologous skeletal myoblasts transplanted to ischemia-damaged myocardium in humans. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41 879-88.
17. Kang HJ, Kim HS, Zhang SY et al Effects of intracoronary infusión of peripherals 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 randomised clinical trial. *Lancet* 2004; 363: 765-675.
18. Avilés FF, San Román JA, García FJ, Valdés M, Sánchez A, de la Fuente L, et al. Regeneración miocárdica mediante la implantación intracoronaria de células madre en el infarto agudo del miocardio. *Rev Esp Cardiol* 2004; 57:201-208.
19. 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(1):92-5.
20. Montalescot G, Barragan P, Wittemberg O, Platelet glycoprotein IIb/IIIa inhibition with coronary stenting for acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2001; 344:1895-903.
21. Stone GW, Grines CL, Cox DA, et al. Comparison of angioplasty with stenting, with or without abciximab in acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2002; 346:957-66.
22. Wollert CK, 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; 364:141-148.
23. Braunwald E, Kloner RA. The stunned myocardium: prolonged, postischemic ventricular dysfunction. *Circulation* 1982; 66:1146-49.
24. Assmus B, Schachinger V, Teupe C, Britten M, Lehmann R, Dobert N, et al. Transplantation of progenitor

cells and regeneration enhancement in acute myocardial infraction (TOPCARE-AMI). *Circulation* 2002; 106:3009-17.

25. Kang HJ, Kim HS, Zhang SY et al Effects of intracoronary infusión of peripherals 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 randomised clinical trial. *Lancet* 2004;