

Revascularización miocárdica biológica complementaria a la revascularización miocárdica quirúrgica convencional.

Comunicación preliminar de estudio prospectivo de casos y controles, randomizado y doble ciego

Dres. Gabriel Lorier^{}, Cristina Touriño[†], Ismael Rodríguez[‡], Lilián Díaz[§], Mariella Lujambio[¶], Silvia Mato^{††}, Rodolfo Ferrando^{‡‡}, Alexandra Sujanov^{§§}, Daniel Leal^{¶¶}, Adriana Quagliata^{†††}, Luis Liguera^{‡‡‡}, Víctor Dayan^{§§§}, Gabriel Parma^{¶¶¶}, Martha Nese^{††††}, Jorge Decaro^{‡‡‡‡}, Álvaro Lorenzo^{§§§§}, Ricardo Roca^{¶¶¶¶}*

* Prof. Adjunto del Servicio de Cirugía Cardíaca. Hospital de Clínicas. Facultad de Medicina, Universidad de la República. Uruguay.

† Profesora Agregada del Departamento Básico de Medicina. Hospital de Clínicas. Facultad de Medicina, Universidad de la República. Uruguay.

‡ Profesor Agregado del Departamento de Hemoterapia. Hospital de Clínicas. Facultad de Medicina, Universidad de la República. Uruguay.

§ Profesora Agregada de la Cátedra de Hematología. Hospital de Clínicas. Facultad de Medicina, Universidad de la República. Uruguay.

¶ Profesora Adjunta de la Cátedra de Cardiología. Hospital de Clínicas. Facultad de Medicina, Universidad de la República. Uruguay.

†† Cardióloga Ecografista del Servicio de Ecocardiografía. Dr. R. Canessa. Hospital Italiano. Uruguay.

‡‡ Profesor Adjunto Servicio de Medicina Nuclear. Hospital de Clínicas. Facultad de Medicina, Universidad de la República. Uruguay.

§§ Ex Ayudante del Departamento Básico de Medicina. Hospital de Clínicas. Facultad de Medicina, Universidad de la República. Uruguay.

¶¶ Asistente del Departamento Básico de Medicina. Hospital de Clínicas. Facultad de Medicina, Universidad de la República. Uruguay.

††† Asistente del Departamento de Medicina Nuclear. Hospital de

Clínicas. Facultad de Medicina, Universidad de la República. Uruguay.

‡‡‡ Residente del Servicio de Cirugía Cardíaca. Hospital de Clínicas. Facultad de Medicina, Universidad de la República. Uruguay.

§§§ Residente del Servicio de Cirugía Cardíaca. Hospital de Clínicas. Facultad de Medicina, Universidad de la República. Uruguay.

¶¶¶ Residente del Departamento de Cardiología. Hospital de Clínicas. Facultad de Medicina, Universidad de la República. Uruguay.

†††† Profesora de la Cátedra de Hematología. Hospital de Clínicas. Facultad de Medicina, Universidad de la República. Uruguay.

‡‡‡‡ Profesor del Departamento de Hemoterapia. Hospital de Clínicas. Facultad de Medicina, Universidad de la República. Uruguay.

§§§§ Profesor del Servicio de Cirugía Cardíaca. Hospital de Clínicas. Facultad de Medicina, Universidad de la República. Uruguay.

¶¶¶¶ Profesor del Departamento Básico de Medicina. Hospital de Clínicas. Facultad de Medicina, Universidad de la República. Uruguay.

(*†) Se deja constancia que ambos autores colaboraron de igual manera en la elaboración de este trabajo.

Correspondencia: Dr. Gabriel Lorier
Francisco Muñoz 3362/701, Montevideo, Uruguay.

Correo electrónico: glorier@hc.edu.uy

Recibido: 28/4/08.

Aceptado: 27/10/08.

Resumen

Introducción: *la revascularización miocárdica quirúrgica (RVMQ) incompleta es un factor determinante en la reaparición precoz de angina y determina una menor supervivencia para los pacientes.*

Objetivo: *el objetivo del presente trabajo es evaluar la eficacia perfusional de la terapia angiogénica celular con células derivadas de la médula ósea (CMO) autólogas por inyección directa intramiocárdica complementaria a la RVMQ convencional.*

Material y método: *la evaluación perfusional luego de la cirugía se realiza a los tres, seis y 12 meses mediante SPECT y ecocardiograma Doppler Tisular-Strain (DTI-Strain).*

Resultados: *en esta comunicación preliminar (precedida por ocho casos pilotos) se reportan resultados de cuatro pacientes (dos casos y dos controles) que completaron el seguimiento al tercer mes, teniendo todos oclusión crónica de coronaria derecha (CD) sin recanalización, fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) media de 50%. En los territorios de la descendente posterior (DP) y posterolateral (PL) de CD se inyectó un promedio de $5,7 \times 10^6$ células CD34+ autólogas en un volumen promedio de 5 ml por territorio. En el control perfusional con SPECT al tercer mes de los casos se registró un incremento perfusional en los territorios inyectados de aproximadamente 10%. En los controles, los sectores miocárdicos no revascularizados tuvieron un decremento perfusional en promedio de 3%. En el DTI-Strain se observó mejoría de los valores en todas las muestras estudiadas en el caso con FEVI conservada, y peoría en el caso con FEVI en rango inferior.*

La terapia celular angiogénica con CMO autólogas por vía intramiocárdica tiene beneficios perfusionales, es una técnica factible y segura complementaria al tratamiento quirúrgico.

Palabras clave: ISQUEMIA MIOCÁRDICA - terapia.
REVASCULARIZACIÓN MIOCÁRDICA - métodos.
TERAPIA CELULAR.
MÉDULA ÓSEA.

Key words: MYOCARDIAL ISCHEMIA - therapy.
MYOCARDIAL REVASCULARIZATION - methods.
CELL THERAPY.
BONE MARROW.

Introducción

Según datos del Fondo Nacional de Recursos (FNR) en nuestro país se realizan más de 1.400 revascularizaciones miocárdicas quirúrgicas (RVMQ) anuales en personas mayores de 40 años⁽¹⁾. La supervivencia y reaparición de angina a los 15 años, luego de la cirugía de RVMQ es de 60% y 63%, respectivamente⁽²⁾.

La RVMQ incompleta, definida como imposibilidad técnica de ejecución de puentes coronarios, debido a oclusión sin recanalización de una de las coronarias, es un factor determinante en la reaparición precoz de angina⁽³⁾. La imposibilidad técnica de realizar una RVMQ completa es un problema quirúrgico aún no resuelto. La RVMQ incompleta fundamenta nuestra línea de investigación en terapia angiogénica celular cardiovascular con células derivadas de la médula ósea (CMO) autólogas como tratamiento coadyuvante a la RVMQ convencional, es decir, permitir crear nuevos vasos de circulación colateral en

territorios donde no existe factibilidad técnica de realizar puentes coronarios por oclusión de los mismos.

El desarrollo de neovascularización es una respuesta fisiológica a la isquemia crítica mantenida y varios estudios muestran que este proceso es regulado por el infiltrado de células circulantes, incluyendo progenitores endoteliales derivados de la médula ósea (MO). La MO ha cobrado gran interés en los últimos años debido al nuevo concepto de plasticidad, haciendo que sea la fuente de elección para procedimientos de terapia celular por su fácil acceso y por ser fuente de células troncales multipotenciales⁽⁴⁾.

La terapia angiogénica cardiovascular promueve el desarrollo de vasos sanguíneos colaterales mejorando la perfusión del tejido isquémico, mediante la inducción de estímulos endógenos o en respuesta a la administración exógena de factores de crecimiento⁽⁵⁾ o células.

Diversos estudios clínicos controlados en terapia angiogénica celular en la cardiopatía isquémica, permiten

extraer las siguientes conclusiones generalizables:

- es una alternativa factible y segura;
- la vía intramiocárdica ofrece la mayor seguridad y eficacia angiogénica;
- es una opción complementaria a la revascularización quirúrgica o percutánea;
- puede ser una alternativa al tratamiento quirúrgico o percutáneo convencional, cuando las terapias convencionales no tengan factibilidad técnica para su ejecución.

Hasta el momento, la evaluación de la eficacia se ha visto limitada por varios factores, tales como: tamaño de la muestra, estudios no controlados, concomitancia de otros procedimientos de revascularización, heterogeneidad en el número y tipo de células utilizado, así como vías de administración, entre otros. Sin embargo, el incremento de la perfusión miocárdica y el aumento de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) como consecuencia de la terapia celular han sido demostrados en la mayoría de los estudios⁽⁶⁻¹⁵⁾. En base a los análisis de evolución perfusional realizados posprocedimiento se puede afirmar que estos beneficios obedecen principalmente a la inducción de neovascularización. De igual manera, estos estudios demuestran la seguridad del implante de células progenitoras por diferentes vías. La vía que se adoptó para la inyección de células inductoras de angiogénesis en nuestro estudio fue la directa intramiocárdica. Dicha elección se debe a que esta vía permite la visualización precisa de las zonas problemáticas, es decir, la visualización directa de zonas de fibrosis identificando con precisión zonas de infarto y periinfarto. Asimismo, permite el control preciso de volumen y profundidad de inyección, es decir, con efecto local de cada inyección. La vía sistémica intracoronaria ha mostrado, en trabajos experimentales, su baja eficacia angiogénica en relación con la vía directa^(17,18) y serias complicaciones como la oclusión coronaria^(19,20).

Existe una gran polémica en cuanto al efecto de la terapia celular sobre la regeneración de los cardiomiocitos, siendo un tema de intenso debate e investigación. Creemos que la regeneración cardíaca con reales efectos fisiológicos dista de tener evidencia sustentable con el diseño de los estudios clínicos mencionados. Un mecanismo postulado más probable sería el efecto de los factores de crecimiento liberados por las células trasplantadas para evitar la apoptosis de cardiomiocitos en sufrimiento y, por otro lado, el reclutamiento de células troncales propias del tejido miocárdico.

Creemos que para definir el papel de esta terapia en la cardiopatía isquémica es necesario el desarrollo de estudios clínicos randomizados, controlados y con mayor número de pacientes.

Este proyecto experimental clínico fue diseñado para

definir una aproximación de mayor eficacia angiogénica de la terapia celular angiogénica en una subpoblación de pacientes con cardiopatía isquémica crónica sintomática. Preceden a este proyecto una serie de casos clínicos con pacientes del Hospital de Clínicas (Universidad de la República) realizados con vistas a evaluar la factibilidad y seguridad de la inyección intramiocárdica de CMO autólogas como tratamiento complementario a la cirugía convencional en el tratamiento de la cardiopatía isquémica crónica sintomática en pacientes con áreas de tejido no revascularizables por métodos convencionales.

En este reporte preliminar se desea comunicar los resultados de los primeros cuatro pacientes que completaron el seguimiento a tres meses del protocolo clínico-terapéutico experimental de terapia angiogénica celular complementaria a la RVMQ convencional.

El estudio prospectivo (del que hoy presentamos sus resultados preliminares) fue precedido por una experiencia piloto de ocho pacientes para poner a punto esta técnica según reportes internacionales como se mostrará a continuación, probar su factibilidad y seguridad de la técnica en el Hospital de Clínicas, previa aprobación del Comité de Ética de dicha institución.

El objetivo del protocolo terapéutico es aumentar la densidad capilar en todo el espesor parietal ventricular izquierdo, “restaurando” la perfusión de los sistemas coronarios no revascularizables.

Objetivo

El objetivo del presente estudio es evaluar la eficacia de la terapia celular angiogénica con CMO autólogas para aumentar la densidad capilar en todo el espesor parietal ventricular izquierdo y restaurar la perfusión de los sistemas coronarios no factibles de RVMQ convencional.

Material y método

Pacientes

El diseño del trabajo es un estudio prospectivo de casos y controles, con asignación randomizada para cada grupo, doble ciego (en el control imagenológico de los pacientes y en el tratamiento de los datos). Se realizó una randomización en bloque, lo que permite mantener un número igual de pacientes en cada grupo. En este reporte preliminar se presenta el estudio de dos casos y dos controles. Está prevista la selección de 40 pacientes con isquemia miocárdica crónica sintomática que serán sometidos a RVMQ convencional. Todos los procedimientos son realizados previo consentimiento informado del paciente. Este proyecto fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital de Clínicas.

Todos los paciente incluidos hasta el momento tuvieron un infarto agudo de miocardio (IAM) inferior, quedando con la coronaria derecha (CD) ocluida crónicamente, sin visualización angiográfica ni de la descendente posterior (DP) ni de la posterolateral (PL), es decir, que todos tenían dominancia derecha. Todos los pacientes fueron operados de coordinación y con circulación extracorpórea. Las características generales de los pacientes se detallan en la tabla 1.

a) *Criterios de inclusión:* pacientes con cardiopatía isquémica crónica sintomática con indicación de RVMQ, que tengan uno o dos sistemas coronarios (CD o circunfleja, o ambas) no factibles de RVMQ convencional; ya sea por oclusión sin recanalización de los mismos o por lechos coronarios multilesionados y finos menores de 1 mm de diámetro.

b) *Criterios de exclusión:* 1) edad mayor de 75 años; 2) IAM reciente (<30 días); 3) zonas de miocardio disquinéticas; 4) deterioro severo de la función ventricular izquierda, FEVI < 35%; 5) portadores de valvulopatía asociada.

Obtención y procesamiento de células

Las células de la MO se obtienen mediante punciones múltiples con trocar de ambas crestas ilíacas según método

tradicional, en sala quirúrgica y bajo anestesia general. Se obtienen aproximadamente entre 100 y 300 ml de MO anticoagulada con heparina que son procesados en condiciones estériles bajo flujo laminar.

En síntesis, el procedimiento consiste en: a) filtración de la suspensión celular para eliminar agregados y esquirlas óseas; b) sedimentación de glóbulos rojos con solución de hidroxietilalmidón (HAES) al 6%; c) centrifugación y extracción del “buffy coat”; d) toma de muestra para recuento celular mediante hemograma (CN/ml), y e) ajuste de la concentración celular para su posterior inyección en block quirúrgico a una concentración del orden de $5+2 \times 10^7$ CN/ml. Este recuento celular se realiza en contador hematológico automático y en el recuento de CN se incluyen todas las células que se cuentan como leucocitos (granulocitos, linfocitos y MID cells). De la suspensión de células obtenidas se obtienen muestras: a) previo al procesamiento (inmediatamente posterior a la cosecha), y b) luego de su procesamiento (previo a la inyección). Estas muestras son utilizadas para recuento de células, caracterización de la población a inyectar mediante citometría de flujo y control bacteriológico. El recuento de células CD34+ fue realizado en citómetro FACScalibur (Becton Dickinson, Inc.).

El análisis se realizó según protocolo de doble plataforma del ISHAGE (CD45-FITC/CD34-PE) utilizando el software CellQuest.

Tabla 1. Características de los pacientes incluidos en el estudio (n=4)

Características de los pacientes	Caso 1	Caso 2	Control 1	Control 2
Edad	53	55	62	51
FEVI	36%	55%	55%	55%
CF	II / III	II / III	II / III	II / III
IAM	Inferior	Inferior	Inferior	Inferior
CACG:				
TCI	s/p	s/p	s/p	s/p
ADA proximal	Severa	Severa	Severa	Severa
CX	Severa	Severa	Severa	Severa
CD	Ocluida	Ocluida	Ocluida	Ocluida
	sin recanalización	sin recanalización	sin recanalización	sin recanalización
Dislipemia	Sí	Sí	Sí	Sí
HTA	Sí	Sí	Sí	Sí
Tiempo del IAM (días)	72	No IAM	97	Antiguo sin diagnóstico previo

FEVI: fracción de eyección del ventrículo izquierdo; CF: clase funcional (AHA); IAM: infarto agudo de miocardio; CACG: cineangiocoronariografía; TCI: tronco de coronaria izquierda; ADA: arteria descendente anterior; CX: circunfleja; CD: coronaria derecha; s/p: sin particularidades; HTA: hipertensión arterial

Inyección de CMO

Las CMO autólogas procesadas y resuspendidas a una concentración celular del orden de $5+2 \times 10^7$ CN/ml, son inyectadas por vía intramiocárdica con jeringa de 1 ml en las áreas isquémicas no factibles de revascularización convencional. Las punciones se realizan con aguja 26G X ½” a cada lado del vaso ocluido. En cada punción miocárdica se administra un volumen de 0,5 ml distribuido a dos profundidades diferentes, a nivel subendocárdico y a 3 mm de profundidad del epicardio. Cada punción está separada de la contigua a una distancia de 1 cm. En caso de territorios extensos se aplican inyecciones adicionales a la misma distancia radial en forma de hexágono para realizar una cobertura uniforme.

Evaluación perfusional

La eficacia del poder de perfusión del área de tejido revascularizado biológicamente con la inyección intramiocárdica de CMO, se evaluó en el pre y en el posoperatorio mediante dos modalidades: a) SPECT (Single Photon Emission Computed Tomography), y b) ecocardiograma Doppler Tisular-Strain (DTI-Strain). La idea de incluir el Strain en este estudio es la de cuantificar la respuesta mecánica del músculo a la inyección celular, sector por sector, con el método ecocardiográfico que parece ser más eficaz. Se eligió evaluar los segmentos medios por ecocardiograma Doppler Tisular-Strain por ser los que generan valores más confiables.

En el posoperatorio se evalúan a intervalos fijos: tres meses, seis meses y al año luego de la cirugía de RVM. Los pacientes presentados en el presente reporte preliminar han sido evaluados hasta el tercer mes poscirugía.

Los casos y los controles son evaluados con el mismo abordaje metodológico. Los profesionales que realizan los estudios imagenológicos pre y posoperatorios no saben a qué grupo pertenecen los pacientes, lo que le da el carácter de doble ciego al estudio. Para la más precisa evaluación del real efecto perfusional de la terapia celular se tomaron como “blanco” de evaluación por ambos métodos los sectores medio inferior y medio inferoseptal correspondientes a los segmentos 9 y 10 de la segmentación ventricular izquierda. Los segmentos apicales fueron excluidos de la evaluación perfusional debido a que la mejoría también puede ser resultado de la revascularización quirúrgica de la descendente anterior (DA).

a) Evaluación por SPECT: antes y después del procedimiento quirúrgico se realizó SPECT de perfusión miocárdica con 99mTecnecio-MIBI de reposo, en protocolo de dos días. Las imágenes fueron adquiridas en el Centro de

Medicina Nuclear del Hospital de Clínicas en una gammacámara Mediso Nucline Spirit de doble cabezal del año 2006, según la técnica de SPECT gatillado a razón de ocho imágenes por ciclo cardíaco una hora después de la inyección de 20-30 mCi del radiofármaco. Para el procesamiento se utilizó el software Cardiogam Mirage 5.600, Segami Corp. 2006. La reconstrucción se efectuó por retroproyección filtrada empleando un filtro Butterworth de orden 6 y frecuencia de corte 0,30. Se realizó una cuantificación relativa de los mapas polares utilizando un modelo de 17 segmentos. La actividad en cada segmento se expresó como un porcentaje de la actividad miocárdica máxima.

b) Evaluación por ecocardiograma Doppler Tisular (DTI) con Strain. El Strain es la magnitud de “deformación” mecánica del músculo cardíaco en determinada zona o muestra. Esta técnica aplica el método Doppler a las paredes miocárdicas, y mediante el software adecuado se mide el Strain, que deriva del DTI de velocidades, aplicando a su vez Q análisis que permite desplegar curvas en eje de abscisas y ordenadas, permitiendo una cuantificación más objetiva que el eco convencional, sector por sector. Se considera normal la contracción o acortamiento, en eje corto, con valores absolutos negativos en cara anterior y septo anterior, y con valores absolutos positivos en cara inferior y posterior. En este estudio se midió Strain fundamentalmente en segmentos 9 y 10 (inferiores) y se comparó con segmento 7 (anterior), por lo que los primeros deberían considerarse mejores cuanto más positivos sean. La aplicación de esta técnica en el estudio resulta novedosa, habiendo muy pocos datos bibliográficos al respecto.

Se usó ecógrafo General Electric Vivid 7, con software adecuado para realizar Q análisis de curvas de Strain. Se tomaron vistas en eje corto a nivel de músculos papilares. Se usó Frame Rate igual o mayor a 150, con máximo de Cine Compound, Smoothing y Strain length 10 mm. El valor de corte se tomó en la línea correspondiente al fin de sístole, siendo este el tiempo de cierre valvular aórtico, previamente medido en la señal de Doppler continuo convencional de Ao. Se analizaron las muestras de las zonas marcadas en hoja de protocolo (doble ciego) tomando una muestra (figura 1) de valor de Strain global que cubre el espesor de la pared, y tres muestras parciales: subepicárdica, media y subendocárdica. Se agregó una muestra comparativa a nivel de cara anterior.

La FEVI se estimó subjetivamente, se realizó además el método de Simpson en aquellos casos en que la geometría del ventrículo izquierdo (VI) lo permitiera, dándole prioridad al primer método en los pacientes que se incluyeron con función sistólica en límite inferior de lo normal (caso 1 en esta presentación).

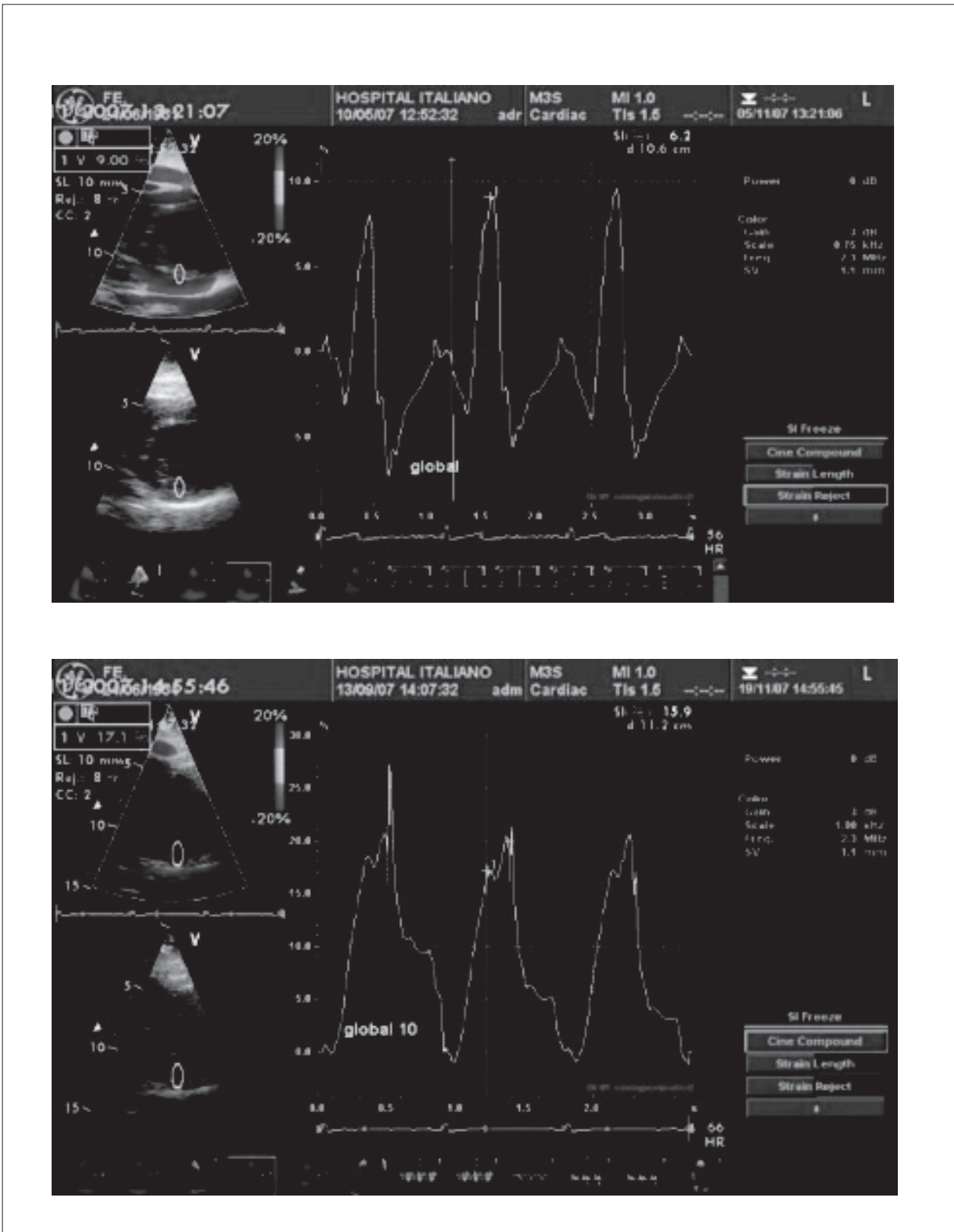


Figura 1. Evaluación con Eco DTI-Strain-Curvas de Q análisis caso 2: muestras de Strain Global en segmento 10. Superior: preoperatorio, Strain + 9%. Inferior: posoperatorio, Strain + 17%. Clara mejoría de valores absolutos. Fracción de eyección del ventrículo izquierdo conservada.

Resultados

Las características generales de los cuatro pacientes presentados en esta comunicación se muestran en la tabla 1. Los mismos tuvieron una edad media de 55,2 años. La FEVI media fue de 50%, con un amplio rango en los casos (entre 36% y 55%). Todos los pacientes (casos y controles) tuvieron la CD ocluida sin recanalización homo ni heterocoronaria visible por coronariografía.

El volumen de médula ósea colectado fue de aproximadamente 250 ml (248 y 245 ml) y luego del procesamiento los productos obtenidos fueron en promedio de 58 ml (44 ml y 72 ml). El promedio de CN en los productos obtenidos fue de $7,6 \times 10^7$ /ml y de células mononucleadas fue de $2,17 \times 10^7$ /ml. El porcentaje de células CD34+ en los productos celulares fue de 1,04% y 2,00%, lo cual corresponde a una concentración de $0,8 \times 10^6$ y $1,5 \times 10^6$ células CD34+/ml y a un contenido total de $3,5 \times 10^7$ y $10,8 \times 10^7$ células CD34+, respectivamente. Las características de los productos celulares obtenidos se muestran en la tabla 2.

En los pacientes tratados con terapia celular el volumen de células inyectado por territorio fue en promedio de 5 ml con un contenido promedio de $3,8 \times 10^8$ CN y $5,7 \times 10^6$ células CD34+. La inyección de CMO se realizó en los territorios de DP y PL en sus sectores apicales, medios y basales.

La cuantificación de la perfusión miocárdica mediante SPECT en el control evolutivo al tercer mes luego de la cirugía (tabla 3), mostró:

a) en los casos, un incremento promedio de 9,7% (10% y 9,3%) en reposo de los sectores medios inferoseptal e inferior con respecto al valor preoperatorio.

b) en los controles, una diferencia promedio de -3% (-1,5% y -4,5%) con respecto a valores previos (figura 1).

Los resultados de la evaluación por ecocardiograma Doppler Tisular con Strain en la evolución al tercer mes luego de la cirugía se muestran en la tabla 4. Los valores referidos en esta tabla corresponden a valores promedio de Strain Global de segmentos 9 y 10.

Tabla 2. Características de los productos celulares obtenidos por procesamiento de la médula ósea

Productos	Volumen (ml)	Concentración de la suspensión celular (CN/ml)	% de células CD34+	Concentración de la suspensión celular (células CD34+/ml)
Caso 1	72	$7,5 \times 10^7$	2.00	$1,5 \times 10^6$
Caso 2	44	$7,7 \times 10^7$	1.04	$0,8 \times 10^6$
Promedios	58	$7,6 \times 10^7$	1.52	$1,15 \times 10^6$

Tabla 3. Evaluación por SPECT (centellograma en reposo) en el pre y posoperatorio (tres meses)

Pacientes	Preoperatorio		Posoperatorio (3 meses)			
	Segmentos 7, 8	Segmentos 9, 1	Segmentos 7, 8		Segmentos 9, 10	
	Promedio	Promedio	Promedio	% aumento	Promedio	% aumento
Caso 1 TC	83,00%	52,50%	85,50%	3%	62,50%	10,00%
Caso 2 TC	74,50%	57,20%	87,00%	12,50%	66,50%	9,30%
Promedio	78,80%	54,90%	86,30%	7,55%	64,50%	9,70%
Control 1 SC	86,50%	74,00%	81,00%	-5,50%	75,50%	-1,50%
Control 2 SC	75,00%	77,50%	67,50%	-7,50%	73,00%	-4,50%
Promedio	80,80%	75,80%	74,30%	-6,60%	74,30%	-3,00%

SC: sin células; TC: terapia celular

Tabla 4. Evaluación por Doppler Tisular-Strain en el pre y posoperatorio (tres meses)

Pacientes	Preoperatorio			Posoperatorio (tres meses)		
	FEVI	Valores de Strain Global Segmento 7	Segmentos 9,10	FEVI	Valores de Strain Global Segmento 7	Segmentos 9,10
Caso 1 TC	36,00%	-24,60%	+11,55%	30,00%	-15,00%	+3,62%
Caso 2 TC	55,00%	-25,20%	+8,16%	55,00%	-29,00%	+15,26%
Promedio	45,50%	-24,90%	+9,85%	42,50%	-22,00%	+9,44%
Control 1 SC	55,00%	-24,60%	-7,31%	55,00%	-14,70%	-3,88%
Control 2 SC	55,00%	-10,40%	+12,96%	55,00%	-17,50%	+16,35%
Promedio	55,00%	-17,50%	+2,85%	55,00%	-16,10%	+10,11%

SC: sin células; TC: terapia celular; FEVI: fracción de eyección del ventrículo izquierdo
Se tomaron valores promedios de Strain Global de sectores 9 y 10 para facilitar la ilustración de datos en este estudio preliminar

En el caso con FEVI conservada, se observaron cambios importantes de los valores de Strain, con mejoría de todas las muestras estudiadas (figura 2). En el caso con FEVI en el rango inferior del criterio de inclusión no se observó mejoría de sus valores de Strain.

En la tabla 5 se muestran los valores de DTI-Strain de los casos, analizados por zonas de espesor parietal (subendocárdico, medio y subepicárdico) en el pre y posoperatorio a los tres meses.

En los dos controles no hubo cambios importantes en los valores de Strain.

Comentarios

Los resultados preliminares de la evaluación por SPECT que muestran un incremento de la perfusión de 10% en los casos sugieren que la inyección intramiocárdica directa de CMO autólogas en los segmentos inferior e infero-septal mejora la perfusión miocárdica.

En tanto, en los controles se observó un leve decremento, de aproximadamente 3%, lo que podría sugerir poco cambio o leve empeoramiento de la perfusión.

Con respecto a los resultados del DTI Strain, los valores difieren con los hallados con SPECT, lo que sugiere un desfase entre la respuesta perfusional y la mecánica evaluada por este método, dato que abre una interesante interrogante con respecto a sus causas.

Uno de los datos que debemos tomar en cuenta en esta evaluación es que los casos están en rangos muy diferentes de FEVI preoperatoria, lo que quizá sea el factor más determinante, debiendo tenerse datos de más peso "a posteriori" para afirmar esta hipótesis.

También podría sugerirse un desfase en el tiempo entre la respuesta perfusional y la respuesta mecánica de la fibra miocárdica en los corazones con función ventricular severamente comprometida. Cuando se obtengan los controles al sexto mes y al año podremos, eventualmente, evaluar si existe mejoría en la contracción de las fibras miocárdicas o si esta mejora perfusional no tiene traducción mecánica en los corazones con FEVI baja.

Es importante señalar que esta forma de evaluar sectorialmente la mejoría perfusional nos permitirá obtener datos más objetivos para determinar el real efecto de la terapia celular angiogénica, y que es original en la literatura y en nuestro medio.

Con relación a la dosis de células utilizada, el número promedio de células CD34+ inyectado en los segmentos mencionados fue de $5,75 \times 10^6$. Creemos que el cálculo de la dosis de células CD34+ inyectada por área será muy importante para evaluar el efecto dosis y para establecer en el futuro cuál es la dosis adecuada a ser utilizada en este tipo de terapéutica. Esta es una de las preguntas que quedan por contestar en la literatura para lograr establecer el real beneficio de estas terapias en la cardiopatía isquémica⁽²¹⁾.

Por tratarse de una comunicación preliminar, no compararemos nuestros hallazgos con trabajos presentes en la literatura, pues podrían presentarse variaciones en la tendencia de los resultados actuales con el aumento del número de pacientes.

Este trabajo, pionero en nuestro país, es el primer estudio prospectivo de casos y controles, randomizado y doble ciego que se realiza en este tema. Como elemento original se pretende cuantificar la traducción mecánica de

Tabla 5. Valores de Doppler Tisular-Strain por zona de espesor parietal en el pre y posoperatorio (3 meses) en los casos						
Valores de preoperatorio						
Sector 9				Sector 10		
<i>Pacientes</i>	<i>Valores Strain subendocárdico</i>	<i>Valores Strain medio</i>	<i>Valores Strain subepicárdico</i>	<i>Valores Strain subendocárdico</i>	<i>Valores Strain medio</i>	<i>Valores Strain subepicárdico</i>
Caso 1 TC	+8,86%	+7,13%	+7,98%	+14,70%	+19,30%	+16,00%
Caso 2 TC	-6,52%	+1,08%	+6,99%	+3,58%	+9,15%	+18,00%
Control 1 SC	-11,5%	-2,58%	-0,39%	-11,90%	-8,21%	-6,88%
Control 2 SC	+11,5%	+10,5%	+9,65%	+4,04%	+24,7%	+19,5%
Valores de posoperatorio tercer mes						
Sector 9				Sector 10		
<i>Pacientes</i>	<i>Valores Strain subendocárdico</i>	<i>Valores Strain medio</i>	<i>Valores Strain subepicárdico</i>	<i>Valores Strain subendocárdico</i>	<i>Valores Strain medio</i>	<i>Valores Strain subepicárdico</i>
Caso 1 TC	+4,84%	+7,07%	+7,90%	-0,78%	+1,26%	+2,77%
Caso 2 TC	+12,10%	+14,70%	+24,70%	+4,10%	+14,40%	+20,80%
Control 1 SC	-4,95%	-2,69%	-5,69%	-3,84%	-8,99%	-9,93%
Control 2 SC	+13,5%	+13,7%	+15,1%	+9,86%	+16,5%	+22,3%

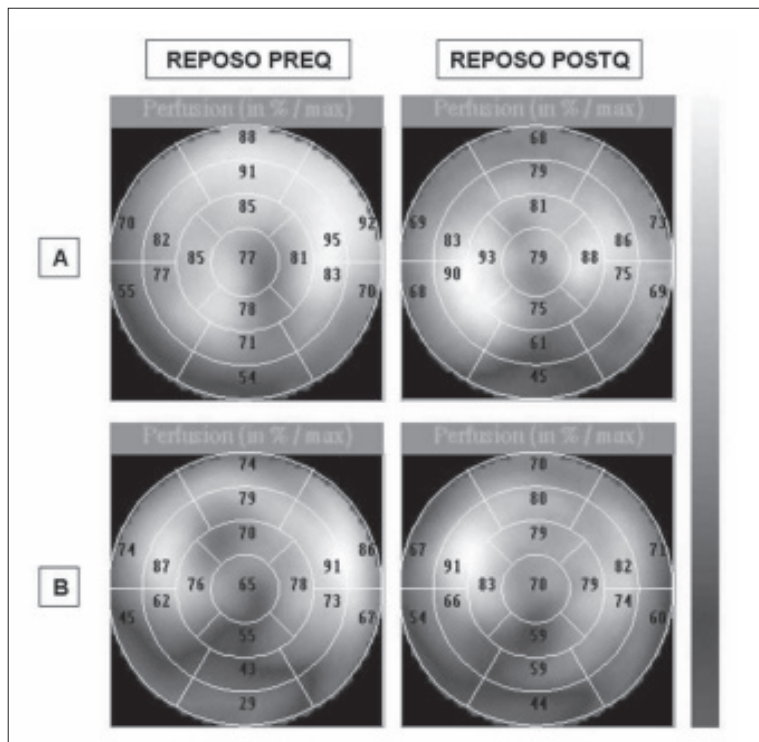


Figura 2. Evaluación por SPECT - A izquierda: mapa polar mostrando la perfusión reposo pre y poscirugía al tercer mes: A) paciente control y B) paciente caso 1. Los detalles de la mejoría perfusional se detallan en tabla 3.

la mejoría perfusional a través del ecocardiograma Doppler Tisular con Strain en los sectores no factibles de RVMQ, y, por tanto, sectores “blanco” de terapia angiogénica. No conocemos en la literatura ningún trabajo prospectivo ni retrospectivo que analice la mejoría mecánica secundaria a esta terapia, en forma sectorial por DTI Strain en las tres zonas de espesor parietal miocárdico en cada segmento elegido en este tipo de pacientes. Esta forma de estudio para completar la evaluación perfusional surgió como alternativa en el año 2005, pues en nuestro medio no se encuentra disponible el PET que nos permitiría evaluar con precisión cambios perfusionales. La evaluación perfusional de los efectos de la terapia angiogénica está siendo ampliamente investigada⁽²²⁾. Nuestra preocupación es cómo evaluar la mejora perfusional de la terapia angiogénica en las zonas subendocárdicas, que son las de mayor sufrimiento isquémico.

Perspectivas

El estudio presentado en este reporte preliminar es parte de una línea de investigación más amplia que abarca diferentes aspectos en el área de la terapia angiogénica cardiovascular.

Se vienen diseñando trabajos experimentales *in vitro* y en un modelo animal preclínico que tienen como objetivo común el estudio y la experimentación de diferentes formas de mejorar la eficacia del poder angiogénico de la terapia génica y celular en forma aislada o combinada.

Apoyos y subvenciones

Este trabajo está siendo realizado gracias al apoyo y a la subvención del Hospital de Clínicas, de la Facultad de Medicina y del Programa de Desarrollo Tecnológico (PDT: Contrato BID 1293/OC-UR) de la Dirección de Innovación, Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (DICyT) del Ministerio de Educación y Cultura.

Nota: los pacientes incluidos en este reporte preliminar fueron operados antes de agosto del 2007, fecha en la cual se tomó la resolución de exigir el registro de ensayos clínicos previo a la publicación en revistas indexadas (Plataforma Internacional para Registros de Ensayos Clínicos [ICTRP] de la Organización Mundial de la Salud-OMS, del International Committee of Medical Journal Editor y del Workshop).

Summary

Introduction: incomplete surgical myocardial revascularization is a determining factor for early flare of subsequent angina which results in lower patient survival.

Objective: the present study aims to evaluate the perfusional efficacy of cell angiogenic therapy, using autologous bone-marrow derived stem cells, by means of direct intramyocardial injections, as a complementary therapy when combined with myocardial surgical revascularization.

Method: perfusional assessment subsequent to surgery is performed after three, six and twelve months with Single Photon Emission Computed Tomography (SPECT) and DTI-Strain.

Results: the present preliminary communication/notice (preceded by eight pilot cases) reports results obtained in four patients (two cases and two controls), completed follow-up in the third month, all of which evidenced chronic right coronary (RC) occlusion with no reversal, 50% average left ventricle ejection fraction. An average of 5.7×10^6 CD34+ autologous cells was injected into the descending posterior and posterolateral territory. The average injection volume was 5 ml per territory. Upon SPECT perfusional control in the third month, a 10% perfusional increase was detected in the injected territories. As to the control cases, nonrevascularized myocardial sectors evidenced a perfusional decrease of 3%, on average. DTI-Strain showed values improvement for all samples studied in the case of the preserved left ventricle ejection fraction (LVEF), and worsening in the LVEF lower range.

Angiogenic cell therapy by intramyocardial autologous bone-marrow stem cells implies perfusional benefits. It is a feasible and safe technique to complement surgical treatment.

Résumé

Introduction: la revascularisation myocardique chirurgicale (RVMQ) incomplète est un facteur primordial à la réapparition précoce d'angine et détermine une survie raccourcie des patients.

Objectif: le but de ce travail est d'évaluer l'efficacité de perfusion de la thérapie angiogénique cellulaire avec des cellules extraites de la moelle osseuse (CMO) autologues par injection directe intra-myocardique complémentaire à la RVMQ conventionnelle.

Matériel et méthode: l'évaluation de la perfusion post-chirurgicale est faite trois, six et douze mois après avec SPECT et échocardiogramme Doppler Tisular-Strain (DTI-Strain).

Résultats: dans cette communication préalable, précédée de huit cas pilotes, on reporte les résultats de quatre patients (deux cas et deux contrôles) ayant complété le suivi au bout de trois mois et présentant tous occlusion chronique de coronaire droite (CD) sans recanalisation, fraction d'éjection du ventricule gauche (FEVG) moyenne de 50%. Dans les territoires de la descendante postérieure (DP) et postéro latérale (PL) de CD on a injecté une

moyenne de $5,7 \times 10^6$ cellules CD34+autologues dans un volume moyen de 5 ml par territoire. Lors du contrôle de perfusion avec SPECT des cas au troisième mois, on a repéré une hausse de perfusion dans les territoires injectés de 10% environ, les secteurs myocardiques non revascularisés ayant subi une décroissance perfusionnelle de 3% environ. Au DTI-Strain, on a observé une amélioration des valeurs dans tous les échantillons prélevés au cas de FEVG conservée et aggravation au cas avec FEVG à rang inférieur.

La thérapie cellulaire angiogénique avec CMO autologues par voie intra-myocardique a des bénéfices de perfusion, est une technique faisable et sûre complémentaire au traitement chirurgical.

Resumo

Introdução: a revascularização cirúrgica incompleta do miocárdio (RVCM) é um fator determinante no reaparecimento precoce da angina que implica uma sobrevida menor para os pacientes.

Objetivo: o objetivo deste trabalho é avaliar a eficácia perfusional da terapia angiogênica celular com células autólogas obtidas da medula óssea por injeção direta intramiocárdica como complemento a RVCM tradicional.

Material e método: a avaliação perfusional pós-cirurgia é feita aos três, seis e doze meses usando SPECT e ecocardiograma Doppler Tisular-Strain (DTI-Strain).

Resultados: nesta comunicação preliminar, (depois de oito casos piloto) relatamos os resultados de quatro pacientes (dois casos e dois controles) que terminaram o seguimento no terceiro mês, todos com oclusão crônica de coronária direita (CD) sem recanalização com fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE) média de 50%. Na região do ramo descendente posterior (DP) e pósterolateral (PL) da CD, injetaram-se uma média de $5,7 \times 10^6$ células CD34+ autólogas em um volume médio de 5 ml por região. No controle perfusional dos casos, realizado no terceiro mês, foi registrado um aumento da perfusão nas regiões injetadas de aproximadamente 10%. Nos controles, os setores do miocárdio não revascularizados apresentaram uma redução média da perfusão de 3%. No DTI-Strain foi observada uma melhora dos valores em todas as amostras estudadas no caso com FEVE conservada, e uma piora no caso com FEVE com valor inferior.

A terapia celular angiogênica com CMO autólogas por via intra-miocárdica apresenta melhoras da perfusão, é uma técnica viável e segura, complementar ao tratamento cirúrgico.

Bibliografía

1. Fondo Nacional de Recursos. Programa de seguimiento de

- Cirurgia de revascularización coronaria. Montevideo: FNR, 2001. Disponible en: <http://www.fnr.gub.uy/>
2. Coronary Artery Surgery Study (CASS): a randomized trial of coronary artery bypass surgery quality of life in patients randomly assigned to treatment groups. *Circulation* 1983; 68(5): 951-60.
 3. Scott R, Blackstone EH, McCarthy PM, Lytle BW, Loop FD, White JA, et al. Isolated bypass grafting of the left internal thoracic artery to the left anterior descending coronary artery: late consequences of incomplete revascularization. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000; 120(1): 173-84.
 4. Losordo DW, Dimmeler S. Therapeutic angiogenesis and vasculogenesis for ischemic disease: part II: cell-based therapies. *Circulation* 2004; 109(22): 2692-7.
 5. Isner JM, Takayuki A. Therapeutic Angiogenesis. *Front Biosci* 1998; 3: e49-69.
 6. Strauer BE, Brehm M, Zeus T, Köstering M, Hernández A, Sorg RV, et al. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. *Circulation* 2002; 106(15): 1913-8.
 7. 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(9429):141-8.
 8. Assmus B, Schächinger V, Teupe C, Britten M, Lehmann R, Döbert N, et al. Transplantation of Progenitor Cells and Regeneration Enhancement in Acute Myocardial Infarction (TOPCARE-AMI). *Circulation* 2002; 106(24): 3009-17.
 9. Britten MB, Abolmaali ND, Assmus B, Lehmann R, Honold J, Schmitt J, et al. Infarct remodeling after intracoronary progenitor cell treatment in patients with acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI): mechanistic insights from serial contrast-enhanced magnetic resonance imaging. *Circulation* 2003; 108(18): 2212-8.
 10. Stamm C, Westphal B, Kleine HD, Petzsch M, Kittner C, Schümichen C, et al. Autologous bone-marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration. *Lancet* 2003; 361(9351): 45-6.
 11. Fuchs S, Satler LF, Kornowski R, Okubagzi P, Weisz G, Baffour R, et al. Catheter-based autologous bone marrow myocardial injection in no-option patients with advanced coronary artery disease: a feasibility study. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41(10): 1721-4.
 12. 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; 107(18): 2294-302.
 13. Perin EC, Dohmann HF, Borojevic R, Silva SA, Sousa AL, Silva GV, et al. Improved exercise capacity and ischemia 6 and 12 months after transendocardial injection of autologous bone marrow mononuclear cells for ischemic cardiomyopathy. *Circulation* 2004; 110(11 Suppl 1): II213-8.
 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(9351): 47-9.
 15. Kalil R. Comunicación personal. Informe Preliminar. Terapia Celular. Rio Grande do Sul: Instituto de Cardiología-Fundación Universitaria de Cardiología, 2004.
 16. Stamm C, Westphal B, Kleine HD, Petzsch M, Kittner C, Schümichen C, et al. Autologous bone-marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration. *Lancet* 2003; 361(9351): 45-6.
 17. Henry TD, Annex BH, McKendall GR, Azrin MA, López

- JJ, Giordano FJ, et al.** TheViVA trial: vascular endothelial growth factor in ischemia for vascular angiogenesis. *Circulation* 2003; 107(110): 1359-65.
18. **Magovern CJ, Mack CA, Zang J, Hahn RT, Ko W, Isom OW, et al.** Direct in vivo gene transfer to canine myocardium using a replication deficient adenovirus vector. *Ann Thorac Surg* 1996; 62(2): 425-33.
19. **Bartunek J, Vanderheyden M, Vandekerckhove B, Mansour S, De Bruyne B, De Bondt P, et al.** Intracoronary injection of CD 133-positive enriched bone marrow progenitor cells promotes cardiac recovery after recent myocardial infarction: feasibility and safety. *Circulation* 2005; 112(9 Suppl): 1178-83.
20. **Vulliet PR, Greeley M, Halloran SM, MacDonald KA, Kittleson MD.** Intracoronary arterial injection of mesenchymal stromal cells and microinfarction in dogs. *Lancet* 2004; 363(9411): 783-4.
21. **Mays RW, van't Hof W, Ting AE, Perry R, Deans R.** Development of adult pluripotent stem cell therapies for ischemic injury and disease. *Expert Opin Biol Ther* 2007; 7(2): 173-84.
22. **Beeres SL, Bengel FM, Bartunek J, Atsma DE, Hill JM, Vanderheyden M, et al.** Role of imaging in cardiac cell therapy. *J Am Coll Cardiol* 2007; 49(11): 1137-48.