

Artículos originales

Regeneración cardíaca quirúrgica con mioblastos. Experiencia en España

Jesús Herreros¹, José María González Santos², Alberto Juffé³, José Luis Vallejo⁴, Juan José Gavira¹, José Cuenca³, Manuel Ruiz⁴, Joaquín Barba¹, José Antonio Rodríguez³, Ana Pérez¹, Gregorio Rábago¹, Consuelo Cañizo², Cándido Martín Luengo², Felipe Prosper¹

¹Departamento de Cardiología y Cirugía Cardiovascular – Área Terapia Celular. Clínica Universitaria de Navarra. Salamanca

²Servicios de Cardiología, Cirugía Cardiovascular y Hematología. Hospital Clínico Universitario Salamanca. Salamanca

³Servicios de Cirugía Cardíaca y Hematología. Hospital Juan Canalejo. La Coruña

⁴Servicio de Cirugía Cardiovascular. Hospital Gregorio Marañón. Madrid

La cardiomioplastia celular con mioblastos en pacientes puede producir una mejoría de la función cardíaca.

Material y métodos. Dieciséis pacientes con antecedente de infarto de miocardio antiguo y enfermedad coronaria han sido tratados con cirugía de revascularización coronaria e implante de mioblastos cultivados en suero autólogo. Este grupo fue comparado con 14 pacientes de características similares, tratados con cirugía de revascularización sin implante de mioblastos. Los estudios incluyen función cardíaca, viabilidad y perfusión miocárdica con ¹⁸F-FDG y ¹³N-amonio.

Resultados. Todos los pacientes han sido dados de alta del hospital y están vivos. La implantación de los mioblastos no se ha asociado a arritmias. El índice de motilidad regional mejoró en todos los segmentos con una diferencia mayor en los segmentos tratados con mioblastos (segmentos tratados = $2,92 \pm 0,1$ vs $1,3 \pm 0,2$, $p < 0,001$; todos = $1,78 \pm 0,1$ vs $1,15 \pm 0,05$, $p < 0,001$). En el grupo control no hubo diferencias significativas en el estudio de todos los subgrupos. El estudio cuantitativo de viabilidad miocárdica con ¹⁸F-FDG aumentó más en los segmentos tratados que en los no tratados (segmentos tratados = $0,26$ vs $0,126$, $p < 0,004$; todos los segmentos = $0,27$ vs $0,17$, ns).

Surgical myocardial regeneration with myoblasts. Spanish experience

The use of skeletal myoblasts in patients with myocardial infarction may result in improved heart function.

Material and methods. Sixteen patients with old myocardial infarction and ischemic coronary disease were treated with coronary artery bypass and intramyocardial injection of skeletal myoblasts cultured with autologous serum. This group was compared to 14 patients with similar features treated with coronary artery bypass without injection of skeletal myoblasts. Cardiac function was assessed by echocardiography; ¹⁸F-FDG and ¹³N-amonia PET studies were used to determine perfusion and viability.

Results. All patients have been discharged from the hospital and are alive. No significant increase in cardiac arrhythmias was detected after skeletal myoblast implant. In fact, the frequency of premature ventricular beats was reduced after surgery. Regional contractility revealed an improvement, greater in those segments treated with myoblasts (treated segments = 2.92 ± 0.1 vs. 1.78 ± 0.2 , $p < 0.001$; global = 1.78 ± 0.1 vs. 1.15 ± 0.05 , $p < 0.001$). In the control group there were no significant differences in the study of the subgroups.

«Presentado en el XVII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Cirugía Cardiovascular. Zaragoza, 9-11 de Junio de 2004»

Correspondencia:
Jesús Herreros
Servicio de Cirugía Cardiovascular
Clínica Universitaria de Navarra
Avda. Pío XII, 36
31008 Pamplona
E-mail: jherreros@unav.es

Recibido 9 junio 2004
Aceptado 13 abril 2005

Conclusiones. La inyección de mioblastos cultivados en suero autólogo asociada a revascularización coronaria es un procedimiento seguro-factible y se asocia a un incremento del índice de viabilidad miocárdica en la región infartada y a una mejoría de la función ventricular izquierda.

Palabras clave: Mioblasto. Terapia celular. Célula madre. Cardiomioplastia celular.

Quantitative ^{18}F -FDG PET studies demonstrate a significant increase in cardiac viability (treated segments = 0.26 vs. 0.126, $p < 0.004$; global = 0.27 vs. 0.17, ns).

Conclusions. Treatment with skeletal myoblasts in conjunction with coronary artery bypass is safe and feasible and is associated with an increased left ventricular function and improvement in the viability of cardiac tissue in the infarcted area.

Key words: Myoblast. Cell therapy. Stem cell. Cellular cardiomyoplasty.

INTRODUCCIÓN

Las células madre o troncales han pasado de ser un concepto de interés científico, principalmente en el campo de la biología del desarrollo, a ocupar tantas páginas en las revistas científicas como en la prensa general. Los conocimientos que en este campo de la medicina se vienen produciendo de forma casi diaria han disparado las expectativas en enfermos y médicos de que las células madre van a contribuir a la curación de múltiples enfermedades humanas devastadoras como la diabetes, la enfermedad de Parkinson o el infarto agudo de miocardio.

La cardiomioplastia celular consiste en la implantación de células para inducir el crecimiento de nuevas fibras musculares y el desarrollo de angiogénesis en el miocardio dañado. Su objetivo es contribuir a la mejoría de la función ventricular sistólica y diastólica así como revertir el proceso de remodelado postisquémico¹. Las posibilidades clínicas actuales de terapia celular para regeneración miocárdica son el trasplante intramiocárdico de mioblastos o de células de médula ósea (hematopoyéticas, mesenquimales, progenitores endoteliales, MAPC). Presentamos la experiencia inicial española de regeneración cardíaca con mioblastos en pacientes con antecedente de infarto antiguo y que agrupa la experiencia de cuatro hospitales (Clínica Universitaria de Navarra, Hospital Clínico Universitario de Salamanca, Hospital Juan Canalejo y Hospital Gregorio Marañón), durante el periodo comprendido entre febrero de 2002 y diciembre de 2003.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño del estudio. Pacientes

Los criterios de inclusión han sido: a) antecedente de infarto agudo de miocardio con evolución superior a 4 semanas y región acinética o discinética con ausencia

de viabilidad, demostrada por tomografía de emisión de positrones con ^{18}F -FDG; b) indicación de revascularización quirúrgica en otras regiones; c) edad comprendida entre 30-80 años, y d) fracción de eyección de ventrículo izquierdo mayor del 25%.

Los criterios de exclusión han sido: a) imposibilidad de desarrollar el cultivo de mioblastos autólogos; b) serología positiva para VIH o hepatitis; c) historia previa de arritmias ventriculares malignas; d) historia de distrofia muscular, y e) insuficiencia renal o hepática.

Este ensayo clínico fase I/II obtuvo las autorizaciones de los comités hospitalarios y autonómicos correspondientes. Todos los pacientes firmaron el consentimiento informado antes de ser incluidos en el estudio (Fig. 1).

Dieciséis pacientes (edad: 41-74, $x: 63,2 \pm 11,9$ años) con antecedente de infarto agudo de miocardio sin viabilidad (anterior 11, inferior 5) fueron incluidos en el ensayo. Las características de los pacientes están descritas en la tabla I. La mediana del grado funcional NYHA medio preoperatorio fue 2,5, CHA 2,9 y la fracción de eyección del ventrículo izquierdo varió entre el 25-45% ($37 \pm 6,7\%$).

Un grupo de 14 pacientes, que reunía los criterios de inclusión y fueron tratados con cirugía de revascularización coronaria sin implante de mioblastos autólogos porque rechazaron este tratamiento o por razones logísticas, ha sido utilizado como grupo control. Las características de este grupo no mostraron diferencias estadísticas significativas con las del grupo de implante de mioblastos (Tabla II). A este grupo se le realizaron los mismos estudios funcionales excepto la tomografía de emisión de positrones.

Cultivo y administración de mioblastos

Tres semanas antes de la cirugía, se obtuvo una biopsia del músculo vasto externo bajo anestesia local, procesándose inmediatamente para obtener las células progenitoras musculares, como ha sido descrito previa-

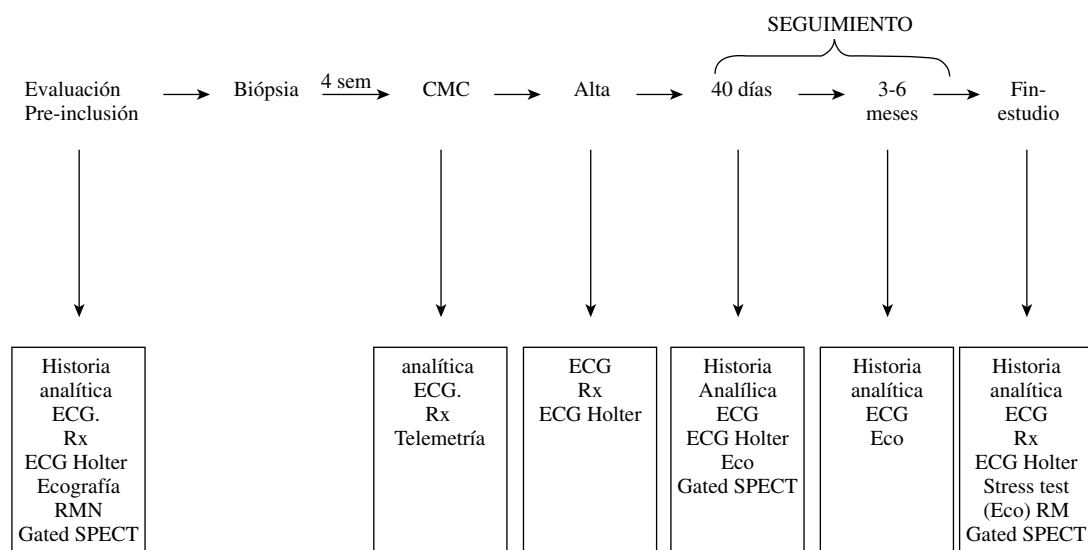


Figura 1. Protocolo de inclusión y seguimiento.

mente². Después de reseca el tejido conjuntivo, se procedió a la digestión con tripsina/EDTA (0,5 mg/ml tripsina y 0,53 ml EDTA, GIBCO-BRL) y collagenasa (0,5 mg/ml, GIBCO-BRL) para liberar las células satélite. Las células crecieron en un medio con 79% de Ham-F12 (GIBCO-BRL) complementado con 20% de suero autólogo y 1% de penicilina/estreptomicina (GIBCO-BRL). A todos los pacientes se les realizó un intercambio plasmático el día anterior a la biopsia muscular, utilizando heparina como anticoagulante. Las proteínas de la coagulación fueron eliminadas neutralizando la heparina con sulfato de protamina. Después de realizar los estudios para descartar contaminación bacteriana, las células fueron cultivadas a 37 °C y 5% de CO₂ y se realizaron pases al nivel de subconfluencia para prevenir la forma-

ción de miotubos. La pureza de los mioblastos fue medida por citometría de flujo y anticuerpos monoclonales CD56, CD45 y desmina. Los mioblastos son CD56+, desmina+, CD45- (Fig. 2).

Entre 3-4 semanas después de realizar la biopsia muscular, se realizó el implante de los mioblastos en los segmentos acinéticos y discinéticos, al finalizar la realización de los injertos, mediante varias inyecciones subepicárdicas con una aguja angulada (*Steriseal Ophtalmic canula*, Maersk Medical Ltd. Redditch, B98 9NL, GB).

Estudios

Antes de la inclusión de los pacientes en el ensayo, se realizó ecocardiografía bidimensional (2D) y por de-

TABLA I. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES

Paciente	Localización IM	Evolución IM (meses)	Angina/NYHA	FE VI (%)	Injertos	N.º Miob x 10 ⁶
1	Anterior	4	Inestable/III	35	DA, CD, OM	318
2	Anterior-apical	6	III/II	40	DA, OM	165
3	Inferior	5	Inestable/II	45	CD, DA	192
4	Anterior	23	I/II	40	DA, CD, OM	393
5	Anterior-apical	168	III/III	27	DA, CD, OM	200
6	Anterior	10	Inestable/III	30	DA, DG, AVI	110
7	Inferior	125	Inestable/II	40	DA, CD, OM, DG	171
8	Inferior	108	Inestable/II	40	DA, OM	105
9	Anterior	120	III/I	45	DA, OM, DG	0
10	Inferior	20	III/II	25	DA, CD, OM, DG	390
11	Anterior	3	I/I	40	DA, CD, OM	100
12	Anterior-apical	146	III/III	43	DA, OM, DG	180
13	Anterior-apical	64	II/IV	27	DA, CD, OM, DG	170
14	Inferior	26	III/IV	32	DA, CD, OM	65
15	Anterior-apical	82	III/II	40	DA, CD, OM	270
16	Anterior	93	II/III	43	DA, CD, OM	240

IM: infarto miocárdico, área de implante de los mioblastos; FE VI: fracción de eyección de ventrículo izquierdo; DA: arteria descendente anterior; CD: arteria coronaria derecha; OM: arteria obtusa marginal; DG: arteria diagonal; Aneuris: aneurismectomía; Miob: mioblastos.

TABLA II. CARACTERÍSTICAS DEL GRUPO ESTUDIO Y DEL GRUPO CONTROL

	Grupo mioblastos	Grupo control	p
Número	16	14	
Edad	64,5 (3,3)	60,4 (9,5)	0,3
Hombres	93%	85%	0,7
Factores riesgo			
Hipertensión	44%	50%	0,7
Diabetes	37%	42%	0,8
Arteria responsable infarto			
Descendente anterior	31%	42%	0,2
Coronaria derecha	59%	57%	0,2
Periodo desde infarto (meses)	21,5 (11)	19,9 (23)	0,1
Fracción eyección VI	37%	33%	0,3
N.º injertos coronarios			
2	25%	7%	0,5
3	56%	50%	0,2
> 3	19%	42%	0,2
Revascularización área infarto	75%	92%	0,9
Aneurismectomía VI	6%	7%	1,0

tección automática de bordes (ABD), ECG-Holter de 24 h, tomografía de emisión de positrones (^{13}N -amónio, ^{18}F -FDG), para estudiar función ventricular global y regional, viabilidad miocárdica y descartar arritmias ventriculares malignas.

Ecocardiografía

La contractilidad global y regional fue medida por 2D (Philips Sonos 5500). El índice de motilidad regional fue calculado según las normas de la *American Society of Echocardiography*³, según la siguiente escala para cada uno de los segmentos: 1 = normal, 2 = hipocinesia, 3 = discinesia. Este índice fue calculado por el cociente entre la suma de las puntuaciones de cada segmento y el número de segmentos evaluados, y fue calculado en los segmentos tratados y no tratados con mioblastos. La fracción de eyección y la contractilidad regional fue medida también por ABD. Todos los estudios fueron realizados por dos investigadores independientes. La reproducibilidad de valores entre estudios fue $2,8 \pm 6,4$ ml (CV 5,5%) para el volumen telediastólico del ventrículo izquierdo y $0,3 \pm 4,6$ (CV 6,6%) para la fracción de eyección de ventrículo izquierdo.

Tomografía de emisión de positrones

El flujo miocárdico y el metabolismo de la glucosa fue medido con tomografía de emisión de positrones antes de la inclusión. Los estudios de perfusión y metabolismo fueron realizados con aparato de cuerpo entero (Siemens/CTI ECAT EXACT HR+, Knoxville, USA) que adquiere 63 planos transaxiales con una resolución interplano de 4,5 mm. Los estudios de metabolismo de glucosa fueron realizados con la técnica hiperinsulinemia-euglucemia para discriminar viabilidad miocárdica e inflamación.

Seguimiento

Hasta el alta hospitalaria los pacientes fueron monitorizados con telemetría. Todos los pacientes recibieron una dosis intraoperatoria de metilprednisolona (500 mg) antes del implante de mioblastos y se mantuvo tratamiento con clorhidrato de amiodarona (200 mg/d) durante 3 meses para prevenir las arritmias cardíacas.

El seguimiento postalta incluyó: tomografía con ^{13}N -amónio y ^{18}F -FDG a los 3, 6 y 12 meses; ecocardiografía a los 40 días, 3, 6 y 12 meses; enzimas cardíacas, función hepática y renal a los 3, 6 y 12 meses; ECG-Holter de 24 h a los 40 días, 3, 6 y 12 meses.

Estadística

El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS 10.0 para Windows. Las comparaciones se realizaron utilizando tests pareados, el test de la suma de rangos de Wilcoxon, Anova para la repetición de medidas o el test de Friedman dependiendo del test de normalidad de Saphiro-Wilk y Kolmogorov-Smirnov. El análisis descriptivo se presenta como media para variables cuantitativas o mediana para variables categóricas. La significación estadística se establece para valores de $p < 0,005$.

RESULTADOS

Cirugía de revascularización y cardiomioplastia celular

De los 16 pacientes incluidos en el ensayo para cirugía de revascularización coronaria y cardiomioplastia celular con mioblastos, no se pudo realizar el implante en un caso por la presencia de grampositivos en

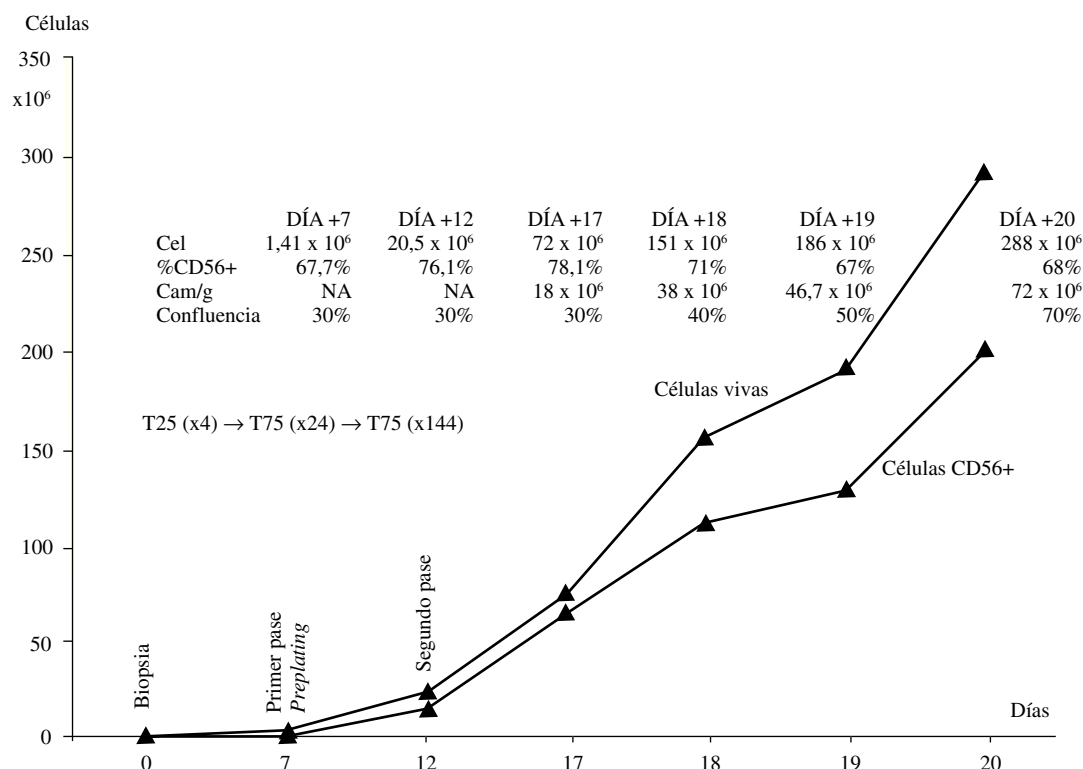


Figura 2. Cultivo de mioblastos del primer paciente incluido en el estudio, obteniéndose a las 3 semanas 288 x 10⁶ mioblastos con una pureza del 68%.

el cultivo. La revascularización se realizó en las áreas con y sin infarto, con el objetivo de obtener una revascularización completa. En cuatro casos no se pudo revascularizar el área de la cardiomioplastia celular por mal lecho distal de la arteria (ausencia de revascularización de la arteria responsable o revascularización de la arteria descendente en el tercio medio con obstrucción del tercio distal). Se practicaron 2,8 injertos/paciente y en los menores de 65 años todos los injertos fueron arteriales. En un paciente se realizó exclusión parcial de un aneurisma de ventrículo izquierdo con la técnica de Dor.

El peso medio de la biopsia muscular fue 9,45 g (5,15-15,0 ± 0,8 g) y el volumen medio de suero autólogo obtenido por plasmaféresis el día previo a la biopsia fue de 1.735 ± 327 ml. Después de una media de 23 días de cultivo, se obtuvieron una media de 205 ± 100 x 10⁶ mioblastos con una pureza del 65% (porcentaje de células CD56+/CD45-). Un volumen medio de 5 ml (3,5-6 ml) de solución conteniendo los mioblastos fue inyectado en la región con acinesia/discinesia con preferencia en la región periférica del infarto (80% región periférica, 20% centro de la necrosis).

Complicaciones. Efectos adversos

La obtención del suero autólogo no se asoció a ninguna complicación ni efecto adverso. Todos los pacien-

tes fueron dados de alta del hospital y no se ha registrado ningún fallecimiento durante el periodo de seguimiento de 12 meses. El tiempo medio de hospitalización postoperatoria fue 9 ± 3 días; no hubo ninguna complicación relacionada con el implante de mioblastos que no supuso una prolongación de la estancia postoperatoria ni cambios en la evolución precoz con respecto a una cirugía coronaria convencional.

La implantación de mioblastos no generó arritmias ventriculares. El número de extrasístoles ventriculares por paciente, medidos por ECG-Holter de 24 h, pasó de 150 extrasístoles/paciente en el preoperatorio a 45 extrasístoles/paciente a los 3 meses y 70 extrasístoles/paciente a los 6 meses, sin observarse diferencias estadísticamente significativas entre estos valores (Fig. 3). Ningún paciente precisó la implantación de un desfibrilador. Al paciente intervenido de aneurismectomía se le documentó una taquicardia ventricular autolimitada de tres latidos en el segundo mes postoperatorio. El grado funcional NYHA se redujo de una mediana de 2,5 a 1,8 ($p < 0,005$).

Función ventricular

La fracción de eyección de ventrículo izquierdo, medida por 2D, se incrementó desde el 37 ± 2,3% en el preoperatorio al 51 ± 3,6% a los 3 meses ($p < 0,006$), 54 ± 4,9% a los 6 meses ($p < 0,004$) y 44 ± 4,9% a los

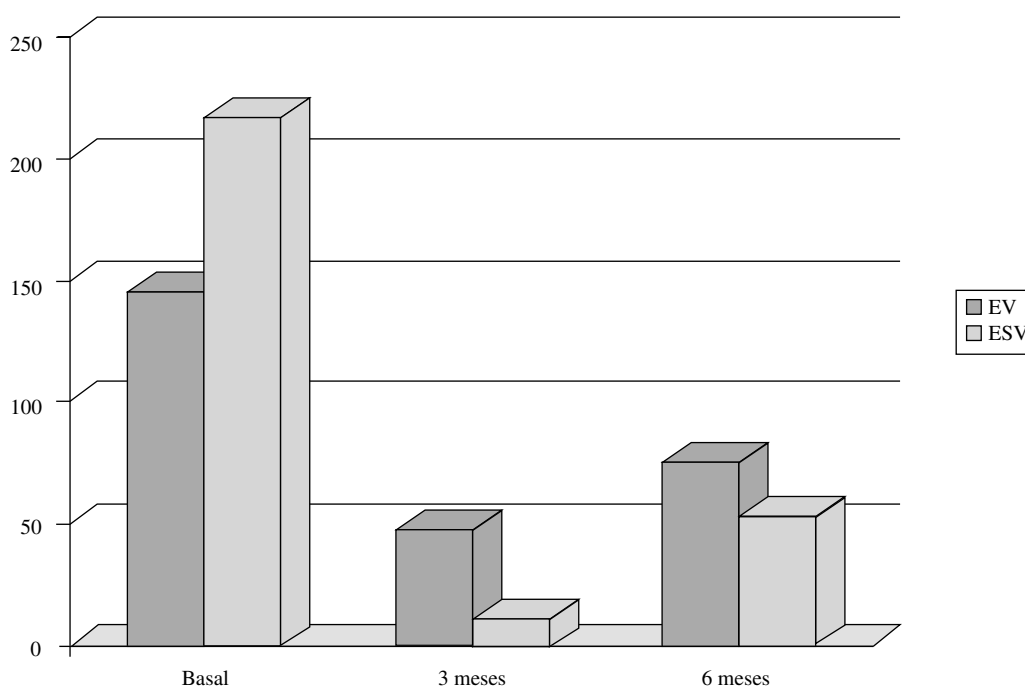


Figura 3. Arritmias auriculares y ventriculares. La reducción postoperatoria no mostró significación estadística y debe atribuirse a la revascularización.

12 meses ($p < 0,001$). Los valores de la fracción de eyección, medida por ABD, fueron $38 \pm 3,2\%$ en el preoperatorio, $51 \pm 3,9\%$ a los 3 meses, $56 \pm 3,1\%$ a los 6 meses y $56 \pm 3,9\%$ a los 12 meses.

Los resultados del estudio de función ventricular segmentaria, medida por el índice de motilidad regional, comparando el grupo con implante de mioblastos y el grupo control están representados en la tabla III:

- En el grupo de mioblastos, el índice de motilidad regional, estudiando globalmente todos los segmentos (tratados y no tratados con mioblastos), se redujo de $1,78 \pm 0,1$ en el preoperatorio a $1,30 \pm 0,08$ a los 3 meses ($p < 0,003$) y $1,15 \pm 0,05$ a los 12 meses ($p < 0,001$). Para poder distinguir el beneficio del índice de motilidad

regional secundario a la revascularización y a los mioblastos, se determinó también este índice únicamente en los segmentos tratados y no tratados con mioblastos. El índice de motilidad regional mejoró más en los segmentos tratados: $2,92 \pm 0,17$ en el preoperatorio, $1,78 \pm 0,2$ a los 3 meses ($p < 0,001$) y $1,36 \pm 0,14$ a los 12 meses ($p < 0,001$), sin diferencias significativas en los segmentos no tratados con mioblastos, demostrando que la mejoría significativa global de todos los segmentos (tratados y no tratados con mioblastos) se ha obtenido a expensas de los segmentos tratados con mioblastos.

- En el grupo control no hubo diferencias significativas en el estudio de todos los subgrupos: global, segmentos con acinesia-discinesia,

TABLA III. ESTUDIO COMPARATIVO DEL ÍNDICE DE MOTILIDAD REGIONAL POR ECOCARDIOGRAFÍA: GLOBAL, SEGMENTOS CON ANTECEDENTE DE INFARTO (TRATADOS CON REVASCULARIZACIÓN + IMPLANTE DE MIOBLASTOS), SEGMENTOS SIN ANTECEDENTE DE INFARTO TRATADOS CON REVASCULARIZACIÓN

	Basal	3 meses	12 meses	p
Gobal				
Control	2,1 (0,51)		2,0 (0,40)	0,620
Mioblastos	1,8 (0,14)	1,3 (0,08)	1,1 (0,05)	0,001
Área de infarto				
Control	2,9 (0,31)		2,8 (0,30)	0,220
Mioblastos	2,9 (0,17)	1,7 (0,16)	1,3 (0,14)	0,001
Área no infarto				
Control	1,6 (0,50)		1,5 (0,40)	0,425
Mioblastos	1,2 (0,08)	1,03 (0,02)	1,0 (0,01)	0,041

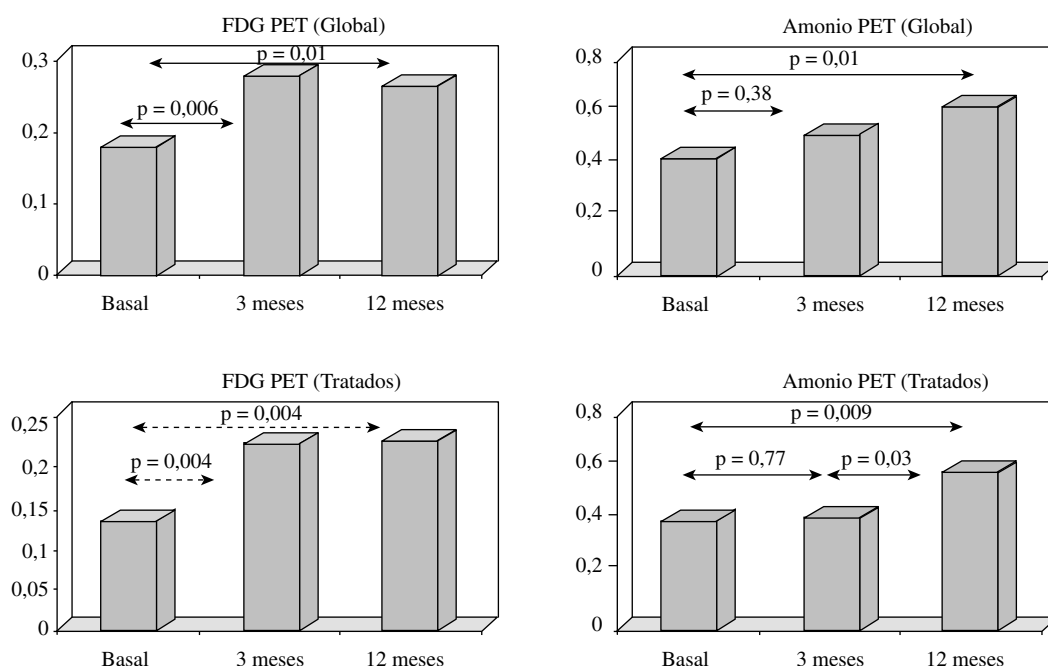


Figura 4. Tomografía de emisión de positrones. FDG PET. El índice de viabilidad con ^{18}F -FDG mostró un incremento significativo en los segmentos tratados con mioblastos. Amonio PET. En el estudio de perfusión con ^{13}N -amonio no se observaron diferencias significativas postoperatorias aunque se produjo un incremento del índice a partir del tercer mes en los segmentos tratados.

segmentos sin antecedente de infarto agudo de miocardio.

Estudios de perfusión y viabilidad

En los estudios de tomografía de emisión de positrones con ^{18}F -FDG y ^{13}N -amonio, el índice medio de captación de glucosa aumentó de $0,17 \pm 0,026 \mu\text{mol g}^{-1} \text{min}^{-1}$ en el preoperatorio a $0,27 \pm 0,008 \mu\text{mol g}^{-1} \text{min}^{-1}$. En el análisis de los segmentos tratados con mioblastos se produjo un incremento significativo del índice de viabilidad: 0,14 en el preoperatorio y $0,26 \mu\text{mol g}^{-1} \text{min}^{-1}$ a los 3 meses ($p < 0,004$), manteniéndose esta significación estadística a los 12 meses (Fig. 4). Estos resultados de la captación de glucosa con ^{18}F -FDG sugieren un incremento de la viabilidad en la región infartada tratada con mioblastos, si tenemos en cuenta que al realizarse los estudios con la técnica hiperinsulinemia-euglucemia se descarta la captación secundaria a inflamación.

El estudio de perfusión con ^{13}N -amonio no mostró diferencias significativas a los 3 meses, ni en el estudio global de todos los segmentos ni en el estudio limitado a los segmentos tratados (global $0,5 \pm 0,03$ vs $0,47 \pm 0,05$, ns; segmentos tratados $0,39 \pm 0,01$ vs $0,36 \pm 0,04$, ns). En el estudio a los 12 meses, aunque no se produjo un incremento significativo con respecto al preoperatorio, sí se observó un incremento próximo a la significación estadística ($p = 0,009$) en los segmentos tratados con mioblastos.

DISCUSIÓN

La regeneración cardíaca con mioblastos es una hipótesis atractiva por su origen autólogo, diferenciación bien definida hacia fibras musculares, rápido crecimiento en medio de cultivo, mínimas probabilidades de desarrollar tumores y gran resistencia a la isquemia^{1,2}. Existen numerosos estudios experimentales utilizando mioblastos esqueléticos en modelos de infarto, tanto en animales pequeños como grandes^{2,4}. Estos estudios experimentales han demostrado que los mioblastos son capaces de injertar en el área del infarto y diferenciarse en miotubos multinucleados^{2,5}.

Aunque algunos estudios iniciales sugerían que los mioblastos eran capaces de adquirir propiedades similares a las del músculo cardíaco e incluso transdiferenciarse y establecer conexiones electromecánicas⁶, las evidencias indican que no se produce una transdiferenciación de los mioblastos y que las células musculares esqueléticas no son capaces de acoplarse mecánicamente con el resto de los cardiomiocitos ni establecer uniones densas⁷. Sin embargo, las fibras musculares esqueléticas son capaces de adquirir ciertas características de células musculares cardíacas y coexpresar fibras musculares de contracción lenta y rápida, favoreciendo su resistencia a la fatiga. Recientemente ha sido demostrado, en un modelo experimental en ratón, que los mioblastos son capaces de fusionarse con células musculares cardíacas *in vivo*⁶. Si estos resultados son re-

producidos por otros grupos, estaría justificada la utilización de los mioblastos esqueléticos como estrategia de regeneración cardíaca.

Los estudios de cardiomioplastia celular con mioblastos en modelos experimentales muestran la siguiente secuencia de acción^{2,8}: las células injertadas en el miocardio mejoran primero la función diastólica a través del incremento de la elasticidad regional, y posteriormente cuando las células se organizan en miotubos y miofibrillas mejora la función sistólica. La modificación de la matriz celular previene el remodelado ventricular. De este modo, las células injertadas en el área del infarto contribuyen a evitar el adelgazamiento de la escara y la dilatación ventricular. Los resultados en animales grandes muestran una mejoría de la función diastólica y sistólica ventricular izquierda; esta mejoría guarda una relación directamente proporcional con el número de mioblastos implantados, independientemente de la fracción de eyección basal¹.

Han sido publicados seis estudios clínicos fase I con mioblastos en pacientes con enfermedades cardíacas⁹⁻¹⁴. Estos estudios se han desarrollado en tres situaciones clínicas distintas: administración intracardíaca asociada a cirugía de revascularización coronaria^{9,11,14}, por vía percutánea endoventricular^{12,13} o de forma adyuvante a la implantación de un sistema de asistencia ventricular¹⁰. Los resultados corroboran los obtenidos en modelos experimentales: factibilidad del procedimiento, demostración de la capacidad de injertarse^{10,15} y mejoría de la función sistólica-diastólica ventricular. Sin embargo, debido a que en la mayoría de los pacientes el tratamiento con células se ha asociado a cirugía de revascularización, en estos momentos es imposible determinar si el trasplante de mioblastos contribuye de forma directa a mejorar la función. Merece la pena mencionar que estudios recientes indican que la cirugía de revascularización contribuye en el mejor de los casos de forma muy limitada a mejorar la función ventricular¹⁶.

Los resultados de nuestro estudio pueden resumirse en: a) el trasplante de mioblastos autólogos en pacientes operados de cirugía de revascularización es un procedimiento factible y seguro; b) el tratamiento con cirugía de revascularización e inyección de mioblastos mejora el índice de motilidad regional y el índice de viabilidad en los segmentos acinéticos-discinéticos. Las diferencias entre los valores basales y a los 3-12 meses muestran una diferencia significativamente mayor en los segmentos tratados con mioblastos que en los tratados únicamente con revascularización; sin embargo, el índice de motilidad regional no mejoró significativamente en ninguno de los subgrupos del grupo control, y c) el incremento del índice de viabilidad medido por tomografía

de emisión de positrones con ¹⁸F-FDG en las áreas infartadas tratadas con mioblastos.

Aunque los estudios experimentales han demostrado la capacidad de injertarse los mioblastos, el porcentaje de células que sobreviven no es bien conocido y algunos estudios sugieren un porcentaje inferior al 5%¹⁰. El número de células inyectadas a nuestros pacientes ha sido significativamente menor que en el estudio de Menasché⁹ y similar al número del estudio de Pagani, que demostraba la capacidad de injertarse los mioblastos¹⁰. Aunque no podemos demostrar que los mioblastos se hayan injertado en nuestros pacientes, los resultados de otros estudios, la mejoría del índice de motilidad regional sin variaciones significativas en el grupo control y el incremento de la captación de ¹⁸F-FDG en las áreas en las que previamente se había descartado viabilidad sugieren que el número de células inyectadas ha sido suficiente para obtener un trasplante celular eficaz.

Tradicionalmente se ha asumido la hipótesis de que los mioblastos tenían la capacidad de regenerar músculo y las células madre de médula ósea podían favorecer el desarrollo de angiogénesis, reducción de la apoptosis y, como consecuencia, una mejoría de la función ventricular¹⁷⁻¹⁹. Basándonos en esta hipótesis, es un resultado esperado la ausencia de mejoría a los 3 meses del estudio de perfusión con ¹³N-amonio. Sin embargo, hemos observado una mejoría tardía en los estudios con ¹³N-amonio que está próximo a la significación estadística a los 12 meses. Este hallazgo puede relacionarse con los resultados preliminares que hemos observado en cerdos con desarrollo de angiogénesis a partir del tercer mes. La confirmación de estos resultados supondría la revisión de los mecanismos de acción, ganando fuerza la hipótesis de que los mioblastos, de la misma manera que las células madre de otros orígenes, generan angiogénesis actuando como plataforma para la secreción de factores de crecimiento o bien reclutando células madre locales o circulantes.

Aunque la mejoría de la función ventricular podría ser atribuida a la revascularización quirúrgica asociada, el hecho de una mejoría mayor del índice de motilidad regional en los segmentos tratados con mioblastos y la ausencia de mejoría de las áreas con infarto revascularizadas en el grupo control apoya la hipótesis de una regeneración cardíaca por mioblastos y no únicamente el efecto de la revascularización.

Un hallazgo interesante es la ausencia de arritmias en nuestra serie, que ha sido una constante en otros estudios^{9,13}. En el estudio de Menasché⁹, cuatro de los 10 pacientes necesitaron la implantación de un desfibrilador, y en el ensayo del Thoraxentrum Rotterdam las arritmias ventriculares con muerte súbita o necesidad de implantar un desfibrilador han sido una compli-

cación frecuente¹³. Estos resultados han inducido a protocolizar la implantación de un desfibrilador profiláctico a todos los pacientes (grupos tratamiento y control) en los dos ensayos europeos con mioblastos cultivados en suero heterólogo, justificando la implantación del desfibrilador los resultados del estudio MADIT II²⁰. La etiología de estas arritmias no es bien conocida y puede estar relacionada con circuitos de reentrada porque los mioblastos no forman uniones tipo *gap* con los cardiomiocitos⁶, el número de las células inyectadas, el volumen de la solución de inyección y otros mecanismos desconocidos. En un estudio reciente, el hecho de que los mioblastos no formen uniones *gap* con los cardiomiocitos se ha argumentado como un mecanismo para prevenir la generación de extrasístoles⁷.

A diferencia de otros estudios clínicos^{9,10,13}, nuestros pacientes recibieron mioblastos que no habían sido cultivados en suero fetal bovino. El empleo de proteínas xenogénicas puede asociarse con una reacción inmune e inflamación, aunque los signos inflamatorios descritos en los pacientes tratados con trasplante de mioblastos han sido muy ligeros¹⁰. En un modelo experimental en cerdos hemos demostrado la importante reacción inflamatoria producida por los mioblastos conservados en suero heterólogo y la ausencia de inflamación producida por los mioblastos conservados en suero autólogo²¹. Nuestra experiencia ha sido confirmada por el estudio de Trainini, cuyos pacientes no han presentado arritmias y el cultivo de los mioblastos se ha realizado en suero autólogo¹⁴.

Otras fuentes de células madre diferentes a los mioblastos han sido exploradas en ensayos clínicos²²⁻²⁵. Los resultados, tanto en infarto agudo como crónico, sugieren en general una mejoría de la función ventricular, con unos mecanismos de acción que suscitan aún más controversias que los mioblastos. La regeneración cardíaca con células madre es el tratamiento de la insuficiencia cardíaca que más expectativas está generando. Sin embargo, la complejidad de la biología celular induce a valorar con una gran cautela los resultados clínicos, y más aún si tenemos en cuenta que la mayoría de los estudios clínicos publicados no son aleatorizados y asocian la revascularización percutánea o quirúrgica. Es necesario potenciar la colaboración de grupos multidisciplinarios para responder a los interrogantes no resueltos.

Como conclusión, nuestros resultados muestran que el trasplante celular con mioblastos asociado a cirugía de revascularización se asocia a una mejoría de la función ventricular izquierda, incremento del tejido viable en el área infartada y seguridad del procedimiento. Aunque nuestro estudio incluye un grupo control, no es un

estudio aleatorizado, y para confirmar los resultados de este estudio está en marcha un ensayo quirúrgico aleatorizado de 50 pacientes (mioblastos + revascularización vs revascularización) con la participación de 12 hospitales españoles. Este ensayo se desarrolla paralelamente a otro ensayo quirúrgico con células progenitoras endoteliales (AC133).

BIBLIOGRAFÍA

1. Chachques JC, Acar C, Herreros J, et al. Cellular cardiomyoplasty: clinical applications. *Ann Thorac Surg* 2004; 77:1121-30.
2. Chachques JC, Duarte F, Herreros J, Prosper F, Giambroni R, Julia P. Cellular myogenic and angiogenic therapy for patients with cardiac or limb ischemia. *Basic Appl Myol* 2003;13:29-37.
3. Schiller NB, Shah PM, Crawford M. Recommendations for quantitation of the left ventricle by two-dimensional echocardiography. American Society of Echocardiography Committee on Standards, Subcommittee on Quantification of Two-Dimensional Echocardiograms. *J Am Soc Echocardiogr* 1989;2:358-67.
4. Menasché P. Skeletal muscle satellite cell transplantation. *Cardiovasc Res* 2003;58:351-7.
5. Ghostine S, Carrion C, Souza LC, et al. Long-term efficacy of myoblast transplantation on regional structure and function after myocardial infarction. *Circulation* 2002;106:31-6.
6. Reinecke H, Minami E, Poppa V, Murry CE. Evidence for fusion between cardiac and skeletal muscle cells. *Circ Res* 2004;94:56-60.
7. Leobon B, Garcin I, Menasche P, Vilquin JT, Audinat E, Charpak S. Myoblast transplanted into rat infarcted myocardium are functionally isolated from their host. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:7808-11.
8. Taylor DA, Atkins BZ, Hungspreugs P. Regenerating functional myocardium: improved performance after skeletal myoblast transplantation. *Nat Med* 1998;4:929-33.
9. Menasche P, Hagege AA, Vilquin JT, et al. Autologous skeletal myoblast transplantation for severe postinfarction left ventricular dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41:1078-83.
10. Pagani FD, DerSimonian H, Zawadzka A, et al. Autologous skeletal myoblast transplanted to ischemia-damaged myocardium in humans. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:879-88.
11. Herreros J, Prosper F, Pérez A, et al. Autologous intramyocardial injection of cultured skeletal muscle-derived stem cells in patients with non-acute myocardial infarction. *Eur Heart J* 2003;24:2012-20.
12. Siminiak T, Fiszler D, Jerzykowska O, Grygielska B, Kalmucki P, Kurpisz M. Percutaneous autologous myoblast transplantation in the treatment of post-infarction myocardial contractility impairment. Report of two cases. *Kardiologia Pol* 2003;59:492-501.
13. Smits PC, Van Geuns RJ, Poldermans D, et al. Catheter-based intramyocardial injection of autologous skeletal myoblasts as a primary treatment of ischemic heart failure: clinical experience with six-months follow-up. *J Am Coll Cardiol* 2003;42:2063-9.
14. Trainini JC, Cichero D, Lago N. Autologous cellular cardiac implant. *Basic Appl Myol* 2003;13:15-22.
15. Hagege AA, Carrion C, Menasche P, et al. Viability and differentiation of autologous skeletal myoblast grafts in ischemic cardiomyopathy. *Lancet* 2003;361:491-2.
16. Allman KC, Shaw LJ, Hachamocitch R, Udelson JE. Myocardial viability testing and impact of revascularization on

- prognosis in patients with coronary artery disease and left ventricular dysfunction: a meta-analysis. *J Am Coll Cardiol* 2002;39:1151-8.
17. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 2001;410:701-5.
 18. Prosper F, Herreros J, Alegría E. Utilización de células madre para la regeneración miocárdica en la insuficiencia cardíaca. *Rev Esp Cardiol* 2003;56:935-9.
 19. Chachques JC, Herreros J, Trainini JC, Prosper F, Lajos P, Salanson-Lajos C. Clinical cellular cardiomyoplasty. Guldner NW, Klapproth P, Jarvis JC, eds. Aachen: Sahker Verlag; 2003. p. 49-56.
 20. Moss AJ, Zareba W, Hall WJ. Prophylactic implantation of a defibrillator in patients with myocardial infarction and reduced ejection fraction. *N Engl J Med* 2002;346:877-83.
 21. Chachques JC, Herreros J, Trainini J, et al. Autologous human serum for cell culture avoids the implantation of cardioverter-defibrillators in cellular cardiomyoplasty. *Int J Cardiol* 2004;95 Suppl 1:29-33.
 22. Strauer BE, Brehm M, Zeus T, et al. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. *Circulation* 2002;106:1913-8.
 23. Assmus B, Schachinger V, Teupe C, et al. Transplantation of progenitors cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI). *Circulation* 2002;106:3009-17.
 24. Tse HF, Kwong YL, Chan JK, Lo G, Lau CP. Angiogenesis in ischemic myocardium by intramyocardial autologous bone marrow mononuclear cell transplantation. *Lancet* 2003; 361:47-9.
 25. Stamm C, Westphal B, Kleine HD, et al. Autologous bone marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration. *Lancet* 2003;361:45-6.



BIOMED



unidix

Especialistas en cirugía cardiovascular

desde 1977 al cuidado de tu salud



91 803 28 02



info@biomed.es