

## La inteligibilidad no revelada de las células madre

JORGE C. TRAININI<sup>MTSAC</sup>, NOEMÍ LAGO<sup>MTSAC</sup>, JORGE MOURAS

Considerable expectativa se generó, desde el inicio de la fase clínica a partir del año 2000, (1, 2) con el implante celular en el intento de recuperar la viabilidad del miocardio, tanto en estadios agudos como crónicos de su patología. A pesar de que su porvenir puede mirarse con optimismo, no hubo coherencia en su desarrollo metodológico. Se precipitó el tema hacia resultados “todo o nada”, incorporándolo a lo mediático, sin tener en cuenta el análisis de pautas metodológicas encadenadas con el fin de ser dilucidado. El recurso de regenerar tejidos utilizados por la naturaleza necesita ser revelado en su inteligibilidad en sus etapas fundamentales, que se extienden desde la investigación básica hacia la aplicada.

Hasta el momento se adoleció de estrategias de investigación que trataran de resolver adecuadamente la requisitoria primigenia, **¿el implante celular modifica la viabilidad en una cicatriz fibrosa?** Fundamentalmente se ha optado por el modelo de isquemia aguda que representa un atractor que nuclea demasiadas variables de acción sincrónica, imposibles de investigar en forma independiente, las cuales enturbian el análisis de la utilización de células progenitoras de la médula ósea (v.gr., reperfusión por angioplastia, recirculación espontánea en la zona injuriada, actividad colagenolítica de las metaloproteinasas, implante celular). Aquí cabe la aplicación del *principio de incertidumbre de Heisenberg*. Mientras realizamos angioplastia en la zona recientemente isquémica, de eficacia comprobada, desconocemos al mismo tiempo cuánto de evolución se debió a las *stem cell*. Y mientras utilizamos estas células, desconocemos la porción de beneficio correspondiente al reparo natural por reperfusión.

Es así que, primordialmente, se utilizaron modelos agudos que obviamente pueden ser más eficaces en la demostración de los resultados positivos, antes que apelar a desarrollos lógicos para revelar la razón de lo que estamos aplicando. En realidad, estos modelos dejan abierto el dilema sobre el incremento de la viabilidad real y topográfica. Centran su búsqueda en resultados funcionales que se hallan lejos del escalón inicial de la viabilidad orgánica que se debe demostrar con los modelos más puros posibles, tratando de alejarnos de la incertidumbre de mejorar la zona injuriada a través de varios procedimientos simultáneos. Vemos en ellos efectos casuales y sumatorios, no las causas que los producen.

En el modelo crónico fibrótico, el análisis estricto de la eficacia debe relacionarse en sus resultados con el objetivo básico planteado, el cual consiste en observar los cambios producidos en las áreas no viables, metabólicamente inactivas e irrevascularizables, las cuales se implantaron con células. En este aspecto son fundamentales los estudios que evidencien beneficios en los segmentos tratados, ya que estos pacientes son revascularizados concomitantemente. Esta situación aún constituye una limitante en este modelo, aunque ellos presenten únicamente isquemia en un área remota a las escaras injertadas.

Para avanzar en este tema se debe contar con una metodología dentro de lo ético y que además dé pautas fundamentales en el cambio de la viabilidad de los segmentos tratados y que incluya el menor número de variables posibles para conservar la especificidad del análisis. Nuestra estrategia se basó en la selección de pacientes con una franja del ventrículo izquierdo viable, pasible de revascularizar la descendente anterior únicamente sin circulación extracorpórea, sin viabilidad ni arterias pasibles de cirugía en los segmentos restantes y con infartos de más de seis meses de constituidos para evitar la posibilidad de la recuperación espontánea. De esta forma, éticamente se actuó sobre pacientes que debían operarse y que secundariamente eran injertados con células en un modelo cuya única variable alejada del análisis de viabilidad era la revascularización de la descendente anterior. Con este modelo se evitó la circulación extracorpórea y la posibilidad de síndrome inflamatorio posbomba, así como las revascularizaciones múltiples. Otro hecho de importancia en este análisis fue el de considerar los segmentos acinéticos y discinéticos. Los hipocinéticos, si bien fueron tratados con implante de células mononucleares en el mismo acto operatorio, se excluyeron del análisis para evitar el posible efecto beneficioso sobre ellos de la cirugía de revascularización miocárdica.

Por otra parte, sabemos que no más de un 10% de segmentos no viables tienen la expectativa de mejorar con la revascularización miocárdica aislada. Además, los segmentos fibrosos tienen menos del 25% de cardiomiocitos viables. Debido a que se necesita por lo menos el 50% de miocitos funcionalmente viables para que la revascularización sea exitosa, es concebible reflexionar acerca de que un cambio en la viabilidad de los segmentos discinéticos y acinéticos puede deberse al implante celular.

Volvemos a inferir que en ciencia es más factible ver los efectos que las causas. De los posibles modelos agudos (isquemias agudas) y crónicos (miocardios fibróticos, miocardiopatías dilatadas, Chagas), es fundamental trabajar en los cambios de viabilidad en forma exhaustiva con comprobación por medio de SPECT, PET o RMN. Lograr la comprobación de un cambio en la viabilidad de los segmentos comprometidos significa el paso trascendental en este tema. Posiblemente se deban utilizar escalas de *score* adecuadas a cambios mínimos en lugar de las actuales que establecen la viabilidad de segmentos demasiado amplios para los cambios que pueden introducir las células progenitoras.

En relación con la situación clínica, creemos que la experiencia acumulada en este último lustro ha demostrado algunos aspectos que avizoran una imagen a la espera de ser develada. Debemos contentarnos con lo parcial y lo previsional, a pesar de la tendencia que tiene el hombre en su reclamo de unidad y coherencia en la visualización de un mundo que presenta como rasgo fundamental la diversidad. En este sentido, nuestra propia experiencia nos hace ver, más allá de todas las incógnitas planteadas en esta revisión, lo siguiente: (3)

- a) Indicios de eficacia terapéutica tanto a nivel de la capacidad funcional del paciente y de la función ventricular, como asimismo cambios positivos en la viabilidad miocárdica. Es dable esperar, situación que hemos visto clínicamente, que estos enfermos puedan presentar en su evolución, debido a la recuperación de tejidos, cuadros de angina de pecho que antes no expresaban (experiencia propia con mioblastos). Ha sido de rigor para este análisis el estudio segmentario del corazón con el fin de observar la evolución de cada una de dichas particiones.
- b) La mejor perspectiva de regeneración en aquellos segmentos con infarto no transmural en relación con los transmurales.
- c) **¿El implante es útil en pacientes con miocardiopatías dilatadas y disfunción ventricular?** Los mejores resultados logrados con los segmentos no transmurales implican discernir que existe la posibilidad de avanzar sobre otras miocardiopatías prácticamente inexploradas en la fase clínica, como la dilatación idiopática y la enfermedad de Chagas. En este aspecto, en ocho pacientes dilatados (cinco idiopáticos, dos chagásicos y uno con cardiopatía lúpica) seguidos durante  $180 \pm 110$  días luego del implante de células madre por cateterismo se observó una clase funcional que pasó de  $2,5 \pm 0,76$  a  $1,37 \pm 0,52$  ( $p < 0,001$ ), obteniéndose un incremento de la fracción de eyección de  $18,25 \pm 6,86\%$  a  $27,75 \pm 9,51\%$  ( $p < 0,01$ ), mientras que el diámetro diastólico del ventrículo iz-

quiero disminuyó de  $70,86 \pm 11,70$  a  $65,11 \pm 9,78$  ( $p < 0,05$ ).

- d) La comprensión de que aquellos corazones con infartos crónicos y con un diámetro diastólico mayor de 70 mm no tienen buena evolución respecto de los menos dilatados.
- e) La necesidad de la repetición del procedimiento por vía no invasiva para completar la remodelación reversa.
- f) A la luz de la experiencia acumulada actualmente, cabe preguntarse: **¿son capaces las células progenitoras endoteliales de diferenciarse en cardiomiocitos en el infarto crónico?** En este aspecto, la valoración de la densidad capilar ha mostrado mejores resultados con la CD34 que con la AC133. La diferencia hallada quizás pueda deberse al momento del implante en relación con el infarto, ya que en agudos hay comprobación de mayor densidad capilar. La consideración de una mejor perspectiva en el tratamiento precoz, luego de un infarto, es lógica y racional. Se beneficiaría de una mejor señalización que ocurre durante la isquemia con vectores como citocinas, el factor de crecimiento endotelial, el factor-1 estromático, el factor-1 alfa-hipóxico. Entonces, **¿por qué mejora también en infartos crónicos, si aquí no se obtendría mayor densidad capilar?** En este punto se abren algunas posibilidades: interferencia en la escara fibrótica, reactivación de células progenitoras residentes, retención de las células trasplantadas.

En cuanto a la utilización de G-SCF (factor de crecimiento de colonias granulocíticas), el protocolo de la Universidad de Navarra lo utiliza como inductor durante cinco días y posteriormente por plasmaféresis mediante una columna se selecciona la fracción celular AC133. En oposición a la utilización exclusiva de G-SCF, metodología llevada a cabo por Zohlhófer y colaboradores, (4) debemos decir que no está demostrado que el inductor aislado sea más efectivo que el reclutamiento de las células proangiogénicas buscadas, situación ésta que asegura el número necesario de células en el concentrado logrado. Tampoco hay seguridad de que estas células libres en la circulación aniden en el lugar adecuado con el suficiente porcentaje para evitar la necesidad de la colocación *in situ*. Se ha tratado de avanzar raudamente a nivel de las búsquedas de respuestas en aplicación clínica. El esfuerzo debe afianzarse en proyectos que cabalguen entre la investigación básica y la aplicada. El trabajo de Zohlhófer y colaboradores (4) es evidencia de que el tipo de célula y la vía utilizada desempeñan un papel que todavía no ha sido satisfecho en sus resultados y en el que influye el caos en la metodología empleada en las distintas comunicaciones, el que impresionablemente necesita autoorganizarse.

En esta vorágine por los resultados, la innovación y la simplificación se dejaron rápidamente de lado los mioblastos a favor de las células de la médula ósea. Sus treinta micrones de diámetro los han hecho inconvenientes para la vía intracoronaria; por lo tanto, no es factible su utilización para el tratamiento agudo al que han apuntado la gran mayoría de los trabajos.

En nuestra experiencia con mioblastos, a los  $33 \pm 6,05$  meses de seguimiento hemos llegado a consideraciones útiles. (5, 6) Si tomamos en cuenta los segmentos comprometidos y los dividimos en infarto transmural, infarto no transmural, isquémicos y normales, sobre 68 segmentos pasibles de estudio (en los 4 enfermos sobrevivientes sobre 5 originales), hallamos un claro retroceso de los segmentos con infarto transmural y un incremento en los segmentos no transmurales e isquémicos. En el 80% de los segmentos transmurales analizados se comprobó una mejora en la viabilidad, al disminuir el compromiso original que tenían de 15 segmentos a 3 ( $p < 0,005$ ). El análisis de los segmentos no transmurales debe ser exhaustivo. Si bien éstos globalmente aumentaron de 7 a 10, aquellos segmentos no transmurales registrados originariamente en el preoperatorio descendieron de 7 a 2 (72%). Se puede explicar que el aumento global de estos segmentos no transmurales, analizado con la evaluación radioisotópica en cada uno de ellos, correspondió a segmentos incorporados tanto por el avance de la enfermedad como a expensas de los transmurales, en claro retroceso del tejido fibrótico.

En términos de experiencia clínica, con los mioblastos hemos visto una *performance* sostenida en el tiempo. Si los comparamos con las células madre de la médula ósea a los siete meses de seguimiento, el porcentaje de segmentos con compromiso transmural que mejoró fue del 46%, mientras que en los no transmurales se obtuvo el 90% de beneficio. Al año se mantuvo la eficiencia en los transmurales (52%), mientras que en los no transmurales se observó una disminución de la eficiencia al 69%. **¿Necesitan las células de la médula ósea una reinyección en este momento?** De hecho, en tres pacientes hemos procedido a una segunda aplicación en ese momento con células de la médula ósea.

**¿Cuál es la mejor vía de acceso?** El cateterismo será en el futuro el acceso a emplear, por ser menos riesgoso y por la posibilidad de tener que repetirlo de acuerdo con las necesidades del paciente. Actualmente su utilización exclusiva no hace al estudio de que implique colocar la célula en el segmento adecuado para su posterior seguimiento. El acceso por cateterismo podrá beneficiarse en el futuro si en los miocardios fibróticos y con la utilización del implante intraquirúrgico en los segmentos obligados se demuestra un cambio significativo en la viabilidad. Hasta el momento, los segmentos transmurales y no transmurales analizados previamente en un modelo crónico nos objetiva que los enfermos isquémicos agudos

se perfilan como los más adecuados para obtener resultados favorables.

El análisis adicional entre segmentos con compromiso transmural y no transmural realizado implica una posible concepción terapéutica, tanto en lo que hace a la utilización precoz del cardioimplante celular en el curso de infartos completos/subcompletos como a su uso en la miocardiopatía dilatada idiopática y en la enfermedad de Chagas. La interpretación es que en los miocardios *atigrados*, con mosaico de zonas viables y no viables, la posibilidad de recuperación sería mayor que en el modelo necrótico, constituido con gran dilatación y escaras fibrosas extensas.

En el trabajo de Janssens y colaboradores, (7) un estudio aleatorizado y a doble ciego con implante de células madre en pacientes con infarto de miocardio y elevación del ST, se necesita en primer término explicar aspectos éticos. **¿Es factible que a un grupo de pacientes se les retire médula ósea y se los someta a cateterismo cardíaco con el fin de instilar solución salina en las coronarias de pacientes con infartos agudos para componer el grupo testigo?** Creemos que el mercado de la salud franquía un avance de la ciencia por encima de la ética a niveles peligrosos por más que los autores argumenten que hallan que esta experiencia es crucial.

Si efectuamos un análisis técnico en este trabajo, la población incorporada es de bajo riesgo, ya que el 38% de los infartos se producen en el área de la coronaria derecha, mientras que la fracción de eyección en estos enfermos alcanza el 55%. Con esta fracción de eyección no es dable esperar cambios significativos. El tratamiento celular dentro de las 24 horas del infarto agudo tratado con angioplastia satisfactoria se llevó a cabo durante la actividad de las metaloproteinasas, lo cual no es conveniente para la supervivencia de las células inyectadas. A pesar de que el trabajo encuentra incierta la mejoría con terapia celular, el grupo tratado ha demostrado un efecto favorable en la remodelación del área infartada.

Los modelos de desarrollo clínico en infartos agudos muestran la necesidad de establecer el intervalo de tiempo entre el evento agudo y el momento del implante. Este hecho halla relación con los fenómenos bioquímicos que ocurren en el área injuriada a nivel de la matriz extracelular. Es así que se observa un incremento de las metaloproteinasas de matriz (MMP-1) entre los días 3 y 7 del infarto agudo de miocardio para decrecer a valores normales luego del día 14. Esta familia de moléculas tiene la función de favorecer o inhibir la degradación de la matriz extracelular. A su vez, el volumen de colágeno aumenta desde el tercer día del evento y se va incrementado hasta el día 21 para constituir la escara fibrótica. Se supone que el momento apropiado para implantar células se encuentra entre los días 7 y 14, cuando el espacio aún no ha sido reemplazado totalmente por el colágeno cicatrizal, lo que limitaría el estiramiento

de las zonas limítrofes, desfavoreciendo o enlenteciendo el proceso de remodelación.

El trabajo de Meyer y colaboradores (8) analiza el ensayo clínico BOOST a los 18 meses. Fue realizado en pacientes a los cuales, luego de un infarto agudo, se les inyectó una infusión con células de la médula ósea. En el trabajo original de ese estudio publicado por Wollert y colaboradores, (9) los autores hallaron una mejoría significativa en la función cardíaca a los 6 meses en el grupo tratado con células. A los 18 meses, este nuevo estudio no encuentra diferencias significativas, 3,1% de mejoría en el grupo control y 5,9% en los implantados en la fracción de eyección del ventrículo izquierdo, lo cual concuerda con el análisis que hemos realizado anteriormente en relación con el sostenimiento de la *performance*.

**¿La selección celular desempeña algún papel?** Lógicamente, de acuerdo con lo manifestado, se debe considerar que los mioblastos pueden ser importantes y quizás no deban ser desechados en el futuro en los implantes intraquirúrgicos (en conjunción con la médula ósea) y que además la selección de la población de médula ósea elegida (total, subpoblaciones o células específicas) constituye un tema por dilucidar.

Los estudios clínicos deberán llevarse a cabo con el auxilio de la investigación básica si queremos aprehender a la inteligibilidad no revelada de la naturaleza en este tema de las células madre. (10)

---

## BIBLIOGRAFÍA

1. Menasche P, Hagege AA, Scorsin M, Pouzet B, Desnos M, Duboc D, et al. Myoblast transplantation for heart failure. *Lancet* 2001;357:279-80.
2. Trainini JC, Cichero D, Bustos N. Cardioimplante celular autólogo. *Rev Argent Cardiol* 2002;70:137-42.
3. Chachques JC, Herreros J, Trainini JC. *Regeneración Cardíaca*. Buenos Aires: Magister Eos Ed; 2005.
4. Zohlhofer D, Ott I, Mehilli J, Schomig K, Michalk F, Ibrahim T, et al; REVIVAL-2 Investigators. Stem cell mobilization by granulocyte colony-stimulating factor in patients with acute myocardial infarction: a randomized controlled trial. *JAMA* 2006;295:1003-10.
5. Trainini JC, Lago N, de Paz J, Cichero D, Giordano R, Mouras J, et al. Myoblast transplantation for myocardial repair: a clinical case. *J Heart Lung Transplant* 2004;23:503-5.
6. Trainini JC, Lago N, Masoli O, Mouras J, Guevara E, Barisani JL y col. Implante cardíaco de mioblastos. Informe a tres años de seguimiento. *Rev Argent Cardiol* 2006;74:304-7.
7. Janssens S, Dubois C, Bogaert J, Theunissen K, Deroose C, Desmet W, et al. Autologous bone marrow-derived stem-cell transfer in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: double-blind, randomised controlled trial. *Lancet* 2006;367:113-21.
8. Meyer GP, Wollert KC, Lotz J, Steffens J, Lippolt P, Fichtner S, et al. Intracoronary bone marrow cell transfer after myocardial infarction. *Circulation* 2006;113:1287-94.
9. Wollert KC, Meyer GP, Lotz J, Ringes-Lichtenberg S, Lippolt P, Breidenbach C, et al. Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomised controlled clinical trial. *Lancet* 2004;364:141-8.
10. Lago N, Trainini J, Genovese J, Barisani JL, Mouras J, Guevara E y col. Tratamiento de la disfunción ventricular postinfarto mediante el cardioimplante de mioblastos autólogos. *Rev Argent Cardiol* 2003;71:130 (abstract 90).