

El futuro de la regeneración cardíaca (*Future of Cardiac Regeneration*)

JORGE TRAININI

Un editorial reciente de *Circulation* sobre regeneración cardíaca detalla “El futuro es tan brillante que deberíamos llevar gafas de sol”. (1) Según estas consideraciones, el trabajo de Vera Janavel y colaboradores (2) en el campo de la experimentación que motiva esta nota debe recibirse con augurios por el esfuerzo en tratar de responder interrogantes no resueltos, a la espera de dicha época.

Recordemos que el término “angiogénesis” fue utilizado por primera vez en 1787 por el cirujano británico Hunter, pero realmente fue acuñado en el año 1935 para describir la formación de neovasos en la placenta. (3) En 1971 se aisló el primer factor angiogénico. (4)

Los principales factores fisiológicos relacionados con el desarrollo de circulación colateral son la isquemia y los factores mecánicos. La angiogénesis es una respuesta fisiológica al estrés hipóxico *in vivo*, pero no están claros los mecanismos y estímulos concretos que inician el desarrollo de colaterales en respuesta a la isquemia tisular. Fleisch y colaboradores (5) demostraron en pacientes con enfermedad coronaria estable la asociación que existía entre FGF-2, VEGF y la circulación colateral, relación ésta que es menor para el FGF-2 que para el VEGF. El aumento de VEGF en respuesta a la hipoxia es un mecanismo fisiológico de *feed-back*, que es mediado por el factor inducible por la hipoxia (HIF). También en la fase inicial de la dilatación de las colaterales, factores mecánicos como el estrés tangencial en la pared vascular pueden iniciar un remodelado vascular y estimular el crecimiento de células musculares lisas vasculares a través del receptor de factor de crecimiento epidérmico.

El desarrollo de nuevos tratamientos encaminados a aumentar el aporte sanguíneo del corazón isquémico continúa siendo un reto para los investigadores en el campo cardiovascular. Inicialmente, la revascularización transmiocárdica con láser, por medio de un proceso inflamatorio conseguía estimular la síntesis de neovasos. Posteriormente, la aplicación de factores de crecimiento, en forma más directa, lograba el objetivo de aumentar la densidad vascular. La aplicación de la terapia génica ha permitido mantener la síntesis endógena de un factor de crecimiento durante un período, produciendo respuestas angiogénicas en los territorios tratados; tanto es así en que algún caso llegaron a formarse angiomas, lo cual nos obliga a ser cautos, especialmente con vectores que originan transfecciones duraderas. Por último, el trasplante celular ha permitido implantar directamente las células

que formarán los nuevos vasos en el territorio isquémico, lo cual *a priori*, es muy alentador.

Desde hace varios años se piensa que existe una débil capacidad de proliferación de los miocitos en el corazón posnatal. (6) Los cardiomiocitos en mitosis representan aproximadamente 14 células/millón en el corazón normal, que se multiplican por 10 en el caso de un infarto agudo de miocardio. Se ha calculado que en el ventrículo izquierdo de un hombre de 45 años hay aproximadamente $5,5 \times 10^9$ cardiomiocitos con un índice mitótico de $14/10^6$ células; esto significa que 81.000 células están en mitosis en un momento dado. Las mitosis duran aproximadamente entre media y una hora y anualmente se produce un número importante de nuevos miocitos. (7) Esta situación implica que de por sí el infarto de miocardio trae aparejada una proliferación de cardiomiocitos en el área circundante que debe tomarse en cuenta en los desarrollos experimentales con oclusión de coronarias.

El VEGF es un factor específico del endotelio que interviene tanto en la angiogénesis adaptativa como en la patológica. Se descubrió a comienzos de los ochenta como un factor que aumentaba la permeabilidad vascular. Años después se demostró que estimulaba la migración y la replicación de las células endoteliales, por lo que es un factor angiogénico *in vivo*. (8)

En varios modelos en animales de isquemia miocárdica aguda y crónica (9) se ha observado que la administración de VEGF produce un incremento del número de neovasos, aumento de la perfusión tisular y mejoría de la función ventricular. En cuanto a la forma de aplicar el VEGF, es más eficaz la infusión intracoronaria o inyección intramiocárdica que la infusión sistémica intravenosa.

En cuanto a su aplicación clínica, es de destacar el estudio VIVA (10) aleatorizado, controlado y doble ciego en pacientes sin opción de revascularización. A los 120 días, existían diferencias significativas en cuanto al grado anginoso en el grupo de mayor dosis respecto del control y grupo de dosis menor. No obstante, este estudio se ha criticado por el modo de administración de la proteína, primero intracoronario y luego mediante dosis intravenosas.

El primer trabajo clínico que utilizó la angiogénesis terapéutica mediante terapia génica es el de Baumgartner y colaboradores (11) en el que aplicaron a nivel intramuscular un plásmido codificador de VEGF a pacientes con enfermedad vascular periférica e indicación de amputación. Observaron un aumento

en los niveles plasmáticos de VEGF y una mejoría clínica en las úlceras isquémicas y en la necesidad de amputación. Losordo y colaboradores (12) aplicaron a nivel miocárdico mediante inyección intramiocárdica un plásmido de DNA codificador de VEGF, en el territorio isquémico de cinco pacientes, en los que se observó una disminución del grado anginoso. Más recientemente, se ha publicado el estudio KAT (13) que incluye 103 pacientes a los que a continuación de implantarles un *stent* coronario se les asignaba a terapia génica con adenovirus-VEGF, plásmido-VEGF o placebo, mediante infusión intracoronaria. A los 6 meses de seguimiento no se objetivaron efectos adversos ni reestenosis en los grupos de tratamiento. Además, el grupo tratado con adv-VEGF presentó una mejoría significativa en la perfusión miocárdica al compararlo con los otros dos grupos.

Respecto de los efectos deletéreos vasculares, especialmente de la terapia génica con VEGF, se destaca la formación de angiomas vasculares. Schwarz y colaboradores, (14) en un trabajo en el que pretendían evaluar el efecto angiogénico del VEGF expresado a través de un plásmido y aplicado mediante inyecciones en ratas con un infarto, observaron que los animales aleatorizados al tratamiento activo tenían una mortalidad precoz mayor y en el estudio histológico presentaban estructuras angiomasas a nivel epicárdico, que eran fácilmente identificables macroscópicamente en las zonas donde se había aplicado el factor.

Otro posible efecto deletéreo es la aceleración de la aterogénesis. La estimulación de la angiogénesis se asocia con un incremento de la formación de neointima, que puede acelerar el proceso aterogénico, pero además la formación de *vasa vasorum* en la pared vascular puede llevar a ruptura de la placa, trombosis añadida e infarto de miocardio. También se ha observado presencia de hipotensión mediada por la liberación de óxido nítrico.

De todas formas, a pesar del auge actual de la regeneración cardíaca, se deben valorar con gran cautela los resultados clínicos dada la complejidad de la biología celular. Mucho más si tenemos en cuenta que la mayoría de los trabajos publicados a nivel clínico no son aleatorizados y la gran mayoría de ellos están asociados con la revascularización, ya sea quirúrgica o por angioplastia. Dado esto, es importante la investigación en esta área como asimismo potenciar lo

interdisciplinario con el fin de resolver los interrogantes que plantea el tema.

BIBLIOGRAFÍA

1. Perin EC, Geng YJ, Willerson JT. Adult stem cell therapy in perspective. *Circulation* 2003;107:935-8.
2. Vera Janavel GL, Cabeza Meckert PM, Crottogini AJ, Mele AA, Cuniberti LA, Martínez VN y col. Reducción del tamaño de infarto de miocardio ovino mediante la transferencia génica de plásmido codificante para factor de crecimiento de endotelio vascular humano. *Rev Argent Cardiol* 2004;72:197-202.
3. Hertig AT. Angiogenesis in the early human chorion and in the primary placenta of the macaque monkey. *Carnegie Institute of Washington Publication* 459. *Contrib Embryol* 1935;7.
4. Conway EM, Collen D, Carmeliet P. Molecular mechanisms of blood vessel growth. *Cardiovasc Res* 2001;49:507-21.
5. Fleisch M, Billinger M, Eberli FR, Garachemani AR, Meier B, Seiler C. Physiologically assessed coronary collateral flow and intracoronary growth factor concentrations in patients with 1- to 3-vessel coronary artery disease. *Circulation* 1999;100:1945-50.
6. Trainini JC, Cichero D, Bustos N. Cardioimplante celular autólogo. *Rev Argent Cardiol* 2002;70:137-42.
7. Trainini JC, Lago N, de Paz J, Cichero D, Giordano R, Mouras J y col. Trasplante de mioblastos esqueléticos para reparo de necrosis miocárdica. *Rev Argent Cardiol* 2002;70:324-7
8. Isner JM. Myocardial gene therapy. *Nature* 2002; 415:234-9
9. Tio RA, Tkebuchava T, Scheuermann TH, Lebherz C, Magner M, Kearny M, et al. Intramyocardial gene therapy with naked DNA encoding vascular endothelial growth factor improves collateral flow to ischemic myocardium. *Hum Gene Ther* 1999;10:2953-60.
10. Henry TD, Annex BH, McKendall GR, Azrin MA, López JJ, Giordano FJ, et al; VIVA Investigators. The VIVA trial: Vascular endothelial growth factor in ischemia for vascular angiogenesis. *Circulation* 2003;107:1359-65.
11. Baumgartner I, Pieczek A, Manor O, Blair R, Kearney M, Walsh K, et al. Constitutive expression of phVEGF165 after intramuscular gene transfer promotes collateral vessel development in patients with critical limb ischemia. *Circulation* 1998;97:1114-23.
12. Losordo DW, Vale PR, Symes JF, Dunnington CH, Esakof DD, Maysky M, et al. Gene therapy for myocardial angiogenesis: initial clinical results with direct myocardial injection of phVEGF165 as sole therapy for myocardial ischemia. *Circulation* 1998;98:2800-4.
13. Hedman M, Hartikainen J, Syvanne M, Stjernvall J, Hedman A, Kivela A, et al. Safety and feasibility of catheter-based local intracoronary vascular endothelial growth factor gene transfer in the prevention of postangioplasty and in-stent restenosis and in the treatment of chronic myocardial ischemia: phase II results of the Kuopio Angiogenesis Trial (KAT). *Circulation* 2003;107:2677-83.
14. Schwarz ER, Speakman MT, Patterson M, Hale SS, Isner JM, Kedes LH, et al. Evaluation of the effects of intramyocardial injection of DNA expressing vascular endothelial growth factor (VEGF) in a myocardial infarction model in the rat- angiogenesis and angioma formation. *J Am Coll Cardiol* 2000;35:1323-30.