

Tratamiento de la disfunción ventricular postinfarto mediante el cardioimplante de mioblastos autólogos (Cardioimplante de mioblastos)

NOEMÍ LAGO¹, JORGE TRAININI*, JORGE GENOVESE, JOSÉ L. BARISANI*, JORGE MOURAS, EDUARDO GUEVARA*¹, HUGO AMOR², JORGE DE PAZ

RESUMEN

Objetivo

El cardioimplante de mioblastos autólogos (CMA) en escaras necróticas es un tratamiento en vías de estudio clínico para evaluar la mejoría de la disfunción ventricular postinfarto. El objetivo del presente trabajo fue el de comprobar la factibilidad y la seguridad del CMA en pacientes con secuelas necróticas y evaluar los cambios clínicos y en la motilidad segmentaria durante el seguimiento.

Material y métodos

Se intervinieron 5 pacientes masculinos (edad 60 ± 6 años) con disfunción ventricular postinfarto con 15 segmentos (S) acinéticos (AK), 4 S discinéticos (DK) e indicación de cirugía de revascularización (CRM) en áreas remotas a las no viables. Los mioblastos se extrajeron del muslo por medio de una biopsia de 15 g. Se cultivaron 4 semanas y se implantaron durante la CRM. El análisis de la motilidad parietal segmentaria se realizó mediante ecografía con armónicas y colorkinesis, en el preoperatorio y el postoperatorio. El puntaje (*score*) de motilidad se estableció según las normas de la Asociación Americana de Ecocardiografía.

Resultados

Se efectuó el implante de $4,7 \pm 2,2$ ml de solución albuminada con 200 ± 37 millones de células cultivadas que contenían el $55 \pm 11\%$ de mioblastos (CD56+) mediante $22,6 \pm 7$ inyecciones intramiocárdicas en los S AK y DK. Ningún paciente tuvo complicaciones. No hubo arritmias malignas ni óbitos. La clase funcional (NYHA) mejoró de $2,2 \pm 0,5$ a $1 \pm 0,0$ ($p < 0,05$). La fracción de eyección del ventrículo izquierdo aumentó del $33 \pm 15,6\%$ al $36 \pm 12\%$ ($p = ns$), el diámetro diastólico de ventrículo izquierdo se redujo de $64 \pm 6,5$ mm a $60,1 \pm 4,2$ mm ($p = ns$) y el índice de motilidad descendió de $1,75 \pm 0,0$ a $1,63 \pm 0,5$ ($p = 0,07$). De los 19 S comprometidos mejoraron 6 ($p < 0,05$), es decir el 31,6%.

Conclusiones

Estos datos preliminares indican la factibilidad y la seguridad del CMA en cardiopatías isquémicas con escaras necróticas. La recuperación de los segmentos AK y DK sugieren una eficacia funcional en la presente muestra, que deberá tener confirmación definitiva en el seguimiento de largo plazo y en estudios con un número mayor de pacientes.

REV ARGENT CARDIOL 2004; 72: 124-130.

Recibido: 11/2003

Aceptado: 1/2004

Dirección para separatas: HIGA
Presidente Perón - Anatole
France 773 (1870) Avellaneda -
Provincia de Buenos Aires
e-mail: jctrainini@hotmail.com

Palabras clave

> Mioblastos - Cardiomioplastia celular - Insuficiencia cardíaca

INTRODUCCIÓN

La insuficiencia cardíaca como consecuencia del infarto de miocardio es uno de los problemas mayores que afronta la cardiología. La disminución de cardiomiocitos y la formación de escaras fibróticas no funcionales producida por el infarto de miocardio resulta en la pro-

ducción de un daño irreversible para la función cardíaca. Intervenciones médicas pueden resultar un alivio para esta situación, pero un número importante de pacientes progresan hacia la insuficiencia cardíaca a pesar del tratamiento optimizado. Esto ha determinado que se inserten dentro de este campo innovaciones terapéuticas alternativas con el fin de mejorar el esta-

Trabajo seleccionado para Premio XXX Congreso Argentino de Cardiología

Servicio de Cirugía Cardíaca, Hospital Interzonal General de Agudos Presidente Perón, Avellaneda, Provincia de Buenos Aires

* Miembro Titular SAC

¹ Para optar a Miembro Titular SAC

¹ Ecocardiografía, ICYCC-Fundación Favaloro

² Servicio de Cardiología, Hospital Zonal General de Agudos Narciso López, Lanús, Provincia de Buenos Aires

do de situación. El trasplante cardíaco, por otra parte, representa una solución aceptable para el estadio final de la insuficiencia cardíaca. Sin embargo, los resultados alejados han limitado su utilización dados los recurrentes episodios de rechazo y el desarrollo de arteriopatía coronaria en el corazón injertado. Además, mientras el número de pacientes en lista para trasplante cardíaco continúa en aumento, la cantidad de donantes permanece relativamente estable. Estas consideraciones determinan que se requieran urgentemente nuevas y efectivas medidas terapéuticas para pacientes con insuficiencia cardíaca.

Estudios recientes han demostrado que el trasplante de células cultivadas en el miocardio no viable ofrece un nueva posibilidad de restauración en la disfunción cardíaca de corazones infartados. Células implantadas han demostrado que sobreviven y proliferan dentro del corazón nativo. (1-4) La reparación del tejido cardíaco con las propias células del organismo (reparo autogénico) ofrece un ámbito fascinante en la consideración de una nueva concepción terapéutica. (5, 6)

El objetivo de esta investigación es el de comprobar la factibilidad y la seguridad del cardioimplante de mioblastos autólogos (CMA) en pacientes con disfunción ventricular secundaria a secuelas necróticas y evaluar los cambios clínicos y en la motilidad segmentaria de las áreas acinéticas/discinéticas durante el seguimiento alejado.

MATERIAL Y MÉTODOS

Criterios de inclusión

La elección para la inclusión de pacientes se basó en:

1. Disfunción sistólica del ventrículo izquierdo con una fracción de eyección (FEVI) $\leq 40\%$, analizada por ecocardiografía y ventriculografía isotópica.
2. Antecedentes de infarto de miocardio con presencia de escaras acinéticas (AK) o discinéticas (DK) y no viables, demostrada por dos métodos diferentes.
3. Espesor de pared ventricular > 5 mm.
4. Indicación concomitante de cirugía coronaria en área remota (diferente del área trasplantada) con evidencias de viabilidad e isquemia y anatomía coronaria no pasible de angioplastia percutánea.
5. Clase funcional (NYHA) II-III.

Criterios de exclusión

Comprendieron:

1. Patología del músculo esquelético.
2. Arritmias incontrolables.
3. Infarto de miocardio < 4 semanas.
4. Pruebas virales seropositivas para:
 - a) Virus de la inmunodeficiencia humana.
 - b) Citomegalovirus.
 - c) Hepatitis B y C.
5. Urgencia quirúrgica.
6. Mujer embarazada.
7. Enfermedad grave, patología neoplásica o infecciosa concurrente.

Este protocolo fue aprobado por el Comité de Ética de la institución. Los pacientes incluidos recibieron extensa información y dieron su consentimiento.

ABREVIATURAS

AK	Acinético/a
CF	Clase funcional
CMA	Cardioimplante de mioblastos autólogos
CRM	Cirugía de revascularización miocárdica
DDVI	Diámetro diastólico ventrículo izquierdo
DK	Discinético/a
FEVI	Fracción de eyección del ventrículo izquierdo
IM	Índice de motilidad
NYHA	New York Heart Association
S	Segmentos

Estudios preoperatorios

En el preoperatorio, todos los pacientes se estudiaron con ecocardiograma Doppler, ventriculografía isotópica, cinecoronariografía y ventriculografía izquierda. La viabilidad miocárdica se determinó mediante perfusión miocárdica en cámara SPECT gatillado con MIBI Tc 99m (reposo/dipiridamol) y eco estrés con dobutamina. Se analizó la motilidad parietal segmentaria, en condiciones basales, mediante ecógrafos SONOS 2500 y SONOS 5500 (Hewlett Packard; Andover, Massachusetts, USA), con el empleo de colorkinesis y armónicas de fusión, respectivamente. El puntaje (*score*) de motilidad parietal se estableció según las normas de la Asociación Americana de Ecocardiografía (segmentos cardíacos = 16). Los resultados de los estudios ecográficos prequirúrgicos fueron analizados por separado por dos especialistas diferentes tomando como segmentos no viables solamente aquellos en los que ambas evaluaciones coincidían. La evaluación postoperatoria fue realizada a los 90 días por los mismos operadores con desconocimiento de los segmentos implantados.

Población

A partir de diciembre de 2001 y hasta febrero de 2003 se incluyeron 5 pacientes del sexo masculino con una edad media de 60 ± 6 años (rango 52-66) portadores de disfunción ventricular postinfarto y con indicación de cirugía de revascularización miocárdica en un área remota. La localización del infarto fue inferolateroposterior ($n = 2$), anteroinferior ($n = 1$), anterolateroinferoapical ($n = 1$) e inferoposterior ($n = 1$). Los segmentos AK fueron 15 y los DK 4, con un total de 19 segmentos comprometidos. Todas las áreas infartadas tenían coronarias ocluidas y no revascularizables. Los segmentos hipocinéticos se excluyeron del análisis con el fin de hacer el protocolo más riguroso, al evitar la posibilidad de que su mejoría se debiera a la cirugía coronaria concomitante y no al implante de mioblastos. Los segmentos viables estuvieron representados por 18 hipocinéticos y 43 normocinéticos.

En su totalidad, los pacientes tenían síntomas clínicos de insuficiencia cardíaca en clase funcional II-III y evidencias de isquemia miocárdica en el territorio de la arteria descendente anterior demostrada por angina y pruebas funcionales ecográficas y radioisotópicas.

Los datos preoperatorios promedio de estos pacientes indicaban una clase funcional (NYHA) de $2,2 \pm 0,5$, mientras que la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) correspondía a $33 \pm 15,6\%$; el diámetro diastólico del ventrículo izquierdo era de $64 \pm 6,5$ mm y el índice de motilidad de $1,75 \pm 0,0$ (Tabla 1).

Biopsia muscular

Para el procedimiento de cultivo se extrajeron 600 ml de suero autólogo, la mitad antes de efectuar la biopsia. Se obtuvo una muestra para biopsia de 10-15 gramos de músculo

Tabla 1
Cardioimplante celular. Datos

p N°	Edad (años)	CF (NYHA)	IM	Infarto Localización	Células ($\times 10^6$)	IMPLANTE CD56+ (%)	CELULAR Volumen (ml)	Sitios (N°)	(mm) Pre-Tx	DD VI (mm) Pos-Tx	Fey VI (%) Pre-Tx	VI (%) Pos-Tx
1	65	II	1,8	Inferolatero-posterior	250	65	3	10	64	63	38	39
2	61	II	1,8	Infero-lateroposterior	220	44	6	25	67	64	27	28
3	56	III	1,8	Anterolatero-inferoapical	200	59	8	26	73	63	21	23
4	52	II	1,3	Anteroinferior	190	55	3,5	27	59	55,7	39	39
5	66	II	1,1	Inferoposterior	140	53	3	25	57	55	40	54

Tx: Trasplante.

esquelético del muslo (músculo vasto lateral) bajo anestesia local. La muestra se fragmentó y se trasladó en un medio de preservación al laboratorio de cultivos. El análisis histológico de las muestras reveló normalidad.

Cultivo

Se procedió a descontaminar la muestra con concentraciones crecientes de antibióticos y separarla de los tejidos adyacentes (aponeurosis, septos fibrosos, tejido adiposo). Los pasos siguientes correspondieron a la digestión enzimática del macerado con enzimas (colagenasa, tripsina) para luego proceder a la filtración y centrifugación. El pellet remanente se resuspendió en medio de crecimiento con 10-20% de suero autólogo, se sembró e incubó a 37°C en cámara húmeda con 5% de CO₂. La observación de los mioblastos en cultivo fue periódica con el fin de evitar una confluencia mayor del 70%, que induciría a la diferenciación en miotúbulos con pérdida de la capacidad de proliferación. Se realizaron las expansiones necesarias hasta llegar a 200 millones de células. El tiempo total de cultivo fue de 3 a 4 semanas. El día de la cirugía se recolectaron los mioblastos y se resuspendieron en solución fisiológica y albúmina al 0,5% (recombinante). Se realizaron ensayos microbiológicos, identificación cualitativa (por observación directa e inmunofluorescencia indirecta con anticuerpos antidesmina) e identificación cuantitativa por citometría de flujo con marcación CD56+ (identifica mioblastos y no fibroblastos). Los mioblastos se trasladaron a 4°C. Todos los pasos del cultivo se realizaron bajo campana de flujo laminar en áreas que cumplían las normas Good Manufacturing Practice (GMP) y Good Laboratory Practice (GLP) (Figura 1).

Cirugía de revascularización miocárdica e implante celular

Los pacientes fueron intervenidos quirúrgicamente realizándose en todos revascularización sin circulación extracorpórea en arteria descendente anterior con arteria mamaria interna, con el fin de evitar el agregado de variables de perfusión que invalidaran los resultados. Luego de realizado el procedimiento de cirugía de revascularización coronaria, las células se injertaron dentro y alrededor de las escaras (áreas no revascularizadas) con una aguja de calibre 27 en todos los segmentos comprometidos. Las inyecciones se realizaron en forma tangencial a la superficie de la pared ventricular, con el fin de reducir el riesgo de que el contenido celular se derramara en la cavidad ventricular. Se inyectaron un promedio de $200 \pm 37 \times 10^6$ células en un volumen de $4,7 \pm 2,2$ ml (rango 3-8 ml) y con una concentración de células CD56+

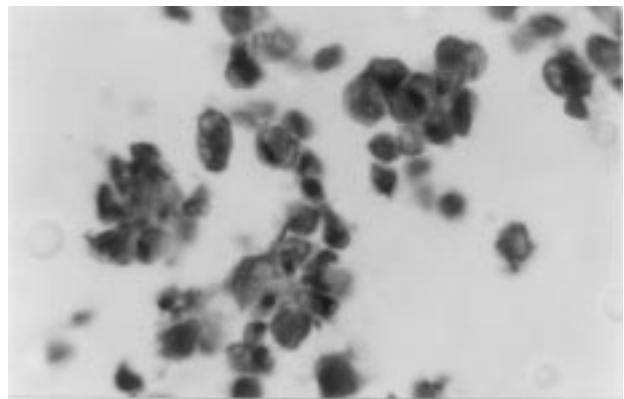


Fig. 1. Mioblastos en proceso de cultivo.

(mioblastos) del $55 \pm 11\%$. Los sitios de implante fueron en promedio de $22,6 \pm 7$ (rango 10-27).

El único tratamiento específico en el perioperatorio fue la utilización de hidrocortisona, 500 mg, previo al implante seguida por 100 mg c/6 horas el primer día y luego dosis decrecientes hasta 100 mg c/12 horas en el día 5 y luego se pasó a 40 mg de prednisona c/12 horas seguida por dosis decrecientes hasta el día 30 en el cual se suspendió. En el momento de realizar el estudio se consideró que la de corticoterapia podría controlar un proceso inflamatorio excesivo. (3-5) Además, 3 semanas antes de la cirugía se comenzó la impregnación del paciente con amiodarona (200 mg/día) por vía oral, con el fin de prevenir arritmias ventriculares.

Estadística

Los resultados se expresan como media \pm desvío estándar. Se realizó una comparación de datos preoperatorios y postoperatorios con la prueba de la t de Student para datos apareados; una $p < 0,05$ se consideró un nivel de significación estadística.

RESULTADOS

Postoperatorio inmediato

No hubo complicaciones referidas a la biopsia muscular ni tampoco a la cirugía de revascularización

miocárdica con el implante de mioblastos. No se registraron arritmias malignas ni óbitos. Los pacientes fueron dados de alta entre los 7 y los 15 días.

Seguimiento

El periodo de seguimiento clínico comprende un promedio de $6 \pm 3,5$ meses. En este tiempo no se observaron óbitos ni efectos adversos en ninguno de los pacientes. Los estudios realizados para comparar la motilidad regional entre el preoperatorio y el postoperatorio se realizaron con eco-colorkinesis a los 90 días de la cirugía.

La clase funcional (NYHA) pasó de $2,2 \pm 0,5$ a $1,00$ ($p < 0,05$). La FEVI se incrementó de $33 \pm 15,6$ a $36 \pm 12\%$ ($p = ns$), el diámetro diastólico del ventrículo izquierdo se redujo de $64 \pm 6,5$ mm a $60,1 \pm 4,2$ mm ($p = ns$) y el índice de motilidad descendió de $1,75 \pm 0,0$ a $1,63 \pm 0,5$ ($p = 0,07$). De los 19 segmentos comprometidos mejoraron 6, es decir el 31,6% ($p < 0,05$) (Figura 2).

DISCUSIÓN

El concepto clásico le asigna a los cardiomiocitos la capacidad de replicarse hasta los 3-4 meses de edad posnatal. (7) El corazón, de esta forma, sería un órgano posmitótico. En la eventualidad de un infarto agudo de miocardio o en el curso de un proceso crónico como puede ser la hipertensión arterial, es dable observar la muerte de cierta cantidad de cardiomiocitos. La zona muerta es reemplazada por una escara fibrosa, lo cual trae concatenado el remodelado ventricular. Todo este mecanismo forma parte del desarrollo gradual de la insuficiencia cardíaca. (8-10)

Sin embargo, este conocimiento no regenerativo del miocardio debe revisarse a la luz de los últimos hallazgos. (11-13) Los datos experimentales en ratones han mostrado que la tasa diferencial entre el número de células cardíacas que mueren y la cantidad total de células que configuran la masa ventricular

implica la posibilidad de un recambio activo. Si no hubiese esta suplencia, la pérdida de la masa celular se haría insostenible. Este concepto determina una nueva visión sobre el envejecimiento cardíaco. Según Beltrami, Anversa y colaboradores, en corazones sanos se halló una tasa de células en mitosis del orden de 14×10^6 . (14)

Si el ventrículo izquierdo posee unos $5,5 \times 10^9$ cardiomiocitos, un infarto agudo de miocardio produce en su población celular una merma considerable de ellos. Hasta hace poco se consideraba la imposibilidad de réplica en los miocitos humanos. Últimamente este concepto no regenerativo del miocardio ha cambiado; en realidad existe un recambio activo que permite conservar la masa celular. De esta manera, el corazón renovaría el 20% de su contenido muscular anualmente. (7)

Este índice mitótico normal se incrementaría tanto en presencia de patología necrótica como en las cardiopatías dilatadas idiopáticas hasta llegar a una tasa de células en mitosis de 500×10^6 células en las zonas perinecroticas. (14)

En el corazón, el procedimiento de reparar la zona fibrótica con células filogenéticamente emparentadas y cultivadas tiene la finalidad de lograr la recuperación estructural y funcional de la zona afectada. (15) Las células que poseen potencialidad para el desarrollo de la corrección cardíaca pueden ser de variada procedencia. Obviamente, en este desarrollo tenemos en cuenta su derivación autogénica, dejando excluidas tanto las de origen alogénico como las transgénicas, las cuales se alejan del concepto de autorreparo. Los tipos celulares utilizados en la práctica clínica son por el momento los mioblastos y las células progenitoras de la médula ósea.

La experiencia actual de nuestro servicio comprende 11 pacientes tratados a partir de diciembre del 2001, que conforman tres grupos: I) los 5 pacientes incluidos en esta comunicación con mioblastos autólogos implantados por vía epicárdica, II) células progenitoras autólogas de la médula ósea implantados por vía epicárdica (5 pacientes) y III) células progenitoras autólogas de la médula ósea implantadas por cateterismo intracoronario (1 paciente).

Los mioblastos, utilizados en la presente experiencia provienen del músculo esquelético y se denominan también células satélites. Son de fácil multiplicación y las más estudiadas, lo cual ha permitido su aplicación en la fase clínica. (16, 17) Están ubicados en la membrana basal en carácter latente hasta que un estímulo puede disparar su réplica. Los mioblastos se hallan en la línea celular que se extiende desde la célula indiferenciada mesodérmica hasta las diferenciadas cardíaca, esquelética y también del músculo liso. (17)

A pesar de que estas células se implantan en áreas infartadas, estas zonas nunca son del todo avasculares y por otra parte los mioblastos también son resistentes a la isquemia, lo cual permitiría el crecimiento y

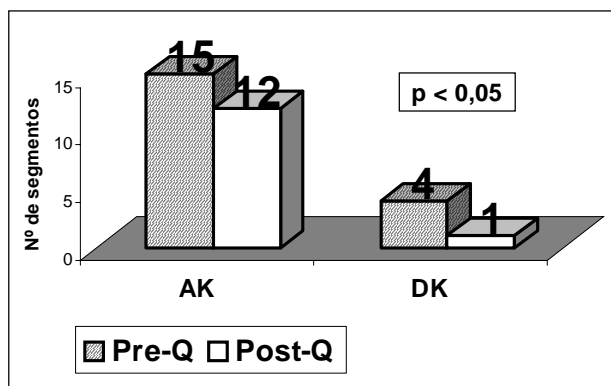


Fig. 2. Cambios de la motilidad segmentaria entre el preoperatorio y el postoperatorio valorada con eco-colorkinesis.

la multiplicación en un medio óptimo de nutrición. Nuestro objetivo principal fue el de demostrar la compatibilidad en el uso humano, avalados por una larga experiencia internacional en los últimos años llevada a cabo en diversas especies animales. En este aspecto los resultados clínicos fueron satisfactorios, ya que se demostró la posibilidad de la réplica celular desde la biopsia inicial alcanzando su número una cantidad adecuada para el injerto a las 3 a 4 semanas de cultivo. En relación con la cantidad de células implantadas, utilizamos un promedio de 200×10^6 , una cifra menor que en la experiencia inicial de Menasché. (2) Si bien consideramos que el porcentaje de mioblastos en la solución inyectada debe ser superior al 55-65%, no concordamos con aportar grandes volúmenes en el miocardio, lo cual se requiere si el número de células implantadas es superior. Esta consideración también tiene que ver con la ausencia de arritmias importantes observada en nuestra experiencia respecto de la de Menasché.

En cuanto a la seguridad del procedimiento, no hubo complicaciones hasta el momento de la cirugía y en el seguimiento en los pacientes implantados. En este aspecto, los mioblastos tienen poca capacidad de oncogénesis o de migrar a células de diferente naturaleza (osteoblastos, condroblastos). Su linaje miogénico es un punto a favor en relación con las células progenitoras de la médula ósea, las cuales tienen una posibilidad fenotípica más amplia.

La cardiomioplastia celular en nuestra experiencia clínica se realizó con el empleo de mioblastos autólogos expandidos con suero humano autólogo. Los beneficios mayores de lograr la expansión celular con suero humano autólogo estriba en que puede realizarse sin riesgos de contaminación por priones, virus o zoonosis. Las técnicas tradicionales de cultivo comprenden el uso de suero fetal bovino para conseguir el crecimiento celular. El contacto de las células humanas con suero fetal bovino da por resultado después de tres semanas de cultivo la fijación de las proteínas animales en la superficie celular, lo cual representa un antígeno con posibilidades de efectos adversos. Luego del implante celular, la reacción inflamatoria produce la consecuente fibrosis. Los estudios anatómopatológicos realizados posteriormente a la cardiomioplastia celular con el uso de suero fetal bovino demostraron que las células trasplantadas fueron absorbidas dentro de la fibrosis sin neovascularización. (19, 20) Esta configuración histológica representa un riesgo por la posibilidad de establecer un circuito de microreentrada, capaz de inducir arritmias ventriculares severas por generación ectópica de impulsos. La experiencia clínica actual con la cardiomioplastia celular ha demostrado significativas arritmias ventriculares severas y muertes súbitas en pacientes a quienes sus células se cultivaron con suero bovino. Debido a esto, en algunos estudios clínicos se han indicado desfibriladores cardíacos implantables. Sin

embargo, experiencias clínicas como la nuestra indican que cuando los cultivos de mioblastos se expandieron con el uso de suero humano autólogo, el riesgo de arritmia desaparece, evitando la necesidad de cardiodesfibriladores.

Las explicaciones en el mecanismo por el cual las células mejoran la performance del corazón son discutidas. Varios factores en forma directa o indirecta contribuyen a lograr los beneficios estructurales y funcionales. El implante de células musculares incrementa la elasticidad regional y modifica la matriz celular con el fin de prevenir el remodelado ventricular. De este modo, las células injertadas en el área del infarto contribuyen a tratar de evitar el adelgazamiento de la escara y la dilatación del ventrículo. El mecanismo que demuestre la transmisión y la propagación de los impulsos eléctricos desde el corazón nativo a las células injertadas aún no se ha elucidado. Respuestas al estímulo mecánico ejercidas por los cardiomiocitos circundantes pueden ser las responsables para inducir esta contracción. De ahí que el mejoramiento en la función ventricular se obtiene a través de una combinación de factores.

Desde el punto de vista funcional, es de importancia la demostración completa del acoplamiento electromecánico. Si bien se hallaron discos intercalares responsables de las uniones intercalares, en los implantes sobre territorios miocárdicos normales estos hallazgos no se comprobaron ampliamente en las áreas fibróticas. El acoplamiento electromecánico entre el músculo cardíaco y las células implantadas aún debe demostrarse fehacientemente "in vivo", debido a una baja regulación de la N-caderina y conectina 43 en las fibras esqueléticas. Se debe conseguir –de acuerdo con los trabajos experimentales desarrollados– la expresión persistente de estas proteínas, con el fin de comprobar la invasión de la barrera del tejido fibroso por las células implantadas.

Las técnicas de abordaje utilizadas para implantar las células pueden influir en la eficacia de la cardiomioplastia celular. En efecto, la mortalidad celular que sigue a un implante celular parece ser muy importante cuando se colocan en el centro de una escara altamente fibrótica, debido a la disminución del oxígeno y nutrientes que conlleva el miocardio isquémico. El implante de células preferentemente en áreas periféricas (zonas intermedias entre escaras y miocardio normal) y la asociación con la angiogénesis terapéutica puede mejorar la sobrevida celular. Sin embargo, es posible que puedan llegar a ser necesarios implantes de células repetidos y periódicos para reducir progresivamente el tamaño del infarto en miocardiopatías isquémicas o gradualmente mejorar la enfermedad en miocardiopatías no isquémicas. Esta opción deberá simplificarse con el desarrollo de un catéter percutáneo con el fin de injertar las células o utilizar la vía intracoronaria.

El análisis estricto de la eficacia de este trabajo debe relacionarse en sus resultados con el objetivo

básico planteado, el cual consiste en observar los cambios cinéticos producidos en las áreas no viables, metabólicamente inactivas e irvascularizables, las cuales fueron implantadas con mioblastos. En este aspecto son fundamentales los estudios que evidencien contractilidad en los segmentos tratados con células implantadas, ya que estos pacientes fueron revascularizados concomitantemente. Esta situación constituye una limitante en este protocolo, aunque ellos presentaban únicamente isquemia en el área anteroseptal, remota a las escaras injertadas. Por otra parte sabemos que no más de un 10% de segmentos no viables tienen la expectativa de mejorar con la revascularización miocárdica aislada, (2) lo cual significa un contraste con el 31,6% de segmentos recuperados a los 90 días de seguimiento en nuestros pacientes en el análisis crítico. Es importante mencionar que los cambios en la motilidad siguieron mejorando y estudios realizados en los que cumplieron 6 meses de seguimiento revelaron que se había acrecentado a 9 el número de segmentos que evidenciaron cambios favorables, lo cual representa el 47% ($p < 0,05$) de las áreas comprometidas. En la Figura 3 se muestra un ejemplo de los cambios documentados por eco-colorcinesis en un paciente cardioimplantado con mioblastos autólogos.

Los segmentos analizados fueron acinéticos y discinéticos. Si bien los segmentos hipocinéticos periinfarto también recibieron cardioimplante de mioblastos en el mismo acto operatorio, se excluyeron del análisis para evitar el posible efecto benéfico sobre ellos de la cirugía de revascularización miocárdica, la cual constituye una limitante para la rigurosidad en la comprensión de los resultados.

El cardioimplante celular autólogo inaugura una era promisoriosa en la terapéutica de las enfermedades cardíacas. (21) Sin embargo, persisten varias cuestio-

nes por dilucidar para que esta posibilidad se transforme en terapéuticas posibles y habituales. ¿Cuál es la mejor célula para utilizar? ¿Cómo deben implantarse?, implican preguntas por resolver más allá de que por el momento la utilización de mioblastos en medios de cultivo constituyen las células más estudiadas y confiables utilizadas en la experiencia clínica juntamente con las células progenitoras de la médula ósea.

Aspectos éticos derivados de una técnica inicial hacen que los pacientes elegidos para este procedimiento no contemplen únicamente el implante celular en las zonas fibróticas, sino también la revascularización de áreas revascularizables y remotas en forma sincrónica. Solucionadas estas cuestiones habrá que comprobar su real eficacia, comparándola con las técnicas convencionales. La asociación de terapéuticas angiogénicas previa a la miogénesis celular parece estar justificada en la facultad de inducir prevascularización en escaras postinfarto. Esperamos que en un futuro cercano la células autólogas puedan ser utilizables como un recurso cotidiano para la regeneración de los tejidos en los pacientes con miocardiopatías. La regeneración miocárdica por medio del implante celular conlleva la promesa de restaurar la función ventricular en aquellos pacientes que presentan un infarto miocárdico extenso o una miocardiopatía dilatada idiopática. (22)

CONCLUSIONES

Estos datos preliminares indican la factibilidad y la seguridad del CMA en cardiopatías isquémicas con escaras necróticas. La recuperación de los segmentos AK y DK sugieren una eficacia funcional en la presente muestra. Estas conclusiones deberán tener confirmación en el seguimiento de largo plazo y en estudios aleatorizados con un número mayor de pacientes.

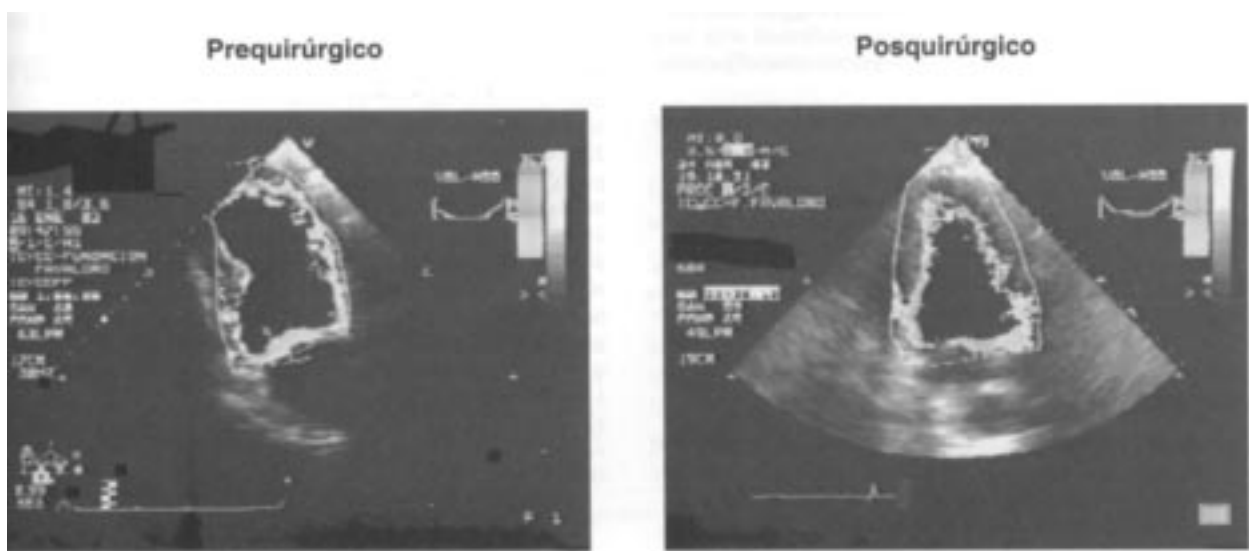


Fig. 3. Evaluación de la motilidad segmentaria con eco-colorcinesis.

SUMMARY

Autologous myoblast cardiac implant in postinfarction ventricular dysfunction

Objective

Autologous myoblast transplantation in necrotic scars is a novel procedure designed in order to repair or regenerate post-myocardium infarct ventricular dysfunction. The objective of this study was to demonstrate the feasibility and safety of autologous myoblast transplantation in patients with necrotic scars and to evaluate clinical and myocardial segment motility changes during follow-up.

Research design and methods

Five male patients (aged 60 ± 6 yrs), presenting left ventricular dysfunction with 15 akinetic segments, 4 dyskinetic segments and due for revascularization surgery in remote unviable areas, were selected to undergo autologous myoblast transplantation. Skeletal myoblasts obtained from thigh biopsy (15 gr) were cultured during 4 weeks and transplanted during revascularization surgery. Myocardial segments motility was evaluated by means of acoustic quantification and color kinetic echocardiography at preoperative and postoperative stages. Motility scores were assessed following the American Society of Echocardiography guidelines.

Results

An average of 4.7 ± 2.2 ml of Albumin solution with 200 ± 37 million cells containing $55 \pm 11\%$ myoblasts (CD56+) were transplanted by means of 22.6 ± 7 intramyocardial injections in akinetic and dyskinetic segments. All patients showed uncomplicated postoperative courses. No malignant arrhythmias or deaths were observed. Improvement in New York Heart Association functional class (2.2 ± 0.5 to 1 ± 0.0 ; $p = 0.05$), ejection fraction ($33 \pm 15.6\%$ to $36 \pm 12\%$; $p = \text{ns}$), left ventricular diastolic diameter (64 ± 6.5 mm to 60.1 ± 4.2 mm; $p = \text{ns}$) and motility index (1.75 ± 0.0 to 1.63 ± 0.5 ; $p = 0.07$) were observed. A double-blind echocardiographic analysis showed that 6 out of 19 impaired segments (31.6%) improved their contractility ($p < 0.05$).

Conclusions

This preliminary data demonstrated clinical feasibility and safety of autologous myoblasts transplantation in patients with necrotic scars and ischemic myocardium segments. Improvement in akinetic and dyskinetic segments suggest functional efficacy in these patients and must be confirmed with long-term follow-up studies including a larger number of patients.

Key words: Myoblasts - Myocardial Infarction - Cell Transplantation - Congestive heart failure

Agradecimientos

Damos las gracias a: Laboratorios Craveri, por su colaboración técnica en el cultivo de mioblastos. Lic. Florencia Roggers. Lic. Alejandra Mielnichuck

BIBLIOGRAFÍA

1. Menasché P, Hagege AA, Scorsin M, Pouzet B, Desnos M, Duboc D, et al. Myoblast transplantation for heart failure. *Lancet* 2001; 357:

279-80.

2. Menasché P, Hagege AA, Vilquin JT, Desnos M, Abergel E, Pouzet B, et al. Autologous skeletal myoblast transplantation for severe postinfarction left ventricular dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:1078-83.

3. 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.

4. Chachques JC, Herreros J, Trainini JC. Cardioimplante celular. *Rev Argent Cardiol* 2003;71:138-45.

5. Chachques JC, Cattadori B, Herreros J, Prosper F, Trainini JC, Blanchard D, et al. Treatment of heart failure with autologous skeletal myoblasts. *Herz* 2002;27:570-8.

6. Trainini JC, Cichero D, Lago N, Giordano R, de Paz J, Elencwajg B, et al. Autologous cellular Cardiac-Implant. *Basic Appl Myol (BAM)* 2003;13:39-44.

7. Nadal-Ginard B. Generation of new cardiomyocytes in the adult heart: Prospects of myocardial regeneration as an alternative to cardiac transplantation. *Rev Esp Cardiol* 2001; 54:543-50.

8. Trainini JC, Barisani JL, Cabrera Fischer EI, Chada S, Christen AI. Chronic aortic counterpulsation with latissimus dorsi in heart failure: clinical follow-up. *J Heart Lung Transplant* 1999;18:1120-2.

9. Trainini JC. El concepto de "estructura culpable" en la insuficiencia cardíaca. *Rev Argent Cardiol* 2001; 69:128-35.

10. Oliveri R. Apoptosis en la insuficiencia cardíaca. *Rev Argent Cardiol* 2000; 68:603-7.

11. Anversa P, Kajstura J. Ventricular myocytes are not terminally differentiated in the adult mammalian heart. *Circ Res* 1998;83:1-14.

12. Sadoshima J, Izumo S. The cellular and molecular response of cardiac myocytes to mechanical stress. *Annu Rev Physiol* 1997; 59:551-71.

13. Anversa P, Palackal T, Sonnenblick EH, Olivetti G, Meggs LG, Capasso JM. Myocyte cell loss and myocyte cellular hyperplasia on the hypertrophied aging rat heart. *Circ Res* 1990; 67:871-85.

14. Beltrami AP, Urbanek K, Kajstura J, Yan SM, Finato N, Bussani R, et al. Evidence that human cardiac myocytes divide after myocardial infarction. *N Engl J Med* 2001;344:1750-7.

15. Trainini JC, Cichero D, Bustos N. Cardioimplante celular autólogo. *Rev Argent Cardiol* 2002;70:137-42.

16. Chiu RC, Zibaitis A, Kao RL. Cellular cardiomyoplasty: myocardial regeneration with satellite cell implantation. *Ann Thorac Surg* 1995;60:12-8.

17. Taylor DA, Atkins BZ, Hungspreugs P, Jones TR, Reedy MC, Hutcherson KA, et al. Regenerating functional myocardium: improved performance after skeletal myoblast transplantation. *Nat Med* 1998;4:929-33.

18. Fishman MC, Olson EN. Parsing the heart: genetic modules for organ assembly. *Cell* 1997;91:153-6.

19. Hagege AA, Carrion C, Menasché P, Vilquin JT, Duboc D, Marolleau JP, et al. Viability and differentiation of autologous skeletal myoblast grafts in ischaemic cardiomyopathy. *Lancet* 2003;361:491-2.

20. Pagani FD, DerSimonian H, Zawadzka A, Wetzel K, Edge AS, Jacoby DB, et al. Autologous skeletal myoblasts transplanted to ischemia-damaged myocardium in humans. Histological analysis of cell survival and differentiation. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:879-88.

21. Tam SK, Gu W, Mahdavi V, Nadal-Ginard B. Cardiac myocyte terminal differentiation. Potential for cardiac regeneration. *Ann N Y Acad Sci* 1995; 752:72-9.

22. Chachques JC, Carpentier A. Cellular myoplasty: what are we really trying to achieve? *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002;123:583-4.