

Técnica de inyección intramiocárdica tipo «siembra» para terapia celular en insuficiencia cardiaca terminal. Procedimiento original

Rubén Argüero Sánchez,* Guillermo Careaga Reyna

RESUMEN

Introducción: En el ámbito del tratamiento de la insuficiencia cardiaca terminal, el trasplante celular tiene la posibilidad de utilizarse de manera individual o combinado con procedimientos quirúrgicos como la revascularización del miocardio. La técnica de implante, sin embargo, ha sido controvertida, por lo que decidimos determinar el grado de inclusión del medio de contraste aplicado en el miocardio. **Material y métodos:** Se trató de un estudio experimental para el cual se utilizaron corazones de cerdo adulto, distribuidos de manera aleatoria en dos grupos, con dos subgrupos cada uno de ellos. Grupo I ($n = 6$): corazones de cerdo que recibieron inyección de medio de contraste mediante la aplicación simultánea de múltiples jeringas (tipo «siembra»). Grupo II ($n = 6$): corazones de cerdo que fueron inyectados con medio de contraste intramiocárdico con una sola jeringa. Los corazones fueron sometidos a estudio radiológico para comparar la distribución del medio de contraste. Para la comparación entre grupos se utilizó la prueba exacta de Fisher. El valor de p para considerar significativas las diferencias fue de menos de 0.05. **Resultados:** Se observó una distribución más homogénea del medio de contraste en las radiografías tomadas posterior a la inyección correspondientes al grupo I que en las tomadas en el grupo II, con un valor de $p = 0.002$. **Conclusión:** En conclusión la inyección por «siembra» es el procedimiento de elección para este tipo de pacientes.

Palabras clave: Insuficiencia cardiaca, trasplante celular, células CD34+, técnica de «siembra».

INTRODUCCIÓN

El corazón es el primer órgano que se desarrolla en los animales vertebrados con la migración celular para formar el tubo cardíaco.¹ Hasta hace algu-

ABSTRACT

Introduction: Within the surgical procedures for treatment of terminal heart failure, cell transplantation can be used individually or in combination with surgical procedures such as myocardial revascularization. Implantation techniques, however, have given rise to controversy, which is the reason why we decided to determine the degree of inclusion of a contrast medium applied to the myocardium. **Materials and methods:** This was an experimental study using adult pig hearts, distributed randomly into two groups, with two subgroups each. Group I ($n = 6$): pig hearts injected with a contrast medium through a simultaneous application with multiple syringes («sowing» pattern) Group II ($n = 6$): pig hearts injected with an intramyocardial contrast medium with an only syringe. The hearts were subjected to a radiological study to compare the distribution of the contrast medium. Fisher's exact test was utilized for the comparison between both groups. The value of p to consider the differences as significant was set below 0.05. **Results:** A more homogenous distribution of the contrast medium was observed in the radiographies taken after the corresponding injections to Group I than in those taken for Group II, with a value for $p = 0.002$. **Conclusion:** The «sowing» injection technique is the procedure of choice for this type of patients.

Key words: Heart failure, cell transplantation, CD34+ cells, «sowing» technique.

nos años, se aceptaba que el número de células miocárdicas se mantenía fijo y que, en caso de ocurrir alguna lesión de las células miocárdicas como la producida por el infarto o la cardiomiopatía dilatada idiopática, no había posibilidad de pro-

* Cirugía Cardiotóraxica. Centro Médico ABC.

** División de Cirugía Cardiotóraxica de la Unidad Médica de Alta Especialidad, Hospital de Cardiología del Centro Médico Nacional Siglo XXI. Instituto Mexicano del Seguro Social.

Recibido para publicación: 02/09/08. Aceptado: 26/02/09.

Correspondencia: Dr. Rubén Argüero Sánchez
Sur 136, Desp. 514, Col. Américas
01120 México, D.F. Tel/Fax: (0155) 5272-2749.

liferación celular, por lo que la forma en que compensaba el miocardio su funcionamiento era a través de la hipertrofia de los miocitos remanentes. Sin embargo, recientemente se han observado células totipotenciales aisladas en el corazón adulto que, en condiciones especiales, pueden originar nuevas células miocárdicas. La limitante es que la magnitud de esta proliferación no es suficiente para producir una mejoría clínica evidente.²

Por lo arriba mencionado, con los avances obtenidos en cultivo celular, terapia génica y otros logros de la tecnología moderna, se han desarrollado líneas de investigación orientadas a la aplicación de «células troncales» en el miocardio irreversiblemente dañado con la finalidad de favorecer su recuperación.

Con la finalidad de evitar la transmisión de priones, virus u otros patógenos, se puede utilizar material biológico del propio paciente, de tal manera que se convierte en autodonante. Así, las células son obtenidas del mismo paciente, lo que puede conseguirse de la médula ósea.³

Esta modalidad terapéutica no es nueva. La obtención de precursores hematopoyéticos a partir de la médula ósea (MO), fue estandarizada por Thomas y colaboradores⁴ en 1970, a través de múltiples punciones bajo anestesia general.

Si bien el índice de complicaciones en este procedimiento es bajo y las complicaciones serias se ubican en 0.27% de 3,290 extracciones, una alternativa al trasplante autólogo de médula ósea (TAMO), es el trasplante autólogo de células madre de sangre periférica, las cuales se obtienen por hemoférésis, aunque la cantidad de progenitores mieloides (CFU-GM) necesarios para garantizar un injerto es incierto y varía de acuerdo a las diferentes técnicas utilizadas, de tal manera que las cifras oscilan entre 0.6 y hasta 19.7×10^4 CFU-GM/kg.^{5,6}

En el ámbito del tratamiento de la insuficiencia cardiaca terminal, el trasplante celular tiene la posibilidad de utilizarse de manera individual o combinado con procedimientos quirúrgicos como la revascularización del miocardio,¹ con la finalidad de estimular la proliferación celular y la angiogénesis o repoblar el miocardio enfermo con células que puedan restaurar la contractilidad⁷ y, en consecuencia, mejorar la clasificación funcional.

Para este propósito se han utilizado células de músculo esquelético, de músculo liso, cardiomiositos y células madre pluripotenciales que tienen capacidad de diferenciación. Con todos estos tipos celulares se ha visto que pueden sobrevivir e incluso mejorar la contractilidad de áreas con miocardio necrótico.⁸

Por otro lado, está bien establecido el uso de factor estimulante de colonias de granulocitos (FEC-G) en pacientes y/o donadores de médula ósea o progenitores hematopoyéticos periféricos con gran seguridad y casi nulos efectos secundarios, para mejorar la obtención en el número de «stem-cell» (CD34+).⁹ Inclusive, existen reportes en la literatura del uso de factor estimulante de colonias de granulocitos (FEC-G) en pacientes post-infarto para estimular este tipo de células y emplearlas en autotrasplante mediante infusión intramioocárdica, demostrando su utilidad.^{10,11}

La técnica de implante, sin embargo, ha sido controvertida, más por aspectos mercadotécnicos y de intereses ajenos a la medicina que por las bondades reales de cada modalidad de aplicación. Básicamente, el implante se ha propuesto por vía endovascular y por inyección intramioocárdica directa tipo «siembra», que tiene más aspectos benéficos (Argüero y colaboradores, observaciones no publicadas), y esta técnica puede ser aún más optimizada con la modificación que presentamos en este trabajo, cuyo objetivo fue determinar el grado de inclusión de medio de contraste aplicado en el miocardio con esta modalidad de aplicación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se trató de un estudio experimental, para el cual se utilizaron corazones aislados de cerdo adulto, obtenidos con base en los lineamientos de la Ley General de Salud en materia de investigación y se preservaron con solución salina isotónica a 4 °C.

Descripción del procedimiento

Distribución de los corazones. Los corazones de cerdo fueron distribuidos de manera aleatoria en dos grupos, con dos subgrupos cada uno de ellos.

Grupo I: corazones de cerdo que recibieron inyección de medio de contraste mediante la aplicación simultánea de múltiples jeringas (tipo «siembra»). Para tal efecto se utilizó la cara inferior y el septum interventricular. *Grupo II:* corazones de cerdo que fueron inyectados con medio de contraste intramiocárdico con una sola jeringa. Se seleccionaron también la cara inferior del corazón y el septum interventricular.

Todos los corazones fueron sometidos a estudio radiológico para comparar la distribución del medio de contraste y se compararon los subgrupos con la finalidad de determinar con cuál de las dos técnicas se logró una distribución más amplia y homogénea del medio de contraste en la pared del corazón.

Aplicación del medio de contraste. Bajo visión directa, se inyectó el medio de contraste en la cara inferior y en el tabique interventricular de los corazones de cerdo. Para tal efecto utilizamos jeringas de insulina con sus respectivas agujas. Cada jeringa fue cargada con 1 mL de medio de contraste para la inyección intramiocárdica de células madre en las zonas seleccionadas.

Seguimiento. Se tomaron radiografías en poste-roanterior y oblícuas de los corazones y se compararon de acuerdo a la técnica de aplicación y a la zona utilizada en cada subgrupo.



Figura 1. Inyección por «siembra» en cara lateral del ventrículo izquierdo con distribución más homogénea comparada con la figura 3.

Se evaluó la extensión y homogeneidad en la distribución del medio de contraste.

El análisis fue realizado por un solo observador, independiente al grupo quirúrgico que realizó la inyección, quien además ignoraba a qué grupo pertenecía cada imagen analizada.

Análisis estadístico. Para la comparación entre grupos se utilizó la prueba exacta de Fisher. El valor de p para considerar significativas las diferencias fue de menos de 0.05. Se analizó además la concordancia intraobservador y la concordancia interensayo con la prueba de kappa.

RESULTADOS

En total se utilizaron doce corazones de cerdo, distribuidos de manera aleatoria en dos grupos.

El grupo I (experimental) formado por seis corazones y el grupo B (control) también integrado por seis corazones.

El índice kappa para la concordancia interensayo fue de 0.856 y para la concordancia intraobser-vador fue de 0.897.

Se observó una distribución más homogénea del medio de contraste en las radiografías tomadas posterior a la inyección correspondientes al grupo I (*Figuras 1 y 2*), que en las tomadas en el grupo II



Figura 2. Inyección por «siembra» en el tabique interventricular, con mejor distribución del medio de contraste.



Figura 3. Se observa el resultado de la inyección sencilla en cara lateral del ventrículo izquierdo.

(Figuras 3 y 4), tanto para la pared posterior del miocardio como para el tabique interventricular con un valor de $p = 0.002$.

Al momento de seccionar el miocardio, se corrabora que 98% de las agujas utilizadas en el grupo I para la inyección en el tabique interventricular, se encontraban en el espesor del mismo tabique interventricular.

DISCUSIÓN

La aplicación de la inyección intramiocárdica en cirugía, debe individualizarse mediante una evaluación precisa de las zonas a tratar para definir la mejor vía de abordaje quirúrgico con la menor manipulación del miocardio con la finalidad de evitar arritmias o bajo gasto cardíaco intraoperatorio.

Estamos convencidos de que el abordaje quirúrgico para el autotrasplante y la aplicación con el método de «siembra» celular ofrece ventajas por las siguientes razones: la selección del área a tratar y las entregas celulares se realizan bajo visión di-

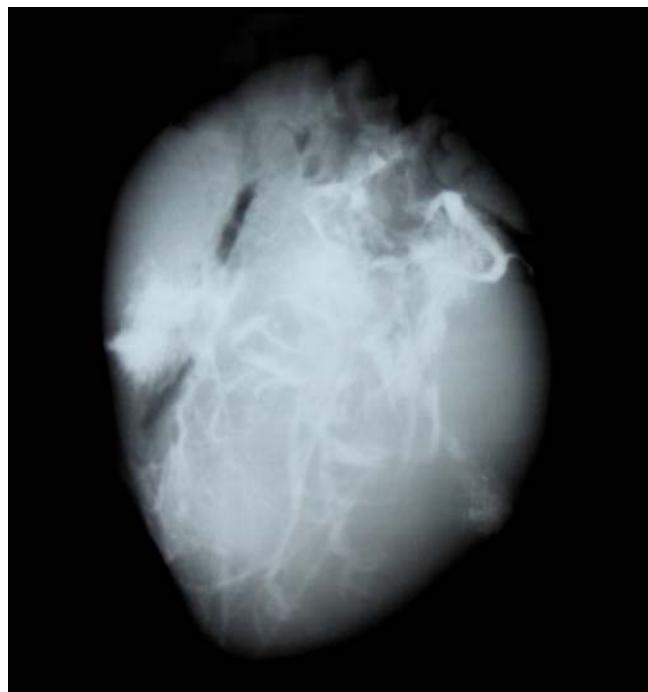


Figura 4. Inyección sencilla en tabique interventricular. Observe la escasa cantidad del medio de contraste.

recta, sin estar dependientes de la migración celular a partir de la vía intravascular, lo que permite la cobertura total de la zona, además de que durante la migración celular a partir de la aplicación endovascular, el contacto de las células totipotenciales con las células endoteliales y la fibra miocárdica, orienta a la diferenciación celular en células endoteliales, fibroblastos y miocitos, y con el uso de esta vía de aplicación, además conlleva a la pérdida de un buen número de células.

Además, si bien es cierto que en modelos de corazón aislado, se altera la microcirculación y esta situación puede influir en el resultado esperado, los hallazgos de nuestro trabajo hacen evidente que hay distribución adecuada del medio de contraste en la pared miocárdica, además de verificar que es factible la aplicación al tabique interventricular mediante la técnica que proponemos.

Por lo anterior y con base en el diseño del protocolo de nuestro grupo de trabajo, consideramos que al momento actual, con la tecnología disponible, la vía quirúrgica es la más adecuada por su eficiencia.

Además, no omitimos mencionar que el estudio comparativo y los reportes de la literatura publicada hasta el momento, colocan como la adecuada a la técnica por el método de «siembra» descrita. Entre otras razones porque otras vías y procedimientos de abordaje no han mostrado la entrega total en las regiones que así lo requieren: la vía intraarterial acelera el cierre del vaso periférico; la vía transcateterismo clásico sólo se limita a la cara lateral derecha del septum interventricular; la vía intravenosa carece de fundamento científico y la intraarterial coronaria, que se comenta con más frecuencia, también carece de fundamento científico, pues es sólo hipotética la posibilidad de que las células queden en el territorio así determinado por el cateterizador. Ninguna de estas técnicas ha mostrado su efectividad a largo plazo.

La técnica empleada por nuestro grupo tiene ventajas incontrovertibles, así demostradas, con posibilidad de reproducibilidad como su aplicación selectiva y total en cada segmento que así lo requiere y de acuerdo a los resultados en su aplicación clínica que hemos informado de manera preliminar.¹² Mejora la contracción de los diferentes segmentos en que se aplica, hay cambios evidentes en la viabilidad regional de las zonas inyectadas, existe importante mejoría en la angiogénesis, la fracción de expulsión muestra un incremento mínimo de 12%, la clasificación funcional de acuerdo a la NYHA mejora, pues la mayoría de los pacientes se encuentran en clase funcional III o IV y posterior al procedimiento pasan a clase I o II. Además, al aplicar el análisis de Minnesota, las variables mostraron un comportamiento muy favorable también en los casos subsecuentes al informe preliminar, que al momento actual suman 85 (Argüero y colaboradores, observaciones no publicadas).

En conclusión, estamos convencidos que este es el procedimiento de elección para este tipo de pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Markham DW, Taylor DA. Cell therapy for myocardial repair. In: Franco KL, Verrier ED (eds). Advanced therapy in cardiac surgery. 2nd ed. Canada: BC Becker; 2003. p. 439-449.
2. Chachques JC, Cattadori B, Carpentier A. Dynamic to cellular cardiomyoplasty. In: Franco KL, Verrier ED (eds). Advanced therapy in cardiac surgery. 2nd ed. Canada: BC Becker; 2003. p. 431-438.
3. Wang JS, Shum-Tim D, Galipeau J et al. Marrow stromal cells for cellular cardiomyoplasty: Feasibility and potential clinical advantages. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000; 120: 999-1005.
4. Thomas EJ, Storb R. Technique for human marrow grafting. *Blood* 1970; 36: 507-515.
5. Kessinger A, Smith DM, Strandjoud SE, Landmark JD, Dooley DC, Law P, Coccia PF, Warkentin PI, Weisenburger DD, Armitage JO. Allogeneic transplantation of blood-derived, T cell-depleted hemopoietic stem cells after myeloablative treatment in a patient with acute lymphoblastic leukemia. *Bone Marrow Transplant* 1989; 4: 643-646.
6. To LB, Davy ML, Haylock DN, Dyson PG, Thorp D, Juttner CA. Autotransplantation using peripheral blood stem cells mobilized by cyclophosphamide. *Bone Marrow Transplant* 1989; 4: 595-596.
7. Stamm C, Westphal B, Kleine HD, Petzsch M et al. Autologous bone marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration. *Lancet* 2003; 361: 45-47.
8. Li RK, Jia ZQ, Weisel RD et al. Cardiomyocyte transplantation improves Heart function. *Ann Thorac Surg* 1996; 62: 654-660.
9. Cavallaro AM, Lilleby K, Majolino I et al. Three to six year follow-up of normal donors who received recombinant human granulocyte colony stimulating factor. *Bone Marrow Transplant* 2000; 25: 85-89.
10. Hyun-Jae K, Hyo-Soo K, Shu-Ying Z, Kyung-Woo et al. Effects of intracoronary infusion of peripheral blood stem-cell mobilized with granulocyte-colony stimulating factor on left ventricular systolic function and restenosis after coronary stenting in myocardial infarction: The MAGIC CELL randomized clinical trial. *Lancet* 2004; 363: 751-756.
11. Bodo E, Strauer, Michael Brehm, Tobias Zeus et al. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. *Circulation* 2002; 106: 1913-1925.
12. Argüero R, Careaga-Reyna G, Castaño-Guerra R, Garrido-Garduño MH, Magaña-Serrano JA, Nambo-Lucio MJ. Cellular autotransplantation for ischemic and idiopathic dilated cardiomyopathy. Preliminary report. *Arch Med Res* 2006; 37: 1010-1014.