

Autotrasplante de células progenitoras hematopoyéticas en cardiopatía isquémica

RESUMEN

Se revisaron las evidencias de recuperación de la fibrosis del miocardio después de un infarto agudo, luego de la aplicación por vía intracoronaria o por punciones múltiples de células progenitoras obtenidas de la médula ósea o de la sangre periférica mediante aféresis.

SUMMARY

This paper revises the evidences of recovery of fibrosis, secondary to cardiac infarct, after intracoronary application or multiple punctions, of progenitors cells obtained from bone marrow or peripheral blood, by means of apheresis.

A partir de la fecundación de un óvulo por un espermatozoide se inicia la segmentación, la cual comprende las primeras divisiones a partir de la célula resultante inicial. En algunos seres vivos (moluscos, anélidos y otros), desde la segmentación las células originadas tienen un destino fijo e inalterable. En animales más evolucionados las células iniciales, y hasta en épocas tardías, tienen un destino modificable. Al principio la potencia, que es la totalidad de posibles destinos de una célula temprana (blastómera), es muy diversa e incluso cada una de estas células iniciales es capaz de originar un organismo completo. En esta fase se han bautizado como totipotenciales. En los humanos existen durante la segmentación hasta la etapa de 4 a 8 blastómeras.¹ Al proseguir el desarrollo las divisiones continúan y se llega a la etapa de blastocisto, con abundantes células embrionarias situadas en una capa externa, el trofoblasto (implicado en el desarrollo de las membranas fetales) y un acúmulo celular en el interior llamado masa celular interna (MCI). La MCI especialmente en su parte superior (epiblasto) tiene células con diversos posibles destinos y capacidades para formar los nume-

rosos tejidos del cuerpo, aunque ya no pueden formar un organismo completo. Estas células se han denominado pluripotenciales y en poco tiempo adquieren las conocidas propiedades de auto-renovación y diferenciación, es decir, ahora son células progenitoras embrionarias (CPE) o *stem cellse*embrionarias.

Las CPE puestas en cultivo de tejidos adecuados pueden proliferar y mostrar capacidad para diferenciarse en células ectodérmicas, endodérmicas y mesodérmicas según numerosas evidencias obtenidas en ratones. También existen varios estudios en que se informa de la diferenciación de CPE humanas *in vitro* con diversos tipos celulares resultantes: neuronales,² productoras de insulina,³ endoteliales⁴ y otras. Cuando se han obtenido cardiomiocitos^{5,6} muestran características fenotípicas muy precisas⁷ que incluyen propiedades contráctiles espontáneas, tinción con anti-miosina cardíaca, anti- α actinina, antidesmina y antitropomina cardíaca; en la microscopía electrónica se advierte organización miofibrilar. Incluso existe actividad eléctrica extracelular y efecto cronotrópico relacionado con la aplicación de isoproterenol.

Palabras clave:

- ✓ células progenitoras
- ✓ infarto al miocardio
- ✓ cardiomiocitos
- ✓ plasticidad celular

Key words:

- ✓ stem cells
- ✓ cardiac infarct
- ✓ cardiomyocytes
- ✓ cell plasticity

En los organismos adultos también hay células progenitoras. Mucho tiempo se aceptó como dogma que, a diferencia de las CPE, sólo podían ser antecesoras de un linaje específico y fijo, pero en los últimos diez años han aparecido múltiples informes que evidencian su plasticidad. Así, a partir de células progenitoras hematopoyéticas (CPH), en medios de cultivo, se han logrado no sólo descendientes ontogenéticamente muy próximos como células endoteliales, cardiomiocitos y músculo estriado; también se informa de células neuroectodérmicas⁸ y diferentes tipos de derivados epiteliales. Esta capacidad, ahora reconocida, de cambiar su destino evolutivo tiene como explicación más de un mecanismo^{9,10} entre los que se incluye la posibilidad de que verdaderas CPE persistan, en algunos sitios, por toda la vida postnatal.

La obtención de cardiomiocitos *in vivo*, a partir de células mononucleares de la médula ósea (CMMO) fue estudiada en conejos:¹¹ se provocaron infartos cardíacos mediante ligadura de la coronaria anterior; las células mononucleares de la médula ósea fueron cultivadas y marcadas con bromodesoxiuridina; dos semanas después del infarto la suspensión de células se inyectó en el miocardio afectado de la mitad de los conejos; en el resto, los controles, sólo se inyectó el medio acelular. Las mediciones hemodinámicas y electrocardiográficas mostraron recuperación sólo en los animales trasplantados. Se demostró la existencia de cardiomiocitos originados de las CMMO inoculadas, por la identificación de bromodesoxiuridina mediante anticuerpos monoclonales. Paralelamente se encontró incremento sostenido en los niveles de citocinas angiogénicas (IL-1B y VEGF) que promovieron vascularización local. Hallazgos comparables se han observado en ratones.¹²

En los últimos cincuenta años la mortalidad secundaria a infarto agudo del miocardio ha disminuido. Sin embargo, la consecuente necrosis de los cardiomiocitos y su sustitución por una cicatriz fibrosa con pérdida de la función ventricular es causa de muerte súbita e insuficiencia cardíaca; son motivo de 50 % de todas las muertes cardiovasculares y de 40 % de los casos de insuficiencia cardíaca,¹¹ a pesar de los procedimientos de revascularización. Las

evidencias de que pueden obtenerse cardiomiocitos y endotelio a partir de células progenitoras de distintas fuentes, ha provocado la expectativa de una nueva terapéutica. En teoría pueden emplearse CPE, obtenidas de sangre del cordón umbilical, CMMO o células progenitoras hematopoyéticas periféricas (CPHP). La factibilidad de usar CMMO o CPHP del propio paciente evita procedimientos de inmunosupresión al manejarse como un autotrasplante celular.

En este contexto existen diferentes estudios clínicos. En algunos se usaron CMMO y fueron introducidas por vía intracoronaria menos de una semana después de sucedido el infarto;¹³ en comparación con 10 pacientes controles, que no recibieron las células se encontró aumento de la perfusión regional y recuperación de la actividad contráctil. Resultados semejantes se obtuvieron con un grupo de 60 pacientes, de los cuales 30 fueron controles, usando CMMO por vía intracoronaria días después del infarto agudo.¹⁴

En otros estudios con características y resultados semejantes a los anotados, las células extraídas de la médula ósea fueron concentradas con la intención de reunir el mayor número posible de células progenitoras mesenquimatosas donde se supone abundan las que originan cardiomiocitos y endotelio, referidas como pobres en CD34, sin CD45 y con elevado c-Kit.¹² Los resultados fueron iguales en el sentido de mejorar la perfusión y actividad contráctil del miocardio. Una vez que es bien conocido que existen células progenitoras hematopoyéticas en la sangre periférica provenientes de la médula ósea, se planteó la pregunta referente a si podrían conseguirse resultados comparables a las CMMO a partir de las CPHP obtenidas por los procedimientos habituales de citaféresis. Ya existían evidencias, en ratones, de la formación de cardiomiocitos y células epiteliales a partir de células CD34+ periféricas.¹⁵

En el año 2002 se publicaron los resultados de un estudio comparativo¹⁶ en el que se trataron 20 enfermos con infarto al miocardio. Cuatro días después del evento se infundieron por vía intracoronaria CMMO (n = 9) o CPHP (n = 11). Se presentó mejoría en la fracción de expulsión, en la motilidad del área afectada, reducción en los volúmenes termi-

nales del ventrículo izquierdo, aumento en la contractilidad e incremento en el flujo coronario; estos resultados fueron muy superiores cuando se compararon con controles históricos. No se encontró ninguna diferencia en los indicadores estudiados entre los pacientes que recibieron CMMO o CPHP. Posteriormente se informaron resultados idénticos en un grupo de 59 enfermos asignados a ambas ramas (CMMO/CPHP).¹⁷ Actualmente por la facilidad de su obtención y la superioridad en la logística de su manejo se prefiere el uso de CPHP, obtenidas por citaféresis.

El empleo de CMMO o CPHP ha mostrado su utilidad en el infarto agudo. Una condición diferente es la muerte de los cardiomiocitos, formación de tejido fibroso cicatricial y pérdida de la función ventricular, de evolución progresiva e irreversible que sigue a los infartos antiguos. En esta condición la aplicación de CMMO o CPHP a través de un vaso coronario no se ha relacionado con éxitos consistentes como en el infarto agudo.¹⁸ Además, se han informado casos de reestenosis.¹⁹ En el CMN "20 de Noviembre", ISSSTE se realizó un estudio con pacientes que habían tenido infarto del miocardio por lo menos un año antes. Se emplearon células CD34 movilizadas con factor estimulante de colonias G; luego de su cosecha fueron aplicadas por punciones múltiples en el área perilesional después de una revascularización convencional. Los pacientes controles sólo fueron revascularizados. Los pacientes que recibieron las células CD34+ mejoraron sus indicadores hemodinámicos y motilidad cardíaca.²⁰ Estos hallazgos indican la posibilidad de mejoría sustancial en pacientes cuyo destino es la insuficiencia cardíaca crónica y progresiva.

El tratamiento con células progenitoras después de un infarto del miocardio se encuentra en una etapa optimista. No obstante, existen muchos aspectos aún no explicados e informes contradictorios en cuanto al origen de los cardiomiocitos regenerados. Incluso, algunos autores piensan que la mejor opción podrían ser las CPE una vez que existan facilidades para su empleo.²¹

Recientemente se ha identificado un antígeno de diferenciación, el CD133+ que se expresa en células muy inmaduras.²² Se ha encontrado en precursores endoteliales, en cé-

lulas CD 34+ y en CD 34 negativas. La mayor capacidad de proliferación y diferenciación la tienen las CD 133+ , CD 34 negativas. Existen máquinas separadoras, comercialmente disponibles, capaces de seleccionar estas células con el propósito de optimizar la generación de cardiomiocitos.

Referencias

1. Pera MF. Embryonic stem cells. En: American Society of Hematology; Education Program Book. Hematology; 2002. p. 374-381.
2. Reubinoff BE, Itsykson P, Turetsky T. Neural progenitors from human embryonic stem cells. Nat Biotechnol 2001;19:1134-1140.
3. Assady S, Maor G, Amit M, Itskovitz-Eldor J, Skorecki KL, Tzukerman M. Insulin production by human embryonic stem cells. Diabetes 2001;50:1691-1697.
4. Levenberg S, Golub JS, Amit M, Itskovitz-Eldor J, Langer R. Endothelial cells derived from human embryonic stem cells. Proc Natl Acad Sci USA 2002;99:4391-4396.
5. Lev S, Kehat I, Gepstein L. Differentiation pathways in human embryonic stem cell-derived cardiomyocytes. Ann NY Acad Sci 2005;1047:50-65.
6. Kehat I, Gepstein L. Human embryonic stem cells for myocardial regeneration. Heart Fail Rev 2003;8(3):229-236.
7. Kehat I, Kenyagin KD, Snir M, Segev H, Amit M, Gepstein A, Livne E, Binah O, Gepstein L. Human embryonic stem cells can differentiate into myocytes with structural and functional properties of cardiomyocytes. J Clin Invest 2001;108(3):363-364.
8. Brazelton TR, Rossi FM, Keshet GI, Blau HE. From marrow to brain: expression of neuronal phenotypes in adult mice. Science 2000;290:1775-1779.
9. Verfaillie CM. Adult stem cell plasticity. In: American Society of Hematology; Education Program Book. Hematology; 2002. p. 381-387.
10. Medvinsky A, Smith A. Stem cells: fusion brings down barriers. Nature 2003;422:823-825.
11. Lin G, Lu J, Jian X, Li X, Li G. Autologous transplantation of bone marrow mononuclear cells improved heart function after myocardial infarction. Acta Pharmacol Sin 2004;7:876-886.
12. Jackson KA, Majka SM, Wang H, Pocius J, Hastley CJ, Majesky MW, Entman ML, Michael LH, Hirschi KK, Goodell MA. Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells. J Clin Invest 2001;107(11):1395-1402.
13. Strauer BE, Brehm M, Zeus T. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. Circulation 2002;106:1913-1918.

14. Wollert KC, Meyer GP, Lotz J, Ringes-Lichtenberg S, Lippolt P, Breidenbach C, Fichtner S, et al. Autologous bone marrow-derived progenitor cell transplantation for myocardial regeneration after acute infarction. *Lancet* 2004;364(9429):141-148.
15. Yeh ET. Transdifferentiation of human peripheral blood CD34+ enriched cell population into cardiomyocytes, endothelial cells and smooth muscle cells *in vivo*. *Circulation* 2003;108(17):2070-2073.
16. Assmus B, Schachinger V, Teupe C, Britten M, Lehman R, Dobert N, Grunwald F, Aicher A, Urbich C, Martin H, Hoelzer D, Dimmeler S, Andreas M, Zeiher AM. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI). *Circulation* 2002;106(24):3009-3017.
17. Schachinger V, Assmus V, Britten M, Honold J, Lehman R, Teupe C, Nasreddin D, Vogl TJ, Hofman WK, Martin H, Dimmeler S, Zeiher AM. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction: final one-year results of the TOPCARE-AMI trial. *J Am Coll Cardiol* 2004;44(8):1690-1699.
18. Franz WM. Stem cell therapy for chronic cardiac insufficiency-therapy of the future?. *MMW Fortschr Med* 2005;147(35-36):37-38.
19. Kang HJ, Kim HS, Zhang SY, Park KW, Cho HJ, Koo BK, Kim YJ, Soo Lee D, Sohn DW, Han KS, Oh BH, Lee MM, Park YB. Effects of intracoronary infusion of peripheral blood stem-cells 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(9411):751-756.
20. Archundia A, Aceves JL, López-Hernández M, Alvarado IM, Rodriguez E, Díaz-Quiroz G, Paez A, Masso-Rojas F, Montaña L. Direct cardiac injection of G-CSF mobilized bone-marrow stem-cells improves ventricular function in old myocardial infarction. *Life Sciences* 2005;78:279-283.
21. Franz WM. Stem cell therapy in chronic heart failure. *Med Klin (Munich)* 2006;101(1):77-81.
22. De Wynter EA, Buck D, Hart C, Heywood R, Coutinho LH, Clayton A, Rafferty JA, Burt D, Guenechea G, Bueren JA, Gagen D, Fairbairn LJ, Lord BI, Testa NG. CD34+ AC133+ cells isolated from cord blood are highly enriched in long-term culture-initiating cells, NOD/SCID-repopulating cells and dendritic cell progenitors. 