



# Movilización de células madre con factor estimulador de colonias en pacientes operados de revascularización miocárdica con infarto miocárdico perioperatorio

Anwar Hussein Aidroos,\* Yolanda Valdés Rodríguez,† J Carnot Urias,§  
Jesús Diego de la Campa,¶ E Abraham Marcel,\*\* Y Colao-Jiménez,|||  
N Chaos-González,||| MG Amador-Acuña,||| R Romero-González\*\*\*

**Abreviaturas:**  
FEC-G: Factor estimulador de colonias de granulocitos.  
FE: Fracción de eyección.  
IMAP: Infarto Agudo del Miocardio Perioperatorio.  
CEC: Circulación extracorpórea.

**Palabras clave:**  
Movilización de células madre, infarto perioperatorio, factor estimulador de colonias.

**Key words:**  
Stem-cell mobilization, (IMAP) postoperation myocardial infarction, (G-CSF) granulocyte colony stimulating factor coronary surgery.

\* Licenciado en Ciencias Farmacéuticas, MSc. en Ciencias del Laboratorio Clínico. Universidad de La Habana, Cuba.

† Doctora en Ciencia Biológica, Profesora Titular. Universidad de La Habana, Cuba.

‡ Especialista de 2do grado en Hematología, Profesor Auxiliar. Hospital Hermanos Ameijeiras, Cuba.

§ Especialista de 2do grado en Hematología.

\*\* Especialista de 1er grado en Cirugía Cardiovascular y Medicina General Integral. Hospital Hermanos Ameijeiras, Cuba.

||| Especialista de 1er Grado en Cirugía General y en Cirugía

## RESUMEN

Ensayo clínico cuasiexperimental sobre la movilización de células madre con el producto cubano LeukoCIM (factor estimulador de colonias de granulocitos) o su similar Herbervital (Filgastrin) en 10 pacientes operados de revascularización miocárdica que presentaron en su evolución infarto perioperatorio. Se realizó movilización de células madre con factor estimulador de colonias de granulocitos (FEC-G) en pacientes revascularizados quirúrgicamente con Infarto Agudo del Miocardio Perioperatorio (IMAP) a dosis de 10 µg x kg de peso divididas en dos subdosis diarias, vía subcutánea, por cinco días; se repitió el mismo esquema al mes. Se efectuaron recuentos sanguíneos e inmunotipificación y se determinó el número total de CD34+ circulantes. A los tres meses se evaluó el grado de recuperación funcional a través de la ganancia en la fracción de eyección. Todos los pacientes evolucionaron favorablemente, sin complicaciones cardíacas. La ganancia en la fracción de eyección fue de  $11\% \pm 7.7$  y se correlacionó de forma directa con el número de células madre CD34+ circulantes movilizadas con FEC-G ( $2.18\% \pm 1.05$ ). La movilización de células madre con FEC-G fue factible y segura en pacientes revascularizados por cirugía cardiaca que presentaron en su evolución infarto perioperatorio. La posibilidad de que exista leucocitosis o trombocitosis importante debe ser evaluada y tratada cautelosamente.

## ABSTRACT

Quasi experimental Clinical trials about the stem-cells mobilization by LeukoCim or filgastrin (Cuban recombinant human granulocyte colony stimulating factor (G-CSF), in 10 patients with an average age of  $55.3 \pm 7.5$  years who had coronary artery bypass graft and later presented postoperation myocardial infarction. The realized stem-cell mobilization using (G-CSF) granulocyte colony stimulating factor in patients who had a coronary artery bypass graft with postmyocardial infarction (IMAP) at a dose of  $10 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  of body weight divided in two subdosages daily, by means of subcutaneous for five days and repeated the same routine a month later. Blood cell counts and immunophenotyping were done to asses the total number of circulating CD34+ cells. At 3 months follow up functional recovery was evaluated and defined as an increase in ejection fraction. The evolution of patients during the study was without major complications. The gain in ejection fraction was of  $11\% \pm 7.7$  and correlated directly with the total number of circulating CD34+ cells ( $2.18\% \pm 1.05$ ). Stem-cell mobilization with G-CSF is a feasible and safe treatment for patients with postoperative myocardial infarction after coronary surgery. The possibility of leucocytosis or thrombocytosis during G-CSF administration should be taken into account.

## INTRODUCCIÓN

Durante los últimos años, son varios los estudios que han mostrado la capacidad de las células madre de médula ósea de diferenciarse en células maduras de tejidos específicos, tales como miocitos cardíacos y células endoteliales.<sup>1-5</sup> La aplicación de esta

evidencia se ha visto reflejada en múltiples investigaciones. En su mayoría, se emplean las células madre inyectadas directamente en las coronarias, miocardio, o bien, estimuladas desde la periferia;<sup>6-11</sup> en todos los casos, fueron pacientes con infarto agudo del miocardio, tratados previamente por angioplastia en su mayoría. No existen estudios publicados

Cardiovascular,  
Profesor Auxiliar.  
Hospital Hermanos  
Ameijeiras, Cuba.  
§§ Especialista de 1er  
Grado en Cardiología,  
Profesor Auxiliar.  
Hospital Hermanos  
Ameijeiras, Cuba.  
¶¶ Especialista de 1er  
Grado en Cardiología,  
Profesor Auxiliar.  
\*\*\* Doctor en Ciencias  
Médicas, Especialista  
de 2do grado en  
Cirugía Cardiovascular,  
Profesor auxiliar.  
Hospital Hermanos  
Ameijeiras, Cuba.

Correspondencia:  
MSc. Anwar Hussein  
Aidroos  
Instituto de Farmacia  
y Alimentos,  
Universidad de La  
Habana,  
Residencia Estu-  
dantil,  
Calle 222 La Lisa,  
Ciudad Habana.  
Tel: (0053)  
53346202  
E-mail: kakiloder@  
yahoo.es

Recibido:  
29/01/2014.  
Aceptado:  
25/02/2014.

donde se aplique la terapia con células madre en el paciente operado de revascularización miocárdica con infarto perioperatorio, a pesar de la eficacia y seguridad de esta terapia y de que existen pruebas crecientes de que la movilización de células madre al corazón y bajo la influencia de factores del microambiente de esta zona induce a su diferenciación en células cardíacas. Mediante la administración del factor estimulante de colonia granulocítico (FEC-G), en seres humanos aumenta la movilización de células madre desde la médula ósea (MO) hacia la periferia, lo cual favorece la reparación de las lesiones isquémicas y/o necróticas en el curso del infarto del miocardio.<sup>12-16</sup> En el presente estudio, se muestran los hallazgos de 10 pacientes operados de revascularización miocárdica con infarto perioperatorio, en quienes se evaluó la eficacia y seguridad de la estimulación de células madre con FEC-G, así como la posible mejoría en la función ventricular.

## MATERIALES Y MÉTODO

### Tipo de estudio

Estudio prospectivo cuasiexperimental sobre la movilización de células madre con el producto cubano LeukoCIM (factor estimulador de colonias de granulocitos) o su similar Herbervital (Filgastrin), en pacientes revascularizados quirúrgicamente que presentaron en su evolución un infarto perioperatorio.

La investigación se llevó a cabo en el cardiocentro del Hospital Clínico Quirúrgico «Hermanos Ameijeiras», sito en San Lázaro Núm. 701 e/Belascoaín y Marquez González, municipio Centro Habana, provincia La Habana, en el periodo comprendido de enero de 2010 a septiembre de 2012.

### Pacientes

Fueron estudiados 10 pacientes con diagnóstico de cardiopatía isquémica revascularizados quirúrgicamente con las técnicas habituales y que presentaron en su evolución infarto perioperatorio –diagnosticado, según los criterios establecidos, por estudio enzimático, ecocardiografía, cambios en el

electrocardiograma y una alta sospecha clínica– que aceptaron participar en un estudio de factibilidad y seguridad sobre los efectos de la movilización masiva de células madre en el curso de un infarto perioperatorio. El estudio fue aprobado por el comité ético institucional. Todos los pacientes firmaron el consentimiento para participar en el estudio. Ninguno de ellos estaba descompensado hemodinámicamente. Sólo en dos casos hubo necesidad de doble antiagregación con aspirina y clopidogrel por policitemia transitoria por FEC-G.

### Movilización con FEC-G y estudios de laboratorio

Se realizó la movilización de células progenitoras de médula ósea hacia la sangre periférica utilizando el FEC-G (Filgastrin o LeukoCIM) a dosis de 10 µg x kg de peso divididas en dos subdosis diarias, vía subcutánea, por cinco días. Se repitió al mes el mismo esquema. La evaluación final se realizó a los tres meses.

Se efectuó determinación de células madre circulantes los días dos, cuatro y seis de cada periodo estimulado con FEC-G. Asimismo, se determinó la química sanguínea y el hemograma completo en cada muestra.

Para la cuantificación de células madre en la sangre periférica movilizadas con G-CSF, se utilizó la citometría (BD FACScalibur) de inmunofluorescencia de tres colores, empleando los anticuerpos monoclonales CD45 conjugado con isotiocianato de fluoresceína (FITC) y CD34 conjugado con ficoeritrina (RPE) como marcadores de superficie en la detección y fenotipaje de células madre hematopoyéticas. Las lecturas se realizaron en equipo (FACScan) en el Instituto Pedro Kouri (IPK) y el Centro de Inmunología Molecular (CIM) de Cuba.

Las células fueron cosechadas y analizadas en el citómetro de flujo FACScalibur utilizando el programa Cell-Quest (Becton-Dickinson). Para distinguir las poblaciones de células hematopoyéticas de los eritrocitos y de los residuos, se utilizaron las señales esparcidas delanteras y laterales.

El fenotipo de las células madre y la actividad proliferativa de las mismas en circulación

periférica se determinó mediante la expresión de los marcadores CD45 FITC /CD34 RPE.

### Estudio estadístico

Para el análisis estadístico de los datos se utilizaron los programas SPSS 15.5 y Epidat 2.3 para Windows.

Las variables en estudio fueron expresadas en sus respectivas medidas de resumen: números y porcentajes para las cualitativas y media y desviación estándar para las cuantitativas.

Para definir si luego de la utilización de factor estimulador de colonias se movilizaron células madre en la periferia, se utilizó el valor de referencia 0.1 con la prueba T de Student para una muestra.

En el caso de comparar dos muestras cuantitativas, utilizamos el test no paramétrico U de Mann Whitney y Kruskal Walis para tres muestras cuantitativas.

Se realizó, además, correlación lineal de Pearson para muestras asociadas.

Se trabajó, en todos los casos, para un nivel de confianza de 95%, prefijándose una zona crítica o de rechazo de 0.05 (valor  $\alpha$ ), de forma tal que la significación estadística estuvo en función del valor de probabilidades (p). A ( $p < 0.05$ ) existió significación estadística.

## RESULTADOS

### Caracterización demográfica, clínica y quirúrgica de los pacientes:

De un total de 10 pacientes, nueve son hombres y una, mujer; el promedio de edad se encuentra en  $55.3 \pm 7.5$  años. Durante la revascularización miocárdica, se empleó la arteria mamaria izquierda en 100% de los casos, la vena safena en 90% y las arterias mamaria derecha y radial en 30 y 20%, respectivamente.

Cincuenta por ciento de los casos recibieron cuatro o más anastomosis aortocoronarias, 40% recibieron tres anastomosis, sólo un caso dos anastomosis, para una media de  $3.4 \pm 0.8$  puentes por pacientes.

La enfermedad de cuatro o más vasos predominó en la muestra para 80% del total, la enfermedad significativa del tronco coronario izquierdo estuvo presente en 60% de los casos.

Durante la revascularización miocárdica se empleó como método de protección miocárdica la cirugía a corazón latiendo en 60% de los casos, la circulación extracorpórea con paro anóxico en 30%, y sólo en un caso se utilizó la asistencia de circulación extracorpórea con corazón latiendo.

### Hallazgos de laboratorio

Cien por ciento de los pacientes presentaron leucocitosis tanto en la primera semana como al mes con la movilización de células madre con FEC-G (leukoCIM o Herbevital), con un promedio de  $41$  y  $39 \times 10^9/L$  de conteo global de leucocitos, respectivamente; esta elevación fue transitoria. Posteriormente a la culminación del tratamiento, las cifras se normalizaron en las siguientes 48 horas. En dos casos se tuvo que suspender una dosis por cifras de leucocitos mayor que  $70 \times 10^9/L$ .

La trombocitosis apareció en 80% de los pacientes, específicamente durante la movilización en la primera semana con un valor promedio de  $430 \times 10^9/L$  de conteo de plaquetas, que por su severidad requirió en dos de los casos doble antiagregación (aspirina y clopidogrel); esta elevación fue transitoria y alcanzó cifras normales al terminar el uso del FEC-G.

El cuadro I muestra los resultados de la movilización de células madre (CD34+).

La prueba T de Student para cada una de las muestras en relación con el valor de prueba 0.1% fue significativa, en cada caso con  $p = 0.0332$ .

La correlación de Pearson entre ambas muestras en relación con el valor de prueba 0.1% fue significativa, con un valor de  $p = 0.00275$ .

La aplicación de la prueba de Mann-Whitney expresa que no existen diferencias significativas entre ambas muestras, con valor de  $p = 0.877$ .

### Determinantes de recuperación funcional

La mejoría en la FE durante las etapas evaluadas fue significativa ( $p = 0.006$ ) desde la caída de las mismas durante el Infarto Agudo del Miocardio Perioperatorio (IMAP), como en la recuperación a los tres meses. Estos datos pueden verse de manera más comprensible si se analiza el cuadro II.

**Cuadro I.** Relación de células madre movilizadas (CD34+) en sangre periférica durante la primera semana y al mes con FEC-G.

Células madre movilizadas (CD34+)	Mínimo %	Máximo %	Media %	Desv. est
Primera semana	0.98	5.23	2.20	1.05
Primer mes	1.32	5.81	2.18	1.05

**Cuadro II.** Distribución de la fracción de eyección promedio por etapas con su desviación estándar correspondiente.

	Fracción de eyección		
	Preoperatorio	IMAP (1a semana)	3 meses
Media	60%	42%	53%
Desv. est	7	11	8

Durante el IMAP, el 20% de los pacientes presentó disfunción sistólica moderada y otro 20% disfunción sistólica severa, cabe destacar que en su evolución posterior (3 meses) no existen pacientes en estas dos categorías, lo que demuestra una mejoría evolutiva.

La mejoría evolutiva de la FE fue de  $11\% \pm 7.7$  al cabo de los tres meses, como promedio.

En dos de los casos se mantuvo la FE de igual forma que en el IMAP a los tres meses, sin disfunción sistólica alguna.

## DISCUSIÓN

No existen estudios en Cuba dirigidos a la terapia con FEC-G en el IMAP, ni en los pacientes con infarto miocárdico agudo tratados convencionalmente, como tampoco consta que se haya aplicado tratamiento alguno con células madre por cualquier método. En nuestro centro se realizó un ensayo clínico desde junio de 2004 a julio de 2005, en el cual a los pacientes con cardiopatía isquémica seleccionados se les realizó miotoracotomía izquierda y se les injectó FEC-G en área infartada sin revascularización miocárdica (código IG/VEGFIC/CI/0301); de un total de 10 pacientes a realizar el proceder, sólo se les aplicó el tratamiento a seis, ya que fallecieron dos de ellos (relacionado con la cirugía, no con la administración del FEC-G). Se finalizó el estudio. En materia de tratamiento con estimulación miocárdica de células madre, es lo más cerca que ha estado la cirugía cardiovascular de nuestro país al respecto. En este estudio se demuestra la factibilidad y la seguridad de la movilización de células madre en pacientes con IMAP y se sugiere que el tratamiento con FEC-G podría llegar a influir en la recuperación funcional.

El concepto de regeneración miocárdica tras el infarto miocárdico agudo mediante movilización de células madre fue demostrado por Orlic y colaboradores<sup>17</sup> en un

modelo experimental en ratas. De igual forma, también se ha demostrado en primates que la movilización celular mediante factores hematopoyéticos de crecimiento promueve la angiogénesis del miocardio infartado.<sup>18</sup>

En el periodo comprendido de 1985 a 2004, en nuestro servicio la media de anastomosis aortocoronarias por paciente era de 2.72,<sup>19</sup> comparativamente menor que en el estudio. De enero de 2007 a diciembre de 2010, la media de puentes asciende a 2.9.<sup>20</sup>

El número de pacientes operados sin CEC con IMAP en su evolución corresponde al doble de los pacientes operados con CEC. De forma general, la menor permeabilidad a largo plazo del injerto, la imposibilidad de lograr una revascularización completa, la oclusión más rápida de los puentes venosos, junto a una mayor tasa de reintervenciones, continúan siendo debilidades de la variante sin CEC para muchos autores.<sup>21-23</sup>

John Radcliffe realizó un trabajo en el Hospital de Oxford, sin encontrar diferencias en el fallo del injerto para ambas técnicas.<sup>24</sup> Desde el año 2004, Natacha Khan publicó una mayor permeabilidad de los injertos a los tres meses a favor de la revascularización con CEC.<sup>23</sup> Takagi H. asoció un incremento de 27% en la incidencia de oclusión de puentes, a expensas de una peor permeabilidad de los hemoductos venosos.<sup>22</sup> El estudio ROOBY vino a afianzar lo descrito en los dos últimos trabajos con su demostración de permeabilidad de los injertos a largo plazo en beneficio de la cirugía en bomba; sus principales deficiencias fueron la presencia de cirujanos con menos de 120 casos operados y las poblaciones de riesgo bajo e intermedio.<sup>23</sup>

Sin duda, sigue siendo una polémica interesante, aunque para obtener los beneficios de la cirugía sin bomba es necesario cumplir con indicadores de buen entrenamiento: destacan la reducción del tiempo de anastomosis por debajo de 10 minutos, el bajo índice de reconversión (< 3%) y la permeabilidad del injerto.<sup>25</sup>

Se utilizaron en el estudio 2 FEC-G de producción nacional: Leukocim (Centro de Inmunología Molecular, CIMAB SA, La Habana) y Hebervital (Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, HeberBiotech SA, La Habana), se comenzó el estudio y gran parte de la estimulación con Leukocim, y en tres ocasiones –por no disponer de éste– se empleó el Hebervital. Estos factores estimuladores mostraron resultados similares durante su uso clínico, lo que es de gran importancia para su empleo terapéutico y comercial. Esto pudiera constituir un pilar fundamental en la economía nacional, ya que estos factores, aunque altamente costosos, son de gran demanda a escala internacional.<sup>26</sup> En el estudio comparativo de la actividad de dos factores estimuladores de colonias de granulocitos

de producción nacional (Hebervital y Leukocim), se le suministró a cada paciente por vía subcutánea una dosis total de 40 µg/kg distribuidos en cuatro subdosis de 10 µg/kg, administrados cada 12 horas. El promedio de CD 34+ fue 1.49%. Los valores promedio de estas células, de acuerdo con el FEC-G empleado, reflejaron: Hebervital 1.48%; Leukocim 0.66%; y Neupogen (control) 1.84%, sin que se encontraran diferencias significativas entre ellos ( $p = 0.166$ );<sup>27</sup> promedios éstos inferiores a nuestro estudio, pero justificado por el hecho de que se les administró la mitad de la dosis que usamos de FEC-G, pero demuestran la movilización de células madre aun cuando los pacientes no tengan la misma condición clínica; constituye una evidencia irrefutable de la eficacia de los fármacos empleados.

Independientemente del uso de FEC-G, la demostrada eficacia de los fármacos empleados en el manejo terapéutico (todos los pacientes recibieron los fármacos necesarios sin restricciones) y la mejoría natural evolutiva del atontamiento miocárdico hacen posible que la diferencia entre las funciones sistólicas sea significativa ( $p = 0.006$ ) tanto en la caída de las mismas durante el IMAP, como en la recuperación a los tres meses.

## CONCLUSIONES

La movilización de las células madre con FEC-G es un tratamiento factible y seguro para intentar la regeneración miocárdica en pacientes revascularizados quirúrgicamente con IMAP. No obstante, la posibilidad de que se produzca trombocitosis y/o leucocitosis importante debe tenerse en cuenta en el diseño de futuros estudios al respecto.

## REFERENCIAS

- Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS et al. Embryonic stem-cell lines derived from human blastocysts. *Science*. 1998; 282: 1145-1147.
- Tomita S, Li RK, Weisel RD, Mickle DA, Kim EJ, Sakai T et al. Autologous transplantation of bone marrow cells improves damaged heart function. *Circulation*. 1999; 100: 247-256.
- Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Jakoniuk I, Anderson SM, Li B et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature*. 2001; 410: 701-705.
- Toma C, Pittenger MF, Cahill KS, Byrne BJ, Kessler PD. Human mesenchymal stem-cells differentiate to a cardiomyocyte phenotype in the adult murine heart. *Circulation*. 2002; 105: 93-98.
- Orlic D, Hill JM, Arai AE. Stem-cells for myocardial regeneration. *Circ Res*. 2002; 91: 1092-1102.
- Strauer BE, Brehm M, Zeus T, Kostering M, Hernández A, Sorg RV et al. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cells transplantation in humans. *Circulation*. 2002; 106: 1913-1918.
- Assmus B, Schächinger V, Teupe C, Britten M, Lehmann R, Dobert N et al. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI). *Circulation*. 2002; 106: 3009-3017.
- Stamm C, Westphal B, Kleine HD, Petzsch M, Kittner C, Klinge H et al. Autologous bone-marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration. *Lancet*. 2003; 361: 45-46.
- Fuchs S, Satler LF, Kornowski R, Okubagzi P, Weisz G, Baffour R et al. Catheter-based autologous bone marrow myocardial injection in no-option patients with advanced coronary artery disease. A feasibility study. *J Am Coll Cardiol*. 2003; 41: 1721-1724.
- Menasche P, Hagege A, 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: 1078-1083.
- Avilés FF, San Román JA, García J, Valdés M, Sánchez A, De la Fuente L et al. Regeneración miocárdica mediante la implantación intracoronaria de células madre en el infarto agudo de miocardio. *Rev Esp Cardiol*. 2004; 57: 201-208.
- Welte K, Bonilla MA, Gillio AP et al. Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. Effects on hematopoiesis in normal and cyclophosphamide-treated primates. *J Exp Med*. 1987; 165: 941-948.
- Suárez de Lezo J et al. Movilización de células madre en el infarto agudo de miocardio. *Rev Esp Cardiol*. 2005; 58 (3): 253-261.
- Strauer BE, Brehm M, Zeus T, Kostering M, Hernández A, Sorg RV et al. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cells transplantation in humans. *Circulation*. 2002; 106: 1913-1918.
- Stamm C, Westphal B, Kleine HD, Petzsch M, Kittner C, Klinge H et al. Autologous bone-marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration. *Lancet*. 2003; 361: 45-46.
- Fuchs S, Satler LF, Kornowski R, Okubagzi P, Weisz G, Baffour R et al. Catheter-based autologous bone marrow myocardial injection in no-option patients with advanced coronary artery disease. A feasibility study. *J Am Coll Cardiol*. 2003; 41: 1721-1724.
- Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Limana F, Jakoniuk I, Quaini F et al. Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart improving function and survival. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001; 98: 10344-10349.
- Norol F, Merlet P, Isnard R, Sebillon P, Bonnet N, Cailliot C et al. Influence of mobilized stem-cells on myocardial infarct repair in a nonhuman primate model. *Blood*. 2003; 102: 4361-4368.
- Hernández-Núñez R. Revascularización miocárdica. Estudio comparativo de diferentes técnicas [trabajo de terminación de residencia]. La Habana, Cuba: Servicio de Cirugía cardiovascular, Hospital Hermanos Ameijeiras; 2005.
- Nathanael-Hidalgo R. Revascularización miocárdica. Estudio comparativo de diferentes técnicas [trabajo de terminación de residencia]. La Habana, Cuba: Servicio de Cirugía cardiovascular, Hospital Hermanos Ameijeiras; 2012.
- Khan NE, De Souza A, Mister R, Flather M, Clague J, Davies S et al. A randomized comparison of off-pump and on-pump multivessel coronary-artery bypass surgery. *N Engl J Med*. 2008; 350: 21-28.
- Takagi H. Off-pump surgery does not reduce stroke, compared with results of on pump coronary artery bypass grafting: a meta-analysis of randomized clinical trials. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2007; 134: 1059-1060.
- Shroyer AL. On-pump versus off-pump coronary-artery bypass surgery (ROOBY). *New Engl J Med*. 2009; 361: 1827-1837.
- Radcliffe J. Does off-pump total arterial grafting increase the incidence of intraoperative graft failure? *Circulation*. 2007; 116: 1108-1109.
- Kirklin JK, Westaby S, Blackstone EH et al. Complement and the damaging effects of cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1983; 86: 845-857.

26. Socarrás-Ferrer BB, Macías AC, Del Valle-Pérez L, Marsán-Suárez V, Vergara-Castellanos J, Lam-Díaz RM et al. Comparación de la actividad de 2 factores estimuladores de colonias de granulocitos de producción nacional: Hebervital y Leukocim. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter [revista en Internet]. 2011 Dic [acceso 01 de septiembre de 2012]; 27 (4): 429-434. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-02892011000400007&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892011000400007&lng=es)
27. González-Iglesias A, Forrellat-Barrios M, González-Suárez T, Salgado-Arozena O, Fernández-Delgado ND, Hernández-Ramírez P et al. Obtención y procesamiento de progenitores hematopoyéticos de sangre periférica para terapia celular en enfermedades angiológicas. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter [revista en Internet]. 2011 Sep [acceso 01 de septiembre de 2012]; 27 (3): 356-364. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-02892011000300012&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892011000300012&lng=es)