

Cir. Cardio. 2008;15(3):269-72

Comentario editorial invitado

La búsqueda de la inteligibilidad no revelada de las células madre

Jorge C. Trainini*Servicio de Cardiocirugía
Hospital Presidente Perón. Buenos Aires. Argentina*

Considerable expectativa se observó desde el inicio de la fase clínica a partir del año 2000¹⁻³ con el implante celular en el intento de recuperar la viabilidad del miocardio, tanto en estadios agudos como crónicos de su enfermedad. A pesar que su porvenir puede mirarse con optimismo, no hubo coherencia en su desarrollo metodológico. Se precipitó el tema hacia resultados «todo o nada», incorporándolo a lo mediático, sin tener en cuenta el análisis de pautas metodológicas encadenadas con el fin de ser dilucidado. El recurso de regenerar tejidos utilizado por la naturaleza necesita ser revelado en su inteligibilidad en sus etapas fundamentales, que se extienden desde la investigación básica hacia la aplicada. Debido a estas circunstancias, el trabajo «Trasplante de células madre de médula ósea asociado a derivación coronaria para el tratamiento de la insuficiencia cardíaca de tipo isquémico», de Rivas-Plata, et al., publicado en este número de *Cirugía Cardiovascular*⁴, significa un aporte con el fin de dilucidar algunos aspectos que trata el mismo y otros que hemos realizado a través de nuestra experiencia personal⁵⁻⁹.

Hasta el momento se adoleció de estrategias de investigación clínica que trataran de resolver adecuadamente la requisitoria primigenia: ¿el implante celular modifica la viabilidad en una cicatriz fibrosa? Fundamentalmente se ha optado por el modelo de isquemia aguda que representa un atractor que nuclea demasiadas variables de acción sincrónica, imposibles de investigar en forma independiente, las cuales enturbian el análisis de la utilización de células progenitoras de la médula ósea (v.g. reperfusión por angioplastia, recirculación espontánea en la zona lesionada, actividad colagenolítica de las metaloproteinasas, implante celular). Aquí cabe la aplicación del principio de incertidumbre de Heisenberg. Mientras aplicamos angioplastia a la zona recientemente isquémica, de eficacia comprobada, desconocemos al

mismo tiempo cuánto de evolución se debió a las *stem cells*. Y mientras utilizamos estas células, desconocemos la porción de beneficio correspondiente al reparo natural por reperfusión.

Creemos que la mayoría de los estudios centran su búsqueda en resultados funcionales que se hallan lejos del escalón inicial de la viabilidad orgánica que se debe demostrar con los modelos más puros posibles, tratando de alejarnos de la incertidumbre de mejorar la zona lesionada a través de varios procedimientos simultáneos. Vemos en ellos efectos casuales y sumatorios, no las causas que los producen. El trabajo de Rivas-Plata, et al.⁴ significa una buena referencia en los grupos comparativos que analiza a nivel de los cambios funcionales. Nosotros debemos agregar a esta instancia inevitablemente el estudio de viabilidad.

En el modelo crónico fibrótico, el análisis estricto de la eficacia debe relacionarse en sus resultados con el objetivo básico planteado, el cual consiste en observar los cambios producidos en las áreas no viables, metabólicamente inactivas e irrevascularizables, las cuales se implantaron con células. En este aspecto son fundamentales los estudios que evidencien beneficios en los segmentos tratados, ya que estos pacientes son revascularizados concomitantemente. Esta situación constituye una limitante aun en este modelo, aunque ellos presenten únicamente isquemia en un área remota a las escaras injertadas.

Nosotros, al iniciar la fase clínica en los primeros momentos de la experiencia, permanecemos fieles a un modelo que evitó la circulación extracorpórea y la posibilidad de síndrome inflamatorio posbomba, así como las revascularizaciones múltiples. Otro hecho de importancia en este análisis fue considerar los segmentos acinéticos y discinéticos. Los hipocinéticos, si bien fueron tratados con implante de células mononucleares en el

Correspondencia:
Jorge C. Trainini
Servicio de Cardiocirugía
Hospital Presidente Perón
Buenos Aires, Argentina
E-mail: jctrainini@hotmail.com

Recibido 26 octubre 2008
Aceptado 30 octubre 2008

mismo acto operatorio, se excluyeron del análisis para evitar el posible efecto benéfico sobre ellos de la cirugía de revascularización miocárdica. Por otra parte, sabemos que no más de un 10% de segmentos no viables tienen la expectativa de mejorar con la revascularización miocárdica aislada. Además, los segmentos fibrosos tienen menos de un 25% de cardiomiocitos viables. Debido a que se necesita por lo menos el 50% de miocitos funcionalmente viables para que la revascularización sea exitosa, es concebible reflexionar en que un cambio en la viabilidad de los segmentos discinéticos y acinéticos puede deberse al implante celular.

Volvemos a inferir que en ciencia es más factible ver los efectos que las causas. De los posibles modelos agudos (isquemias agudas) y crónicos (miocardios fibróticos, cardiomiopatías dilatadas, Chagas) es fundamental trabajar en los cambios de viabilidad en forma exhaustiva con comprobación por medio de SPECT, PET o RM, situación que se da fundamentalmente en los pacientes con infartos previos. Lograr la comprobación de un cambio en la viabilidad de los segmentos comprometidos significa el paso trascendental en este tema. Posiblemente deban utilizarse escalas de *score* adecuadas a cambios mínimos, en lugar de las actuales que establecen la viabilidad de segmentos demasiados amplios para los cambios que pueden introducir las células progenitoras.

En relación con la situación clínica, creemos que la experiencia acumulada en este último lustro ha demostrado algunos aspectos que avizoran una imagen a la espera de ser develada. Debemos contentarnos con lo parcial y lo previsual, a pesar de la tendencia que tiene el hombre en su reclamo de unidad y coherencia, en la visualización de un mundo que presenta como rasgo fundamental la diversidad. En este sentido, nuestra propia experiencia nos hace ver, más allá de todas las incógnitas planteadas, lo siguiente:

- Indicios de eficacia terapéutica, tanto a nivel de la capacidad funcional del paciente y de la función ventricular como, asimismo, cambios positivos en la viabilidad miocárdica. Es dable esperar, situación que hemos visto clínicamente, que estos enfermos puedan presentar en su evolución, debido a la recuperación de tejidos, cuadros de angina de pecho que antes no expresaban (experiencia propia con mioblastos, dado que éstos producen fundamentalmente miogénesis, y las células madres angiogénesis). Ha sido de rigor para este análisis el estudio segmentario del corazón con el fin de observar la evolución de cada una de dichas particiones. La clase funcional (NYHA) pasó de $2,4 \pm 0,5$ en el preoperatorio a $1,2 \pm 0,4$ ($p < 0,0001$) en el seguimiento, la fracción de eyección se incrementó desde $25,8 \pm 7,3\%$ a

$40,2 \pm 14,6\%$ ($p < 0,001$). Los estudios postoperatorios de ecocardiografía y radioisotópicos realizados por observadores independientes demostraron una recuperación funcional en el 58% de los segmentos implantados ($p < 0,0001$). De $8,2 \pm 3,1$ segmentos no viables por paciente se pasó a $3,4 \pm 2^8$.

- La mejor perspectiva de regeneración en aquellos segmentos con infarto no transmural en relación con los transmurales.
- Tener comprensión de que aquellos corazones con infartos crónicos y con un diámetro diastólico mayor de 70 mm no tienen buena evolución en relación con los menos dilatados.
- La necesidad de la repetición del procedimiento por vía no invasiva para completar el remodelamiento inverso.
- A la luz de la experiencia acumulada actualmente cabe esta pregunta: ¿son capaces las células progenitoras endoteliales de diferenciarse en cardiomiocitos en el infarto crónico? En este aspecto la valoración de la densidad capilar ha mostrado mejores resultados con la CD34 que con la AC133. La diferencia hallada quizás pueda deberse al momento del implante en relación con el infarto, ya que en agudos hay comprobación de mayor densidad capilar. La consideración de una mejor perspectiva en el tratamiento precoz, luego de un infarto, es lógica y racional. Se beneficiaría de una mejor señalización, que ocurre durante la isquemia con vectores como citocinas, el factor de crecimiento endotelial, el factor 1 estromático, el factor 1 α hipóxico. Entonces, ¿por qué mejora también en infartos crónicos, si aquí no se obtendría mayor densidad capilar? En este punto se abren algunas posibilidades: interferencia en la escara fibrótica, reactivación de células progenitoras residentes, retención de las células trasplantadas¹⁰⁻¹².

En esta vorágine por los resultados, la innovación y la simplificación, se dejaron rápidamente de lado los mioblastos a favor de las células de la médula ósea. Sus $30 \mu\text{m}$ de diámetro los han hecho inconvenientes para ser utilizados por vía intracoronaria, por lo tanto, no son pasibles para el tratamiento agudo al que han apuntado la gran mayoría de los trabajos. Sin embargo, en nuestra experiencia con mioblastos, si tomamos en cuenta los segmentos comprometidos, y se los divide en infarto transmural, infarto no transmural, isquémicos y normales, hallamos que, sobre 68 segmentos pasibles de estudio a los $66 \pm 6,2$ meses, se observó un claro retroceso de los segmentos con infarto transmural, y un incremento en los segmentos no transmurales e isquémicos. En

los segmentos con compromiso transmural los mismos retrocedieron de 15 a 3, correspondiendo a una reducción del 80% ($p = 0,0005$). El análisis de los segmentos no transmurales debe ser exhaustivo. Si bien los mismos globalmente aumentaron de 7 a 9, aquellos segmentos no transmurales registrados originariamente en el preoperatorio descendieron de 7 a 0. Se puede explicar que el aumento global de estos segmentos no transmurales, analizado con la evaluación radioisotópica en cada uno de ellos, correspondió a segmentos incorporados, tanto por el avance de la enfermedad como a expensas de los transmurales, en claro retroceso del tejido fibrótico⁷.

Los estudios clínicos se deberán llevar a cabo bajo la ayuda de la investigación básica si queremos aprehender la inteligibilidad no revelada de la naturaleza en este tópico de las células madre¹⁰. Trabajos como el de Rivas-Plata, et al.⁴ amparan la necesidad de intensificar los esfuerzos para dilucidar un camino promisorio pero aún insuficientemente demostrado.

The search for the non-revealed intelligibility of stem cells

There has been considerable expectation from the beginning of the clinical phase after 2000¹⁻³ with cell implants to recover myocardial viability, both in acute and chronic status. There was no uniformity in its methodological development. Cell implant was incorporated into the media without taking into account methodology. The resources of tissue regeneration used by nature needs an appropriate exposure in intelligibility from its foundations until applied research. Due to all this, the paper entitled "Bone-marrow stem cell transplantation associated to coronary artery bypass in the treatment of ischemic congestive heart failure", by Rivas-Plata, et al., published in this issue of *Cirugía Cardiovascular*⁴ is a contribution aiming to elucidate some aspects that some of us have also addressed in the past⁵⁻⁹.

There has been lack of strategies in clinical research addressing the fundamental question: does cell implant modify viability within a fibrous scar? The model of acute ischemia has been adopted; this model attracts a number of synchronous variables. It is very difficult to perform an independent research as the analysis of the use of stem cells from the bone marrow gets then biased (e.g. reperfusion after angioplasty, spontaneous recirculation in an infarcted area, metalloproteinase activity, cell implant). While angioplasty is performed in a re-

cently ischemic zone, we still do not know how much effect was due to stem cells. And we still do not know the natural benefit of reperfusion.

We believe that the majority of studies look for functional results away from organic viability that has to be demonstrated with pure models, avoiding improving the injured area by different simultaneous procedures. There are some additive effects, not the causes. The work by Rivas-Plata, et al.⁴ represents a good reference in the comparative groups at the level of functional changes. We must definitely include the study of viability.

In the chronic fibrotic model the strict analysis of efficacy must be related with its results with the basic objective of observing the changes produced in non-viable areas, with no metabolic activity and non-graftable in which cells were implanted. Studies showing benefit in the treated segments are critically important as these patients undergo concomitant revascularization. This is a limiting situation even in this study although the authors propose ischemia only in remote areas from the scar.

At the beginning of our experience we followed a model avoiding extracorporeal circulation and the post-bypass syndrome and also multiple revascularizations. Another important fact was the consideration of akinetic and diskintic segments. Hypokinetic segments, although treated with mononuclear cell implantation in the same operation, were excluded from the analysis to avoid the possible beneficial effect of myocardial surgical revascularization. On the other hand we know that only about 10% of non-viable segments may improve with isolated myocardial revascularization. In addition, fibrous segments have less than 25% of viable cardiomyocytes. As a minimum of 50% of viable myocytes is required for a successful revascularization, it is likely to accept that a change in viability of diskintic and akinetic segments may be related to cell implant.

There is a need to work with changes in viability with acute (acute ischemia) or chronic (myocardial fibrosis, dilated cardiomyopathy, Chagas disease) models; this may be tested with SPECT, PET or MRI and this can happen in patients with previous infarction. To demonstrate a change in viability of the involved segments means is the fundamental step. Perhaps appropriate scoring systems adapted to minimal changes may be used instead current systems that establish the viability of too wide segments for the changes that may be enhanced by stem cells.

Regarding clinical settings we believe that the accumulated experience in the past five years has shown the following:

- Some improvement in patient's functional capacity and ventricular function and also some

positive changes in myocardial viability. It is to be expected that these patients may present with angina due to tissue recovery, as we have already seen from our own experience with myoblasts as they produce myogenesis and stem cells produce angiogenesis. Functional class (NYHA) changed from 2.4 ± 0.5 to 1.2 ± 0.4 ($p < 0.0001$) in the follow-up, ejection fraction improved from $25.8 \pm 7.3\%$ to $40.2 \pm 14.6\%$ ($p < 0.001$). Postoperative studies with echocardiography and radioisotopic markers performed by independent observers showed a functional recovery in 58% of implanted segments ($p < 0.0001$). Viable segments improved from 8.2 ± 3.1 non-viable to 3.4 ± 2 per patient⁸.

- The best perspective of regeneration in those segments with non-transmural infarction.
- To understand that those hearts with chronic infarcts and a diastolic diameter larger than 70 mm do not perform as well as those less dilated.
- The need to repeat the procedure through a non-invasive route to complete the reverse remodeling.
- With the accumulated experience a question may arise: are endothelial stem cells capable to differentiate into cardiomyocytes in chronic infarction? The assessment of capillary density has shown better results with CD34 than with AC133. The difference may be related to the timing of implant related to the infarction as there is less capillary density in acute cases. A better perspective in early treatment makes sense. Vectors like cytokines, endothelial growth factor, stromal factor-1 and hypoxic factor-1 α could be useful. Then, why does it improve in chronic infarction too? Some possibilities are to be considered: interference with fibrotic scar, reactivation of resident stem cells and retention of transplanted cells¹⁰⁻¹².

Due to results, innovation and simplicity, myoblasts were replaced by bone marrow stem cells. As myoblasts have a large $30 \mu\text{m}$ size they cannot be delivered through the intracoronary route and therefore cannot be used for acute treatment. However, in our experience with myoblasts, if we take into account transmural, non-transmural, ischemic and normal segments, we found that out of

68 segments there was a clear reduction of segments with transmural infarction and an increase of non-transmural and ischemic. An 80% reduction on transmural segments was seen ($p = 0.0005$). Analysis of non-transmural segments must be strict. The increase in non-transmural segments may be due to the advance of the disease and also the transmural segments, with a clear reduction of fibrotic tissue⁷.

Clinical studies will be performed with the help of basic research methodology if we want to incorporate the non-revealed intelligibility of the nature of this topic of stem cells¹⁰. Work like the one of Rivas-Plata, et al.⁴ confirm the need of increasing the cooperative efforts to bring light into a promising field yet to be demonstrated.

REFERENCES

1. Menasché P, Hagège A, Scorsin M, et al. Myoblasts transplantation for heart failure. *Lancet*. 2001;357:79-280.
2. Trainini JC, Cichero D, Bustos N. Cardioimplante celular autólogo. *Rev Argent Cardiol*. 2002;70:137-42.
3. Trainini J, Cichero D, Lago N, et al. Autologous cellular cardiac-implant. *Basic Appl Myol (BAM)*. 2003;13:39-44.
4. Rivas-Plata A, Castillo J, Pairona M, et al. Trasplante de células madre de médula ósea asociado a derivación coronaria para el tratamiento de la insuficiencia cardíaca de tipo isquémica. *Cir Cardiovasc*. 2008;15:
5. Chachques JC, Herreros J, Trainini JC. Regeneración cardíaca. Buenos Aires: Magíster Eos; 2005.
6. Trainini JC, Lago N, De Paz J, et al. Transplantation of skeletal myoblasts for repair of myocardial necrotic. *J Heart Lung Transplant*. 2004;23:503-5.
7. Trainini JC, Lago N, Masoli O, et al. Implante cardíaco de mioblastos. Resultados en el seguimiento a 5 años. *Rev Argent Cardiol*. En prensa 2008;76.
8. Trainini J, Lago N, Klein G, et al. Cardiomioplastia celular con médula ósea autóloga en pacientes con miocardiopatía isquémica. *Rev Arg Cardiol*. 2004;72:418-25.
9. Lago N, Trainini J, Genovese J, et al. Tratamiento de la disfunción ventricular postinfarto mediante el cardioimplante de mioblastos autólogos. *Rev Argent Cardiol*. 2003;71:90[abstract].
10. Janssens S, Dubois C, Bogaert J, et al. Autologous bone marrow-derived stem cell transfer in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: double blind, randomized controlled trial. *Lancet*. 2006;367:113-21.
11. Meyer GP, Wollert KC, Lotz J, et al. Intracoronary bone marrow cell transfer after myocardial infarction. *Circulation*. 2006;113:1287-94.
12. Wollert KC, Meyer GP, Lotz J, et al. Intracoronary autologous bone marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomized controlled clinical trial. *Lancet*. 2004;364:141-8.