

La plasticidad en la regeneración cardíaca

JORGE C. TRAININI¹, NOEMÍ LAGO¹, JUAN C. CHACHQUES²

Dirección para separatas:

Jorge C. Trainini
Brandsen 1690 - 3º "A" (1287)
Buenos Aires
e-mail: jctrainini@hotmail.com

RESUMEN

El implante cardíaco de mioblastos y células madre autólogas de la médula ósea da una perspectiva de estímulo y posibilidad para tratar de reparar el corazón. A pesar de la experiencia en animales lograda con el fin de analizar la seguridad y la eficacia de este nuevo tratamiento, los resultados clínicos todavía se presentan inconclusos. Un tema fundamental es la plasticidad por la cual estas células pueden llegar a mejorar la función como la viabilidad del corazón. En este trabajo se efectúa una revisión de la regeneración natural que nos ofrece la naturaleza y de la experiencia clínica que la sustenta hasta el momento. Una amplia colaboración entre las ciencias básicas y las clínicas en todo el mundo es crucial para progresar en los problemas que actualmente presenta este intento de regenerar áreas fibróticas del corazón.

REV ARGENT CARDIOL 2005;73:301-307.

Palabras clave

> Regeneración cardíaca - Implante celular - Plasticidad

CONCEPTO DE LA REGENERACIÓN CARDÍACA

El concepto clásico le asignó a los cardiomiocitos la capacidad de réplica hasta los 3-4 meses de edad posnatal. (1) Este paradigma determinó que a partir de ese momento de la vida, el corazón era un órgano posmitótico. Esta idea ha cambiado gradualmente, y si bien se discute sobre la magnitud de la facultad regenerativa cardíaca, dicha cualidad se considera presente con uso potencial a nivel terapéutico. (2-5)

En este aspecto, un hecho muy sugestivo ha sido el hallazgo de la contribución de las células madre adultas a la regeneración cardíaca, (6) en modelos de trasplante cardíaco humano en un grupo de pacientes varones injertados con corazones del sexo opuesto. El estudio de las células cardíacas mediante biopsias ha permitido encontrar cardiomiocitos que provenían del propio receptor ya que se identificó en ellos el cromosoma Y. Aunque la procedencia de dichas células no se ha determinado claramente, haberlas hallado implica reconocer la capacidad de las células adultas de diferenciarse en tejido cardíaco. La magnitud de esta réplica celular, denominada "quimerismo cardíaco", (7) ha variado en diferentes trabajos en lo que respecta al porcentaje hallado, que oscila entre el 1% y el 7%-10%. (8, 9)

El índice mitótico resulta del cociente entre los cardiomiocitos que presentan núcleos con mitosis en relación con los sin mitosis. Esta tasa implicaría que normalmente en el ventrículo izquierdo unas 14×10^6 células cardíacas se hallarían en mitosis, lo cual de acuerdo con la masa ventricular total unos 70.000 cardiomiocitos se encontrarían en proceso continuo de división celular. Debido a que la mitosis tiene una dura-

ción de cerca de una hora y el ventrículo izquierdo cuenta con unos $5,5 \times 10^9$ células, el corazón se renovaría en un plazo de cinco años. En los límites del tejido infartado, este índice mitótico crecería a 140×10^6 células. Los trabajos que avalan estos conceptos pertenecientes al grupo de Piero Anversa, ciertamente discutidos, se apoyan en técnicas histológicas basadas en la búsqueda de la expresión nuclear con Ki67 y en el uso de la microscopía confocal. (10)

Estos cambios habían sido descriptos previamente por Romyantsev. Textualmente decía en 1977: "*Diferentes intentos de regeneración fueron hallados... tales como divisiones mitóticas y no mitóticas cerca del sitio de las lesiones, formación de mioblastos y vástagos de músculo... Todas estas manifestaciones fueron generalmente abortivas y no suficientes para regenerar la extensa destrucción muscular*". (11)

La muerte del cardiomiocito es una variable de importancia en el desarrollo de la disfunción cardíaca, tanto en las patologías isquémicas como en las miocardiopatías dilatadas idiopáticas, en la hipertensión sistémica y también en el proceso del envejecimiento. Esto lleva a una reestructuración cardíaca que produce adelgazamiento de la pared, dilatación de sus cámaras, deslizamiento de las células, activación de la matriz extracelular y fibrosis cardíaca consecuente.

La organización cardíaca nos ha mostrado elementos que todavía no tienen respuestas definitivas a nivel de su comportamiento. Estructura y función se hallan indisolublemente unidas y su vínculo es el flujo de materia y energía. Actualmente se considera que células madre circulantes y/o residentes en el corazón pueden llegar a diferenciarse en varias líneas celula-

¹ Servicio de Cirugía Cardíaca, Hospital Presidente Perón, Buenos Aires, Argentina

² Hospital Europeo Georges Pompidou, París, Francia

res y generar miocitos y estructuras arteriolo-capilares tanto en el corazón normal como en el patológico. Esta posibilidad determina que el corazón posea la potencialidad y el medio necesarios para lograr su reparación. (12)

Por otro lado, el aumento de la entropía o desorden implica la degradación permanente del universo hacia un estado de equilibrio basado en la uniformidad e inercia, lo cual contradice la teoría de la evolución creadora de Darwin. Boltzmann incursionó en este aspecto de la entropía con resultados sorprendentes, al demostrar que la probabilidad llega a un máximo cuando se alcanza a la uniformidad, contrariamente a Darwin, para quien la creación era la aparición de formas nuevas. (13)

Aquí surge una pregunta clave: ¿las estructuras biológicas siguen el principio de Boltzmann? Sabemos que la célula más sencilla presenta miles de reacciones químicas coordinadas y que estas reacciones necesitan catalizadores denominados enzimas. Por otra parte, las interacciones intracelulares son débiles, similares a las que existen entre las partículas de los sistemas de equilibrio termodinámico en física. Y en ellas las leyes de la termodinámica están establecidas para partículas en interacción débil. A este nivel aparecen las estructuras disipativas en sistemas alejados del equilibrio y además sabemos que las reacciones metabólicas están dentro de ellas.

El funcionamiento de las células se halla en las condiciones de desequilibrio. Responden a reacciones químicas no lineales debido a: 1) catalización por enzimas (procesos de activación o inhibición) y 2) fenómenos de transporte (paso de iones, difusión de los ARN de transferencia). Estudios de Eigen han demostrado que si un sistema se halla formado exclusivamente por proteínas sin polinucleótidos, se produce una sucesión indefinida de inestabilidades. Al agregarse polinucleótidos se permite que el sistema alcance un estado final compuesto por un código genético, correspondiendo a una estabilidad importante en relación con las fluctuaciones cinéticas. (14)

Las ciencias no pueden aislarse. La interrelación entre ellas es fundamental para la comprensión de los problemas. Un acercamiento de la biología a la física es absolutamente necesario. De hecho, ésta ha permitido comprender la evolución de la materia viva, lo cual antes de las revoluciones físicas se pensaba que violaban el segundo principio de la termodinámica. Hoy se sabe que esto no es así y que un sistema abierto se autoorganiza a través de un gradiente. La ciencia está ligada al proceso cultural.

Si nos remitimos a la biología cardíaca, vemos que ésta se halla compuesta por cardiomiocitos y matriz extracelular. Los cardiomiocitos adultos son células altamente diferenciadas que no pueden sintetizar ADN rápidamente y que presentan una síntesis proteica pausada. Ellos constituyen el 30% de la masa muscular cardíaca. El 70% restante es patrimonio de la matriz extracelular, es decir no miocitos, compuesta por

ABREVIATURAS

CPE	Células progenitoras endoteliales
EGFP	Proteína verde fluorescente
GCSF	Factor estimulante de colonias de granulocitos
PET	Tomografía por emisión de positrones

fibroblastos y células endocárdicas, epicárdicas y endoteliales. Los cardiomiocitos presentan una vida de unos cinco años, según trabajos ya dijimos cuestionados de Piero Anversa, mientras que los no miocitos alcanzan a existir entre 80 y 120 días y es posible la aceleración de esta condición en circunstancias patológicas como sobrecarga o el estrés. Este intersticio se halla en un estado de continuo recambio o *turnover*. En estrecha relación con éste se hallan las células cardíacas en estado quiescente e indicios muy bajos de actividad regenerativa. Por otra parte, un 25% de los cardiomiocitos son binucleados. Además, la mitad de ellos son tetraploides y un cuarto, diploides. Estas cifras aumentan con la presencia de hipertrofia y con la edad, datos éstos que indican un esfuerzo indudable hacia la división celular. Se plantea en este momento del conocimiento actual: ¿cómo un órgano tan activo desde el punto de vista funcional puede sostenerse a lo largo de los años sin ningún indicio de capacidad reproductiva?

Las interacciones entre los cardiomiocitos y los no miocitos se realizan a través de señalizaciones compuestas de proteínas (fibronectina, laminina, vitronectina), moléculas de adhesión (integrinas), proteínas citoesqueléticas (actina, alfa-actinina) y otros mediadores como las cinasas de adhesión local. El gradiente de materia y energía entre la matriz extracelular y los cardiomiocitos, es decir entre células menos diferenciadas y más diferenciadas, mantiene un flujo de comportamiento que va desde lo menos estable y más lejos del equilibrio hacia lo más estable y cercano al equilibrio.

En situaciones de sobrecarga, el cardiomiocito se hipertrofia. Estimulado por el ascenso de tensión en la membrana celular, la respuesta bioquímica conduce al aumento de tamaño celular. Si este incremento del estiramiento mecánico en la pared celular progresa o persiste, conduce a la muerte celular. (15, 16) También de acuerdo con los datos actuales ya analizados, la regeneración cardíaca permitiría a un nivel bajo la repoblación celular habitual y reparaciones en injurias de poca cuantía y cursos lentos. Células diferenciadas terminales como son los cardiomiocitos adultos en situaciones de estrés podrían salir de su fase *G₀* y reentrar en el ciclo celular.

Ante inestabilidades bruscas e importantes (oclusiones coronarias), el comportamiento celular de reparación privilegia la estructura sobre la función. El resultado es la escara fibrótica. Estas fluctuaciones desorganizarían el sistema de señalización que mantiene el gradiente jerárquico celular con un producto cualitativamente disminuido en

La regeneración cardíaca no implica la compensación en la disminución de los miocitos en el miocardio patológico. Tal desequilibrio entre muerte/regeneración es el punto crítico en la evolución del corazón enfermo hacia su falla terminal.

En los últimos años, ha sido evidente que la cardiomioplastia celular con células de diversos orígenes e implantadas en regiones lesionadas del corazón puede mejorar esa situación. Sin embargo, debemos ser precavidos tanto en la indicación como en la valoración de los resultados en relación con la metodología empleada.

No cabe duda de que en este tema las preguntas superan a las respuestas. Sin embargo, a pesar de todas las dificultades conceptuales que presenta el tema y de lo ideal de poder seguir los criterios que desarrolla Chien, (18) tampoco debemos desconocer el beneficio alcanzado en los centenares de implantes realizados en todo el mundo. Más allá de las respuestas necesarias, no se debe negar el estímulo clínico si el implante se maneja dentro de los límites de seguridad y factibilidad alcanzados hasta el momento. Subyacen muchas preguntas. Entre ellas dos trascendentes son: ¿cuál es el tipo ideal de célula? y ¿cuál es la plasticidad de estas células para llegar a convertirse en unidades efectoras? En este último interrogante está centrada gran parte de la discusión vigente, entendiéndose que el concepto de plasticidad implica que el fenotipo de estas células es determinado por el medio local.

Hasta el momento, las células clínicamente utilizadas han sido los mioblastos y las células madre de la médula ósea.

MIOBLASTOS

Estas células musculares esqueléticas poseen ventajas por su capacidad proliferativa *in vitro*, por pertenecer a un linaje de precursores mesodérmicos limitado al tejido muscular, tener posibilidades nulas de oncogénesis y ser resistentes a la isquemia. Sus factores desfavorables tienen que ver con el transcurso de tres a cuatro semanas de cultivo, lo cual implica la posibilidad de contaminación de la muestra y mayores costos. Fueron las primeras células utilizadas en la faz clínica y si bien en estudios de autopsia se ha visto tejido regenerado en zonas fibróticas, no hay comunicaciones clínicas más allá de los doce meses del implante. Por otra parte, también se debe considerar cuál es la cantidad real de células que permanecen vivas después del implante, que para algunos estudios es del 6%. (19) Si bien estas células necesitan un tiempo de trabajo para ver su eficacia clínica, esta mejora se mantiene en el tiempo. En los trabajos publicados se ha observado una mejoría en la clase funcional y también de la fracción de eyección. En relación con el diámetro diastólico del ventrículo izquierdo, sus cambios no han sido significativos. Las evidencias actuales indican que no se encuentra una verdadera transdiferenciación de los mioblastos y que el acoplamiento elec-

tromecánico con el resto de las células nativas no es fácil de demostrar.

De todas formas estas células adquieren algunas propiedades de cardiomiocitos que determinan fibras musculares de contracción lenta y resistente a la fatiga muscular. Un estudio reciente implica que las células musculares implantadas son capaces de fusionarse con células nativas del corazón *in vivo*. (20) Existen varios estudios clínicos en fase I con mioblastos esqueléticos implantados en el corazón. En ellos se observan evidencias de mejorías en la capacidad funcional y en las pruebas de viabilidad con tomografía por emisión de positrones (PET) y mediante perfusión miocárdica en cámara SPECT gatillado con MIBI Tc 99m. (12, 21-27)

La experiencia clínica actual con la cardiomioplastia celular ha demostrado arritmias significativas cuando 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 (27) y la de Herreros y colaboradores (23) indican que cuando los cultivos de mioblastos se expandieron con el uso de suero humano autólogo, el riesgo de arritmia desaparece, con lo que se evita la necesidad de cardiodesfibriladores. (28)

La posibilidad de mejora que establecen los mioblastos se halla dado por una mayor elasticidad, disminuyendo la zona fibrótica y permitiendo la remodelación reversa. Esta situación mecánica beneficiaría la función diastólica. También se considera factible la liberación de sustancias vasoactivas y de factores de crecimiento, como asimismo la posibilidad de que se actuaría a través de ellas en el mejoramiento de la matriz extracelular (liberación de metaloproteasas). En síntesis, este mecanismo en el infarto crónico de mejorar la rigidez de la cicatriz puede ser una alternativa útil para estos pacientes. En el infarto agudo, la posibilidad mayor de beneficio podría lograrse a través de la remodelación ventricular reversa.

CÉLULAS DE LA MÉDULA ÓSEA

La médula ósea es un universo al cual contribuyen diversas células en estado de maduración como asimismo las llamadas células madre o tronco. Estas células entraron en la fase clínica con menor evidencia de experimentación en animales. Hasta el momento no ha sido uniforme el empleo de subpoblaciones en los numerosos estudios clínicos publicados con dicha terapia. Así, se han utilizado médula ósea sin selección de poblaciones, células madre endoteliales o hematopoyéticas y últimamente se han propuesto las células mesenquimáticas, aunque todavía estas últimas no pasaron de la etapa del modelo preclínico.

Los estudios clínicos con células madre sin selección de poblaciones presentan algunas posibilidades favorables, como su bajo costo, ser un procedimiento sencillo, no necesitar una capacidad proliferativa *in*

vitro y evitar el descarte de células útiles. (29) Se han hecho trabajos tanto en infartos agudos como crónicos, es decir por vía epicárdica o por cateterismo coronario y en algunos casos mediante catéteres endoventriculares. También se efectivizó su uso en el momento de una angioplastia. Estos estudios clínicos demostraron eficacia en relación con la función cardíaca, pero lo más importante ha sido la documentación de mejor viabilidad tisular en el seguimiento. Se cree que estas células mononucleares son productoras de angiogénesis, al contrario de los mioblastos, que tienen fundamentalmente una acción de miocardiogénesis.

A pesar de la opinión generalizada de que las células de la médula ósea no ocasionan complicaciones, dos publicaciones recientes comunicaron microinfartos e inflamación después de la inyección de estas células en un modelo experimental y reestenosis precoz de *stents* coronarios cuando se asocian el implante intracoronario y el factor estimulante de colonias de granulocitos (GCSF). (30, 31)

La posibilidad de utilizar células madre purificadas tiene que ver con la existencia de marcadores en células madre hematopoyéticas y endoteliales, en relación con antígenos CD34 y AC133. El estudio más relevante en este aspecto es el de Orlic y colaboradores, (32) quienes utilizaron un modelo de infarto agudo en ratón con la administración de una población purificada de células madre hematopoyéticas denominadas Lin-c-kit+. Además, lograron la expresión con un marcador denominado proteína verde fluorescente (EGFP) para poder identificar las células implantadas dentro del corazón. Con esta experiencia, Orlic concluyó que estas células eran capaces de transdiferenciarse *in vivo* en cardiomiocitos y células endoteliales con mejoría en la función cardíaca. Luego de esta publicación se presentaron dos trabajos experimentales que pusieron en duda lo demostrado anteriormente sobre la transdiferenciación. El ensayo de Murry y colaboradores (33) llegó a la conclusión de que, tanto en el corazón de los ratones implantados como no implantados, lo que se halló fueron cambios que correspondían a la evolución natural del infarto sin diferencia entre los grupos. Por su parte, el trabajo de Balsam y colaboradores (34) demostró que las células madre implantadas llegan a constituir células hematopoyéticas maduras en el miocardio huésped. Sin embargo, en uno de estos dos últimos trabajos no se evalúa la eficacia terapéutica, mientras que en el otro se sugiere una leve mejoría. Además, teniendo en cuenta que en la microestructura de la médula ósea existen diversos tipos de células madre, no es concluyente que la médula ósea no tenga la capacidad de regenerar tejidos. Debe agregarse como una nueva perspectiva el trabajo de Nygren y colaboradores, (35) quienes con el empleo de un modelo de infarto en el ratón llegan a la conclusión de que es posible lograr cardiomiocitos a partir de células madre de la médula ósea hematopoyética, pero ya no por transdiferenciación

sino por fusión celular, conclusión a la que habían llegado anteriormente Álvarez-Dolado y colaboradores. (36)

Clínicamente también se han utilizado células madre endoteliales (células endoteliales progenitoras [EPC]). Estos estudios mostraron eficacia en el desarrollo clínico al ser introducidas por vía intracoronaria en infartos agudos. (37) La población de células AC133 ha mostrado posibilidad potencial de diferenciarse en endotelio y en células hematopoyéticas. Esta situación se ha utilizado clínicamente en pacientes con infartos crónicos sometidos a cirugía coronaria y mostró eficacia tanto en la función como en la perfusión del miocardio. (38)

Para avanzar en este tema se debe contar con una metodología dentro de lo ético y que además dé pautas fundamentalmente en el cambio de la viabilidad de los segmentos tratados y que incluya el menor número de variables posibles para evitar el enturbiamiento del análisis. Nuestro modelo se basó en la selección de pacientes con una franja del ventrículo izquierdo viable, pasible de revascularizar la descendente anterior únicamente, sin circulación extracorpórea, sin viabilidad ni arterias pasibles de cirugía en los segmentos restantes. De esta forma, éticamente se actuó sobre pacientes que debían operarse y que secundariamente eran injertados con células en un modelo cuya única variable alejada del análisis de viabilidad era la revascularización de la descendente anterior. Con esta estrategia se 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 se trataron con implante de células mononucleares en el mismo acto operatorio, se excluyeron del análisis para evitar el posible efecto benéfico sobre ellos de la cirugía de revascularización miocárdica. Sobre 9 pacientes, a los $7 \pm 2,5$ meses, la clase funcional 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 posoperatorios 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 $3,4 \pm 2$ (29) (Figura 1).

La cirugía coronaria constituye una limitante en este protocolo, aunque los pacientes 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, lo cual significa un contraste con el 58% de segmentos recuperados a los $7 \pm 2,5$ meses de seguimiento en nuestros pacientes. 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

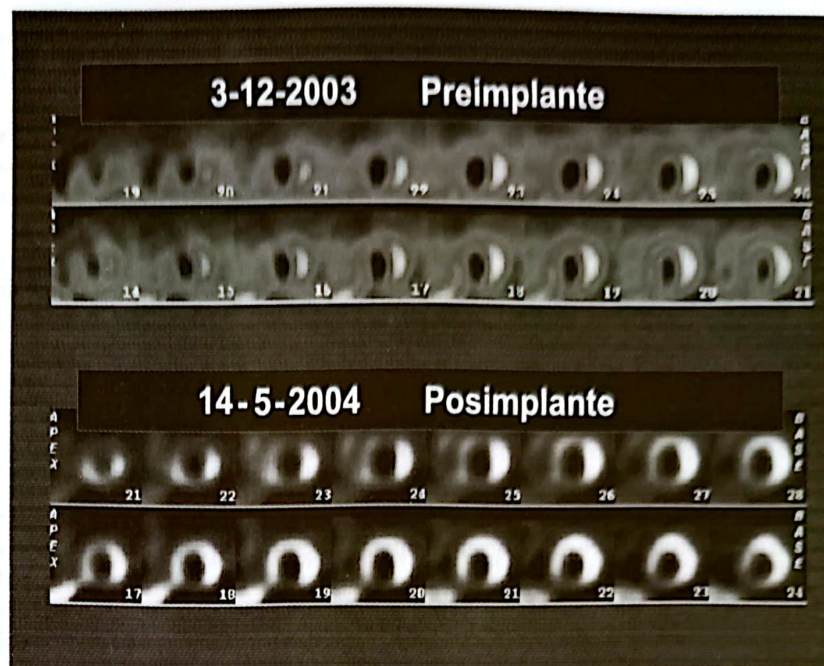


Fig. 1. Evolución de la perfusión miocárdica en un paciente implantado con células madre.

que la revascularización sea exitosa, es concebible reflexionar en que este cambio de la viabilidad en los segmentos discinéticos y acinéticos pudo deberse al implante celular. (22)

Por último, las células mesenquimáticas derivadas de la médula ósea y de la grasa han mostrado *in vitro* su posibilidad de llegar a diferenciarse en células endoteliales. Esto no deja de ser importante porque contribuyen tanto a la neoangiogénesis como a la vasculogénesis. Se ha utilizado esta posibilidad en el ratón y en el cerdo pero no ha habido ningún estudio clínico. La experiencia animal demostró su capacidad de mejorar la función cardíaca.

CONCLUSIONES

El interrogante es conocer si las células madre o tronco pueden transdiferenciarse o actúan por fusión celular. (39) Sin embargo, esta situación de que no llegue a demostrarse una transdiferenciación no excluye su beneficio, el cual se ha observado clínicamente. Por otro lado, en relación con la fusión celular, ésta puede ser un mecanismo de reparación celular como existe en el músculo esquelético. Los trabajos en este aspecto y por lo menos *in vitro* han demostrado que es factible inducir fenómenos de transdiferenciación. No sabemos si *in vivo* esto ocurre realmente.

Hay evidentes pruebas en contra del mecanismo de fusión celular. Después de la oclusión coronaria en ratones, todas las células del miocardio injuriado mueren en menos de cinco horas y por tal motivo no hay células posibles para la fusión. Por otro lado, los cardiomiocitos adultos tienen un volumen de $25.000 \mu\text{m}^3$. Si hubiese un mecanismo de fusión, los nuevos cardiomiocitos deberían tener un volumen superior a $25.000 \mu\text{m}^3$ o por lo menos igual. Sin embargo, el volumen de los nuevos cardiomiocitos oscila entre 200 y

$2.500 \mu\text{m}^3$. Incluso en el ratón la reconstitución del miocardio se caracteriza por la generación de quince millones de cardiomiocitos nuevos. Este número es cinco veces superior al número total de cardiomiocitos en el ventrículo izquierdo del ratón (3×10^6), y once veces más que el número de miocitos después de producido el infarto ($1,4 \times 10^6$). También, como hecho fundamental, el 92% de los miocitos residentes son binucleados, mientras que el 6% son mononucleados. Paradójicamente, el 90% de los nuevos miocitos son mononucleados y menos del 10% son binucleados. La fusión celular implicaría la generación de miocitos con dos núcleos. Éste no es el caso; por lo tanto, debe considerarse que la fusión celular no está implicada en este proceso de cardiomioplastia celular. La fusión celular implicaría la constitución de una célula híbrida, la cual sería genéticamente inestable y con un potencial de regeneración reducido.

Otro punto de confusión está dado en la creencia de que las células madre de la médula ósea son exclusivamente hematopoyéticas. En este aspecto, las células AC133 o CD34 también son células madre hematopoyéticas pero no exclusivas, ya que es factible encontrar en ellas las endoteliales y también las mesenquimáticas.

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 provisional, 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 en esta revisión, lo siguiente:

a) 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 doble 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. 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.

- b) La mejor perspectiva de regeneración en aquellos segmentos de infarto no transmural en relación con los transmurales.
- c) Respecto de este último punto, existe la posibilidad de avanzar sobre otras miocardiopatías prácticamente inexploradas en la fase clínica, (40) como la dilatación idiopática y la enfermedad de Chagas. En este aspecto, sobre ocho pacientes dilatados (cinco idiopáticos, dos chagásicos y uno con cardiopatía lúpica), seguidos a 180 ± 110 días luego del implante de células madre por cateterismo, se observó una clase funcional que pasó de $2,5 \pm 0,76$ a $1,37 \pm 0,52$ ($p < 0,001$) y se obtuvo un incremento de la fracción de eyección de $18,25 \pm 6,86\%$ a $27,75 \pm 9,51\%$ ($p < 0,01$), mientras que el diámetro diastólico del ventrículo izquierdo disminuyó desde $70,86 \pm 11,70$ a $65,11 \pm 9,78$ ($p < 0,05$).
- d) Tener la 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.
- e) La necesidad de la repetición del procedimiento por vía no invasiva para completar la remodelación reversa.
- f) 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 quizá 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 perspectiva mejor en el tratamiento precoz, luego de un infarto, es lógica y racional. Se beneficiaría de una señalización mejor que ocurre durante la isquemia con vectores como citocinas, el factor de crecimiento endotelial, el factor-1 estromático, el factor-1alfa 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 trasplantadas. (41)
- g) El colágeno es el componente mayor de la matriz extracelular del corazón. Las funciones de una malla de este material persiguen dar el soporte y la alineación a los cardiomiocitos y los vasos sanguíneos, preservando la arquitectura, evitando el

sobreestiramiento de las células miocíticas y proveyendo una base para la elasticidad diastólica. (42-44) Luego de extensas experimentaciones (Hospital Europeo Georges Pompidou, Francia) y recientemente con el inicio de la fase clínica (Hospital Presidente Perón, Argentina) (Figura 2), se deduce que esta matriz extracelular sería beneficiosa con el fin de propender al crecimiento apropiado de las células implantadas en el marco de una geometría tridimensional. Con esta táctica de utilizar matriz extracelular de colágeno y células madre de la médula ósea en forma concomitante, se estaría cumplimentando la pauta de que esta asociación es importante para el mantenimiento estructural del miocardio.

- h) No puede haber respuestas a todas las preguntas planteadas en la situación actual del conocimiento en la cardiomioplastia celular. Deben efectivizarse ensayos clínicos diseñados con preguntas concretas y bien controladas. Hasta el momento existen pocos estudios aleatorizados, (45) los cuales podrán dar pautas más claras en el futuro.

SUMMARY

The cardiac regeneration plasticity

Myoblasts and stem cell therapy provide an exciting prospect to a powerful heart repairing treatment. Although animal research has been undertaken in order to analyse the safety and efficacy of this new approach, results have been inconclusive. The mechanism by which stem cells could improve cardiac function remains unclear. We describe the background concepts of natural repair and the work that has been done so as to establish the role of stem cells in cardiac repair. Open collaboration amongst basic scientists and clinicians around the world is crucial to overcome these problems.

Key words: Cardiac regeneration - Cellular implant - Plasticity

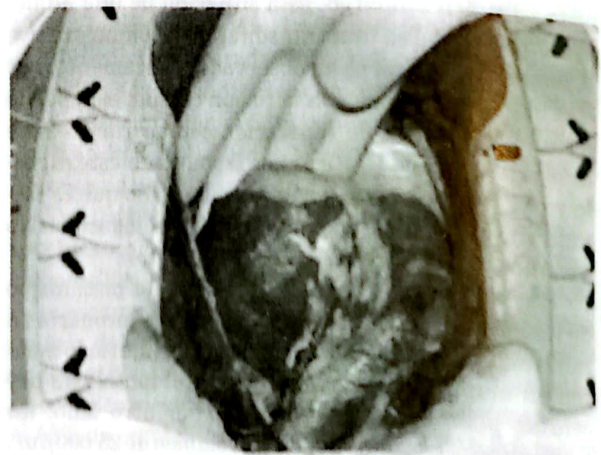


Fig. 2. Se observa revascularización con mamaria interna a la descendente anterior y matriz extracelular de colágeno en un área extensa de infarto embebida en células madre autólogas de la médula ósea.

BIBLIOGRAFÍA

1. Anversa P, Kajstura J. Ventricular myocytes are not terminally differentiated in the adult mammalian heart. *Circ Res* 1998;83:1-14.
2. Chachques JC, Herreros J, Trainini JC, Prosper F, Lajos P, Salanson-Lajos C, et al. Clinical Cellular Cardiomyoplasty. En: *Cardiac Bioassist* 2002. Ed Shaker Verlag, 2003, Chapter 3, p. 49-56.
3. Chachques JC, Herreros J, Trainini JC. Cardiomioplastia celular. *Rev Argent Cardiol* 2003;71:138-45.
4. Trainini JC, Barisani JL, Lago N, Cichero D. Trasplante de mioblastos esqueléticos. Perspectivas en la reparación del miocardio necrótico. *Rev CONAREC* 2003;19:25-9.
5. Trainini JC, Cichero D, Bustos N. Cardioimplante celular autólogo. *Rev Argent Cardiol* 2002;70:137-42.
6. Prosper Cardoso F, Herreros González J, Alegría Ezquerro E. Perspectivas futuras de tratamiento en la insuficiencia cardíaca. Utilización de las células madre para la regeneración cardíaca. *Rev Arg Cir Cardiovasc* 2003;1:15-23.
7. Quaini F, Urbanek K, Beltrami AP, Finato N, Beltrami CA, Nadal-Ginard B, et al. Chimerism of the transplanted heart. *N Engl J Med* 2002;346:5-15.
8. Laflamme MA, Myerson D, Saffitz JE, Murry CE. Evidence for cardiomyocyte repopulation by extracardiac progenitors in transplanted human hearts. *Circ Res* 2002;90:634-40.
9. Anversa P, Torella D, Kajstura J, Nadal-Ginard, Leri A. Myocardial regeneration. *Eur Heart J* 2002;4:G67-G71.
10. 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.
11. Rumyantsev PP. Interrelations of the proliferation and differentiation processes during cardiac myogenesis and regeneration. *Int Rev Cytol* 1977;51:186-273.
12. Menasche P, Hagege AA, Scorsin M, Pouzet B, Desnos M, Duboc D, et al. Myoblast transplantation for heart failure. *Lancet* 2001;357:279-80.
13. Trainini JC. Hacia la necesidad de un nuevo paradigma médico. *Rev Argent Cardiol* 2003;71:439-45.
14. Eigen M. Selforganization of Matter and the Evolution of biological Macromolecules. *Naturwissenschaften* 1971;56:465-74.
15. Oliveri R. Apoptosis en la insuficiencia cardíaca. *Rev Argent Cardiol* 2000;68:603-7.
16. 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.
17. Trainini JC. Modelo termodinámico en la regeneración cardíaca. *Rev Conarec* 2004;74:59-64.
18. Chien KR. Stem cells: lost in translation. *Nature* 2004;428:607-8.
19. Prosper F, Herreros J, Barba J. Future perspectives in the treatment of heart failure: from cell transplantation to cardiac regeneration. *Rev Esp Cardiol* 2004;57:981-8.
20. Reinecke H, Minami E, Poppa V, Murry CE. Evidence for fusion between cardiac and skeletal muscle cells. *Circ Res* 2004;94:e56-60.
21. Trainini JC, Lago N, de Paz J, Cichero D, Giordano R, Mouras J, et al. Trasplante de mioblastos esqueléticos para reparo de necrosis miocárdica. *Rev Argent Cardiol* 2002;70:324-7.
22. Menasche 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.
23. Herreros J, Prosper F, Perez A, Gavira JJ, Garcia-Velloso MJ, Barba J, et al. Autologous intramyocardial injection of cultured skeletal muscle-derived stem cells in patients with non-acute myocardial infarction. *Eur Heart J* 2003;24:2012-20.
24. Hagege AA, Carrion C, Menasche 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.
25. Trainini JC, Cichero D, Lago N, Giordano R, de Paz J, Elenicwajg B, et al. Autologous cellular Cardiac-Implant. *Basic Appl Myol (BAM)* 2003;13:39-44.
26. Trainini JC, Lago N, de Paz J, Cichero D, Giordano R, Mouras J, et al. Myoblast transplantation for myocardial repair: a clinical case. *J Heart Lung Transplant* 2004;23:503-5.
27. Lago N, Trainini JC, Genovese J, Barisani JL, Mouras J, Guevara E y col. Tratamiento de la disfunción ventricular posinfarto mediante el cardioimplante de mioblastos autólogos. *Rev Argent Cardiol* 2004;72:124-30.
28. Chachques JC, Acar C, Herreros J, Trainini JC, Prosper F, D'Atellis N, et al. Cellular cardiomyoplasty: Clinical Application. *Ann Thorac Surg* 2004;77:1121-30.
29. Trainini JC, Lago N, Klein G, Mouras J, Masoli O, Barisani JL y col. Cardiomioplastia celular con médula ósea autóloga en pacientes con miocardiopatía isquémica. *Rev Arg Cardiol* 2004;72:418-25.
30. Vulliet PR, Greeley M, Halloran SM, MacDonald KA, Kittleson MD. Intra-coronary arterial injection of mesenchymal stromal cells and microinfarction in dogs. *Lancet* 2004;363:783-4.
31. Kang HJ, Kim HS, Zhang SY, Park KW, Cho HJ, Koo BK, et al. Effects of intracoronary infusion of peripheral blood stem-cells mobilised with granulocyte-colony stimulating factor on left ventricular systolic function and restenosis after coronary stenting in myocardial infarction: the MAGIC cell randomised clinical trial. *Lancet* 2004; 363:751-6.
32. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Jakoniuk I, Anderson SM, Li B, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 2001;410:701-5.
33. Murry CE, Soonpaa MH, Reinecke H, Nakajima H, Nakajima HO, Rubart M, et al. Haematopoietic stem cells do not transdifferentiate into cardiac myocytes in myocardial infarcts. *Nature* 2004; 428:664-8.
34. Balsam LB, Wagers AJ, Christensen JL, Kofidis T, Weissman IL, Robbins RC. Haematopoietic stem cells adopt mature haematopoietic fates in ischaemic myocardium. *Nature* 2004;428:668-73.
35. Nygren JM, Jovinge S, Breitbach M, Sawen P, Roll W, Hescheler J, et al. Bone marrow-derived hematopoietic cells generate cardiomyocytes at a low frequency through cell fusion, but not transdifferentiation. *Nat Med* 2004;10:494-501.
36. Alvarez-Dolado M, Pardal R, Garcia-Verdugo JM, Fike JR, Lee HO, Pfeffer K, et al. Fusion of bone-marrow-derived cells with Purkinje neurons, cardiomyocytes and hepatocytes. *Nature* 2003;425:968-73.
37. Assmus B, Schachinger 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;106:3009-17.
38. 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;361:45-6.
39. Anversa P, Sussman MA, Bolli R. Molecular genetic advances in cardiovascular medicine: focus on the myocyte. *Circulation* 2004; 109:2832-8.
40. Trainini JC, Lago N, Klein G, Mouras J, Alvarez M, Barrios A y col. Implante intracoronario de células progenitoras de la médula ósea en disfunción ventricular postinfarto por lupus eritematoso sistémico. *Rev Argent Cardiol* 2004;72:229-32.
41. Lee SH, Wolf PL, Escudero R, Deutsch R, Jamieson SW, Thistlethwaite PA. Early expression of angiogenesis factors in acute myocardial ischemia and infarction. *N Engl J Med* 2000;342:626-33.
42. Mathur A, Martin JF. Stem cells and repair of the heart. *Lancet* 2004;364:183-92.
43. Lu L, Zhang JQ, Ramirez FJ, Sun Y. Molecular and cellular events at the site of myocardial infarction: from the perspective of rebuilding myocardial tissue. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;320:907-13.
44. Kim HE, Dalal SS, Young E, Legato MJ, Weisfeldt ML, D'Armiento J. Disruption of the myocardial extracellular matrix leads to cardiac dysfunction. *J Clin Invest* 2000;106:857-66.
45. Wollert KC, Meyer GP, Lotz J, Ringes-Lichtenberg S, Lippolt P, Breidenbach C, et al. Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomised controlled clinical trial. *Lancet* 2004;364:141-8.