



CARDIOLOGÍA DEL ADULTO - TRABAJOS LIBRES

Trasplante de células progenitoras derivadas de la médula ósea y factor de crecimiento granulocítico en cardiopatía isquémica aguda y crónica

Transplant of stem cells derived from bone marrow and granulocytic growth factor in acute and chronic ischemic myocardial pathology

Juan M. Senior, MD.^(1,2), Francisco Cuéllar, MD.^(1,2), Óscar Velásquez, MD.⁽²⁾, Margarita Velásquez, MD.⁽¹⁾, Claudia M. Navas, MD.⁽²⁾; Sergio Ortiz, MD.⁽²⁾; Juan A. Delgado, MD.⁽²⁾, Guillermo Blanco, MD.⁽²⁾, Juan L. Londoño, MD.⁽²⁾, Manuel A. Coronado, MD.^(1,2); Francisco Gómez, MD.^(1,2); Fernando León Alzate, MD.^(1,2); Alejandra Zuluaga, Estudiante⁽¹⁾

Medellín, Colombia.

INTRODUCCIÓN: estudios recientes demuestran la seguridad y eficacia de la implantación de células progenitoras derivadas de la médula ósea y de la administración del factor estimulante de colonias de granulocito en pacientes con infarto agudo del miocardio con elevación del segmento ST y en cardiopatía isquémica crónica. Se diseñó un estudio prospectivo, abierto de «antes y después» para evaluar la seguridad y eficacia de la terapia celular asociada a la administración del factor de crecimiento. Se reporta la primera experiencia con este tipo de terapia.

METODOLOGÍA: este es el reporte del seguimiento a seis meses, de los pacientes con cardiopatía isquémica aguda y crónica a quienes se les realizó trasplante de células progenitoras derivadas de la médula ósea, movilizadas con factor de crecimiento estimulante de colonias de granulocitos, por vía intracoronaria o epicárdica. Se incluyeron dos grupos de pacientes: 1. Diez pacientes con infarto de pared anterior y 2. Cinco pacientes con cardiopatía isquémica crónica, todos con necrosis extensa demostrada por ausencia de viabilidad miocárdica por medicina nuclear y fracción de eyección menor del 40%.

RESULTADOS: se demostró mejoría significativa de la fracción de eyección de $29,44 \pm 3,36$ a $37,6 \pm 5,3$ con $p < 0,001$; disminución del volumen ventricular sistólico y diastólico sin significancia estadística, $p = 0,31$ y $0,4$ respectivamente. La capacidad de ejercicio aumentó en forma significativa evidenciada por incremento en el test de los seis minutos, el tiempo de ejercicio y el número de MET alcanzados. Hubo cambios significativos en el defecto de perfusión desde el segundo mes de seguimiento y no se presentaron complicaciones que se relacionaran directamente con el trasplante de células progenitoras derivadas de la médula ósea o la utilización del factor estimulante de colonias de granulocito.

CONCLUSIONES: esta es la primera experiencia con el trasplante de células progenitoras derivadas de la médula ósea para regeneración miocárdica, asociada a la administración de factor estimulante de colonias de granulocito, en la cual se demostró recuperación de la función ventricular izquierda y mejoría en la capacidad de ejercicio y en el defecto de perfusión sin efectos secundarios o complicaciones relacionadas con alguna de las dos terapias.

PALABRAS CLAVE: infarto del miocardio, células madre, intracoronario, angiogénesis, médula ósea.

(1) Grupo de Terapia Celular Regenerativa. Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

(2) Hospital Universitario San Vicente de Paúl. Medellín, Colombia.

Correspondencia: Juan Manuel Senior S., MD. Grupo de Terapia Celular Regenerativa. Hospital Universitario San Vicente de Paúl-Universidad de Antioquia. Calle 64 Carrera 51D. Medellín, Colombia. Teléfono: Oficina: 516-74-03, Celular: 315-529-19-14. Correo electrónico: mmbt@une.net.co.

INTRODUCTION: recent studies have shown the safety and efficacy of the stem cells derived from bone marrow (BMC) implant with concomitant administration of stimulating factor of granulocyte colonies in patients with acute myocardial infarction with ST segment elevation and in chronic ischemic cardiopathy. An open prospective «before and after» design was made to evaluate the safety and efficacy of cell therapy associated to growth factor administration. The first experience with this kind of therapy is reported.

METHODOLOGY; this is a 6 months follow-up report of patients with acute and chronic ischemic cardiopathy to whom transplant of stem cells derived from bone marrow mobilized with granulocyte colonies growth stimulating factor via coronary arteries or epicardium was realized. Two groups of patients were included: 1. Ten patients with anterior wall infarct and 2. Five patients with chronic ischemic cardiopathy, all with extensive necrosis demonstrated by absence of myocardial viability through nuclear medicine and ejection fraction of less than 40%.

RESULTS: significant improvement of ejection fraction from 29.44 ± 3.36 to 37.6 ± 5.3 with $p < 0.001$ and decrease of ventricular systolic and diastolic volume without statistical significance ($p = 0.31$ and 0.4 respectively) were demonstrated. Exercise capacity evidenced by increment in the six minutes test, exercise time and the MET number achieved, increased in a significant way. There were significant changes in the perfusion defect from the second follow-up month and no complications directly related to the stem cells derived from bone marrow transplant or the use of stimulating granulocyte colony factor were presented.

CONCLUSIONS: this is the first experience of stem cells derived from bone marrow transplant associated to the administration of stimulating granulocyte growth colony factor in which recovery of left ventricular function was demonstrated, as well as improvement in exercise capacity and in the perfusion defect, without adverse effects or complications related to these therapies.

KEY WORDS: myocardial infarction, stem cells, intracoronary, angiogenesis, bone marrow.

(Rev Colomb Cardiol 2007; 14: 341-352)

Introducción

La incidencia de falla cardíaca, secundaria a cardiopatía isquémica aguda y crónica en países en desarrollo, se ha incrementado de manera significativa en la última década (1, 2). En 1990 se registraron casi 800.000 muertes por causas cardiovasculares, mientras que se presentaron menos de 500.000 muertes atribuidas a enfermedades infecciosas y parasitarias. Se espera que la expectativa de vida de la población colombiana cambie de 67,8 años de 1985 a 1990 a 73,9 años de 2010 a 2015; durante este periodo la población mayor de 45 años se triplicará (3).

A pesar de los avances en el tratamiento de la enfermedad coronaria aguda y crónica, existe un número significativo de pacientes que desarrollan necrosis miocárdica extensa durante el evento índice, lo que induce el proceso de remodelación ventricular y genera mayor dilatación y disfunción ventricular a largo plazo (4, 5). Por la naturaleza progresiva de la enfermedad isquémica se desarrolla falla cardíaca y/o angina refractaria a pesar del tratamiento convencional óptimo, con pobre calidad

de vida y alta mortalidad a corto plazo, lo que la convierte en una buena indicación para trasplante cardíaco ortotópico (6).

El ciclo celular es un proceso ordenado que lleva a la duplicación y transmisión de la información genética de una generación a la siguiente. La primera fase de síntesis de ADN ocurre en la vida fetal y se asocia única y exclusivamente con la proliferación de células cardíacas, mientras que la segunda fase produce binucleación, como resultado de la duplicación genómica y carioquinesis en ausencia de citoquinesis, o duplicación celular, lo que explica la aparición de cardiomiocitos binucleados (7). La regulación del ciclo celular permite monitorizar los eventos que intervienen en cada fase, antes de pasar a la siguiente para asegurar la integridad del ADN e impedir la propagación de células dañadas o con mutaciones en su material genético (8, 9).

Se ha considerado que los cardiomiocitos sólo se reproducen durante el desarrollo embrionario y fetal, lo que explica que luego de cualquier noxa se pierda cierto número de ellos y se produzca una cicatriz que no

contribuye a la sístole ventricular. La capacidad de los cardiomiocitos adultos para reingresar al ciclo celular, ha sido motivo de considerable atención en los últimos años. Recientemente se ha demostrado que luego de un infarto agudo del miocardio, se estimula la replicación de cardiomiocitos en la zona perilesional; sin embargo la magnitud del proceso reparativo es incapaz de regenerar la zona afectada (10, 11). En el mismo sentido, también se ha demostrado en biopsias endomiocárdicas, la presencia de cardiomiocitos con cariotipo masculino en receptores masculinos a los cuales se les trasplantó un corazón de un donante de género femenino, lo que evidencia la presencia de células progenitoras propias con capacidad de migrar y diferenciarse (12).

Las investigaciones en la capacidad regenerativa miocárdica, en estos últimos cinco años, indican que el viejo paradigma del estado postmitótico del cardiomiocito debe reevaluarse, por un nuevo paradigma que reconoce la capacidad de hipertrofia y división de este tipo de células. Adicionalmente, otras células con capacidad progenitora pueden llegar al corazón a través de la circulación sistémica, por señales moleculares mediadas por citoquinas y ser condicionadas por el microambiente para diferenciarse en líneas celulares específicas, reemplazando estructuras vasculares y cardiomiocitos lesionados (11, 13-16).

Las células progenitoras, tronculares o madre, son células indiferenciadas que poseen la capacidad de autorregeneración y pueden diferenciarse en múltiples líneas celulares (16). Uno de los aspectos importantes, aún no resueltos, en la terapia celular regenerativa, es el tipo de célula apropiada para reparar el tejido miocárdico lesionado (17, 18). Las células madre de origen embrionario son totipotentes y pueden obtenerse para investigación o aplicación terapéutica de fetos abortados o no utilizados luego de fertilización *in vitro*; las células madre adultas residen en diferentes órganos, entre ellos en la médula ósea, y son multipotentes, lo que les confiere una más limitada capacidad de diferenciación, y por último las células satélite en el músculo esquelético pueden regenerar el tejido lesionado, entre otras (19-33).

Se han utilizado diferentes técnicas y vías para implantar las células madre. El objetivo de cada una de estas técnicas es lograr que un número significativo de células pueda alcanzar la zona miocárdica lesionada, logre «anidar» en dicho tejido y tenga todas las condiciones necesarias, dadas por el microambiente, para diferenciarse y producir cardiomiocitos o formar nuevas

estructuras vasculares funcionales (34). Se han implantado en diferentes estudios clínicos por vía intracoronaria, por el seno coronario, por inyección directa miocárdica epicárdica y endocárdica. La implantación de células madre por vía intravenosa sistémica tiene poca utilidad clínica, dado que el porcentaje que alcanza el miocardio es despreciable y su efecto clínico es dudoso (35).

La movilización de células madre desde la médula ósea, permite disponer de un número importante de ellas para regeneración tisular y neovascularización. El tejido lesionado libera sustancias que producen señales moleculares, que permiten la movilización del *pool* medular y la expresión de receptores para su anidación. Se puede lograr el mismo efecto al administrar factor estimulante de colonias de granulocito (G-CSF) y/o factor de células madre (stem cell factor, SCF). La migración de ciertas células durante la etapa embrionaria es regulada por el ligando del receptor de tirosín quinasa cKit, el SCF (36). La respuesta inflamatoria post-infarto causa acumulación de células mastocíticas positivas para CD117, el equivalente humano del cKit, reforzando la teoría de que existen señales en el microambiente que permiten la anidación. El G-CSF moviliza células madre desde la médula ósea, a través de un mecanismo indirecto dado que no expresan el receptor específico. Una dosis del factor induce la expresión de CXCR4, el cual es importante para el tráfico y reclutamiento de los linfocitos en los sitios de inflamación y potencia la habilidad de las células madre para la anidación y diferenciación. Ha sido utilizado en estudios en animales asociado al SCF, demostrando mejoría en la perfusión miocárdica posiblemente por la movilización de células madre mesenquimales, pero sin modificar el tamaño del infarto (37). Su uso en forma aislada en humanos no ha demostrado beneficios importantes (38, 39).

No está claro el mecanismo principal por el cual las células madre mejoran la función ventricular, tanto sistólica como diastólica y la perfusión sanguínea. La primera es la transdiferenciación celular a cardiomiocitos, células endoteliales y musculares lisas, hecho controvertido por algunos autores, y que se basa en la plasticidad celular o la formación de cardiomiocitos por fusión celular, fenómeno que ocurre con una frecuencia de 1:10.000 a 1:100.000 (40). El segundo mecanismo es el aumento del flujo sanguíneo coronario por neoangiogénesis al diferenciarse a células endoteliales o en último lugar, al secretar factores angiogénicos sin transdiferenciación.

En el síndrome de falla cardíaca, independiente del factor etiológico, se produce una serie de respuestas

hemodinámicas y neurohormonales con cambios moleculares complejos, que conduce a la progresión de la disfunción ventricular y a mayor pérdida de células contráctiles funcionantes por necrosis o por apoptosis (36, 41, 42). Las estrategias terapéuticas desarrolladas para interrumpir este círculo vicioso de disfunción miocárdica y/o remodelación ventricular, cambian las condiciones en las cuales se produce el trabajo miocárdico, con la consecuente mejoría en la morbilidad y en la curva de supervivencia (43). Sin embargo, esta aproximación terapéutica no logra recuperar el tejido lesionado durante el proceso, lo que permite la progresión de la enfermedad hasta llegar a la falla cardíaca terminal y la muerte (43). En el estudio CONCENSUS, en falla cardíaca severa, la mortalidad al año de los pacientes tratados con inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina, fue del 36%; en el estudio SOLVD fue del 35% a los cuatro años y en el estudio AIRE del 17% a los 15 meses, aunque todos demostraron mejoría en la supervivencia en el grupo intervenido en comparación con el grupo control (44). Por esta razón el pronóstico de la falla cardíaca se ha comparado con las neoplasias más frecuentes, demostrando mayor mortalidad que el cáncer de mama y ovario en mujeres, de próstata en hombres y colorrectal en la población total, sólo superado por el cáncer pulmonar (45).

Se han explorado algunas posibilidades para repoblar el tejido miocárdico dañado con células que contribuyan a la contracción con el fin de mejorar la función ventricular y la perfusión del territorio afectado. Más de 30 estudios experimentales en modelos animales, publicados en los últimos años, revelan el efecto benéfico de la cardiomioplastia celular sobre la función cardíaca, en corazones con disfunción ventricular de diversa etiología (46-66). Se han utilizado para regeneración miocárdica el trasplante de mioblastos esqueléticos alogénicos y autólogos, células musculares lisas, células madre embrionarias, células endoteliales vasculares, cardiomiocitos fetales, neonatales y adultos y células progenitoras de sangre periférica y derivadas de la médula ósea (17, 67). Orlic y colaboradores realizaron, en un modelo murino, un trasplante alogénico de células progenitoras derivadas de la médula ósea Lin⁻ cKit⁺, marcadas con una proteína fluorescente verde, en la zona de miocardio viable adyacente al infarto y reportaron mejoría en la función sistólica (36). Se demostró en forma objetiva la diferenciación a cardiomiocitos por la presencia de la proteína fluorescente verde y el cariotipo masculino en un corazón femenino; adicionalmente, se demostró la presencia de conexina 43 lo que permite la

integración de las nuevas células en un sincitio funcional, y explica el aumento de la función cardíaca regional y global (63, 68). Strauer y colaboradores (69, 70) fueron los primeros en demostrar en humanos la seguridad y efectividad del trasplante de células progenitoras por vía intracoronaria en pacientes con infarto agudo del miocardio, inicialmente como reporte de caso y posteriormente como investigación fase I. Después de tres meses de seguimiento demostraron mejoría significativa en la perfusión miocárdica de la zona afectada, aumento en la contractilidad y disminución en el tamaño del infarto. Luego se publicaron diversos estudios como el TOPCARE-AMI (71-73), el BOOST (74) y el de Chen y colaboradores, con resultados concordantes con los antes mencionados. En América Latina hay experiencias reportadas en Brasil, Argentina y Colombia con resultados similares (34, 39, 75).

Desde el primer reporte del trasplante de mioblastos esqueléticos autólogos en humanos en el 2001 por el grupo de Menasché y colaboradores, diferentes grupos han realizado estudios para demostrar la seguridad y eficacia de la terapia celular para regeneración en cardiopatía isquémica aguda y crónica (76-81).

Se diseñó un estudio abierto, de «antes y después» para investigar la seguridad, efectividad y posibles efectos secundarios del trasplante autólogo de médula ósea en pacientes con cardiopatía isquémica aguda y crónica con tratamiento convencional óptimo.

Materiales y métodos

Pacientes y protocolo

Estudio prospectivo, abierto, no aleatorizado, de los pacientes de la clínica de falla cardíaca del Hospital Universitario San Vicente de Paúl y la Universidad de Antioquia, con cardiopatía isquémica aguda o crónica incluidos en forma consecutiva entre marzo de 2004 y marzo de 2005, con disfunción ventricular y tratamiento convencional óptimo, de acuerdo con las guías de tratamiento establecidas para cada patología. La metodología utilizada es la de un estudio de «antes y después», en el que se comparan las variables clínicas, ecocardiográficas, del monitoreo Holter y de perfusión miocárdica por medicina nuclear y los efectos adversos del procedimiento y de la administración del factor estimulante de colonias de granulocito.

Se incluyeron aquellos pacientes que tenían entre 16 y 75 años de edad y cumplían los siguientes requisitos:

1. Infarto agudo del miocardio de pared anterior a quienes se les realizó revascularización percutánea con angioplastia e implantación de *stent* durante el episodio agudo y posteriormente se demostró disfunción ventricular izquierda con fracción de eyección menor del 40% por ecocardiografía y necrosis extensa en el territorio irrigado por la arteria descendente anterior por medicina nuclear, luego del quinto día post-revascularización. En este grupo la vía de implantación fue intracoronaria.

2. Cardiopatía isquémica crónica, disfunción ventricular izquierda con fracción de eyección menor del 40% por ecocardiografía, estado funcional III ó IV/IV de la *New York Heart Association* (NYHA) y demostración por medicina nuclear de zonas de necrosis extensa y/o isquemia. En este grupo la vía de implantación fue epicárdica, asociada o no a revascularización quirúrgica de acuerdo con la anatomía coronaria.

El protocolo se presentó ante miembros del Comité de Ética y fue aprobado para su realización por el Hospital Universitario San Vicente de Paúl y el Departamento de Medicina Interna de la Universidad de Antioquia. A todos los pacientes se les explicó detalladamente el estudio y el procedimiento, y se incluyeron luego de firmar el consentimiento informado.

Se excluyeron pacientes con historia de neoplasias u otra comorbilidad que impactara la expectativa de vida, disritmias ventriculares severas (taquicardia ventricular sostenida), aneurisma o trombo ventricular izquierdo, inestabilidad hemodinámica en el momento del procedimiento, fibrilación atrial o alguna condición que a juicio de los investigadores implicara algún riesgo injustificado.

En todos los pacientes se obtuvo una historia clínica completa y paraclínicos de base como: hemoleucograma y sedimentación, PCR, BUN, creatinina, ionograma, CK MB, troponina I, LDH, ácido úrico, perfil lipídico y glicemia, electrocardiograma de doce derivaciones, angiografía coronaria, ecocardiograma M, 2D, Doppler, color, viabilidad e isquemia miocárdica por medicina nuclear y monitoreo Holter. Los pacientes se monitorizaron en cuidados intensivos por 24 a 48 horas en promedio y las 24 horas se tomaron controles de hemoleucograma y sedimentación, PCR, BUN, creatinina, CKMB, troponina I, electrocardiograma y ecocardiograma. Luego del alta fueron reevaluados a los dos, seis y doce meses post-procedimiento con una evaluación clínica completa, hemoleucograma y sedimentación, PCR, BUN, creatinina,

troponina I, CPK MB, química sanguínea, ecocardiograma, electrocardiograma, viabilidad miocárdica e isquemia por medicina nuclear y monitoreo Holter. En todos los pacientes se realizó un programa supervisado de rehabilitación cardíaca por ocho semanas, incluyendo valoración osteomuscular, evaluación del equilibrio monopodal y bipodal, valoración de la composición corporal, por medio de la antropometría para la medición indirecta de la composición corporal, medición de la talla, pliegues cutáneos, perímetros y diámetros de diferentes regiones corporales, prueba de los seis minutos, evaluación de la calidad de vida, evaluación de la depresión con el test de Zung y prueba de esfuerzo funcional.

Preparación de la suspensión celular

Las células progenitoras derivadas de la médula ósea se obtienen por la estimulación del paciente (autólogas) con factor estimulante de colonias granulocítico 10 microgramos/kilogramo/día, en los 5 días previos a su implantación. El día del procedimiento se lleva al paciente a la sala de cirugía y bajo anestesia local se le extraen 50 mL de médula ósea por aspiración en la cresta ilíaca; las células mononucleares se aíslan por gradiente de densidad en Ficoll-Hypaque Plus en el laboratorio de inmunología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Antioquia y el Hospital Universitario San Vicente de Paúl. El conteo de las CD34 y los cultivos para hongos y bacterias se realizó por citometría de flujo (12).

Implantación celular

En el grupo de pacientes agudos la implantación de las células se realizó posterior al quinto día post-infarto y antes del tercer mes, en el laboratorio de hemodinámica. Luego de efectuar la angiografía coronaria en forma convencional, se localizó el sitio de implantación del *stent* y se realizó un inflado para ocluir completamente el vaso y así evitar el reflujo de la suspensión; se inyectaron a través de un catéter balón sobre la guía (*Over The Wire*) 2-3 mL 3 a 5 veces, permitiendo la perfusión coronaria entre cada inyección y la migración de las células al sitio deseado. Luego de ejecutar los primeros casos se decidió realizar en forma concomitante oclusión del seno coronario para permitir un mayor tiempo de contacto entre las células progenitoras y el endotelio vascular. Al finalizar el procedimiento se colocaron 100 a 200 mcg de nitroglicerina intracoronaria y se hizo una angiografía de control para demostrar la permeabilidad del vaso, con lo cual se dio por terminado el procedimiento.

En los pacientes con cardiopatía isquémica crónica la implantación de células se realizó en el quirófano. Luego de la esternotomía convencional o por minitoracotomía, se visualizó la zona de necrosis y/o isquémica y se procedió a la implantación de la suspensión celular inyectando en forma directa 0,2 mL en 10 oportunidades con aguja fina a lo largo de la circunferencia del borde lesionado.

Análisis estadístico

Los datos se presentan con medidas de tendencia central y de dispersión con el promedio y su desviación estándar. Se hizo la comparación de los cambios basales y el seguimiento a seis meses por medio de la prueba de rangos de Wilcoxon para pruebas estadísticas no paramétricas de muestras pareadas. El nivel de significación estadística se definió como una $p < 0,05$. Las gráficas que ilustran la media y la desviación estándar se extrajeron de una base de datos denominada CELMA (células madre), diseñada para la sistematización de los datos obtenidos en el seguimiento clínico de los pacientes con trasplante de células progenitoras derivadas de la médula ósea. Dicha herramienta utiliza PHP como lenguaje de programación y MySQL como administrador de bases de datos.

Resultados

Características basales

Las características clínicas de los pacientes incluidos en el estudio, diez pacientes con infarto agudo de miocardio de pared anterior y cinco pacientes con cardiopatía isquémica crónica, se presentan en la tabla 1. La implantación intracoronaria se realizó sin oclusión concomitante del seno coronario en ocho pacientes. En los pacientes quirúrgicos la implantación epicárdica se realizó asociada a puentes coronarios en un paciente, un paciente con infarto traumático por lesión con arma corto punzante y otros tres con revascularización quirúrgica previa con oclusión de puentes, sin posibilidades de nueva intervención por su anatomía coronaria.

Datos del procedimiento

La suspensión celular es una mezcla heterogénea de células que incluyen progenitoras hematopoyéticas, mesenquimales y otras progenitoras. La viabilidad celular fue mayor del 97% en todos los pacientes. La suspensión no contenía coágulos o espículas óseas; el

cultivo fue negativo para bacterias y hongos en el 100% de los casos y el tiempo de procesamiento fue de aproximadamente tres horas. Los pacientes recibieron $795 \times 10^6 \pm 61$ de células mononucleares, no fraccionadas ni expandidas *ex vivo*, durante el trasplante. Las características fenotípicas fueron $CD34+ 1,9 \pm 2,3\%$, $CD34 + CD45^{low} 1,1 \pm 1,3\%$ y $CD34 + HLA-DR-0,8 \pm 0,1\%$.

Tabla 1.
DATOS CLÍNICOS BASALES.

	Agudos	Crónicos
Edad	47,42 \pm 13,15	58,5 \pm 2,38
Género	75% H7	5% H
NYHA	25%	75%
Soporte inotrópico	40%	75%
BCIAo	30%	75%
Fracción de expulsión	28,83 \pm 7,20	31,25 \pm 5,45
ACTP – stent previo	9	0
Puentes coronarios previos	1	2
Complicaciones	1	1
Sepsis	1	0
Arritmias	0	1
Muerte	1	1

CCS; *Canadian Cardiovascular Society* -estado funcional por angina- NYHA: estado funcional *New York Heart Association*; BCIAo: balón de contrapulsación intra-aórtico; ACTP-stent: angioplastia coronaria transluminal percutánea e implantación de stent.

Datos de seguridad

Intrahospitalario

No se presentaron reacciones adversas a la administración del factor estimulante de colonias de granulocito en el periodo periprocedimiento; durante la hospitalización no se documentaron episodios de isquemia miocárdica, fenómenos tromboticos o embólicos, reestenosis, ruptura esplénica u otras complicaciones que pudieran atribuirse al factor estimulante.

Implantación intracoronaria

Se presentó oclusión aguda durante la implantación en un paciente con enfermedad coronaria severa de la arteria descendente anterior y pésimos lechos distales, quien requirió durante el evento agudo soporte inotrópico intravenoso y balón de contrapulsación intra-aórtico (BCIAo), lográndose la recanalización exitosa inmediata con flujo TIMI 3 y sin elevación enzimática posterior. Todos los pacientes toleraron bien el procedimiento, sin elevación enzimática significativa ni inducción de arritmias durante el procedimiento o en el monitoreo por 48 horas en la unidad de cuidados intensivos.

Implantación epicárdica

No hubo complicaciones intraoperatorias inmediatas. Un paciente diabético, dislipidémico e hipertenso presentó edema pulmonar y bajo gasto que requirió monitoreo invasivo, soporte ventilatorio y BCIAo, con respuesta al tratamiento; sin embargo falleció a los 21 días por bacteremia relacionada a catéter y choque séptico por *Pseudomona areuginosa*.

Seguimiento a seis meses

Implantación intracoronaria

Una paciente con cardiopatía dilatada severa y falla cardiaca, falleció en forma súbita a los dos meses de seguimiento por isquemia miocárdica recurrente y arritmia letal, luego de su segundo episodio de descompensación. Otro paciente se rehospitalizó por falla renal crónica secundaria a nefropatía diabética evidenciada antes del trasplante. Un paciente con enfermedad coronaria severa por infarto agudo del miocardio de pared anterior, infarto antiguo de cara inferior por oclusión de la arteria coronaria derecha, pésimos lechos vasculares y lesiones distales no revascularizables con mejoría dramática en la evaluación a los dos meses, presentó re-estenosis intra-stent que requirió implantación de stent recubierto con rapamicina y tuvo dos episodios posteriores de síndrome coronario agudo de manejo médico relacionado con su enfermedad distal, dado que en la angiografía coronaria de control, se documentó permeabilidad del stent recubierto sin re-estenosis. Otro paciente se rehospitalizó por descompensación de su falla cardiaca por suspensión del tratamiento médico, con rápida respuesta a su reiniciación sin requerir soporte inotrópico intravenoso. En el seguimiento no se han documentado episodios de arritmias ventriculares ni por clínica ni en la evaluación con monitoreo Holter a los dos y seis meses, a excepción de la paciente que falleció.

Implantación epicárdica

No se han presentado complicaciones y todos se encuentran asintomáticos cardiovasculares, sin nuevos episodios y en estado funcional I de la NYHA.

Evaluación no invasiva

Ecocardiografía

La evaluación ecocardiográfica mostró cambios importantes en la fracción de eyección y el volumen sistólico y diastólico del ventrículo izquierdo. Sin embargo, a pesar de la tendencia hacia la mejoría de las tres

variables, sólo se demostró diferencia significativamente estadística en la fracción de eyección; a los seis meses de seguimiento se documentó un aumento significativo de $29,44 \pm 3,36$ a $45,00 \pm 14,97$. La comparación de ambos datos arroja un nivel de significación estadístico ($p < 0,001$) según la prueba de rangos de Wilcoxon (Figura 1).

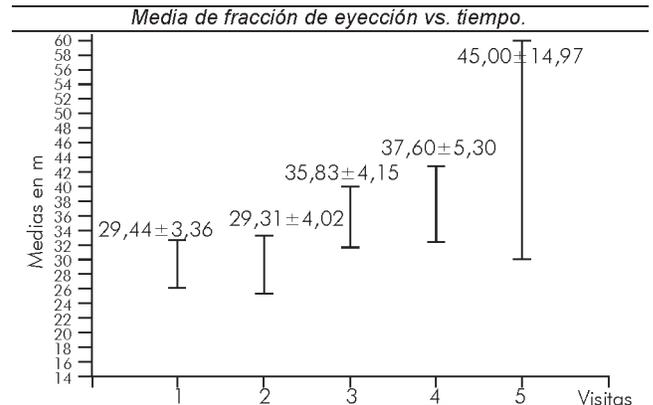


Figura 1. Cambios en la fracción de expulsión. La visita número 1 corresponde a la evaluación pretrasplante, la número 2 a los dos meses y la número 4 a los seis meses de seguimiento.

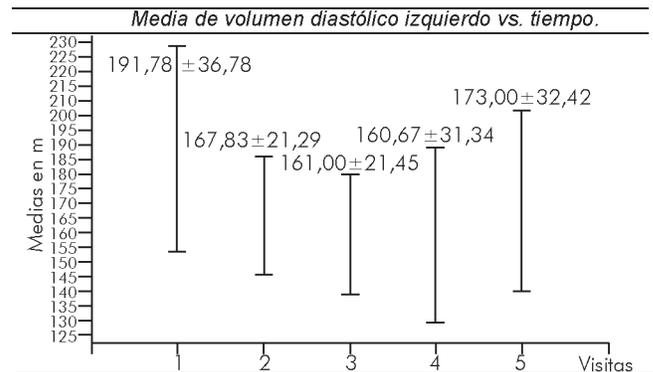


Figura 2. Cambios en la fracción de expulsión. La visita número 1 corresponde a la evaluación pretrasplante, la número 2 a los dos meses y la número 4 a los seis meses de seguimiento.

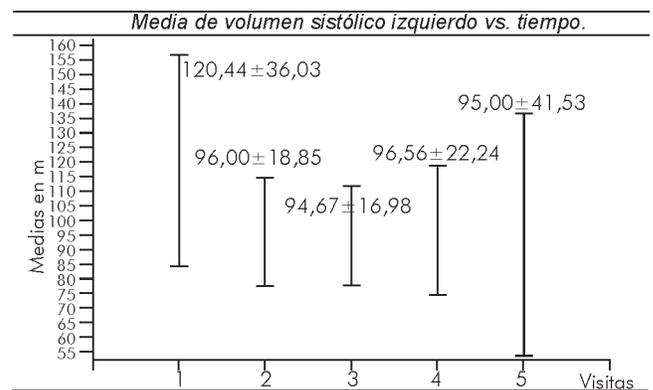


Figura 3. Cambios en el volumen diastólico final. La visita número 1 corresponde a la evaluación pretrasplante, la número 2 a los dos meses y la número 4 a los seis meses de seguimiento.

El volumen diastólico final del ventrículo izquierdo disminuyó de $191,78 \pm 36,78$ a $160,67 \pm 31,34$ mL con $p=0,31$ según la prueba de rangos de Wilcoxon (Figura 2) y el volumen sistólico final de $120,44 \pm 36,03$ a $96,56 \pm 22,24$ mL con $p=0,4$ (Figura 3) según la prueba de rangos de Wilcoxon, a los seis meses de seguimiento.

Medicina nuclear:

En las imágenes de perfusión miocárdica para viabilidad, reposo y estrés se demostró mejoría importante con respecto al basal, a los dos y seis meses. Los cambios típicos de algunos casos se muestran en las figuras 4 a 8.

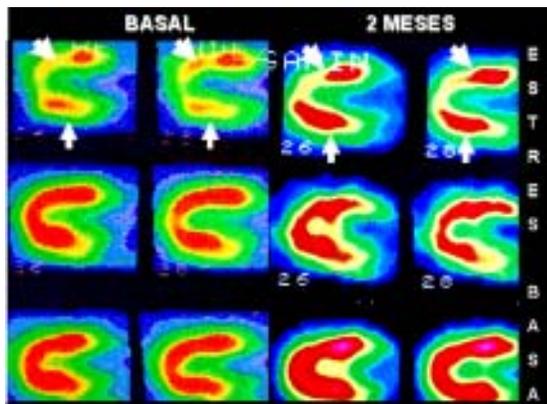


Figura 4. Perfusión miocárdica y basal y control eje largo. Cambios significativos en la perfusión miocárdica en ejercicio basal y a los dos meses de seguimiento. En el eje largo se observa inducción de isquemia miocárdica durante el ejercicio en la cara anterior e inferior a los 2 MET en el basal (flechas), con viabilidad en esas zonas. A los dos meses hay un cambio significativo en el tamaño del defecto de perfusión en ejercicio a los 10 MET, y persiste isquémico el ápex (flechas).

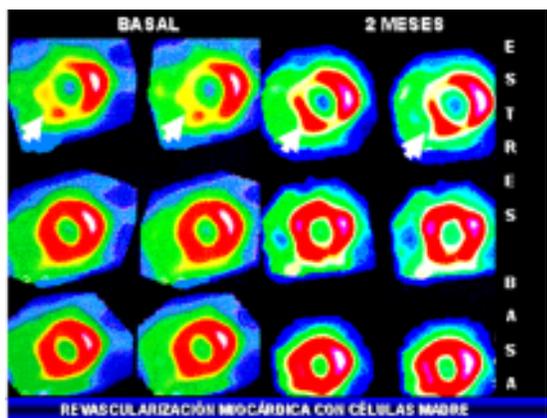


Figura 5. Perfusión miocárdica y basal y control eje corto. Cambios significativos en la perfusión miocárdica con el ejercicio, basal y a los dos meses de seguimiento. En el eje corto se observa inducción de isquemia miocárdica durante el ejercicio en la cara anterior e inferior a los 2 MET (flechas), con viabilidad en esas zonas. A los dos meses hay un cambio significativo en el tamaño del defecto de perfusión en ejercicio a los 10 MET (flechas).

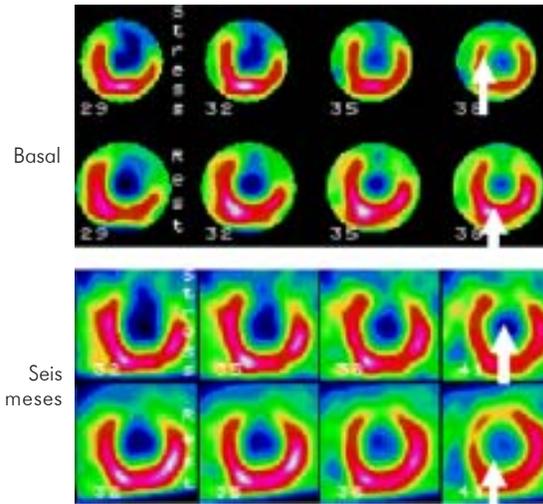


Figura 6. Cambios en la perfusión miocárdica basal y a los seis meses de seguimiento. Las flechas muestran el cambio significativo en la perfusión miocárdica, a los seis meses en un paciente con infarto traumático.

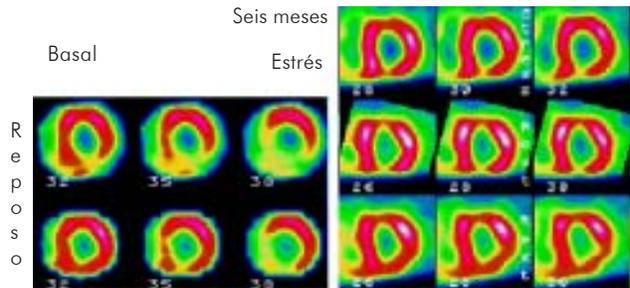


Figura 7. Cambios en el tamaño del defecto de perfusión en reposo y estrés con ejercicio con terapia celular. Paciente en estado funcional IV antes del trasplante celular, por lo cual no se muestra la perfusión con estrés en el basal. Se observa disminución del defecto de perfusión en el reposo (segunda fila) y la viabilidad (tercera fila), con una pequeña zona isquémica en la cara inferior a los siete MET.

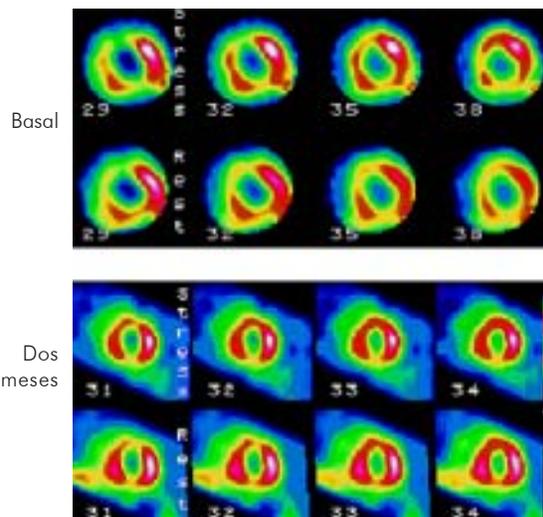


Figura 8. Cambios en la perfusión miocárdica con terapia celular y revascularización quirúrgica. Disminución del defecto de perfusión a los dos meses posteriores a la revascularización quirúrgica y a la implantación celular en las zonas necróticas.

Parámetros en rehabilitación cardiaca

La capacidad funcional medida con el protocolo de esfuerzo de Bruce modificado expresado en MET y la prueba de los seis minutos, mostró una curva de ascenso progresivo con significancia estadística a los seis meses. La mayoría de los pacientes lograron un reintegro ocupacional laboral y sexual al mes, lo cual es muy temprano según la literatura disponible. Lo anterior puede relacionarse con la rápida mejoría funcional y las medidas de reentrenamiento y estímulo funcional.

Las variables de fuerza y equilibrio mostraron una tendencia a la mejoría sin tener significancia estadística. Esto se puede explicar debido a que el programa que se aplicó se dirigió a la mejoría en el estado funcional integral más que a ganancias específicas y segmentarias de fuerza y equilibrio. Durante el entrenamiento no se presentaron complicaciones (Figuras 9 y 10).

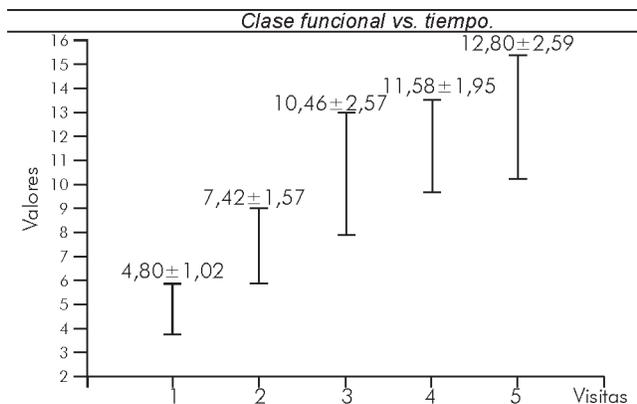


Figura 9. Cambios en el estado funcional por MET en prueba de esfuerzo. La visita número 1 corresponde a la evaluación pre-trasplante y la número 4 a la evaluación luego de seis meses de seguimiento. $p < 0,001$ según la prueba de rangos de Wilcoxon.

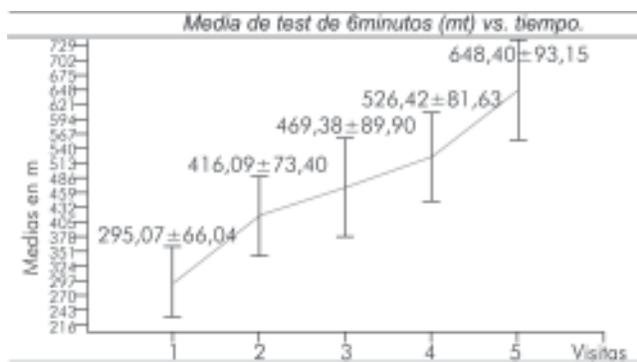


Figura 10. Cambios en el test de los seis minutos. * La visita número 1 corresponde a la evaluación pre-trasplante y la número 4 a la evaluación luego de seis meses de seguimiento. La comparación de ambos datos arroja un nivel de significación estadístico ($p < 0,001$) según la prueba de rangos de Wilcoxon. Medidas en metros alcanzados en seis minutos.

Discusión

Esta es la primera experiencia reportada con el trasplante de células progenitoras derivadas de la médula ósea asociada a la administración de factor de crecimiento granulocito y su seguimiento a seis meses pos-trasplante. El principal hallazgo de nuestro estudio es que la administración intracoronaria o epicárdica de células progenitoras derivadas de la médula ósea en cardiopatía isquémica aguda o crónica, se asocia con una mejoría significativa de la función ventricular, en pacientes con tratamiento convencional óptimo.

Estudios iniciales en animales y en humanos, demostraron un efecto benéfico del trasplante de células progenitoras derivadas de la médula ósea sobre la remodelación ventricular en el infarto agudo del miocardio y en cardiopatía isquémica crónica. Estos estudios corroboran la capacidad de las células derivadas de la médula ósea de diferenciarse en cardiomiocitos, células endoteliales y células del músculo liso vascular (3, 5, 6), y en humanos se demuestra la factibilidad y seguridad para regeneración de cardiomiocitos y revascularización (7-11).

En pacientes con infarto agudo del miocardio con elevación del segmento ST, la función sistólica y el metabolismo disminuyen luego de unos pocos latidos después de la interrupción súbita de la perfusión miocárdica (13) y el daño irreversible del cardiomiocito comienza 15 a 20 minutos luego de la oclusión arterial coronaria, siendo el subendocardio la zona más vulnerable dados sus altos requerimientos metabólicos (14). El tamaño del infarto depende de la duración y la severidad del defecto de perfusión, pero también es modulado por la presencia de circulación colateral, medicamentos y preconditionamiento isquémico (15, 16). A pesar de la reperfusión, luego del daño se produce, en grado variable, un proceso de cicatrización y remodelación que lleva a mayor dilatación ventricular y reducción de la función sistólica en semanas a meses después del evento inicial (17). Nuestros resultados sugieren que el tratamiento combinado convencional, el cual incluye terapia de reperfusión miocárdica con angioplastia más la implantación del *stent*, y el trasplante autólogo de células progenitoras por vía intracoronaria en el periodo inmediato post-infarto, puede mejorar la recuperación de la función ventricular izquierda en pacientes con disfunción sistólica importante y necrosis extensa post-infarto, sin ocasionar efectos secundarios serios. A pesar de carecer de grupo control, es poco probable que el aumento en la fracción de eyección y la disminución de los volúmenes sistólico y

diastólico, pueda atribuirse a la perfusión primaria, si se tiene en cuenta que se demostró ausencia de viabilidad miocárdica en la zona comprometida. La disminución de la fracción de eyección persiste como predictor de riesgo en el infarto agudo del miocardio. Adicionalmente, a mayor deterioro de la función ventricular mayor posibilidad de desarrollar falla cardiaca, por lo que el efecto puede ser particularmente importante en pacientes con infarto extenso como se demostró en el estudio REPAIR-AMI (82). El tiempo de implantación post-infarto puede ser crucial y se obtienen beneficios si se realiza luego del quinto día, aunque puede haber pobres resultados antes de ese tiempo (82, 83), posiblemente por la administración de células mononucleares en un medio inflamatorio. Existe controversia en cuanto al límite superior de tiempo en el cual es posible la migración y «anidación» de las células progenitoras; algunos estudios lo definen en tres meses y otros en menor tiempo (84, 85).

En pacientes con cardiopatía isquémica crónica y disfunción ventricular izquierda importante, definida por una fracción de eyección menor del 40%, en estado funcional III ó IV/IV de la NYHA refractaria al tratamiento convencional, el trasplante de células progenitoras derivadas de la médula ósea mejora la capacidad funcional, lo cual se evidencia por mejorías en el tiempo de ejercicio, el test de los seis minutos y en los MET logrados en la prueba de esfuerzo. Esto, indudablemente, impacta de manera favorable la calidad de vida y el reintegro a la vida familiar, social y laboral de estos pacientes. La mayoría de ellos logró un reintegro ocupacional laboral y sexual al mes, lo cual es muy temprano según la literatura disponible. Lo anterior puede relacionarse con la rápida mejoría funcional y las medidas de reentrenamiento y estímulo funcional. Estos hallazgos son diferentes a los que se observaron durante el entrenamiento de los pacientes con enfermedad coronaria y aquellos con falla cardiaca (86). En los primeros se logra un ascenso máximo que llega a la meseta a los dos meses, y en los segundos se presenta un ascenso lento hasta los seis meses pero con menores ganancias funcionales que las que se observan en este grupo de pacientes. Las variables de fuerza y equilibrio mostraron una tendencia a la mejoría sin tener significancia estadística. Esto puede explicarse debido a que el programa aplicado se dirigió a la mejoría en el estado funcional integral más que a ganancias específicas y segmentarias de fuerza y equilibrio. De la misma manera que en los pacientes agudos, en los pacientes crónicos con zonas de necrosis extensa o de miocardio hibernante, es posible obtener cambios significativos en la función ventricular y

en la perfusión miocárdica, lo cual se evidencia por medio de medicina nuclear, como lo demuestran otros estudios (81, 87-89).

La administración de factor de crecimiento de granulocitos, permite la movilización de células progenitoras derivadas de la médula ósea y la expresión de moléculas de adhesión vascular (datos no publicados) y su utilización en cardiopatía isquémica contribuye a preservar la función ventricular sin aumentar la tasa de re-estenosis u otros efectos adversos importantes (90).

Limitaciones del estudio

El diseño metodológico como un estudio de «antes y después» puede introducir algunos sesgos por la utilización del mismo paciente como su control o por la carencia de grupo placebo y el análisis no enmascarado (ciego) de los desenlaces finales. Sin embargo, es poco probable que los resultados puedan atribuirse al curso impredecible de la enfermedad dado que los cambios en la fracción de eyección y los volúmenes ventriculares están bien descritos en el periodo post-infarto y no corresponden a lo reportado, incluso en los pacientes con revascularizaciones tardías (91). De la misma manera, es poco probable que los cambios que se observan en la perfusión miocárdica puedan atribuirse a un efecto placebo o al efecto Hawthorne (92).

Métodos paraclínicos como la ecocardiografía utilizada para la estimación de los volúmenes ventriculares y la medicina nuclear empleada para establecer la presencia de viabilidad e isquemia miocárdica, pueden ser discretamente inferiores a la utilización de resonancia magnética nuclear o tomografía por emisión de positrones, respectivamente. No obstante, desde el punto de vista clínico son los más utilizados, de más fácil acceso y han sido implementados en diversos estudios clínicos como referencia (93, 94).

Con la base experimental disponible no está claro ni el tipo celular ideal para la implantación ni la vía apropiada, aunque esto no ha impedido el desarrollo de numerosos estudios clínicos, cuya utilización en una población celular heterogénea ha permitido reproducir los mismos resultados en la mayoría de los estudios, a excepción de uno (95).

La inclusión de un número relativamente pequeño de pacientes en dos fases diferentes de la enfermedad, impide un análisis estadístico más riguroso.

Conclusión

A pesar del debate que se generó por la introducción precoz del procedimiento en el ámbito clínico en estudios en humanos, en el tratamiento de pacientes con infarto agudo de miocardio y en cardiopatía isquémica crónica, es evidente que el trasplante de células madre derivadas de la médula ósea asociado a la administración de factor de crecimiento de granulocitos, altera el proceso de remodelación ventricular en forma favorable, es seguro y sus resultados son reproducibles.

Bibliografía

- Senior JM. Prevención secundaria en enfermedad coronaria. En: Actualización en medicina interna 2002. Tobón LI ed. Medellín: Editorial Universidad de Antioquia; 2002. p. 31-42.
- Yusuf S, Reddy S, Ounpuu S, Anand S. Global burden of cardiovascular diseases. Part I: General considerations, the epidemiologic transition, risk factors, and impact of urbanization. *Circulation* 2001; 104: 2746-2753.
- Cubillos-Garzón LA, Casa JP, Morillo C et al. Congestive heart failure in Latin America: the next epidemic. *Am Heart J* 2004; 147: 412-7.
- Laham RJ, Oettgen. Bone marrow transplantation for the heart: fact or fiction? *Lancet* 2003; 361: 11.
- Laham RJ, Simons M, Sellke F. Gene transfer for angiogenesis in coronary artery disease. *Annu Rev Med* 2001; 52: 485-502.
- Kirklín JK, Young JB, McGiffin D. Recipient evaluation and selection. En: Kirklín JB, Young JB, McGiffin DC eds. *Heart Transplantation*. New York: Churchill Livingstone; 2002. p. 198-231.
- Soonpa MH, Kim KK, Pajak L, Franklin M, Field LJ. Cardiomyocyte DNA synthesis and binucleation during murine development. *Am J Physiol* 1996; 271: H2183-H2189.
- Israels ED, Israels LG. The cell cycle. *Stem Cells* 2001; 19: 88-91.
- Gupta PK. Key regulators of the cell cycle: 2001 Nobel Prize for Physiology of Medicine. *Current Science* 2001; 81: 1280-1287.
- Beltrami AP, Urbaneck K, Kajstura J et al. Evidence that human cardiac myocytes divide alter myocardial infarction. *N Engl J Med* 2001; 344: 1750-1757.
- Anversa P, Leri A. Myocardial regeneration. En: Braunwald's Heart Disease. A textbook of cardiovascular medicine. 7th edition. Zipes DP, Libby P, Bonow RO, Braunwald E eds. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2005. p. 1911-1924.
- Quani F, Urbaneck K, Beltrami AP et al. Chimerism of the transplanted heart. *N Engl J Med* 2002; 346: 5-15.
- Schwarz Y, Kornowski R. Progenitor and embryonic stem cell transplantation for myocardial angiogenesis and functional restoration. *Eur Heart J* 2003; 24: 404-411.
- Hochedlinger K, Jaenisch R. Nuclear transplantation, embryonic stem cells, and the potential for cell therapy. *N Engl J Med* 2003; 349: 275-86.
- Weissman IL. Stem cells: units of development, units of regeneration, and units in evolution. *Cell* 2000; 100: 157-168.
- Korbling M, Estrov Z. Adult stem cells for tissue repair—a new therapeutic concept? *N Engl J Med* 2003; 349: 570-582.
- Chachques JC, Acar C, Herreros J. Cellular cardiomyoplasty: clinical application. *Ann Thorac Surg* 2004; 77: 1121-1130.
- Wollert KC, Drexler H. Clinical applications of stem cells for the heart. *Circ Res* 2005; 96: 151-163.
- Grounds MD, White J, Rosenthal N, Bogoyevitch MA. The role of stem cells in skeletal and cardiac muscle repair. *J Histochem Cytochem* 2002; 50: 589-610.
- Chen JCJ, Goldhamer DJ. Skeletal muscle stem cells. *Reproduct Biol Endocrinol* 2003; 1: 101.
- Chachques JC, Cattadori B, Herreros J et al. Treatment of heart failure with autologous skeletal myoblasts. *Herz* 2002; 27: 570-578.
- Haider HKH, Ashraf M. Bone marrow stem cell transplantation for cardiac repair. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005; H2557-H2567.
- Herzog EL, Chai L, Krause DS. Plasticity of marrow-derived stem cells. *Blood* 2003; 102: 3483-3493.
- Nakauchi H. Haematopoietic stem cells: are they CD34-positive or CD34-negative? *Nat Med* 1998; 4: 1009-1010.
- Haider HKH, Ashraf M. Bone marrow stem cells in the infarcted heart. *Coron Artery Dis* 2005; 16: 99-103.
- Sato T, Laver JH, Ogawa M. Reversible expression of CD34 by murine haematopoietic stem cells. *Blood* 1999; 94: 2548-2554.
- Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999; 284: 143-147.
- Kim DK, Fujiki Y, Fukushima T et al. Comparison of hematopoietic activities of human bone marrow and umbilical cord blood CD 34 positive and negative cells. *Stem Cells* 1999; 286-294.
- Bianco P, Riminucci M, Gronthos S, Robey PG. Bone marrow stem cells: nature, biology, and potential applications. *Stem Cells* 2001; 19: 180-192.
- Jiang Y, Vaessen B, Lenvik T et al. Multipotent progenitor cells can be isolated from postnatal murine bone marrow, muscle, and brain. *Exp Hematol* 2002; 30: 896-904.
- Rafii S, Lyden D. Therapeutic stem and progenitor cell transplantation for organ vascularization and regeneration. *Nat Med* 2003; 9: 702-712.
- Kumar D, Kamp TJ, LeWinter MM. Embryonic stem cells: differentiation into cardiomyocytes and potential for heart repair and regeneration. *Coron Artery Dis* 2005; 16: 111-116.
- Oh H, Bradfutes S, Gallardo T et al. Cardiac progenitor cells from adult myocardium: Homing, differentiation, and fusion after infarction. *Proc Natl Acad Sci* 2003; 100: 12313-12318.
- Senior JM, Velásquez O, Cuéllar F et al. Trasplante de células progenitoras derivadas de la médula ósea por vía intracoronaria, movilizadas con factor de crecimiento granulocito-macrófago. *Rev Col Cardiol* 2004; 11: 213-218.
- Barbash IM, Chouraki P, Baron J et al. Systemic delivery of bone marrow derived mesenchymal stem cells of the infarcted myocardium: feasibility, cell migration, and body distribution. *Circulation* 2003; 108: 863-868.
- Orlic D, Aria AE. Stem cells for myocardial regeneration. *Circ Res* 2002; 91: 1092-1102.
- Smits AM, Van Vliet P, Hassink RJ et al. The role of stem cells in cardiac regeneration. *J Cell Mol Med* 2005; 9: 25-36.
- Kang HJ, Kim HS, Zhang SY et al. Effects of intracoronary infusion of peripheral blood stem-cells with granulocyte-colony stimulating factor on left ventricular systolic function and reestenosis after coronary stenting in myocardial infarction: the MAGIC cell randomized clinical trial. *Lancet online March 2, 2004*. Disponible en: <http://image.thelancet.com/extras/04art1325web.pdf>.
- Velásquez O, Senior JM, Cuéllar F et al. Angiogénesis en cardiopatía isquémica crónica con trasplante autólogo de la médula ósea, por vía intracoronaria movilizadas con factor de crecimiento de colonias de granulocito-macrófago. *Rev Col Cardiol* 2005; 12: 80-84.
- Filip S, English D, Mokry J. Issues in stem cell plasticity. *J Cell Mol Med* 2004; 8: 572-577.
- Arai AE, Pantely GA, Thoma WJ, Anselone CG, Bristow JD. Energy metabolism and contractile function after 15 beats of moderate myocardial ischemia. *Circ Res* 1992; 70: 1137-1145.
- Reimer KA, Lowe JE, Rasmussen MM, Jennings RB. The wavefront phenomenon of ischemic cell death, 1: myocardial infarct size vs duration of coronary occlusion in dogs. *Circulation* 1997; 56: 786-794.
- Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986; 74: 1124-1136.
- Pfeffer MA. Left ventricular remodelling after acute myocardial infarction. *Ann Rev Med* 1995; 46: 455-466.
- Von Harsdorf R, Poole-Wilson P, Dietz R. Regenerative capacity of the myocardium for treatment of heart failure. *Lancet* 2004; 363: 1306-1313.
- Li RK, Jia ZQ, Weisel RD et al. Cardiomyocyte transplantation improves heart function. *Ann Thorac Surg* 1996; 62: 654-60.
- Scorsin M, Hagege A, Marotte F et al. Does transplantation of cardiomyocytes improve function of infarcted myocardium? *Circulation* 1997; 96 (Suppl 2): 188-93.
- Taylor DA, Atkins BZ, Hungspreugs P et al. Regenerating functional myocardium: improved performance after skeletal myoblast transplantation. *Nat Med* 1998; 4: 929-33.
- Atkins BZ, Hume MT, Meuchel J et al. Cellular cardiomyoplasty improves diastolic properties of injured heart. *J Surg Res* 1999; 85: 234-42.

50. Li RK, Jia ZQ, Weisel RD et al. Smooth muscle cell transplantation into myocardial scar tissue improves heart function. *J Moll Cell Cardiol* 1999; 31: 513-22.
51. Sakai T, Li RK, Weisel RD et al. Autologous heart cell transplantation improves cardiac function after myocardial injury. *Ann Thorac Surg* 1999; 68: 2074-80.
52. Pouzet B, Vilquin JT, Hagege AA et al. Intramyocardial transplantation of autologous myoblasts: can tissue processing be optimized? *Circulation* 2000; 102 (Suppl 3): 210-5.
53. Elzion S, Battler A, Barbash IM et al. Influence of embryonic cardiomyocyte transplantation on the progression of heart failure in a rat model of extensive myocardial infarction. *J Moll Cell Cardiol* 2001; 33: 1321-30.
54. Jain M, DerSimonian H, Brenner DA et al. Cell therapy attenuates deleterious ventricular remodeling and improves cardiac performance after myocardial infarction. *Circulation* 2001; 103: 1920-7.
55. Pouzet B, Vilquin JT, Hagege AA et al. Factors affecting functional outcome after autologous skeletal myoblast transplantation. *Ann Thorac Surg* 2001; 71: 844-51.
56. Suzuki K, Matura B, Smolenski RT et al. Cell transplantation for the treatment of acute myocardial infarction using vascular endothelial growth factor expressing skeletal myoblasts. *Circulation* 2001; 104 (Suppl 1): 207-12.
57. Roell W, Lu ZJ, Bloch W et al. Cellular cardiomyoplasty improves survival after myocardial injury. *Circulation* 2002; 105: 2435-41.
58. Li RK, Weisel RD, Mickle RD et al. Autologous porcine heart cell transplantation improved heart function after myocardial infarction. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000; 119: 62-8.
59. Muller-Ehmsen J, Peterson KL, Kedes L et al. Rebuilding a damaged heart: long-term survival of transplanted neonatal rat cardiomyocytes after myocardial infarction and effect on cardiac function. *Circulation* 2002; 105: 1720-6.
60. Rajnoch C, Chachques JC, Berrebi A et al. Cellular therapy reverses myocardial dysfunction. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2001; 121: 871-8.
61. Tomita S, Li RK, Weisel et al. Autologous transplantation of bone marrow cells improves damaged heart function. *Circulation* 1999; 100 (Suppl 2): 247-56.
62. Kocher AA, Schuster MD, Szabolcs et al. Neovascularization of ischemic myocardium by human bone marrow-derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function. *Nat Med* 2001; 7: 430-6.
63. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 2001; 410: 701-5.
64. Fuchs S, Baffour R, Zhou YF et al. Transendocardial delivery of autologous bone marrow enhances collateral perfusion and regional function in pigs with chronic experimental myocardial ischemia. *J Am Coll Cardiol* 2001; 37: 1726-32.
65. Kamihata H, Matsubara H, Nishiue T et al. Implantation of bone marrow mononuclear cells into ischemic myocardium enhances collateral perfusion and regional function via side supply of angioblasts, angiogenic ligands, and cytokines. *Circulation* 2001; 104: 1046-52.
66. Tomita S, Mickle DAG, Weisel RD et al. Improved heart function with myogenesis and angiogenesis following autologous porcine bone marrow stromal cell transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002; 123: 1132-40.
67. Chachques JC. Cardiomioplastia celular: estado actual y experiencia personal. *Memorias del Primer Congreso Internacional de Enfermedades Cardiovasculares. Hospital Universitario San Vicente de Paúl, Santa Marta, Colombia; 2004.*
68. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 10344-9.
69. Strauer BE, Brehm M, Zeus T et al. Intracoronary, human autologous stem cell transplantation for myocardial regeneration following myocardial infarction. *Dtsch Med Wechenschr* 2001; 126: 932-38.
70. Strauer BE, Brehm M, Zeus T et al. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation. *Circulation* 2002; 106: 1913-18.
71. Assmus B, Schachinger V, Teupe C et al. Transplantation of progenitors cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI). *Circulation* 2002; 106: 3009-3017.
72. Dober N, Britten M, Assmus B et al. Transplantation of progenitor cells after reperfused acute myocardial infarction: evaluation of perfusion and myocardial viability with FDG-PET and thallium SPECT. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2004; 31: 1146-1151.
73. Schachinger V, Assmus B, Britten M, et al. Transplantation of progenitors cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction. Final one-year results of TOPCARE AMI trial. *Early release. J Am Coll Cardiol* 2004; 44..
74. Wollert KC, Meyer GP, Lotz J et al. Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomized controlled trial. *Lancet* 2004; 364: 141-8.
75. Fernandez-Viña R, Vrsalovic F, Andrin O et al. Reparación de infarto del miocardio con implante intracoronario de células madre (stem cells). Mejoría precoz de la función ventricular y la isquemia (primeros informes del estudio TECELCOR). *Rev Col Cardiol* 2004; 11: 141-149.
76. Tse HF, Kwong YL, Chan J et al. Angiogenesis in ischemic myocardium by intramyocardial autologous bone marrow mononuclear cell implantation. *Lancet* 2003; 361: 47-49.
77. Perin E, Dohmann H, Borojevic R et al. Transendocardial, autologous bone marrow cell Transplantation for severe, chronic ischemic heart failure. *Circulation* 2003; 107: 2294-2302.
78. Stamm C, Westphal B, Keene HD et al. Autologous bone marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration. *Lancet* 2003; 361: 45-46.
79. Mohanty S, Kumar L, Venugopal P et al. Autologous bone marrow (BM) stem cell transplantation into infarcted myocardium -A pilot study. *J Clin Oncol ASCO Meeting abstracts* 2004; 22: 599.
80. Ozbaran M, Omay S, Nalbantgil S et al. Autologous peripheral stem cell transplantation in patients with congestive heart failure due to ischemic heart disease. *Sur J Cardiothoracic Surg* 2004; 25: 342-350.
81. Patel A, Viña R, Geffner L et al. Surgical treatment for congestive heart failure with autologous adult stem cell transplantation: a prospective randomized study. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2005; 130: 1631-8.
82. Schachinger V, Erbs S, Elsasser A et al. For the REPAIR-AMI investigators. Intracoronary bone marrow derived progenitor cells in acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2006; 355: 1210-1221.
83. 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, randomised trial. *Lancet* 2006; 367: 113-121.
84. Assmus B, Honold J, Schachinger V et al. For the TOCARE-CHD investigators. Transcoronary transplantation of progenitor cells after myocardial infarction. *N Engl J Med* 2006; 355: 1222-32.
85. Kang HJ, Lee HY, Na SH et al. For the MAGIC Cell-3-DES investigators. Differential effect of intracoronary infusion of mobilized peripheral blood stem cells by granulocyte colony-stimulating factor on left ventricular function and remodelling in patients with acute myocardial infarction versus old myocardial infarction. *Circulation* 2006; 114 (suppl 1): 145-151.
86. Giraldo A, Senior JM, Jaramillo CJ. Manejo Integral de los pacientes con falla cardíaca: experiencia de una clínica de falla cardíaca. *Rev Col Cardiol* 2001; 9: 201.
87. Beeres S, Bax JJ, Dibbets-Schnider P et al. Sustained effect of autologous bone marrow mononuclear cell injection in patients with refractory angina pectoris and chronic myocardial ischemia: twelve-month follow-up. *Am Heart J* 2006; 152: 684.e11-684.e16.
88. Gao LR, Wang ZG, Zhu ZM et al. Effect of intracoronary transplantation of autologous bone marrow derived mononuclear cells on outcomes of patients with refractory chronic heart failure secondary to ischemic cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 2006; 98: 597-602.
89. Fuchs S, Kornowski R, Weisz G et al. Safety and feasibility of transendocardial autologous bone marrow cell transplantation in patients with advanced heart disease. *Am J Cardiol* 2006; 97: 823-829.
90. Ince H, Petsch M, Dieter Klein H et al for the FIRSTLINE-AMI investigators. Preservation from left ventricular remodelling by front integrated revascularization and stem cell liberation in evolving acute myocardial infarction by use of granulocyte colony stimulating factor. *Circulation* 2005; 112: 3097-3106.
91. Hochman JS, Lamas GL, Buller CE et al. For the OAT investigators. Coronary intervention for persistent occlusion after myocardial infarction. *N Engl J Med* 2006; 355 (23): 2395-2407.
92. Fletcher R, Fletcher S. *Treatment. En: Clinical Epidemiology. Fletcher R, Fletcher Seds. 4th Edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005. p. 125-146.*
93. Zhan-quan L, Ming Z, Yuan-zhe J et al. The clinical study of autologous peripheral blood stem cell transplantation by intracoronary infusion in patients with acute myocardial infarction. *Int J Cardiol. Epub ahead of print.*
94. Steinwebber C, Hofman R, Kammler J et al. Effects of peripheral blood stem cell mobilization with granulocyte colony stimulating factor and their transcronary transplantation after primary stent implantation for acute myocardial infarction. *Am Heart J* 2006; 151: 1296.e7-1296.e13.
95. Lunde K, Solheim S, Aakus S et al. For the ASTAMI investigators. Intracoronary injection of mononuclear bone marrow cells in acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2006; 355: 1199-209.