



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**CENTRO MEDICO NACIONAL 20 DE NOVIEMBRE**

**ISSSTE**

**TITULO**

**Cuantificación de sub poblaciones celulares de medula ósea en sangre periférica de  
pacientes con infarto agudo al miocardio**

**TESIS PARA TITULACIÓN DE LA ESPECIALIDAD EN CARDIOLOGÍA**

**PRESENTA**

**Dr. Israel Alexis Gómez Anaya**

**TUTOR**

**Dr. José Luis Aceves Chimal**

**MEXICO D.F. 2014**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DRA. AURA A. ERAZO VALLE SOLIS  
SUBDIRECCION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION  
CENTRO MÉDICO NACIONAL 20 DE NOVIEMBRE

2

DR. ENRIQUE GÓMEZ ALVAREZ  
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE CARDIOLOGIA

DR. JOSE LUIS ACEVES CHIMAL  
ASESOR DE TESIS

DR. ISRAEL ALEXIS GÓMEZ ANAYA  
MÉDICO RESIDENTE

## ÍNDICE

<b>RESUMEN</b> .....	4
<b>ABSTRACT</b> .....	5
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	6
FISIOPATOLOGIA DE LA ISQUEMIA E INFARTO AL MIOCARDIO.....	6
BIOQUIMICA DE LA ISQUEMIA E INFARTO AL MIOCARDIO .....	7
CELULAS DE MEDULA OSEA EN ISQUEMIA E INFARTO AGUDO AL MIOCARDIO.....	8
CELULAS DE MEDULA OSEA EN PERSONAS SANAS.....	8
<b>PROBLEMA</b> .....	9
<b>JUSTIFICACIÓN</b> .....	9
<b>HIPÓTESIS</b> .....	10
<b>OBJETIVOS</b> .....	10
<b>DISEÑO</b> .....	10
<b>POBLACION</b> .....	11
<b>DEFINICION DE VARIABLES</b> .....	12
<b>MATERIAL Y METODO</b> .....	12
<b>ANÁLISIS ESTADÍSTICO</b> .....	13
<b>RESULTADOS</b> .....	13
<b>DISCUSIÓN</b> .....	14
<b>CONCLUSIONES</b> .....	15
<b>BIBLIOGRAFIA</b> .....	16

## RESUMEN

Después de un infarto al miocardio se reduce la función ventricular como consecuencia de la muerte celular. Algunos estudios informan sobre la utilidad de células de médula ósea en la reducción del tejido necrosado y sobre la mejoría de la función ventricular, pero con variaciones en esta mejoría, que podría obedecer a la cantidad y subpoblaciones celulares utilizadas en la terapia celular.

**Objetivo:** Determinar la cantidad y tipos subpoblaciones celulares de médula ósea en sangre periférica de pacientes con infarto agudo al miocardio.

**Material y Método:** Incluimos pacientes con infarto agudo al miocardio y angina de pecho aguda, atendidos en la Unidad de Cuidados Coronarios del CMN 20 de Noviembre. A todos se les realizó historia clínica completa incluyendo exámenes de laboratorio (Biometría hemática, química sanguínea, pruebas de función hepática, tiempos de coagulación), electrocardiograma y telerradiografía de tórax. Se tomó muestra de sangre venosa (10 ml) durante las primeras 12 horas del evento cardíaco y se cuantificó la celularidad de subpoblaciones celulares de médula ósea mediante anticuerpos específicos humanos anti CD 34+, CD117, CD48, CD73 y CXCR4 (Beckman Coulter, Embioscience, DAKO, Serotec) con citómetro de flujo Bencton Dickinson 4 canales. Utilizamos el programa estadístico SPSS 21.0 para Windows y consideramos significancia estadística con  $p < 0.05$

**Resultados:** Incluimos 50 pacientes (Masculino 73% y 27% femenino) con angina de pecho aguda (n=25) e Infarto Agudo al Miocardio (n= 25) pacientes. No se observaron diferencias en los factores de riesgo para enfermedad coronaria entre los grupos de estudio. La elevación de las enzimas cardíacas fue significativamente mayor en los pacientes con Infarto Agudo al Miocardio ( $p < 0.001$ ) así como las subpoblaciones celulares de médula ósea movilizadas hacia sangre periférica (CD73, CXCR4, CD117 y CD34) ( $p < 0.001$ ).

### Conclusión

- Durante un evento de infarto agudo al miocardio existe una mayor movilización de células troncales de médula ósea con potencial regenerativo hacia la sangre periférica.
- La cantidad de subpoblaciones celulares de médula ósea que se movilizan a sangre periférica son significativamente diferentes en pacientes con infarto agudo al miocardio y con angina de pecho aguda.

## ABSTRACT

After a myocardial infarction the ventricular function is reduced as a result of cell death. Some studies report on the usefulness of bone marrow cells in necrotic tissue reduction and improvement in ventricular function, but with variations in this improvement, which could be due to the quantity and subpopulations of cells used in cell therapy.

**Target:** Determine the amount and type of bone marrow cell subpopulations in peripheral blood of patients with acute myocardial infarction.

**Material and Methods:** We included patients with acute myocardial infarction and acute angina pectoris attack, treated in the Coronary Care Unit CMN 20 de Noviembre. All subjects underwent a full medical history including laboratory tests ( blood count , blood chemistry , liver function tests , coagulation times ) , electrocardiogram and chest X-ray . Venous blood sample (10 ml ) was noted during the first 12 hours of cardiac event and cellularity of cell subpopulations of bone marrow was quantified by specific human antibodies to CD 34 + , CD117 , CD48 , CD73 and CXCR4 (Beckman Coulter, Embioscience , DAKO, Serotec ) with flow cytometer Bencton Dickinson 4 channels. We used SPSS 21.0 for Windows and consider statistical significance with  $p < 0.05$ .

**Results:** We included 50 patients ( 73 % male and 27 % female ) with acute angina pectoris (  $n = 25$  ) and Acute Infarction (  $n = 25$  ) patients . No differences in risk factors for coronary heart disease among the study groups were observed. The elevation of cardiac enzymes was significantly higher in patients with Acute Myocardial Infarction (  $p < 0.001$  ) as well as bone marrow cell subpopulations mobilized into peripheral blood ( CD73 , CXCR4 , CD117 and CD34 ) (  $p < 0.001$  ) .

### Conclusion:

- During an event of acute myocardial infarction there is an increased mobilization of bone marrow stem cells with regenerative potential into the peripheral blood.
- The amount of bone marrow cell subpopulations that are mobilized into peripheral blood are significantly different in patients with acute myocardial infarction and acute angina pectoris.

## INTRODUCCIÓN

Entre las enfermedades del corazón, el infarto agudo al miocardio es la principal causa de morbilidad y mortalidad registrada en los servicios de salud.<sup>1-3</sup> Las principales determinantes del aporte de oxígeno al miocardio son la presión diastólica de la aorta, resistencia vascular coronaria y duración de la diástole; mientras que la demanda de oxígeno, está dada por la frecuencia cardíaca, tensión mural, precarga y postcarga. La isquemia introduce cambios importantes en la actividad eléctrica y la contracción de las células cardíacas, la cual se traduce en dolor denominado Angina de Pecho (AP) y falla cardíaca. Cuando la isquemia aguda es prolongada y severa se produce muerte celular conocida como infarto al miocardio.<sup>4</sup>

El ejercicio físico intenso y el estrés emocional son factores precipitantes del infarto, el cual incrementa la demanda de oxígeno por el miocardio. Estos factores de estrés suelen conjuntarse con una enfermedad subyacente conocida como arterioesclerosis, la cual condiciona estrechamientos en las arterias coronarias que exacerban la reducción del flujo sanguíneo al tejido miocárdico precipitando así la isquemia aguda e infarto.<sup>5</sup>

Durante y después de eventos de isquemia aguda del miocardio se desencadenan mecanismos fisiopatológicos que involucran procesos inflamatorios e inmunológicos, a través de los cuales se produce reclutamiento de diferentes componentes celulares que intervienen en la formación de nuevos vasos sanguíneos (Angiogénesis), adaptación de las células endoteliales y de los cardiomiocitos a la hipoxia. Cuando el desequilibrio agudo entre la oferta y demanda de oxígeno tisular supera los mecanismos compensadores, se produce muerte celular e infarto, desencadenando un proceso inflamatorio agudo que condiciona nuevamente reclutamiento de células modeladoras que limitan el daño tisular.<sup>5</sup>

### **FISIOPATOLOGIA DE LA ISQUEMIA AGUDA E INFARTO AL MIOCARDIO**

En los mamíferos, el proceso fisiopatológico de la isquemia e infarto agudo al miocardio inicia con la disminución súbita del flujo sanguíneo y de oxígeno al tejido miocárdico, ocasionando aturdimiento o muerte de células cardíacas. Este proceso de necrosis celular desencadena una serie de eventos que incluyen una respuesta inflamatoria local de fase aguda que tiende a generalizarse, con acumulación de polimorfonucleares y macrófagos en el lugar de la lesión miocárdica, con una activación de los reactantes plasmáticos de fase aguda, proteína C reactiva y citocinas pro- y anti-inflamatorias.<sup>6-8</sup>

Normalmente los cardiomiocitos constituyen el 30% de la masa muscular cardíaca y el 70% restante es matriz extracelular, conformada por fibroblastos, células endocárdicas, epicárdicas y endoteliales.<sup>9</sup> El colágeno es el componente mayor de la matriz extracelular del corazón, otorga soporte para la alineación a los cardiomiocitos y los vasos sanguíneos, preserva la arquitectura, evita el sobre-estiramiento de las células miocíticas y proporciona una base para la elasticidad diastólica.<sup>9,10</sup> El colágeno tipo I (30%) tiene a su cargo el soporte estructural y el alineamiento espacial de los cardiomiocitos, mientras que el colágeno tipo III (70%) desempeña su papel en el acortamiento del miocito interrelacionado con la función ventricular expulsiva. Después de un infarto, el colágeno tipo I se incrementa desde el 30 al 70%, mientras

que el colágeno tipo III se reduce del 70% al 35% de acuerdo a la cantidad de tejido necrosado.<sup>10</sup>

### **BIOQUIMICA DE LA ISQUEMIA E INFARTO AL MIOCARDIO**

Las interleucinas, son proteínas que funcionan como mediadores en la comunicación celular, colaboran en la regulación del crecimiento, diferenciación e incluso movilización celular, aunque sus acciones principales se pueden observar en procesos inmunológicos e inflamatorios, estas proteínas viajan a la célula blanco uniéndose a ésta por medio de receptores moleculares de superficie, desencadenando una cascada de señales que produce cambios en la función celular.<sup>1,13,14</sup>

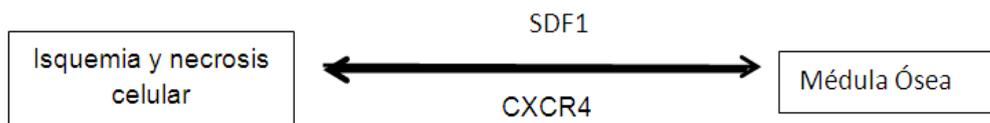
Se sabe que durante el evento isquémico agudo al miocardio, así como en el aumento de estrés mecánico del miocardio; se desencadenan eventos que conducen a una respuesta inflamatoria local de fase aguda y por lo tanto, a la liberación de factores de crecimiento e interleucinas que en su conjunto son conocidos como reactantes de fase aguda (Proteína C reactiva "PCR", IL 1, IL 6, IL7, TNF $\alpha$ , TGF $\alpha$ ). En modelos experimentales de infarto agudo al miocardio se ha reportado un aumento de hasta 50 veces en los niveles de RNAm para TNF $\alpha$ , IL-6 e IL-1  $\beta$  dentro de las primeras horas después de la isquemia en el área infartada y un aumento de hasta 15 veces en la zona del miocardio no infartado.<sup>14</sup>

El Factor de Necrosis Tumoral alfa (TNF $\alpha$ ) está involucrado en la infiltración de neutrófilos después del daño isquémico. A pesar de que no se conocen aún las vías intracelulares que median los efectos del TNF $\alpha$  en la remodelación postinfarto su participación en el proceso se ha demostrado completamente. Experimentalmente, se ha comprobado que después de producir un IAM por oclusión coronaria, el TNF $\alpha$  da lugar a reacciones que en su mayoría buscan retardar o evitar las vías apoptóticas de los cardiocitos después de la lesión.<sup>15,16</sup>

Entre las funciones de la IL-6, principalmente están: La inducción de anticuerpos, hematopoyesis, trombocitopoyesis y síntesis de proteínas de fase agudas, de la misma manera que con TNF $\alpha$  se ha probado que existe una elevación significativa de esta interleucina durante y después de un proceso isquémico del miocardio; asimismo se ha observado su elevación en otras patologías cardiovasculares, como falla cardíaca crónica y miocarditis, donde también se ha cuantificado una relación directa entre los niveles de IL-6 y la severidad de la patología, encontrando experimentalmente, que esta interleucina juega un papel muy importante como inotrópico negativo, mediado por una ruta dependiente de óxido nítrico.<sup>16</sup>

Por su parte, el Factor Transformador de Granulocitos beta (TGF-B), se encarga de estimular la quimiotaxis de macrófagos y la proliferación de fibroblastos, destacando la liberación temprana por parte de los miocitos después de un evento isquémico cardíaco, siendo trascendental en el proceso de transformación fenotípica de fibroblastos a miofibroblastos.<sup>16</sup> Ayelet A y col informan sobre la presencia de un marcador de lesión tisular conocido como Factor derivado de células Troncales (Siglas en Ingles Stem Derived Factor 1 SDF1), el cual se eleva durante la fase aguda de isquemia al miocardio, especialmente en presencia de necrosis celular.<sup>17</sup> Este marcador de lesión tisular y endotelial tiene dos funciones esenciales: Primero

actúa como estimulador a distancia de la Médula Ósea para la liberación de células troncales inmaduras a la circulación sanguínea, especialmente aquellas células del estroma medular que expresan un marcador de superficie CXCR4. En el sitio de lesión tisular y endotelial, este mismo marcador SDF1 actúa como ligando de las células troncales movilizadas a la circulación que expresan CXCR4. (Ver esquema) Simultáneamente, este marcador SDF1 también promueve la migración de mononucleares y macrófagos hacia el sitio de lesión para propiciar la eliminación de material necrosado e iniciar posteriormente la reconstitución del tejido con fibrosis a través de los fibroblastos.<sup>17</sup>



### CELULAS DE MEDULA OSEA EN ISQUEMIA E INFARTO AGUDO AL MIOCARDIO

Algunos estudios informan que en pacientes con infarto agudo al miocardio se liberan factores quimiotácticos que favorecen la movilización de células CD34 de médula ósea hacia la circulación sanguínea, como un fenómeno hipotético, de limitar el grado de lesión tisular y regenerar el tejido infartado. Por otro lado, en diferentes estudios experimentales se informa sobre la estimulación de factores de crecimiento y proteínas llamadas interleucinas, que promueven el crecimiento, diferenciación y activación celular, así como la regulación de respuestas inmune e inflamatoria, las cuales son producidas transitoriamente durante la fase aguda del infarto y remodelación subsecuente del mismo, dichos factores son producidos por subpoblaciones celulares de médula ósea, las cuales favorecen la regeneración del tejido infartado.<sup>21,22</sup>

A finales del siglo pasado, múltiples modelos animales informaron sobre la utilidad de células inmaduras en la regeneración del tejido miocárdico lesionado.<sup>18,21</sup> Estas células, denominadas células madre o troncales que conservan su capacidad de autoreplicarse y diferenciarse en diferentes tipos de tejido, han mostrado regeneración tisular y mejoría en la función contráctil del corazón infartado.<sup>22</sup>

Las células con marcador de superficie CD 34<sup>+</sup> han sido las más exploradas en diferentes ensayos clínicos y en estudios experimentales, se ha informado que las células con diferentes marcadores de superficie CD133 y CD117, están involucradas directamente con los cambios histológicos y en la mejoría de la función ventricular postinfarto.<sup>22-23</sup>

### CELULAS DE MEDULA OSEA EN PERSONAS SANAS

Nathan<sup>24</sup> informa que en personas sanas siempre hay en sangre periférica una pequeña cantidad de células mononucleares que expresan marcador de superficie CD34 (0.7%), las cuales al ser cultivadas en diferentes tipos de cultivo proliferan y se diferencian en diferentes líneas celulares. Fridestein<sup>25</sup> y col informaron en los años 60s del siglo pasado que las células del estroma de la médula ósea forman colonias de características morfológicas similares a los

fibroblastos y que al cultivarlas en diferentes tipos de cultivos, expresan el marcador de superficie CD34 y características morfológicas a mononucleares y al agregar medio de cultivo característico de un órgano específico se logra su diferenciación hacia el tipo de célula del órgano en cuestión. A partir de 1980, diferentes investigadores observaron que las células del estroma de médula ósea se encuentran en sangre periférica, hipotetizando que estas se encuentran en la circulación en forma inactiva hasta su activación en algún sitio del organismo en el cual se presenta lesión tisular para iniciar su diferenciación y regeneración del tejido dañado.

Actualmente, diferentes autores informan que las células de médula ósea tienen características genéticas con gran potencial de regeneración, iniciando la conocida ingeniería celular o ingeniería regenerativa, reconociendo que estas células podrían circular permanentemente en sangre periférica como un monitoreo constante del organismo de posibles agresiones a los órganos de la economía corporal.<sup>26-30</sup>

### **PROBLEMA**

Se sabe que después de eventos de isquemia miocárdica e infarto al miocardio se desencadenan mecanismos fisiológicos para reducir el grado de lesión tisular, liberándose factores que favorecen el reclutamiento de células que limitan el grado de lesión y algunas con potencial regenerativo.<sup>6-17</sup> En diferentes estudios experimentales se ha informado que células de médula ósea con marcadores de superficie CD34, CD117, CD133 se diferencian a células endoteliales y cardiocitos propiciando angiogénesis y regeneración tisular.<sup>22-24</sup>

Actualmente existen diversos estudios en donde se ha informado la utilidad de células de médula ósea en la reducción del tejido con necrosis celular y mejoría de la función ventricular de sujetos con infarto agudo al miocardio,<sup>31-39</sup> pero a la fecha no hemos encontrado información publicada en donde se indique la cantidad de células que se movilizan a sangre periférica en pacientes con infarto agudo al miocardio, para identificar la respuesta natural de la médula ósea durante el evento cardiaco agudo, lo cual coadyuvaría la terapia celular utilizada para la regeneración tisular.

### **JUSTIFICACIÓN**

La utilidad de las células de la médula ósea en la regeneración de tejido miocárdico lesionado y en la mejoría de la función ventricular ha sido ampliamente informada en diferentes publicaciones con modelos experimentales y en múltiples ensayos clínicos,<sup>16-40</sup> pero a la fecha no hemos encontrado información publicada en donde se indique la cantidad de células que se movilizan a sangre periférica en pacientes con infarto agudo al miocardio.

Proponemos este estudio para conocer la cantidad y tipos de las subpoblaciones celulares de médula ósea que se movilizan durante el infarto agudo al miocardio, para obtener información que sirva en la orientación y mejoría de la terapia celular en pacientes con infarto al miocardio, pues se conoce que los pacientes que sufren este tipo de cardiopatía tienen mala calidad de vida y menor sobrevida.

## HIPÓTESIS

En pacientes con infarto agudo al miocardio existe mayor movilización de subpoblaciones celulares de médula ósea hacia sangre periférica con capacidad regenerativa.

## OBJETIVOS

### GENERAL

Determinar la cantidad y tipos subpoblaciones celulares de médula ósea en sangre periférica de pacientes con infarto agudo al miocardio.

### ESPECÍFICOS

- Determinar la cantidad de subpoblaciones celulares de médula ósea en sangre periférica de pacientes con infarto agudo al miocardio.
- Determinar el tipo de subpoblaciones celulares de médula ósea en sangre periférica de pacientes con infarto agudo al miocardio

### SECUNDARIO

- Comparar la cantidad de las subpoblaciones celulares de médula ósea movilizadas en sangre periférica en pacientes con infarto agudo del miocardio y angina de pecho aguda.

## DISEÑO

### *Tamaño de la muestra*

Considerando que no encontramos información publicada sobre la cantidad de células de médula ósea que se movilizan a la circulación sanguínea durante un evento de infarto agudo al miocardio, asumiendo que la estimulación de la médula ósea por el evento de necrosis celular para la movilización de subpoblaciones celulares hacia la sangre periférica, sería similar a los pacientes que reciben estimulación de la médula ósea con Factor Estimulante de Células Granulocíticas por 5 días, calculamos el tamaño de muestra en base a las diferencias proporcionales entre estos pacientes con lo informado por Nathan en pacientes con angina de pecho aguda. Utilizamos la fórmula para diferencias en proporciones de dos grupos independientes:

P1 = Nathan<sup>24</sup> informa que la proporción de células CD34 en sujetos con angina de pecho aguda es de 0.7%

P2 = La proporción de células CD34 de pacientes que recibieron Factor estimulante de Células Granulocíticas (FEC-G) durante 5 días es de 30%.

$$n = \frac{p1(100-p1) + p2(100-p2)}{(p2-p1)^2} \int \alpha\beta$$

Para un poder de 0.80 y un error tipo I de 0.05 se requirió una población de 25 pacientes para el grupo de pacientes con infarto agudo al miocardio y 25 pacientes con angina de pecho aguda, con un total de 50 pacientes para el estudio.

## POBLACIÓN

Pacientes que cursaron con infarto agudo al miocardio y angina de pecho aguda atendidos en la unidad de cuidados intensivos coronarios del CMN 20 de Noviembre del ISSSTE.

- Grupo 1) Pacientes con infarto agudo al miocardio: Con dolor retroesternal opresivo irradiado a cuello, axila o cara interna del brazo izquierdo, elevación de enzimas CK-MB, elevación de troponina I y cambios electrocardiográficos de isquemia y/o necrosis.
- 
- Grupo 2) Pacientes con angina de pecho aguda: Con dolor retroesternal opresivo irradiado a cuello, axila o cara interna del brazo izquierdo, sin elevación de enzimas CK-MB, ni elevación de troponina I, ni cambios electrocardiográficos de isquemia y/o necrosis.

### Criterios de inclusión.

#### Grupo 1

- Pacientes adultos hombres y mujeres con Infarto Agudo al Miocardio
- Pacientes que acepten participar en el estudio firmando carta de consentimiento informado

#### Grupo 2

- Pacientes adultos hombres y mujeres con angina de pecho aguda.
- Pacientes que acepten participar en el estudio firmando carta de consentimiento informado.

### Criterios de exclusión

#### Grupo 1

- Pacientes con patología valvular de origen no isquémico.
- Pacientes post-operados de revascularización del miocárdico (Endovascular o quirúrgica)

#### Grupo 2

- Pacientes con proceso infeccioso menor a 7 días de evolución.
- Pacientes con traumatismos incapacitantes o recientes (Menor a 5 días)

### Criterios de eliminación

#### Grupo 1

- Pacientes que decidan retirarse del estudio.
- Pacientes en quienes no se obtenga el número de muestra sanguínea requerido

#### Grupo 2

- Pacientes con deseo de retirarse del estudio.
- Pacientes en quienes no se obtenga el número de muestra sanguínea requerido.

## DEFINICIÓN DE VARIABLES

### Independiente

- Infarto Agudo al Miocardio (IAM): Muerte celular del tejido miocárdico secundaria a la reducción súbita del flujo sanguíneo coronario y del aporte de oxígeno. El diagnóstico se realiza mediante el cuadro clínico, cambios electrocardiográficos, elevación de enzimas cardíacas (CK-MB y troponina I) y defectos de perfusión miocárdica en estudio de medicina nuclear.<sup>4, 5</sup> Elevación en sangre periférica de la enzima Creatinina Kinasa (CK) fracción MB (CK-MB) mayor de 1/3 de la CK total y troponina > 5 ng/ml. Cambios Electrocardiográficos de infarto al miocardio e isquemia: Elevación del segmento S-T mayor de 3 mm, ensanchamiento del QRS, bloqueo de Rama Izquierda del Haz de His, ondas Q profundas mayor de 1/3 del segmento R-S.<sup>42</sup> (Nominal presente/ausente)
- Angina de pecho aguda: Reducción aguda del flujo sanguíneo coronario que condiciona menor aporte de oxígeno al tejido miocárdico sin llegar a la muerte celular. El diagnóstico se realiza con la presencia de dolor retro-esternal irradiado a cuello, axila izquierda o brazo izquierdo en ausencia de elevación enzimática CK-MB y Troponina I, así como de hallazgos electrocardiográficos de desnivel del segmento ST mayor de 2 mm.

### Dependiente

- Subpoblaciones celulares de médula ósea en sangre periférica: cantidad de células inmaduras que conservan su capacidad de replicación y diferenciación a diferentes tipos de tejidos, identificadas por su marcador de superficie CD34, CD117 y CD133. (Cuantitativa expresada en logaritmo de 10 y en porcentaje)

### Co-variables

- Edad: Tiempo transcurrido desde el nacimiento. (Cuantitativa expresada en años).
- Sexo: Característica física que identifica a las personas como pertenecientes al sexo masculino o femenino. (Nominal)
- Peso: Cantidad de masa corporal expresada en kilogramos (Cuantitativa)
- Talla: Longitud de una persona desde la cabeza a los pies expresada en centímetros. (Cuantitativa)
- Factores de riesgo cardiovascular: Enfermedades o alteraciones fisiológicas asociadas con eventos cardiovasculares adversos. (nominal presente/ausente)
- Complicaciones: Alteraciones funcionales de otros órganos relacionados con el infarto agudo al miocardio (Falla renal, falla hepática, Edema pulmonar, etc.). (Nominal presente/ausente).

## MATERIAL Y MÉTODO

Los pacientes fueron reclutados en la Unidad de Cuidados Intensivos Coronarios, se les explicó en detalle las características del estudio y firmaron carta de consentimiento informado. En los casos en donde el paciente no se encontró en condiciones de conciencia apropiadas para tomar la decisión se solicitó el consentimiento al responsable legal.

A todos se les realizó historia clínica completa incluyendo exámenes de laboratorio (Biometría hemática, química sanguínea, pruebas de función hepática, tiempos de coagulación), electrocardiograma y telerradiografía de tórax. Se realizó ecocardiograma doppler y tisular, y

se tomó muestra de sangre venosa (10 ml) durante las primeras 12 horas del evento cardiaco. La muestra sanguínea se obtuvo mediante punción de la vena cefálica con aguja calibre 22 y jeringa de 10 ml en condiciones de esterilidad y se mantuvo en tubo seco a 4° C. por un tiempo máximo de 4 horas.

### Cuantificación de subpoblaciones celulares

Cada inmunofenotipo de subpoblaciones celulares de médula ósea se identificó mediante anticuerpos específicos humanos anti CD 34+, CD133, CD117 (Beckman Coulter, Embioscience, DAKO, Serotec) con citómetro de flujo Bencton Dickinson 4 canales.

En hoja Excel se registró el número de expediente clínico, edad, sexo, peso, talla, factores de riesgo cardiovascular, dimensiones del infarto, área de tejido ventricular infartado, número de segmentos afectados y complicaciones.

### ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Utilizamos el programa estadístico SPSS 21.0 para Windows. El análisis descriptivo se realizó con medidas de tendencia central y de dispersión. La comparación de variables cuantitativas se realizó con t de student y Chi2 para variables nominales. Consideramos significancia estadística con  $p < 0.05$ .

### RESULTADOS

Incluimos 50 pacientes (Masculino 73% y 27% femenino) con evento isquémico cardiaco agudo: Angina de pecho aguda 25 pacientes e Infarto Agudo al Miocardio 25 pacientes. No se observaron diferencias en los factores de riesgo para enfermedad coronaria entre los grupos de estudio. **Tabla 1**

La elevación de las enzimas cardiacas fue significativamente mayor en los pacientes con Infarto Agudo al Miocardio ( $p < 0.001$ ) y las subpoblaciones celulares de médula ósea movilizadas hacia sangre periférica (CD73, CXCR4, CD117 y CD34) fueron significativamente mayores en pacientes con IAM (0.001). **Tablas 2 y 3**

Tabla 1 Factores de riesgo para enfermedad coronaria

	Angina Aguda	Infarto Agudo al Miocardio	p
EDAD (años)	66±8	61±12	0.25
SEXO			
Masculino	20	18	0.91
Femenino	6	6	1.0
Hipertensión Arterial Sistémica	18	22	0.18
Diabetes Mellitus	16	8	0.10
Dislipidemia	20	10	0.08
Tabaquismo	18	4	0.01

Tabla 2 Niveles de enzimas cardiacas durante la fase aguda del evento isquémico

	Angina Aguda	Infarto Agudo al Miocardio	p
Creatinin Fosfokinasa (CK) UI/L	446±71	1290±128	0.001
CK FRACCION MB(UI/L)	69±10	160±20	0.001
TROPONINA mcg/dl	0.03±0.01	3.7±1.1	0.001

Tabla 3 Subpoblaciones celulares de médula ósea movilizadas a sangre periférica durante la fase aguda del evento isquémico cardiaco

	Angina Aguda	Infarto Agudo al Miocardio	p
CD48 %	1.6±0.3	2.2±0.5	0.50
CD73 %	6.1±4.1	56.2±12	0.001
CXCR4 %	8.6±2.4	52.1±13	0.001
CD117 %	2.7±0.6	45.6±11.9	0.001
CD34 %	3.7±2.1	33.2±8.2	0.001

## DISCUSIÓN

La quimera de la regeneración de tejido miocárdico posterior a un infarto ha sido superada ampliamente en diferentes estudios experimentales mostrando evidencias histológicas y moleculares de la diferenciación de células troncales de médula ósea.<sup>16-39</sup> En diversos ensayos clínicos se ha mostrado mejoría en la función ventricular después de que esta se ha deprimido como consecuencia de pérdida de tejido por un infarto, sin embargo, esta mejoría es variable entre los diferentes individuos a quienes se les ha sometido a terapia celular, asumiendo algunos autores, que esta circunstancia podría obedecer al subtipo y cantidad de células de médula ósea utilizadas.<sup>31-35</sup>

Los hallazgos de este estudio indican que la cantidad y subpoblación de células de médula ósea que se movilizan a la circulación durante el evento de infarto al miocardio son significativamente diferentes ( $p < 0.001$ ) a las movilizadas durante un evento de angina aguda, indicando que la muerte celular debe desencadenar una serie de eventos que propician estas diferencias, pues fue evidente que los marcadores de lesión celular mostraron niveles más elevados en el grupo de pacientes con infarto al miocardio. **Tablas 2 y 3**

Los marcadores de superficie celular que expresan algunas células conocidos como Cluster Differentiation (CD) han servido para identificar a las células inmaduras de médula ósea con capacidad regenerativa en diversos estudios in vitro (CD48, CD117, CD34 CD73 y CXCR4), permitiendo demostrar estas capacidades celulares sobre el tejido cardiaco infartado en diversos estudios experimentales, los cuales han servido de apoyo para el desarrollo de ensayos clínicos en el mundo, mostrando estos mejoría en la perfusión del miocardio y en la función ventricular en pacientes con infarto agudo al miocardio.

En pacientes con infarto crónico, el Dr José Luis Aceves y el Dr Abel Archundia<sup>31</sup> desde principios de siglo han mostrado mejoría regenerativa de la cicatriz cardiaca post-infarto y en la función ventricular en pacientes con función deprimida, sin embargo, sus hallazgos

coinciden con lo informado en ensayos clínicos con infarto agudo al observar variaciones en la respuesta de mejoría en los pacientes sometidos a la terapia celular, asumiendo estos autores que esta variación podría obedecer a la cantidad y tipos de subpoblaciones celulares utilizadas en esta terapia. En este sentido, nuestros hallazgos muestran que efectivamente se moviliza una mayor cantidad de subpoblaciones celulares a la circulación durante un evento de infarto agudo, sugiriendo que la cantidad y subpoblaciones de células utilizadas en la terapia celular deben ajustarse a la respuesta de la médula ósea durante el evento de infarto al miocardio.

Aunque este estudio no fue diseñado para identificar factores inflamatorios y procesos bioquímicos involucrados en el proceso de estimulación de la médula ósea para la liberación de células troncales con potencial regenerativo, las diferencias observadas en los marcadores bioquímicos de lesión celular sugieren que igualmente deberían desarrollarse diseños específicos que los investiguen, pues consideramos que posiblemente la cantidad de tejido miocárdico necrosado podría tener una relación con los niveles de factores inflamatorios que estimulan a la médula ósea y en consecuencia con la cantidad de subpoblaciones celulares movilizadas a la circulación durante el evento agudo.

En suma, consideramos que la mayor celularidad observada en sangre periférica durante el infarto agudo al miocardio sugiere la utilización de estas proporciones en la terapia celular para pacientes con función ventricular deprimida secundaria a necrosis del tejido cardíaco, además de invitar al diseño de estudios de investigación que aclaren la participación de los diferentes factores inflamatorios y componente celulares en la estimulación de la médula ósea, para mejorar y afinar la terapia celular para la regeneración tisular.

### CONCLUSIONES

- Durante un evento de infarto agudo al miocardio existe una mayor movilización de células troncales de médula ósea con potencial regenerativo hacia la sangre periférica.
- La cantidad de subpoblaciones celulares de médula ósea que se movilizan a sangre periférica son significativamente diferentes en pacientes con infarto agudo al miocardio y con angina de pecho aguda.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Méndez Ortiz A. Fisiopatología de la insuficiencia cardíaca. Arch. Cardiol. Méx. 2006;76 (suppl.2): 182-187
2. Uemura K, Pisa Z. Recent trends in cardiovascular disease mortality in 27 industrialized countries. World Health Stat Q 1985;38:142-62
3. Kannel W. Meaning of downward trend in cardiovascular mortality. JAMA 1982;247:877-80
4. Hurst JW, Morris DC, Alexander RW. The use of the New York Heart Association's classification of cardiovascular disease as part of the patient's complete Problem List. Clin Cardiol. 1999 Jun;22(6):385-90.
5. DeBusk RF and the Health and Public Policy Committee of the Clinical Efficacy Assessment Subcommittee. American College of Physicians: Evaluation of patients after recent acute myocardial infarction. Ann Intern Med 1989; 110: 485-488.
6. Brower, GL, Gardner JD, Forman MF, Murray DB, Voloshenyuk T, Levick SP. The relationship between myocardial extracellular matrix remodeling and ventricular function. Eur J Cardiothorac Surg 2006; 30: 604-610
7. Hansen PR. Role of neutrophils in myocardial ischemia and reperfusion. Circulation 1995; 91: 1872-1885.
8. Laskin DL, Penedo KL: Macrophages and inflammatory mediators in tissue injury. Annu Rev Pharmacol. Toxicol 1995; 35: 655-677.
9. Kim HE, Dalal SS, Young E, Legato MJ, Weisfeldt ML, D'Armentino J. Disruption of the myocardial extracellular matrix leads to cardiac dysfunction. J Clin Invest 2000;106:857-66.
10. Trainini JC, Chachques JC, Lago N. Asistencia miocárdica con matrices bioartificiales. Rev Argent Cardiol 2006;74:versión on-line
11. Blake GJ, Ridker PM. Inflammatory bio-markers and cardiovascular risk prediction J Intern Med. 2002 Oct; 252 (4): 283-94.
12. Alvarado Navarro A. Interleucinas e inmunidad innata. Rev Biomed 2001; 12(4): 272-280.
13. Enca Martin-Rendon, Brunskill CJ, Hyde SJ, Stanworth AM, Watt SM. Autologous bone marrow stem cells to treat acute myocardial infarction: a systematic review. European Heart Journal 2008; 29: 1807-1818.
14. Uichi Ikeda, Fujio Ohkawa, et.al. Serum interleukin 6 levels become elevated in acute myocardial infarction Journal of Molecular and Cellular Cardiology 2006;24(6)579-584
15. Paleev FN - Changes of interleukin-6 in various forms of ischemic heart disease. Cardiology 2010; 50(2): 69-72
16. Rosas Martínez M., Remodelación cardíaca e inflamación. Archivos de Cardiología De México 2006;76( Supl. 4):S4, 58-66
17. Ayelet Dar, Kolet Orit, Lapidot T. Homing of stem cells and tissue injury: 5-11 In Leri A, Anversa P and Frishman W. Cardiovascular Regeneration and Stem Cell Therapy. 1o ed. Blackwell Futura 2010.
18. Enca Martin-Rendon, Brunskill CJ, Hyde SJ, Stanworth AM, Watt SM. Autologous bone marrow stem cells to treat acute myocardial infarction: a systematic review. European Heart Journal 2008; 29: 1807-1818.
19. Toma C, Pittenger PF, Cahill KS, Byrne BJ, Kessler PD. Human mesenchymal stem cells differentiate to a cardiomyocyte phenotype in the adult murine heart. Circulation. 2002;105:93-8.
20. Shake JG, Gruber PJ, Baumgartner WA, Senechal G, Meyers J, Redmond JM. Mesenchymal stem cell implantation in a swine myocardial infarct model: engraftment and functional effects. Ann Thorac Surg. 2002;73:1919-25
21. Makkar RR, Price MJ, Lill M, Takizawa K, Frantzen M, Fishbein MC. Multilineage differentiation of transplanted allogeneic mesenchymal stem cells injected in a porcine model of recent myocardial infarction improves left ventricular function. Circulation. 2002;106:1134.
22. Fukuda K, Fujita J, Hakuno D, Makino S. Mesenchymal stem cell-derived cardiomyogenic cells. In Leri A, Anversa P, Frishman WH. Cardiovascular Regeneration and Stem Cell Therapy. 1st ed. USA: Blackwell Futura; 2007. p. 37-45.

23. Quesenberry PJ, Colvin GA, Lambert J-F. The chiaroscuro stem cell: a unified stem cell theory. *Blood* 2002;100:4266-71.
24. Nathan J Zvaifler, Lilla Marinova-Mutafchieva, Gill Adams, Christopher J Edwards, Jill Moss, Jan A Burger, and Ravinder N Maini. Mesenchymal precursor cells in the blood of normal individuals. *Arthritis Res.* 2000; 2(6): 477–488
25. Friedenstein AJ, Gorskaja JF, Kulagina NN. Precursor cells of mechanocytes. *ExpHematol.* 1976;4:267–274.
26. Quisenberry PJ, Calvin G, Abedi M. Adult stem cell plasticity: Lienage potential on a continuum. In En Leri A, Anversa P, Frishman WH. *Cardiovascular Regeneration and Stem Cell Therapy.* 1st ed. USA: Blackwell Futura; 2007: 11-23.
27. Graf T. Differentiation plasticity of hematopoietic cells. *Blood* 2002;99:3089-101
28. Matsumoto K, Moriuchi T, Koji T, Nakane PK. Molecular cloning of cDNA coding for rat proliferating cell nuclear antigen (PCNA)/cyclin. *EMBO J.* 1987;6 (3): 637–42.
29. Zhang G, Gibbs E, Kelman Z, O'Donnell M, Hurwitz J. Studies on the interactions between human replication factor C and human proliferating cell nuclear antigen. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1999;96 (5): 1869–74.
30. Bullwinkel J, Baron-Lühr B, Lüdemann A, Wohlenberg C, Gerdes J, Scholzen T (March 2006). "Ki-67 protein is associated with ribosomal RNA transcription in quiescent and proliferating cells". *J. Cell. Physiol.* 206 (3): 624–35
31. Archundia A, Aceves JL, López-Hernández M, Alvarado M, Díaz QG, Páez A, Masso RF, Montañó LF. Direct cardiac injection of G-CSF mobilized bone-marrow stem-cells improves ventricular function in old myocardial infarction. *Life Science* 2005; 78: 279-83
32. Erbs S. Transplantation of blood-derived progenitor cells after recanalization of chronic coronary artery occlusion: first randomized and placebo controlled study. *Circ Res.* 2005; 97: 756–762
33. Strauer BE. Regeneration of human infarcted heart muscle by intracoronary autologous bone marrow cell transplantation in chronic coronary artery disease: the IACT Study. *J Am Coll Cardiol.* 2005;46: 1651–1658
34. Galinanes MI. Autotransplantation of unmanipulated bone marrow into scarred myocardium is safe and enhances cardiac function in humans. *Cell Transplant* 2004;13: 7–13
35. Mandana MB, Mohamad-Reza, Mohamad-Hassani, Kamran Alimoghaddam, Mehdi Sanatkar, Masuod Gasemi, Autologous In Vitro Expanded mesenchymal Stem Cell Therapy for Human Old Myocardial Infarction *Arch Iranian Med* 2007; 10 (4): 467 – 473
36. Blau HM, Brazelton TR, Weimann JM. The evolving concept of a stem cell: entity or function? *Cell* 2001;105:829-41.
37. Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, Schwartz RE, Keene CD, Ortiz-Gonzalez XR, Reyes M, Lenvik T, Lund T, Blackstad M, Du J, Aldrich A, Lisberg A, Low WC, Largaespada DA Verfaillie CM. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow *Nature* 2002; 408:41-49
38. Fukuda K, Fujita J, Hakuno D, Makino S. Mesenchymal stem cell-derived cardiomyogenic cells: 37-45 In Leri A, Anversa P, Frishman WH. *Cardiovascular Regeneration and Stem Cell Therapy.* 1st ed. USA: Blackwell Futura; 2007.
39. Brunner S, Engelmann MG, Franz WM. Stem cell mobilization for myocardial repair. *Opinion on Biological Therapy.* 2008; 8(11):1675-90
40. Meoli DF, Sadeghi MM, Krassilnikova S, Bourke BN, Giordano FJ, Dione DP. Noninvasive imaging of myocardial angiogenesis following experimental myocardial infarction. *J Clin Invest* 2004;113:1684-1691