

Estudio gammagráfico del trasplante de células mononucleares autólogas en pacientes con insuficiencia arterial crónica

Gammagraphic estudy of the transplant of autologous mononuclear cells in patients with chronic arterial insufficiency

Laser H. Hernández Reyes,¹ Teresa Fundora Sarraff,¹ Porfirio Hernández Ramírez,¹ Fernando Ballet Leal,² Alain Urgellés Linares,² Yoel Fernández Columbié³

¹ Instituto de Hematología e Inmunología. La Habana, Cuba.

² Instituto de Nefrología. La Habana, Cuba.

³ Instituto de Cardiología y Cirugía Cardiovascular. La Habana, Cuba.

RESUMEN

Introducción: en la actualidad la terapia celular regenerativa constituye una opción terapéutica para las reducir las altas tasas de morbilidad y amputación a causa de la enfermedad arterial periférica. Por otro lado, las técnicas de imagen con radiotrazadores constituyen una valiosa herramienta para evaluar la eficacia y seguridad de esta novedosa modalidad terapéutica.

Objetivo: evaluar la eficacia del trasplante intrarterial de células mononucleares movilizadas a la sangre periférica (CMN-SP) en un grupo de pacientes con insuficiencia arterial crónica en estadio IIB mediante el estudio gammagráfico.

Método: se estudiaron 10 pacientes con una edad promedio de 60 años e insuficiencia arterial crónica en estadio IIB que se incluyeron en un estudio prospectivo longitudinal, aleatorizado simple, a ciegas, durante el periodo comprendido entre octubre de 2012 y octubre de 2014. El estudio gammagráfico se realizó antes y tres meses después de la terapia celular regenerativa.

Resultados: el 70 % de los casos estudiados mostró un incremento del porcentaje de cuentas totales del radiotrazador en el área anatómica que se estudió y solo el 30 % de ellos no mostró variaciones del por ciento de cuentas totales del radionúclido en la región de interés.

Conclusiones: el incremento de la variable gammagráfica en estudio mostró la eficacia del tratamiento regenerativo en la mayor parte de los pacientes estudiados. Se sugiere incrementar el uso de la imagen con radiotrazadores en los estudios de evaluación de la eficacia de la terapia celular regenerativa en pacientes con enfermedad arterial periférica.

Palabras clave: enfermedad vascular periférica; insuficiencia arterial; terapia regenerativa; gammagrafía.

ABSTRACT

Introduction: Regenerative cell therapy is currently a therapeutic option to reduce the high rates of morbidity and amputation due to peripheral arterial disease. On the other hand, radiotracer imaging techniques are a valuable tool to evaluate the efficacy and safety of this novel therapeutic modality.

Objective: To evaluate the efficiency of intraarterial transplantation of peripheral blood mononuclear cells (CMN-SP) in a group of patients with stage IIb chronic arterial insufficiency by means of the gammagraphic study.

Method: We studied 10 patients with an average age of 60 years and chronic arterial insufficiency in stage IIB who were included in a randomized, single longitudinal, randomized prospective study, during the period between October 2012 and October 2014. The scintigraphic study was performed before and three months after the regenerative cell therapy.

Results: 70 % of the studied cases showed an increase in the percentage of total radiotracer counts in the anatomical area that was studied and only 30% of them did not show variations of the percentage of total radionuclide counts in the region of interest.

Conclusions: The increase of the gammagraphic variable on study showed the effectiveness of the regenerative cellular treatment in the majority of the treated patients. We suggest enhancing the use of imaging techniques with radiotracers in the evaluation studies of the efficacy of regenerative cell therapy in patients with peripheral arterial disease.

Keywords: peripheral vascular disease; arterial insufficiency; regenerative cell therapy; gammagraphy.

INTRODUCCIÓN

En los últimos tiempos las aplicaciones de la terapia celular regenerativa y sus alentadores resultados se han hecho palpables en un gran número de especialidades médicas, dentro de las que destaca la angiología. La enfermedad arterial periférica o insuficiencia arterial crónica (IAC)

origina un grupo de manifestaciones clínicas que resultan de la instauración paulatina de un fenómeno arteriosclerótico que causa el estrechamiento crónico y progresivo de la luz de las arterias que irrigan los grupos musculares de los miembros inferiores y conduce a la isquemia crónica, a la manifestación clínica de claudicación intermitente y, en los casos más graves, a la amputación del miembro comprometido o la muerte.^{1,2}

Según la gravedad del compromiso isquémico y de los síntomas clínicos, la clasificación de Fontaine define cuatro estadios para la IAC en los pacientes con este trastorno: *estadio I*: pacientes asintomáticos a los cuales puede detectárseles al examen físico estenosis o ausencia de pulsos en algún segmento del trayecto vascular; *estadio IIa* con claudicación intermitente leve, circulación abierta y marcha sin dolor a una distancia superior a los 200 m; *estadio IIb* con claudicación intermitente de moderada a grave, circulación cerrada y marcha sin dolor a una distancia menor e igual a 200 m. Por su parte, los estadios III y IV resultan los más graves, el III con dolor isquémico manifiesto, aún en reposo, y el IV cuando además existen lesiones ulcerosas, gangrenas o ambas. Numerosos autores señalan que las distintas modalidades de terapia para esta enfermedad resultan mucho más efectivas en los estadios menos avanzados de la IAC.^{2,3}

En la actualidad los modelos terapéuticos disponibles para el tratamiento de esta enfermedad tienen como principales objetivos el logro del alivio del dolor, limitar la progresión del proceso arteriosclerótico y disminuir el número de amputaciones. En este sentido, los adelantos más recientes en materia de terapia génica y celular han hecho posible la puesta en práctica de novedosos protocolos de tratamiento regenerativo para la enfermedad arterial periférica, que se sustentan en la administración de diferentes tipos de moléculas recombinantes y en el trasplante e implantación de células madre o plaquetas capaces de inducir angiogénesis y regeneración tisular en el tejido isquémico, lo que contribuye en mayor o menor grado al restablecimiento de la circulación sanguínea regional del miembro afectado y, con ello, al rescate de su función y la mejoría de la calidad de vida del enfermo.⁴⁻⁶

La neovascularización resultante de la terapia celular implica el desarrollo de mecanismos angiogénicos y arteriogénicos como respuesta positiva al aporte de progenitores de células endoteliales, factores de crecimiento solubles y citocinas, lo que a su vez resulta en cambios favorables de variables hemodinámicas tales como el flujo, el volumen y la perfusión sanguínea distal a nivel del miembro afectado. De hecho, un gran número de investigaciones muestran la utilidad de las variaciones en los índices de perfusión a nivel del tejido muscular afectado como medio para obtener información acerca del grado de extensión del compromiso isquémico y su respuesta a los tratamientos.^{1,2,7-9}

En el campo diagnóstico e investigativo de la medicina nuclear, las técnicas de imagen radioisotópica en sus modalidades de SPECT (del inglés *single- photon emission computed tomography*) y PET (del inglés- *positron emission tomography*) constituyen valiosas herramientas de información en el estudio de la dinámica vascular y la etiopatogenia asociada a las alteraciones regionales en los miembros inferiores de los pacientes con enfermedad arterial periférica, así como también en la evaluación de la seguridad y efectividad de diversos protocolos terapéuticos para esta afección.^{1,3,8,10,11}

En este trabajo se evaluó la eficacia del trasplante intrarterial de células mononucleares movilizadas a la sangre periférica (CMN-SP) en un grupo de pacientes con insuficiencia arterial crónica en estadio IIB, mediante el estudio gammagráfico de pool sanguíneo en equilibrio utilizando glóbulos rojos marcados con ^{99m}Tc - pirofosfato.

MÉTODOS

Se estudiaron 10 pacientes con una edad promedio de 60 años con IAC en estadio IIB, según la clasificación de Fontaine, procedentes de la consulta de Angiología del Hospital General Docente "Enrique Cabrera", que se incluyeron en un estudio prospectivo longitudinal, aleatorizado simple, a ciegas, durante el periodo comprendido entre octubre de 2012 y octubre de 2014. Todos los pacientes presentaban compromiso obstructivo del flujo sanguíneo regional y la perfusión distal a nivel del sector femoropoplíteo.

Los criterios de inclusión fueron: pacientes con IAC en estadio IIB; índice de presiones tobillo - brazo $< 0,7$ en las extremidades inferiores; consentimiento informado por escrito firmado por el paciente; no evidencias de cáncer durante cinco años o más.

Para la obtención de las CMN-SP se utilizó un método estandarizado para el procesamiento de la sangre periférica con progenitores hematopoyéticos movilizados, autodonación de sangre y procesamiento manual en un sistema cerrado de bolsas colectoras. La implantación de las células se llevó a cabo siguiendo el procedimiento establecido para el implante de CMN-SP en esta enfermedad.^{12,13}

Estudio gammagráfico de pool sanguíneo mediante el uso de eritrocitos marcados con ^{99m}Tc - Pirofosfato

La angiogammagrafía se realizó antes y tres meses después de la administración del concentrado de CMN-SP. De forma previa a la adquisición de las imágenes, a cada paciente se le administró por vía endovenosa un bulbo completo de pirofosfato estañoso (*kit* frío de 84 mg de pirofosfato de sodio) diluido en 3 mL de agua para inyección. Veinte minutos después se les infundieron por vía endovenosa, en el brazo contrario, 20 mCi de ^{99m}Tc en forma de pertecnetato de sodio ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4^-$) y se dejaron transcurrir 10 min para facilitar el marcaje *in vivo* de los eritrocitos circulantes y el alcance del equilibrio del radiotrazador en el volumen sanguíneo total (*pool* sanguíneo).

A los 10 min se adquirieron imágenes estáticas del *pool* sanguíneo en vistas anterior y posterior desde los pies hasta la cresta ilíaca con el paciente en posición de decúbito supino; en una cámara Nucline Spirit DH-V (Mediso, Hungría) de doble cabezal en modo de adquisición *whole body* (cuerpo completo) a una velocidad de barrido de 12 cm/min. Para ello se utilizó un colimador de baja energía y alta resolución, una ventana de 20 % centrada en el fotopico del ^{99m}Tc (140 Kev) y una matriz de 512×1024 pixeles.

Procesamiento comparativo de las imágenes gammagráficas

El análisis cuantitativo se realizó sobre las imágenes posteriores del miembro tratado, dada su cercanía al detector. Para ello se dibujaron sobre la imagen antes del implante dos regiones de interés, rectangulares de igual ancho y diferente largo, una pequeña sobre los grupos musculares desde la pierna hasta el pie y otra de mayor tamaño sobre el miembro completo, de manera que la primera quedara incluida dentro de la última. A continuación, se calculó el porcentaje que representaban las cuentas totales dentro del área de la región de interés menor con respecto al número total de conteos registrados dentro de la región de interés mayor lo que se tomó como el 100 % de las cuentas.

En un segundo momento, sobre las imágenes adquiridas luego de terapia se extrapoló a la misma zona anatómica las regiones de interés (ROI) dibujadas sobre las imágenes adquiridas antes del implante; de igual modo se calculó qué porcentaje representaban las cuentas totales dentro de la ROI menor con respecto al total de cuentas de la ROI mayor.

Las diferencias entre los porcentajes de las cuentas totales de las ROI más pequeñas, en las imágenes de un mismo paciente, tomadas antes y después del tratamiento regenerativo, resultan un indicador de las variaciones del *pool* sanguíneo en equilibrio en la zona como favorable respuesta a la terapia regenerativa.

Aspectos éticos

Esta investigación se realizó de acuerdo con los principios que establece la declaración de Helsinki, de forma que cada paciente ofreció su consentimiento de forma verbal y por escrito como garantía de su participación consciente.

RESULTADOS

El incremento del *pool* sanguíneo dentro de la ROI del pie y la pierna se verificó en 7 (70 %) de los 10 pacientes implantados con el incremento de las cuentas totales de ^{99m}Tc dentro de esta región. Solo en 3 (30 %) de los pacientes del estudio no se produjeron cambios de esta variable hemodinámica. La media de las cuentas totales registradas dentro de la región de interés con respecto a la del miembro completo antes de implante fue de $49,80 \pm 5,514$, por su parte la media de los conteos totales que se registraron en esta área a los tres meses luego de la terapia celular regenerativa fue de $54,30 \pm 5,618$ para un incremento del *pool* sanguíneo en la región del 5 %.

DISCUSIÓN

En la actualidad las técnicas de imagen en medicina nuclear, con la producción de nuevos radiofármacos, el marcaje con radionúclidos de un número creciente de biomoléculas y células, así como la salida al mercado de tecnologías con mayor poder resolutorio y sensibilidad, constituyen un recurso disponible como herramientas de investigación, diagnóstica y pronóstica en el estudio de la IAC. En tal sentido, resultan métodos de imagen sencillos y poco invasivos, que aportan información dinámica, funcional y metabólica del tejido sujeto a estudio y pueden usarse para complementar los resultados de los índices clínicos y de otras técnicas de imagen; al tiempo que abren nuevas posibilidades de investigación clínica entorno a esta afección.^{1,10,14-16}

En este estudio el 70 % de los casos estudiados mostró un incremento del porcentaje de cuentas totales del radiotrazador en el área anatómica que se estudió y solo el 30 % de ellos no mostró variaciones del porcentaje de cuentas totales del radionúclido, lo que se interpretó como incremento del pool sanguíneo en el tejido muscular de la zona como muestra de la eficacia del tratamiento celular regenerativo en la mayor parte de los pacientes.

Estos resultados son compatibles con los reportes de otros investigadores en torno a la evaluación gammagráfica de variables dinámicas como el flujo y la perfusión sanguínea en los miembros inferiores de pacientes con enfermedad arterial periférica tratados con células madre. Debe señalarse que con el uso de radiofármacos como el cloruro de talio-201 ($^{201}\text{TlCl}$), el $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Sestamibi (MIBI) y el $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Tetrofosmin, la variable más estudiada en estos pacientes resulta la perfusión a los grupos musculares más distales de los miembros inferiores. Además, aunque el costo de estos radiofármacos resulta mayor si se compara con el del $^{99\text{m}}\text{Tc}$ - Pirofosfato de uso en esta investigación, su preparación resulta más sencilla y no requieren del radiomarcaje de los eritrocitos en ninguna de sus modalidades. En nuestro medio, el costo del $^{99\text{m}}\text{Tc}$ - Pirofosfato resulta aproximadamente un cuarto del valor del $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Sestamibi (MIBI), ambos de producción nacional.¹⁶⁻²⁰

De modo general, en el campo del conocimiento de la fisiopatología vascular, la imagen con radiotrazadores es una herramienta de extraordinario valor en la evaluación clínica de la trombosis venosa profunda, de la gravedad y extensión de la enfermedad aterosclerótica, en el estudio y localización de la angiogénesis en relación con el desarrollo de tumores sólidos y de focos isquémicos, en la medición de las variables dinámicas que se asocian a la naturaleza obstructiva de la enfermedad arterial periférica y de los trastornos cardiovasculares isquémicos y, de un modo más reciente en el seguimiento y localización de las células, ligandos y receptores que se involucran en los procesos de angiogénesis y arteriogénesis.^{8,14,16,19-22}

Hoy la terapia celular regenerativa constituye una opción esperanzadora en la búsqueda de alternativas terapéuticas para reducir las altas tasas de amputación y morbilidad que se asocian a la insuficiencia arterial periférica. Por tanto, resulta lógico que las técnicas de imagen con radionúclidos encuentren un amplio uso en la evaluación de la eficacia y la seguridad de esta novedosa terapia. Sirva pues este trabajo, como un modesto punto de partida para el logro de tal propósito.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Stacy MR, Zhou W, Sinusas AJ. Radiotracer Imaging of Peripheral Vascular Disease. *J Nucl Med Technol.* 2015;43(3):185-92.
2. Feito Castex T, Perurena Llamosa C, Aparicio Suárez JL, Bustillo Santandreu MJ, García Seco F. Implante de células madre hematopoyéticas en pacientes con isquemia crónica de los miembros inferiores. *Rev Cubana Angiol Cir Vasc.* 2015;16 (1):64-75.
3. Hernández Ramírez P, Artaza Sáenz H, Aparicio Suárez JL, Cruz Tamayo F, Díaz Díaz AJ, Fernández Delgado ND, et al. Impacto de la medicina regenerativa en angiología. Experiencia cubana. *Rev Cubana Angiol Cir Vasc [Internet].* 2017 Jun [citado 2017 Ago 31];18(1):3-18. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1682-00372017000100002&lng=es
4. Davies M. Critical limb ischemia: cell and molecular therapies for limb salvage. *Methodist Debakey Cardiovasc J.* 2013;9(2):69-72.
5. Bencomo Hernández A. Los derivados plaquetarios en medicina regenerativa. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter.* 2012;28(4):308-9.
6. Fernández Delgado ND, Hernández Ramírez P, Forrellat-Barrios M. Espectro funcional de las plaquetas: de la hemostasia a la medicina regenerativa. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter.* 2012;28(3):200-16.
7. Holger L, Peter B, Berthold A. Stem cell and progenitor cell therapy in peripheral artery Disease. *Thromb Haemost* 2010;103:696-709.
8. Gaertner H, Kessler H, Wester M, Schwaiger A, Beer J. Radiolabelled RGD peptides for imaging and therapy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2012; 39(Suppl 1):126-38.
9. Hernández Seara A, Cabrera Zamora JL, Viña Cisneros H, Hondares Guzmán MC, López Díaz M, Licort García E. Caracterización de los pacientes ingresados por isquemia crítica de los miembros inferiores. *Rev Cubana Angiol Cir Vasc [Internet].* 2013 [citado 2017 Ago 31];14(1). Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/ang/vol14_1_13/angio04113.htm.
10. Benitez E, Brandon J, Jason Ch, Bauer E. Contemporary assessment of foot perfusion in patients with critical limb ischemia. *Sem Vasc Surg.* 2014;27(1):3-15.

11. Kinlay S. Prospects for multimodality imaging in peripheral artery disease. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2014 Jan;7(1):3-4. doi: 10.1161/CIRCIMAGING.113.001434.
12. Hernández-Ramírez P, Forrellat-Barrios M. Ventajas de la terapia celular con células mononucleares derivadas de la médula ósea, aplicadas en su conjunto. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter*. 2013;29 (4):407-12.
13. Hernández P, Artaza H, Díaz AJ, Cortina LD, Lam RM, Pol N, et al. Autotrasplante de células madre adultas en miembros inferiores con isquemia crítica. *Rev Esp Invest Quirur* 2007;10:204-11.
14. Tara S, Miyamoto M, Takagi G, Kirinoki-Ichikawa S, Tezuka A, Hada T, et al. Low-energy extracorporeal shock wave therapy improves microcirculation blood flow of ischemic limbs in patients with peripheral arterial disease: pilot study. *J Nippon Med Sch*. 2014;81(1):19-27.
15. Matthias G. Perfusion Imaging. *J Magn Res*. 2014;40:269-79.
16. Hernández Reyes LH, Fundora Sarraff T, Hernández Ramírez P, Janero Valdés A. La imagen radioisotópica: una herramienta eficaz en la terapia regenerativa. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter*. 2017;33(2):1-9.
17. Liu JT, Chang CS, Su CH, Li CS. Insights Into Microcirculation Underlying Critical Limb Ischemia by Single-Photon Emission Computed Tomography. *Medicine (Baltimore)*. 2015 Jul;94(27):e1075. doi: 10.1097/MD.0000000000001075.
18. Takagi G, Miyamoto M, Fukushima Y, Yasutake M, Tara S, Takagi I, et al. Imaging Angiogenesis Using ^{99m}Tc-Macroaggregated Albumin Scintigraphy in Patients with Peripheral Artery Disease. *J Nucl Med*. 2016 Feb;57(2):192-7. doi: 10.2967/jnumed.115.160937.
19. Lasala P, Silva A, Gardner A, Minguell J. Combination Stem Cell Therapy for the Treatment of Severe Limb Ischemia: Safety and Efficacy Analysis. *Angiology*. 2010;61(6):551-6.
20. Shuhei T, Masaaki M, Gen T, Yoshimitsu F, Sonoko K. Prediction of Limb Salvage after Therapeutic Angiogenesis by Autologous Bone Marrow Cell Implantation in Patients with Critical Limb Ischemia. *Ann Vasc Dis*. 2011;.4(1):24-31.

21. Solanki K, Dondi M. Radiolabelled autologous cells: methods and standardization for clinical use. 5^{ta} ed. VIENNA: Sales Unit, Publishing Section International Atomic Energy Agency; 2015. p. 7-8.

22. Lemonitsa H, Henk M, Verheul W, Harry H, Maqsood Y, Adriaan A, Willemien M, Houven van O. Molecular imaging of targeted therapies with positron emission tomography: the visualization of personalized cancer care. Cell Oncol. 2015;38:49-64.

Recibido: 12 de diciembre de 2017.

Aprobado: 7 de julio de 2018.

Lic. Laser H. Hernández Reyes. Instituto de Hematología e Inmunología. Apartado 8070, La Habana, CP 10800, Cuba. Tel (537) 643 8695, 8268.
Correo electrónico: rchematologia@infomed.sld.cu