

Transplante de Células de la Médula Ósea en la Insuficiencia Cardíaca de la Enfermedad de Chagas: Relato de la Primera Experiencia Humana

Fábio Vilas-Boas¹, Gilson Soares Feitosa¹, Milena B. P. Soares², Joel Alves Pinho-Filho¹, Augusto C. A. Mota¹, Augusto José Gonçalves Almeida¹, Marcus Vinícius Andrade¹, Heitor Ghissoni Carvalho¹, Adriano Dourado Oliveira¹, Ricardo Ribeiro-dos-Santos²

Hospital Santa Izabel da Santa Casa de Misericórdia da Bahia¹, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz - FIOCRUZ/BA², Salvador, BA - Brasil

Resumen

Fundamento: La insuficiencia cardíaca (IC), causada por la enfermedad de Chagas (EC), es una cardiomiopatía inflamatoria progresiva que afecta a millones de personas en Latinoamérica. Estudios con modelos experimentales de IC en razón de la EC, nos indican que el transplante de células mononucleares derivadas de la médula ósea (TCMO), puede reducir la inflamación y la fibrosis, mejorando así la función miocárdica.

Objetivo: El objetivo de este estudio fue evaluar, por primera vez en seres humanos, la seguridad y la eficacia del TCMO en el miocardio de pacientes con IC debido a la EC.

Métodos: Fueron estudiados un total de 28 pacientes con IC debido a la EC (con edad promedio $52,2 \pm 9,9$ años), en clases funcionales III y IV (NYHA), al TCMO por medio de una inyección coronaria. Se evaluaron los efectos en la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI), capacidad funcional, calidad de vida, arritmias y parámetros bioquímicos, inmunológicos y neurohumorales.

Resultados: No se registraron complicaciones relacionadas directamente con el procedimiento. La FEVI pasó de $20,1 \pm 6,8\%$ para $28,3 \pm 7,9\%$, $p < 0,03$, cuando se comparó con el período basal y 180 días después del procedimiento, respectivamente. En el mismo período, también se observaron mejorías en la clase funcional NYHA promedio ($3,1 \pm 0,3$ para $1,8 \pm 0,5$; $p < 0,001$), puntuación de calidad de vida de Minnesota ($50,9 \pm 11,7$ para $25,1 \pm 15,9$; $p < 0,001$), y en el test de esfuerzo de seis minutos (355 ± 136 m para 437 ± 94 m; $p < 0,01$). No hubo alteraciones en los marcadores de activación inflamatoria o neurohormonales. Ninguna complicación fue registrada.

Conclusión: Nuestros datos sugieren que la inyección intracoronaria de las células derivadas de la médula ósea es segura y potencialmente efectiva en pacientes con IC debido a la EC. La extensión del beneficio, sin embargo, parece ser discreta, y necesita ser confirmada en los ensayos clínicos randomizados, doble ciegos, controlados con placebo. (Arq Bras Cardiol 2011;96(4):325-331)

Palabras clave: Células tronco, insuficiencia cardíaca, enfermedad de Chagas, terapia celular, cardiomiopatía dilatada.

Introducción

La enfermedad de Chagas (EC), la causa el protozoo *Trypanosoma cruzi* y afecta a millones de personas en Latinoamérica^{1,2}. Debido a la intensa inmigración a partir de áreas endémicas, la infección asociada a la transfusión ha sido recientemente identificada como una amenaza potencial para los Estados Unidos de América³. Entre sus extensas manifestaciones, la involucreción cardíaca es bastante relevante, siendo habitualmente incapacitante⁴. Se ha estimado que un cuarto de los pacientes infectados pueda desarrollar

eventualmente la forma avanzada de la enfermedad cardíaca, que presenta características de la cardiomiopatía dilatada grave, con arritmias potencialmente fatales y fenómenos tromboembólicos pulmonares y sistémicos⁵. Las características macroscópicas de esa condición incluyen la cardiomegalia global, y áreas ubicadas de aneurismas, especialmente en la región apical. Las características microscópicas de esa condición engloban focos diseminados de inflamación y fibrosis⁶. El real hallazgo del parásito en esa forma tardía de la enfermedad, es algo poco común, aunque el uso de técnicas altamente sensibles permita el reconocimiento de partes del parásito en el miocardio⁷. Ese y otros hallazgos, nos sugieren que el proceso autoinmune, tiene un papel primordial en la fase crónica de la enfermedad^{8,9}. Ya en el estadio avanzado, el pronóstico es malo y se observa una progresión inexorable hacia la condición refractaria, pese a todos los recursos terapéuticos de que disponemos hoy por hoy^{10,11}.

Correspondencia: Fábio Vilas-Boas •

Av. Sete de Setembro, 4161 - Barra - 41140-900 - Salvador, BA - Brasil

E-mail: fabiovilasboas@cardiol.br

Artículo recibido el 10/08/10; revisado el 13/10/10; aceptado en 19/10/10.

Con el reciente avance de la técnica de trasplante de células derivadas de la médula ósea (TCMO), que está dirigido a la enfermedad cardíaca isquémica¹²⁻¹⁴, surgió la posibilidad de usar la misma técnica en la enfermedad cardíaca de Chagas. A modo de experimento, se ha venido demostrando que en los ratones que están crónicamente infectados con la cepa colombiana de *T. cruzi*, la inyección de células autólogas mononucleares de la médula ósea, ha arrojado una significativa reducción de las células inflamatorias y de la fibrosis intersticial en el miocardio¹⁵. En ese modelo experimental, el trasplante autólogo simultáneo de células tronco cultivadas en conjunto y mioblastos esqueléticos, demostró ser funcionalmente efectivo¹⁶.

El factor de estimulación de colonias de granulocitos (G-CSF), induce a la movilización de las células tronco de la médula ósea hacia la sangre periférica, haciendo con que un gran número de células tronco queden disponibles para la reparación de los daños¹⁷. De esa forma, la experiencia anterior con TCMO en la enfermedad cardíaca isquémica, como también en los resultados experimentales con el modelo de la EC, diseñó así el escenario para nuestro estudio piloto de fase 1, con el uso de TCMO en seres humanos con cardiopatía de la Enfermedad de Chagas avanzada^{18,19}.

Métodos

Realizamos un estudio clínico en abierto, de fase 1 para comprobar la viabilidad, la seguridad y la eficiencia potencial del trasplante de células derivadas de la médula ósea hacia el miocardio, de pacientes con insuficiencia cardíaca (IC), causada por cardiomiopatía de la Enfermedad de Chagas. Los individuos incluidos en el estudio, pertenecían a los dos sexos, con una edad que variaba entre los 20 y los 70 años, e IC causada por EC, con fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) < 40% en el ecocardiograma, clases funcionales III y IV (NYHA) en terapia médica optimizada para IC, y que habían permanecido estables en esa condición por lo menos un mes antes del inicio de los procedimientos de investigación.

Los pacientes excluidos presentaban condiciones sistémicas que podrían impactar en los resultados del tratamiento o en los análisis de los procedimientos de investigación. Esas condiciones incluían infecciones o neoplasias, enfermedades autoinmunes, enfermedades hematológicas previas, enfermedades hepáticas, insuficiencia renal moderada (creatinina > 2 mg/dl), implante de marcapaso biventricular para la resincronización cardíaca en los 90 días anteriores al inicio del estudio, mujeres en edad fértil, y pacientes con enfermedad arterial coronaria detectada por cineangiocoronariografía.

Una evaluación clínica fue realizada en el período basal y quedaron registrados los siguientes datos clínicos y variables: a) clase funcional (CF) de la NYHA; b) puntuación de calidad de vida medido por el cuestionario *Minnesota Living with Heart Failure*²⁰; c) variables hematológicas y bioquímicas; d) electrocardiograma (ECG) de 12 derivaciones; e) ecocardiograma transtorácico; f) test de esfuerzo de 6 minutos (TC6M)²¹; g) monitorización por Holter de 24 horas. Después del procedimiento, los pacientes fueron derivados a la Unidad

de Cuidados Intensivos (UCI), donde se monitorizaron como mínimo por 24 horas. En los casos en que no hubo interurrencias, los pacientes se derivaban a la habitación, donde permanecían durante por lo menos cinco días. Todas las evaluaciones se repitieron después de 180 días.

Para verificar cualquier posibilidad de daño miocárdico causado por la inyección de células de médula ósea, se realizaron mensuraciones seriadas (a cada seis horas durante las primeras 24 horas), de marcadores de daño miocárdico (CK-MB y troponina I), y también electrocardiograma. Para investigar el desarrollo de las arritmias cardíacas como complicación de la inyección de células, los pacientes se sometieron a la electrocardiografía ambulatorial (Holter), de 24 horas antes del procedimiento y periódicamente después de él.

El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la institución y por la Comisión Nacional de Ética en Investigación. Los pacientes quedaron incluidos en el estudio solamente después de haber sido totalmente informados sobre sus procedimientos y después de firmar el Término de Consentimiento Informado.

Trasplante de células mononucleares de médula ósea

Los pacientes fueron derivados al laboratorio de cateterismo después de un ayuno de 12 horas. Una muestra de 50 ml de contenido de la médula ósea fue aspirada de cada paciente a través de 5 punciones en las crestas ilíacas posteriores derecha e izquierda, bajo anestesia local y sedación intravenosa. El contenido aspirado recogido se filtró para la retirada de restos celulares (*debris*), de la médula ósea, como grasa y fragmentos óseos (red de acero inoxidable, Washington University) y se sometió a centrifugación por gradiente de densidad con Ficoll Histopaque (Amersham Pharmacia, producto autorizado para su uso clínico en humanos). La fracción mononuclear aislada se diluyó entonces en una solución fisiológica estéril y nuevamente se centrifugó. Una muestra se usó para el conteo celular y el test de viabilidad.

Al finalizar el proceso, las muestras se diluyeron en 20 ml de solución fisiológica. Inmediatamente antes de la inyección intracoronaria, los pacientes se sometieron al cateterismo cardíaco izquierdo por vía femoral, seguida de angiografía coronaria. Los pacientes quedaron excluidos si se detectase estenosis > 50% en cualquier arteria coronaria. La solución conteniendo las células fue inyectada lentamente durante 10 minutos en el sistema coronario izquierdo y derecho: 10 ml en la arteria descendiente anterior izquierda, 5 ml en la arteria coronaria derecha y 5 ml en la arteria circunfleja izquierda.

Veinte y cinco días después, los pacientes recibieron inyecciones diarias subcutáneas de G-CSF (Granulokine®) humano durante cinco días en una dosis de 5 mcg/kg/día.

El test de esfuerzo de 6 minutos (TC6M), fue realizado a tono con el protocolo utilizado por Bitner et al²¹ en el estudio SOLVD. Después de un período de reposo de 15 minutos, un nuevo test fue realizado y el promedio de las distancias de las carreras en los dos test se usó como resultado. La calidad de vida (CV) se evaluó a través del cuestionario de Minnesota (*Minnesota Living with Heart Failure Questionnaire*). Todas las entrevistas fueron realizadas por la misma investigadora. Los estudios ecocardiográficos fueron dirigidos por el mismo

Artículo Original

observador, que no conocía los exámenes anteriores y el status del paciente en el protocolo. La FEVI se calculó de acuerdo con el método de Simpson modificado²².

Los TNF-alfa, IL-1-beta, IL-6, MMP-2 y MMP-9 fueron analizados a través de kits de inmunoensayo a disposición comercialmente (Quantikine, R&D Systems, Minneapolis, MN, EUA). La vasopresina se analizó por medio del kit EIA (Ann Arbor, MI, EUA). El péptido natriurético del tipo B (BNP), fue medido usando el inmunoensayo fluorescente rápido (Biosite Diagnostics Incorporated, San Diego, California, USA). Todos los demás test bioquímicos y hematológicos fueron hechos utilizando los kits a disposición comercialmente.

Análisis estadístico

El análisis estadístico fue realizado utilizando el *software* SPSS (*Statistical Package for Social Sciences*), para Windows versión 9.0. Las variables continuas se presentaron como promedios \pm desviación estándar. La distribución de las variables se evaluó por medio del test de Kolmogorov-Smirnov. Como las variables no arrojaron una distribución normal, se realizaron test no paramétricos. Todas las comparaciones fueron bicaudales. Los valores de $p < 0,05$ fueron considerados estadísticamente significativos.

Los autores tuvieron un acceso total a los datos y son los responsables de su integridad. Todos los autores leyeron y estuvieron de acuerdo con el manuscrito de la forma en que se redactó.

Resultados

Durante el estudio que duró seis meses, fueron seleccionados un total de 30 pacientes. Dos pacientes quedaron fuera del estudio después de la aspiración de la médula ósea. A continuación las razones: un paciente, debido a enfermedad arterial coronaria detectada durante el cateterismo, y otro a causa de problemas técnicos con el equipo de cateterismo, lo que impidió la inyección.

Las características basales de la población estudiada aparecen descritas en la Tabla 1. Como se ve, los pacientes estaban en un avanzado estado de la enfermedad y presentaban diversos indicadores de gravedad. Todos los pacientes estaban dentro de las clases funcionales III y IV, pese al excelente tratamiento médico y a las altas dosis de diuréticos administradas. La digoxina fue utilizada por un 95% de los pacientes, la furosemida aisladamente o en combinación con otros medicamentos fue usada por un 85% de los pacientes, el IECA o BRA por un 85% y los betabloqueantes por un 55% de los pacientes. La capacidad funcional evaluada era muy limitada, con base en la pequeña distancia recorrida durante el test de esfuerzo de seis minutos y la CV estaba significativamente comprometida, como lo comprueban las altas puntuaciones obtenidas en el cuestionario de Minnesota. La función ventricular estaba gravemente deprimida, con una fracción de eyección muy baja y el diámetro diastólico del VI aumentado en el ecocardiograma. La presencia de hiponatremia y disfunción renal fueron un determinante más para ejemplificar la grave condición de esa población.

Tabla 1 - Características clínicas y de laboratorio de los pacientes

	(n = 28)
Edad (años)	52,2 \pm 9,9
Sexo masculino (n)	24
CF NYHA (n)	
III	24
IV	4
TC6M (m)	355 \pm 136
FEVI (%)	20,1 \pm 6,8%
VDFVE (mm)	72,6 \pm 8,9
CV	50,9 \pm 11,7
Sodio sérico (mEq/l)	131 \pm 7,6
BUN (mg/dl)	32,1 \pm 17,2
Creatinina (mg/dl)	1,4 \pm 0,4

n - número de pacientes; CF - clase funcional (NYHA); CV - puntuación de calidad de vida en el cuestionario Minnesota; FEVI - fracción de eyección del ventrículo izquierdo; VDFVE - volumen diastólico final del ventrículo izquierdo. Valores expresados en promedios \pm desviación estándar.

No hubo complicaciones directamente relacionadas con la aspiración del contenido de la médula ósea o con la inyección de células. Un promedio de $2,4 \pm 1,2 \times 10^8$ células se inyectaron en las arterias coronarias. Los test de viabilidad indicaron que $96 \pm 6,5$ % de las células eran viables al momento de la inyección. No fueron observadas alteraciones significativas en los marcadores de necrosis miocárdica en 24 horas, o alteraciones electrocardiográficas sugestivas de isquemia o infarto.

Para verificar si el implante miocárdico de células tronco estaba asociado a las arritmias, el perfil arritmogénico se evaluó a través del número total de extrasístoles ventriculares en 24 horas, como también su estándar de recurrencia y de agrupamiento. Ninguna alteración significativa se encontró en el perfil arritmogénico (Tabla 2).

Cuatro muertes sobrevinieron durante el período de seis meses de acompañamiento: paciente 04, sexo masculino, edad 37, hemorragia pulmonar e insuficiencia respiratoria; paciente 16, sexo femenino, edad 34, muerte súbita; paciente 27, edad 69, sexo masculino, insuficiencia cardíaca terminal; paciente 7, edad 67, infección respiratoria complicada por insuficiencia renal y choque. Ninguna asociación causal directa se estableció entre las muertes y el trasplante de las células. No hubo neoplasias, enfermedades hematológicas, coagulopatías, o ningún otro tipo de enfermedad que pudiese ser atribuida a la inyección de células o a su implante.

La función ventricular evaluada por la FEVI, mostró una mejoría significativa, aunque pequeña, seis meses después del procedimiento (Figura 1).

La CV evaluada por el Cuestionario de Minnesota, arrojó una acentuada mejoría en la puntuación global después de seis meses (Figura 2).

La capacidad funcional, medida por la distancia recorrida en el TC6M, mostró una mejoría significativa, aunque fuese pequeña, después de seis meses (Figura 3).

Tabla 2 - Arritmias ventriculares: basal y después de 6 meses (número/24 h)

Arritmia	Basal	Seis meses	Valor de P
EV Totales	5.734 ± 6.568	6.160 ± 4.015	0,55
TV no sustentada	61 ± 126	31 ± 42	0,70

EV - extrasístoles ventriculares; TV - taquicardia ventricular. Valores expresados en promedios ± desviación estándar.

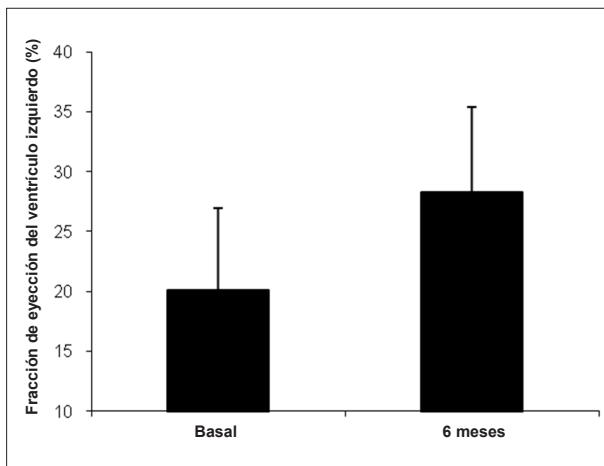


Fig. 1 - Fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) medida a través de la ecocardiografía antes y después de 6 meses de tratamiento con CMO (Wilcoxon, $p = 0,023$).

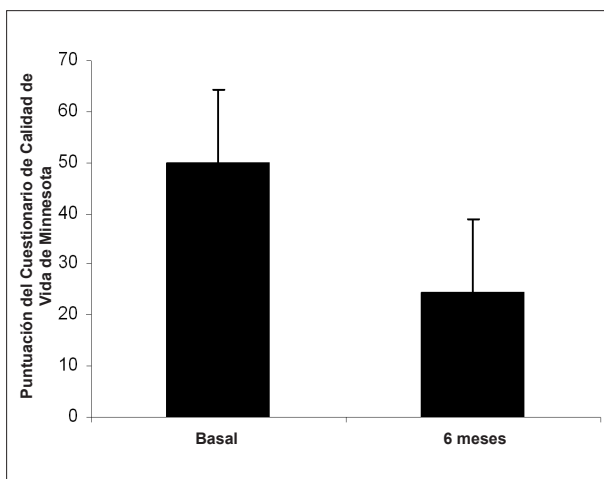


Fig. 2 - Puntuación de Calidad de Vida (Cuestionario de Minnesota). (Wilcoxon, $p < 0,001$).

Una reducción significativa en la clase funcional promedio de la NYHA fue observada después de seis meses (Figura 4).

El análisis bioquímico indicó un aumento acentuado en la concentración de sodio sérico durante el acompañamiento del estudio (Figura 5).

Sin embargo, un análisis de las concentraciones de vasopresina no mostró ninguna alteración significativa de sus

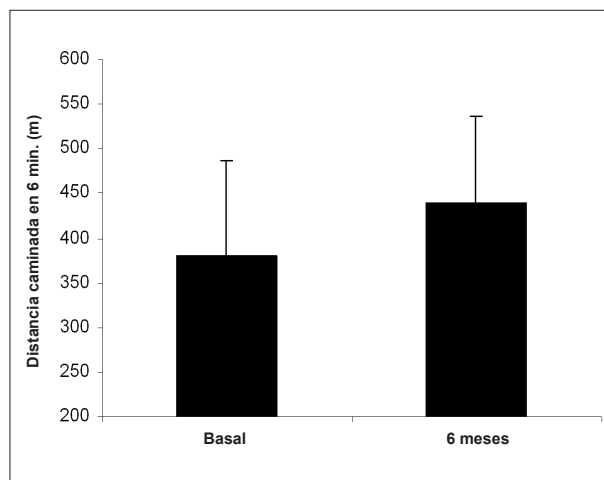


Fig. 3 - Distancia caminada en el test de esfuerzo de seis minutos (TC6M) antes y después del tratamiento con CMO (Wilcoxon, $p < 0,01$).

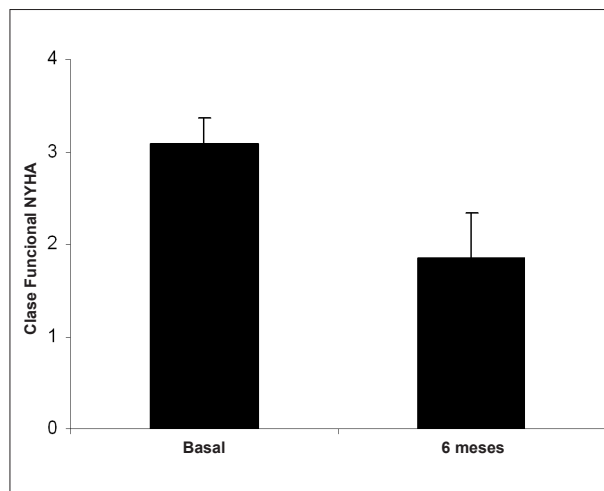


Fig. 4 - Clase Funcional (NYHA) promedio antes y después del tratamiento. (Wilcoxon, $p < 0,001$).

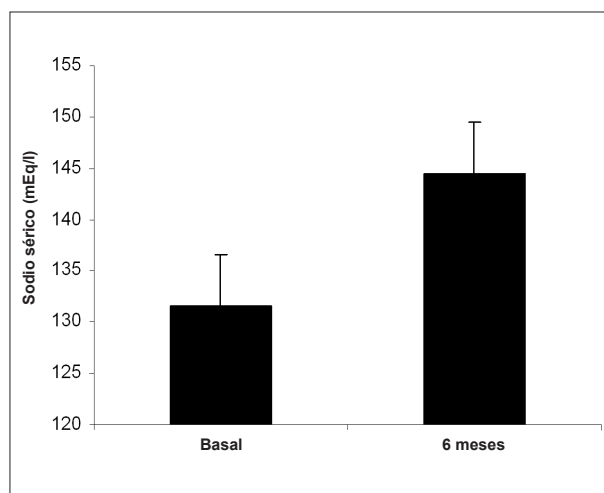


Fig. 5 - Concentración de sodio sérico antes y después de 6 meses de tratamiento (Wilcoxon, $p = 0,001$).

Artículo Original

concentraciones basales después de 180 días (193 ± 53 para 182 ± 44 pg/ml, $p = 0,38$). Hubo una tendencia en el aumento de los niveles de BNP (507 ± 523 para 720 ± 515 pg/ml; $p = 0,055$), que no estuvo acompañada de otras evidencias de congestión o deterioración de la función ventricular.

Un análisis del recambio (*turnover*), de la matriz extracelular reflejó un aumento significativo en los niveles de MMP-2 (Figura 6), pero no mostró alteraciones en los niveles de MMP-9 ($1,6 \pm 1,8$ para $2,3 \pm 2,8$ pg/ml, $p = 0,20$).

No se comprobó diferencia significativa en los niveles plasmáticos de las citocinas IL-1-beta (12 ± 14 para 13 ± 13 pg/ml, $p = 0,54$) e IL-6 (40 ± 74 para 28 ± 48 pg/ml, $p = 0,21$), como tampoco en los niveles de TNF-alfa ($3,4 \pm 3,5$ para $3,8 \pm 4,2$ pg/ml, $p = 0,38$).

Discusión

Este estudio demuestra, que la terapia celular realizada a través de la inyección intracoronaria de células mononucleares derivadas de la médula ósea autóloga es viable, segura y parece ser efectiva en pacientes con IC avanzada causada por EC.

En esos pacientes seleccionados con IC grave, estable y tratados adecuadamente, el procedimiento fue bien tolerado y no se observaron arritmias, daños agudos en el miocardio o deterioración de la función cardíaca después de la inyección de células en las arterias coronarias. Ese hallazgo es muy importante, si tenemos en cuenta estudios anteriores que utilizaron células tronco del músculo esquelético (células satélite), en que hubo cuestionamientos respecto del desarrollo de arritmias en pacientes que se sometieron a ese tipo de terapia celular^{23,24}.

Pese a estar recibiendo tratamiento optimizado en dosis adecuadas, la CF de los pacientes y su CV, estaban gravemente comprometidas. Sin embargo, se detectaron consistentes mejorías en varios parámetros evaluados. La CV mejoró de manera consistente, como quedó ejemplificado por medio de la evaluación hecha en el cuestionario de Minnesota, reflejando no solo, los parámetros referentes a la disnea, sino

también los aspectos emocionales, psicológicos, económicos y profesionales. Eso también vale con relación a las variables más objetivas, como la distancia recorrida durante el test de esfuerzo de 6 minutos, que mide la capacidad de ejercicio a niveles submáximos. De acuerdo con las variaciones antes mencionadas, se registró una mejoría significativa en la CF evaluada a través de la clasificación de la NYHA.

Los aumentos en la FEVI fueron similares a los descritos en estudios anteriores. Dos revisiones recientes sistemáticas y meta-análisis sobre terapia celular intracoronaria, mostraron que ese tipo de terapia trae como resultado un aumento modesto, aunque sea significativo, de la FEVI, cuando se le compara con los controles (3% a 4%)^{25,26}. En el presente estudio, la FEVI promedio aumentó un 5%, correspondiendo a aproximadamente un 20% del aumento relativo, ya que la FEVI de nuestros pacientes era significativamente más baja. Si un pequeño aumento en la FEVI tiene importancia clínica, es un tema relevante. La mayoría de las intervenciones que reducen la mortalidad en cardiología, no aumenta la fracción de eyección de forma ostensible. Los mecanismos que subyacen a la mejoría en el desempeño ventricular son una cuestión que todavía queda por debatir. Hay datos recientes que indican que las células derivadas de la médula ósea adoptan características hematopoyéticas maduras^{27,28}. Otro mecanismo propuesto es que el TCMO puede ejercer efectos antiapoptóticos paracrinos, induciendo a modificaciones en el ambiente inmune²⁹.

Teniendo en cuenta la muy conocida dificultad en controlar la hiponatremia con el tratamiento usual, es digna de destaque la observación sobre la normalización del sodio sérico en este estudio^{30,31}. El mecanismo de corrección parece ser independiente del nivel de estímulos de vasopresina, considerando que los niveles séricos de vasopresina permanecieron elevados y que esas observaciones necesitan ser evaluadas en otros estudios.

Un hallazgo interesante de nuestro estudio fue el comportamiento de los niveles de BNP. Los niveles basales de BNP estaban elevados, aunque si se tenía en cuenta la gravedad de la IC, se esperaba que estuviesen todavía más altos^{32,33}. De cierta forma y sorprendentemente, vimos que, pese a la consistente mejoría clínica observada a través de varios parámetros, sus niveles no se redujeron de forma equitativa. Existe alguna documentación demostrando que, ocasionalmente, y en ventrículos gravemente comprometidos, el nivel de BNP puede no aumentar como se espera³⁴. Los mecanismos considerados en esa situación pueden incluir un posible agotamiento de los cardiomiocitos en producir el BNP. Continuando en la misma línea de razonamiento, tal vez lo que hayamos visto esté de alguna forma relacionado con algún grado de regeneración de cardiomiocitos, reestableciendo su capacidad de producir BNP, a pesar de la mejoría clínica parcial. Sin embargo, no podemos excluir la posibilidad de la regeneración de otros componentes celulares que hayan contribuido para ese hecho³⁵.

Se conoce que la inflamación tiene un papel principal en la patogénesis de la EC⁸. Pero en nuestro estudio, los biomarcadores inflamatorios no indicaron alteración en la respuesta al TCMO. Ese hallazgo indica que la terapia celular no surtió efecto sobre los mecanismos de inflamación o

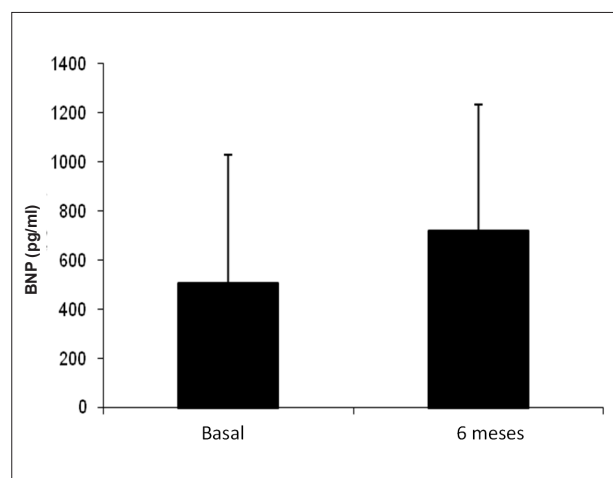


Fig. 6 - Niveles de BNP antes y después de 6 meses de tratamiento con CMO (Wilcoxon, $p = 0,003$).

que otras fuentes de hiperproducción de esas sustancias no se afectan por la técnica utilizada. Es interesante registrar, también, que los niveles de MMP-2 aumentaron después del TCMO, lo que puede correlacionarse con el aumento del recambio (*turnover*) del colágeno^{36,37}.

Considerando las características del presente estudio pionero de fase 1, la eficiencia del procedimiento debe ser evaluada dentro de una visión más adecuada, y lo ideal es que incluya a un grupo controlado por placebo para fines de comparación.

De cualquier manera, hemos demostrado en seres humanos con IC avanzada causada por Enfermedad de Chagas, el uso potencial de una nueva forma de terapia que necesita ser confirmada por medio de observaciones futuras³⁸.

Agradecimientos

A los autores les gustaría agradecer el importante aporte de Cristiane Carvalho y de Aline Bernardes del Hospital Santa Isabel, y Daniele Brustollim del Centro de Investigación

Gonçalo Moniz, por su valiosa ayuda en la selección de los pacientes, en la recolección de los datos y en el manejo de las muestras biológicas.

Potencial Conflicto de Intereses

Declaro no haber conflicto de intereses pertinentes.

Fuentes de Financiación

El estudio contó con la financiación de las siguientes instituciones: Fundación de Amparo a la Investigación del Estado de Bahía (FAPESB); Financiadora de Estudios y Proyectos (FINEP), Consejo Nacional de Investigación (CNPq), y el Instituto del Milenio de Bioingeniería Tisular (IMBT).

Vinculación Académica

No hay vinculación de este estudio a programas de postgrado.

Referencias

- Dias JC, Silveira AC, Schofield CJ. The impact of Chagas disease control in Latin America: a review. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2002;97(5):603-12.
- Workshop on epidemiology and social determining factors of Chagas disease: basic information for surveillance and control policy in Latin America-- introduction, regional context, precedings, and recommendations. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2007;102(Suppl.1):5-10.
- Shulman IA, Appleman MD, Saxena S, Hiti AL, Kirchhoff LV. Specific antibodies to *Trypanosoma cruzi* among blood donors in Los Angeles, California. *Transfusion*. 1997;37(7):727-31.
- Marin-Neto JA, Cunha-Neto E, Maciel BC, Simoes MV. Pathogenesis of chronic Chagas heart disease. *Circulation*. 2007;115(9):1109-23.
- Pinto Dias JC. The treatment of Chagas disease (South American trypanosomiasis). *Ann Intern Med*. 2006;144(10):772-4.
- Rassi AJr, Rassi A, Little WC, Xavier SS, Rassi SG, Rassi AG, et al. Development and validation of a risk score for predicting death in Chagas' heart disease. *N Engl J Med*. 2006;355(8):799-808.
- Soares MBP, Pontes-de-Carvalho L, Ribeiro-dos-Santos R. The pathogenesis of Chagas' disease: when autoimmune and parasite-specific immune responses meet. *An Acad Bras Cienc*. 2001;73(4):547-59.
- Andrade ZA, Andrade SG, Correa R, Sadigursky M, Ferrans VJ. Myocardial changes in acute *Trypanosoma cruzi* infection: ultrastructural evidence of immune damage and the role of microangiopathy. *Am J Pathol*. 1994;144(6):1403-11.
- Ribeiro-Dos-Santos R, Mengel JO, Postol E, Soares RA, Ferreira-Fernandez E, Soares MB, et al. A heart-specific CD4+ T-cell line obtained from a chronic chagasic mouse induces carditis in heart-immunized mice and rejection of normal heart transplants in the absence of *Trypanosoma cruzi*. *Parasite Immunol*. 2001;23(2):93-101.
- García S, Ramos CO, Senra JF, Vilas-Boas F, Rodrigues MM, Campos-de-Carvalho AC, et al. Treatment with benznidazole during the chronic phase of experimental Chagas' disease decreases cardiac alterations. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49(4):1521-8.
- Rassi AJr, Rassi A, Rassi SG. Predictors of mortality in chronic Chagas disease: a systematic review of observational studies. *Circulation*. 2007;115(9):1101-8.
- Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Jakoniuk I, Anderson SM, Li B, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature*. 2001;410(6829):701-15.
- Perin EC, Dohmann HF, Borojevic R, Silva SA, Sousa AL, Mesquita CT, et al. Transendocardial, autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic ischemic heart failure. *Circulation*. 2003;107(18):2294-302.
- Dimmeler S, Burchfield J, Zeiher AM. Cell-based therapy of myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008;28(2):208-16.
- Soares MB, Lima RS, Rocha LL, Takyia CM, Pontes-de-Carvalho L, de Carvalho AC, et al. Transplanted bone marrow cells repair heart tissue and reduce myocarditis in chronic chagasic mice. *Am J Pathol*. 2004;164(2):441-7.
- Guarita-Souza LC, Carvalho KAT, Woitowicz V, Rebelatto C, Senegaglia A, Hansen P, et al. Simultaneous autologous transplantation of cocultured mesenchymal stem cells and skeletal myoblasts improves ventricular function in a murine model of Chagas disease. *Circulation*. 2006;114(1 Suppl.):1-120-4.
- Leri A, Kajstura J, Anversa P, Frishman WH. Myocardial regeneration and stem cell repair. *Curr Probl Cardiol*. 2008;33(3):91-153.
- Vilas-Boas F, Feitosa GS, Soares MB, Mota A, Pinho Filho JA, Almeida AJ, et al. Early results of bone marrow cell transplantation to the myocardium of patients with heart failure due to Chagas disease. *Arq Bras Cardiol*. 2006;87(2):159-66.
- Leri A, Kajstura J, Anversa P. Bone marrow cells and cardiac repair. *Arq Bras Cardiol*. 2006;87(2):71-2.
- Rector TS, Kubo SK, Cohn JN. Patient's self-assessment of their congestive heart failure, II: content, reliability and validity of a new measure, The Minnesota Living with Heart Failure Questionnaire. *Heart Fail*. 1987;3:198-209.
- Bittner V, Weiner DH, Yusuf S, Rogers WJ, McIntyre KM, Bangdiwala SI, et al. Prediction of mortality and morbidity with a 6-minute walk test in patients with left ventricular dysfunction. *JAMA*. 1993;270(14):1702-7.
- Schiller NB, Shah PM, Crawford M, DeMaria A, Devereux R, Feigenbaum H, et al. Recommendations for quantitation of the left ventricle by two-dimensional echocardiography: American Society of Echocardiography Committee on Standards. Subcommittee on Quantitation of Two-Dimensional Echocardiograms. *J Am Soc Echocardiogr*. 1989;2(5):358-67.
- Murry CE, Wiseman RW, Schwartz SM, Hauschka SD. Skeletal myoblast transplantation for repair of myocardial necrosis. *J Clin Invest*. 1996;98(11):2512-23.
- Menasche P, Hagege AA, Vilquin JT, Desnos M, Abergel E, Pouzet B, et al. Autologous skeletal myoblast transplantation for severe postinfarction left ventricular dysfunction. *J Am Coll Cardiol*. 2003;41(7):1078-83.

Artículo Original

25. Lipinski MJ, Biondi-Zoccai GC, Abbate A, Khianey R, Sheiban I, Bartunek J, et al. Impact of intracoronary cell therapy on left ventricular function in the setting of acute myocardial infarction: a collaborative systematic review and meta-analysis of controlled clinical trials. *J Am Coll Cardiol*. 2007;50(18):1761-7.
26. Abdel-Latif A, Bolli R, Tleyjeh IM, Montori VM, Perin EC, Hornung CA, et al. Adult bone marrow-derived cells for cardiac repair: a systematic review and meta-analysis. *Arch Intern Med*. 2007;167(10):989-97.
27. Balsam LB, Wagers AJ, Christensen JL, Kofidis T, Weissman IL, Robbins RC. Haematopoietic stem cells adopt mature haematopoietic fates in ischaemic myocardium. *Nature*. 2004;428(6983):668-73.
28. Murry CE, Soonpaa MH, Reinecke H, Nakajima H, Nakajima HO, Rubart M, et al. Haematopoietic stem cells do not transdifferentiate into cardiac myocytes in myocardial infarcts. *Nature*. 2004;428(6983):664-8.
29. Gnecci M, He H, Liang OD, Melo LG, Morello F, Mu H, et al. Paracrine action accounts for marked protection of ischemic heart by Akt-modified mesenchymal stem cells. *Nat Med*. 2005;11(4):367-8.
30. Packer M, Medina N, Yushak M. Correction of dilutional hyponatremia in severe chronic heart failure by converting-enzyme inhibition. *Ann Intern Med*. 1984;100(6):782-9.
31. Gheorghide M, Rossi JS, Cotts W, Shin DD, Hellkamp AS, Piña IL, et al. Characterization and prognostic value of persistent hyponatremia in patients with severe heart failure in the ESCAPE Trial. *Arch Intern Med*. 2007;167(18):1998-2005.
32. McCullough PA, Nowak RM, McCord J, Hollander JE, Herrmann HC, Steg PG, et al. B-type natriuretic peptide and clinical judgment in emergency diagnosis of heart failure: analysis from Breathing Not Properly (BNP) Multinational Study. *Circulation*. 2002;106(4):416-22.
33. Vilas-Boas F, Feitosa GS, Soares MB, Pinho-Filho JA, Nascimento T, Barojas MM, et al. Invasive and noninvasive correlations of B-type natriuretic peptide in patients with heart failure due to Chagas cardiomyopathy. *Congest Heart Fail*. 2008;14(3):121-6.
34. Miller WL, Hartman KA, Burritt MF, Burnett JC Jr, Jaffe AS. Troponin, B-type natriuretic peptides and outcomes in severe heart failure: differences between ischemic and dilated cardiomyopathies. *Clin Cardiol*. 2007;30(5):245-50.
35. Bruggink AH, de Jonge N, van Oosterhout MF, Van Wichen DF, de Koning E, Lahpor JR, et al. Brain natriuretic peptide is produced both by cardiomyocytes and cells infiltrating the heart in patients with severe heart failure supported by a left ventricular assist device. *J Heart Lung Transplant*. 2006;25(2):174-80.
36. Fielitz J, Leuschner M, Zurbrugg HR, Hannack B, Pregla R, Hetzer R, et al. Regulation of matrix metalloproteinases and their inhibitors in the left ventricular myocardium of patients with aortic stenosis. *J Mol Med*. 2004;82(12):809-20.
37. Martos R, Baugh J, Ledwidge M, O'Loughlin C, Conlon C, Patle A, et al. Diastolic heart failure: evidence of increased myocardial collagen turnover linked to diastolic dysfunction. *Circulation*. 2007;115(7):888-95.
38. Tura BR, Martino HF, Gowdak LH, dos Santos RR, Dohmann HF, Krieger JE, et al. Multicenter randomized trial of cell therapy in cardiopathies - MiHeart Study. *Trials*. 2007;8:2.