

## Injeção Intracoronariana de Células Tronco após Infarto do Miocárdio. Subestudo da Microcirculação

*Intracoronary Stem-cell Injection after Myocardial Infarction: Microcirculation Sub-study*

Rodrigo de Carvalho Moreira, Andréa Ferreira Haddad, Suzana Alves Silva, André Luiz Silveira Souza, Fábio Antônio Abrantes Tuche, Mônica Amorim de Oliveira, Cláudio Tinoco Mesquita, Carlos Eduardo Rochitte, Radovan Borojevic, Hans Fernando Rocha Dohmann

Hospital Pro-Cardíaco<sup>1</sup>, Botafogo; Secretaria Municipal de Saúde e Defesa Civil do Rio de Janeiro<sup>2</sup>, Cidade Nova; Excellion - Serviços Biomédicos AS<sup>3</sup>, Petrópolis, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

### Resumo

**Fundamento:** A injeção de células-tronco no contexto do infarto agudo do miocárdio (IAM) tem sido testada quase exclusivamente pela via anterógrada intra-arterial coronariana (IAC). A via retrógrada intravenosa coronariana (IVC) pode ser uma via adicional.

**Objetivo:** Comparar o padrão de distribuição e retenção celular nas vias anterógrada e retrógrada. Investigar o papel da obstrução microvascular pela ressonância magnética na retenção de células pelo tecido cardíaco após a injeção de células mononucleares da medula óssea (CMMO) no IAM.

**Métodos:** Estudo prospectivo, aberto, randomizado. Foram incluídos pacientes com IAM que apresentassem: (1) reperfusão mecânica ou química com sucesso em até 24 horas do início dos sintomas e (2) infarto acometendo mais de 10% da área do ventrículo esquerdo (VE) pela cintilografia miocárdica. Cem milhões de CMMO foram injetadas na artéria relacionada ao infarto pela via IAC ou veia, pela via IVC. Um por cento das células injetadas foi marcado com Tc<sup>99m</sup>-hexametil-propileno-amina-oxima (<sup>99m</sup>Tc-HMPAO). A distribuição das células foi avaliada 4 e 24 horas após a injeção da cintilografia miocárdica. Ressonância magnética cardíaca foi realizada antes da injeção de células.

**Resultados:** Trinta pacientes foram distribuídos aleatoriamente em três grupos. Não houve eventos adversos graves relacionados ao procedimento. A retenção precoce e tardia das células marcadas foi maior no grupo IAC do que no grupo IVC, independentemente da presença de obstrução da microcirculação.

**Conclusão:** A injeção pela abordagem retrógrada mostrou-se viável e segura. A retenção de células pelo tecido cardíaco foi maior pela via anterógrada. Mais estudos são necessários para confirmar esses achados. (Arq Bras Cardiol 2011;97(5):420-426)

**Palavras-chave:** Infarto do miocárdio/terapia, transplante autólogo, células da medula óssea, transplante de célula tronco/método.

### Abstract

**Background:** The injection of stem cells in the context of acute myocardial infarction (AMI) has been tested almost exclusively by anterograde intra-arterial coronary (IAC) delivery. The retrograde intravenous coronary (IVC) delivery may be an additional route.

**Objective:** To compare the cell distribution and retention pattern in the anterograde and retrograde routes. To investigate the role of microvascular obstruction by magnetic resonance imaging in cell retention by cardiac tissue after the injection of bone marrow mononuclear cells (BMMC) in AMI.

**Methods:** This was a prospective, open label, randomized study. Patients with AMI who presented: (1) successful chemical or mechanical reperfusion within 24 hours of symptom onset and (2) infarction involving more than 10% of the left ventricle (LV) at the myocardial scintigraphy were included in the study. One hundred million BMMC were injected into the infarction-related artery through IAC route, or vein through the IVC route. One percent of the injected cells were labeled with <sup>99m</sup>Tc-hexamethyl-propylene-amine-oxime (<sup>99m</sup>Tc-HMPAO). Cell distribution was evaluated at 4 and 24 hours after the myocardial scintigraphy injection. Cardiac magnetic resonance imaging was performed before cell injection.

**Results:** Thirty patients were randomized into three groups. There were no serious adverse events related to the procedure. The early and late retention of labeled cells was higher in the IAC group than in IVC group, regardless of the presence of microcirculation obstruction.

**Conclusion:** The injection using the retrograde approach was feasible and safe. Cell retention by cardiac tissue was higher using the anterograde approach. More studies are needed to confirm these findings. (Arq Bras Cardiol 2011;97(5):420-426)

**Keywords:** Myocardial infarction/therapy; transplantation, autologous; bone marrow cells; stem cell transplantation/method.

Full texts in English - <http://www.arquivosonline.com.br>

Correspondência: Rodrigo de Carvalho Moreira •

Praia do Flamengo, Flamengo – 22210030 - Rio de Janeiro – RJ - Brasil  
E-mail: rodrigom@cardiol.br

Artigo recebido em 22/02/11; revisado recebido em 05/05/11; aceito em 13/06/11.

## Introdução

O dano microvascular causado por injúria da isquemia-reperusão e implante de Stents resulta em espasmo, embolização de debris, radicais livres, células inflamatórias e necróticas, além de trombo nas porções distais da artéria relacionada ao infarto<sup>1</sup>. No início dos anos 1990, demonstrou-se que um número significativo de pacientes com IAM apresentava defeitos na perfusão em nível tecidual, apesar de um fluxo TIMI normal após a revascularização da artéria relacionada ao infarto. Desde então, diversos estudos apontaram que a presença de obstrução microvascular (OMV) está associada a maior mortalidade e pior prognóstico após o IAM<sup>2-4</sup>. Estima-se que 30% dos pacientes submetidos à reperusão apresentam obstrução microvascular. Isso é particularmente importante porque Janssens e cols.<sup>5</sup> observaram que metade dos pacientes submetidos a transplante autólogo de células-tronco após IAM apresentava padrão de obstrução microvascular pela ressonância cardíaca, o que pode ter prejudicado a migração das células para o tecido do coração e, conseqüentemente, a melhora da função cardíaca. Pouco se sabe sobre a abordagem percutânea retrógrada pela veia coronária, embora essa rota se tenha mostrado uma forma eficaz de se fornecer células em modelos animais e humanos<sup>6-8</sup>. Supomos que a abordagem por via venosa coronariana pode superar o problema da OMV, porque a diapedese das células circulantes no tecido cardíaco adjacente ocorre no lado venoso da microcirculação<sup>9</sup>. Os principais objetivos deste subestudo são: 1) comparar o padrão de distribuição e a retenção celular na via anterógrada intra-arterial coronariana (IAC), com a via retrógrada intravenosa coronariana (IVC) e 2) investigar o papel da obstrução microvascular detectada pela ressonância magnética na retenção de células pelo tecido cardíaco no transplante autólogo de CMMO, após o IAM. Usamos células radiomarcadas, a fim de avaliar seu padrão de distribuição no coração, uma vez injetadas.

## Métodos

Entre 3 de janeiro de 2005 e 6 de janeiro de 2006, pacientes internados no Hospital Pró-Cardíaco e no Hospital Municipal Miguel Couto (Rio de Janeiro) foram selecionados para inclusão no estudo se tivessem entre 18 e 80 anos e IAM. Os pacientes selecionados no Hospital Miguel Couto foram transferidos para o Hospital Pró-Cardíaco, onde todos os procedimentos relacionados ao estudo foram realizados. Os pacientes foram incluídos se tivessem: 1) IAM com supradesnível do segmento ST, definido como presença de dor torácica, acompanhado de supradesnível do segmento ST em duas ou mais derivações contíguas de uma parede e também de elevação enzimática, reperfundidos de forma bem-sucedida com tratamento trombolítico ou angioplastia primária até 24 horas após o início dos sintomas, e 2) defeito fixo de perfusão superior a 10% da massa do VE após 72 horas na tomografia por emissão de fóton (SPECT) com tecnécio 99m metoxi-isobutil-isonitrila (99mTc-MIBI) e nitrato sublingual. Os critérios de exclusão foram: 1) indicação de cirurgia de revascularização miocárdica; 2) Nível de creatinina > 2,0 mg/dl ou hemodiálise; 3) artéria coronária relacionada

a infarto com fluxo TIMI < 3 até o momento da injeção de células; 4) sepse; 5) choque cardiogênico persistente após 72 horas; 6) doença valvar significativa, definida como estenose aórtica com gradiente VE/Ao > 50 mmHg, Estenose mitral com área valvar inferior a 1,5 cm<sup>2</sup> ou regurgitações aórtica e/ou mitral superiores a moderadas; 7) complicações mecânicas do IAM (ruptura miocárdica de septo interventricular e da parede livre do VE, ruptura de músculo papilar); 8) insuficiência hepática; 9) doença pulmonar grave (DPOC em uso contínuo de esteroides ou broncodilatadores); 10) bloqueio de ramo esquerdo completo ou ritmo de marca-passo (a imagem por SPECT no septo interventricular fica comprometida); 11) marca-passo implantado; 12) doenças hematológicas; 13) neoplasia; 14) outras desordens de hemostasia e outras doenças que pudessem ter impacto na expectativa de vida.

O Comitê de Ética do Hospital Pró-Cardíaco (Rio de Janeiro) e o do Conselho Nacional de Ética e Pesquisa com Seres Humanos (CONEP) (Brasília) aprovaram o protocolo. Obteve-se consentimento informado de todos os pacientes.

## Desenho do Estudo e Randomização

Este foi um estudo aberto, randomizado, de uma série de pacientes consecutivos. Entre o terceiro e o sexto dia após a reperusão bem-sucedida da artéria relacionada ao infarto, os pacientes incluídos foram divididos aleatoriamente em um dos três grupos: abordagem IAC anterógrada, abordagem IVC retrógrada e controle. A randomização foi estratificada de acordo com o tamanho do infarto ( $\geq 25\%$  ou  $< 25\%$ ), quantificado pela cintilografia miocárdica de repouso com nitrato sublingual, utilizando-se o “Quantitative Spect Perfusion” em três estratos de tamanhos diferentes (7, 5 e 3, respectivamente), com o emprego de envelopes selados.

## Coleta e Isolamento de CMMO

Cerca de 80 ml de medula óssea autóloga foram aspirados da crista ílica posterior de pacientes randomizados para um dos dois grupos tratados. O procedimento foi realizado sob anestesia local cerca de 6 horas antes do horário programado para o procedimento de injeção. O material foi enviado à equipe da Universidade Federal do Rio de Janeiro para manipulação. As células foram isoladas por centrifugação em gradiente de densidade Ficoll-Paque Plus (Amersham Biosciences, São Paulo, Brasil) e manipuladas em condições assépticas. Também foram lavadas e resuspenas com solução salina contendo albumina humana a 5% e, finalmente, filtradas por uma malha de nylon de 100 microns para a remoção dos agregados celulares. Uma pequena fração de suspensão celular foi usada para contagem de células e controle de viabilidade utilizando-se o teste de exclusão pelo azul de tripan. A viabilidade celular foi > 90% em todos os indivíduos (93,26%  $\pm$  2,9).

## Técnicas de Liberação das CMMO

A injeção de CMMO foi realizada 8,5  $\pm$  1,44 horas após a coleta de células de medula óssea. Os acessos arteriais foram realizados pela via femoral ou radial. Todos os pacientes receberam 10.000 UI de heparina não fracionada após a inserção do introdutor. A intervenção em vasos não

relacionados ao infarto, mas que possuíam indicação de tratamento percutâneo, foi realizada antes da transferência de células em três pacientes do grupo IAC e em um paciente do grupo IVC. Eletrocardiograma, oximetria de pulso, sinais vitais e sintomas clínicos foram monitorados durante todo o processo.

Angiografia coronariana foi realizada em ambos os grupos de injeção IAC e IVC (GE Medical System, Advantx LCV plus, WI). Um cateter guia de 6-F foi, então, colocado no óstio da artéria coronária relacionada ao infarto, a fim de confirmar a patência do vaso-alvo e avaliar o fluxo sanguíneo coronário (TIMI 3) antes da injeção de células.

No grupo ICA, um cateter balão over-the-wire (OTW) (Maverick® Over-The-Wire balloon, Boston Scientific, Natick, MA), com diâmetro 0,5 mm maior do que o Stent implantado, foi posicionado no interior do Stent previamente colocado no vaso responsável, a fim de interromper transitariamente o fluxo sanguíneo anterógrado durante as infusões pela técnica de *stop-flow*<sup>10</sup>. Dez mililitros de solução contendo 100 milhões de CMMO autólogas foram infundidos pelo lúmen central do cateter balão durante três oclusões coronarianas consecutivas, com duração de 2-3 minutos cada, seguindo-se 2 minutos de deflação do balão. Um mililitro de solução contendo células marcadas (veja a seguir) foi diluído em 3 ml de solução salina e infundida na ICA como uma solução final, usando-se a mesma técnica descrita.

No grupo IVC, o acesso da veia jugular interna direita foi utilizado para posicionar cateteres guia de 5 ou 6 Fr JR ou polivalentes no seio coronário, além do acesso arterial. O mesmo tipo de cateter balão OTW (Maverick® *Over-The-Wire balloon*), variando de 3,5-4,0 × 9,0 mm de tamanho foi então avançado pela veia cardíaca correspondente ao vaso culpado e posicionado lado a lado com o balão na artéria coronária, no Stent previamente implantado. A oclusão total da veia cardíaca foi, então, executada e mantida por pelo menos 12 minutos. Quatro oclusões intermitentes das artérias coronárias foram realizadas simultaneamente, visando à redução da lavagem das células pela pressão de fluxo anterógrado. Um mililitro de células marcadas (veja a seguir) foi diluído na solução contendo 100 milhões de células mononucleares. Durante a primeira insuflação para parada do fluxo anterógrado, 11 ml da solução final de células foram infundidos pelo lúmen central do cateter balão venoso durante um minuto<sup>11</sup>.

No final de todos os procedimentos, foi realizada uma angiografia coronária como controle, a fim de verificar o TIMI frame count pré- e pós-ATC e a transferência de células. ECG e enzimas cardíacas seriadas foram feitos antes e após a transferência celular.

### Marcação das CMMO

Em 12 pacientes do grupo ICA e seis do grupo IVC, cerca de 40 minutos antes da injeção, uma fração de células (1% das  $10^8$  células) foi incubada em condições estéreis em um tubo de 10 ml com 150 MBq de  $^{99m}\text{Tc}$ -hexametil-propilenoamina-oxima (HMPAO) (Amersham Biosciences, Piscataway, NJ) por  $10^7$  células, durante 30 minutos, em uma solução salina contendo 2,5% de albumina humana.

A eficiência da marcação foi estimada após a remoção do excesso de radioatividade não ligada por lavagem das células

com a solução salina com 2,5% de albumina humana. A radioatividade foi medida com um calibrador de dose (PTW Curielementor 2, Freiburg, Alemanha). A viabilidade das células foi avaliada pela exclusão com azul de tripano.

Células marcadas com  $^{99m}\text{Tc}$ -HMPAO foram injetadas na forma descrita. A distribuição nos tecidos foi observada com imagens precoces e tardias de corpo total em projeções anterior e posterior, com  $1024 \times 256$  pixels e 12 cm/min.

Para a localização topográfica das células no coração, imagens da tomografia de tórax foram adquiridas com um protocolo semelhante ao usado para imagens de perfusão miocárdica, 64 projeções de 20 segundos cada, com resolução de  $64 \times 64$  pixels. As imagens foram reconstruídas com filtro Butterworth, usando-se o software e-Soft 3,0 n (Cedars, Sinai, QGS e Emory Cardiac Toolbox), e comparadas com as outras adquiridas por tomografia de perfusão. Todas as imagens foram adquiridas em uma gama câmara dual head (Ecam-Duet, a Siemens Medical Systems Inc, IL). Imagens planar e SPECT foram obtidas em 4 horas ( $3,67 \pm 1,03$ ) e 24 horas ( $22,8 \pm 4,46$ ) após a injeção em todos os pacientes. Retenção foi definida como a porcentagem do número de contagens nas projeções anterior e posterior do coração (contagens cardíaca), em relação ao número total de contagens de células marcadas no corpo (corpo), em ambas as imagens precoces e tardias. A taxa de decaimento foi calculada pela seguinte equação: [precoce (contagem cardíaca/contagem de corpos) – tardia (contagens cardíaca/contagem de corpos)]  $\times$  100/precoce (contagens cardíaca/contagem de corpos). A taxa de “Decaimento” por hora foi calculada dividindo-se a taxa de Decaimento pelo intervalo entre a retenção de imagens precoces e tardias.

### Ressonância Magnética Cardíaca

Ressonância magnética cardíaca (RM) foi realizada 3-5 dias após a reperfusão. Todos os estudos foram realizados com o software de RM comercialmente disponível (GE Healthcare Milwaukee, WI, EUA), como descrito anteriormente<sup>12</sup>. Resumidamente, a obstrução microvascular (OMV) foi definida em imagens de realce tardio tomadas precocemente (dentro de 2-5 minutos) após a injeção de 0,20 mmol/kg de gadopentetato de dimeglumina (Gd-DTPA), no corte transversal e longitudinal do VE na mesma localização utilizada para a cine-RM como uma zona escura, subendocárdica na área do infarto (Figura 1). Definimos área de infarto como uma zona de sinal luminoso em imagens de realce tardio (10-20 minutos após a injeção de contraste) nas sequências inversão-recuperação e gradiente-eco. Todos os estudos de RM foram analisados em uma estação de trabalho off-line.

### Análise Estatística

Todos os exames de imagem foram analisados por um observador experiente e independente que desconhecia a alocação dos pacientes nos grupos durante o estudo.

As variáveis contínuas são apresentados como média  $\pm$  DP (salvo indicação em contrário). As variáveis categóricas foram comparadas pelo teste exato de Fisher, enquanto as variáveis contínuas foram comparadas pelo teste de Kruskal-Wallis.

A rejeição da hipótese zero baseou-se em significância de 5%, valor de  $p < 0,05$ . Todos os P-valores relatados são bicaudais. A análise estatística foi realizada com o SPSS (versão 13.0, SPSS Inc.).

## Resultados

Trinta pacientes foram incluídos no estudo: 14 no grupo do IAC, 10 no grupo do IVC e 6 no grupo-controle. Não houve diferença significativa nos parâmetros demográficos entre os grupos estudados (Tabela 1). O período entre o IAM e a injeção de células foi de  $5,5 \pm 1,3$  dias e  $6,1 \pm 1,4$  dias no IAC e grupos IVC ( $p = 0,14$ ), respectivamente.

As injeções nos grupos IAC e IVC foram realizadas com êxito em todos os pacientes, exceto em um caso no grupo IVC, devido à tortuosidade da veia interventricular anterior. A distribuição de células marcadas com  $^{99m}\text{Tc}$ -HMPAO nos tecidos foi observada no fígado, pulmões, baço e em outros órgãos além do coração (Figura 2). Neste último tecido, a retenção de células ocorreu na maioria dos casos, precisamente na área infartada definida pelo déficit perfusional. Nas imagens cintilográficas com 4 horas após a injeção de CMMO, uma média de 16,14% e de 4,62% das células reteve-se no coração quando comparadas as vias IAC e IVC, respectivamente ( $p = 0,01$ ). Com 24 horas, esse percentual decaiu para 10,29 no grupo IAC e 3,13% no grupo IVC (Gráfico 1).

A Obstrução Microvascular (OMV) foi observada em 50% do grupo IAC e em 60% do grupo do IVC. Não houve diferença na retenção de células pelo tecido cardíaco em relação à presença de OMV dentro dos grupos (Gráfico 2).

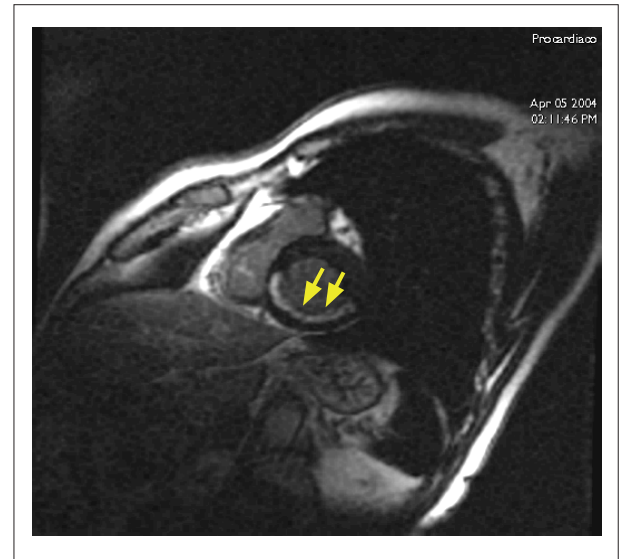


Fig. 1 - Corte transversal do VE na RM cardíaca realizada 3-5 dias após a reperfusão, demonstrando presença de OMV (setas).

Tabela 1 - Dados demográficos

| Grupos                                       | Controle        | Intra-arterial   | Intravenoso     |
|--|-----------------|------------------|-----------------|
| N  | 6               | 14               | 10              |
| Idade (anos)                                 | $57,2 \pm 10,8$ | $59,7 \pm 14,3$  | $53,6 \pm 8,3$  |
| Índice de Massa Corporal                     | $26,8 \pm 4,9$  | $25 \pm 3,5$     | $28,6 \pm 4,0$  |
| Masculino (%)                                | 4 (67%)         | 10 (71%)         | 7 (70%)         |
| Diabetes (%)                                 | 0               | 3 (21%)          | 1 (10%)         |
| Dislipidemia (%)                             | 1 (17%)         | 6 (43%)          | 5 (50%)         |
| Hipertensão (%)                              | 2 (33%)         | 11 (79%)         | 6 (60%)         |
| Tabagismo (%)                                | 1 (17%)         | 8 (57%)          | 2 (20%)         |
| História Familiar de DAC (%)                 | 0               | 2 (14%)          | 3 (30%)         |
| IAM Prévio (%)                               | 0               | 2 (14%)          | 0               |
| DR Basal (%)                                 | $29,5 \pm 16,6$ | $25,93 \pm 14,1$ | $35,4 \pm 9,31$ |
| <b>Artéria Coronária Relacionada ao IAM</b>  |                 |                  |                 |
| Descendente Anterior (%)                     | 5 (83%)         | 7 (50%)          | 8 (80%)         |
| Coronária Direita (%)                        | 1 (17%)         | 6 (43%)          | 1 (10%)         |
| Circunflexa (%)                              | 0               | 1 (7%)           | 1 (10%)         |
| <b>ATC</b>                                   |                 |                  |                 |
| Angioplastia Primária (IAM $\leq$ 12h) (%)   | 1 (17%)         | 4 (29%)          | 2 (20%)         |
| Angioplastia Tardia (IAM $>$ 12h) (%)        | 3 (50%)         | 3 (21%)          | 2 (20%)         |
| Angioplastia Pós-trombólise (IAM $>$ 6h) (%) | 2 (33%)         | 7 (50%)          | 6 (60%)         |

DAC - doença arterial coronariana; DR - Defeito em repouso; IAM - infarto agudo do miocárdio; ATC - angioplastia transluminal percutânea.

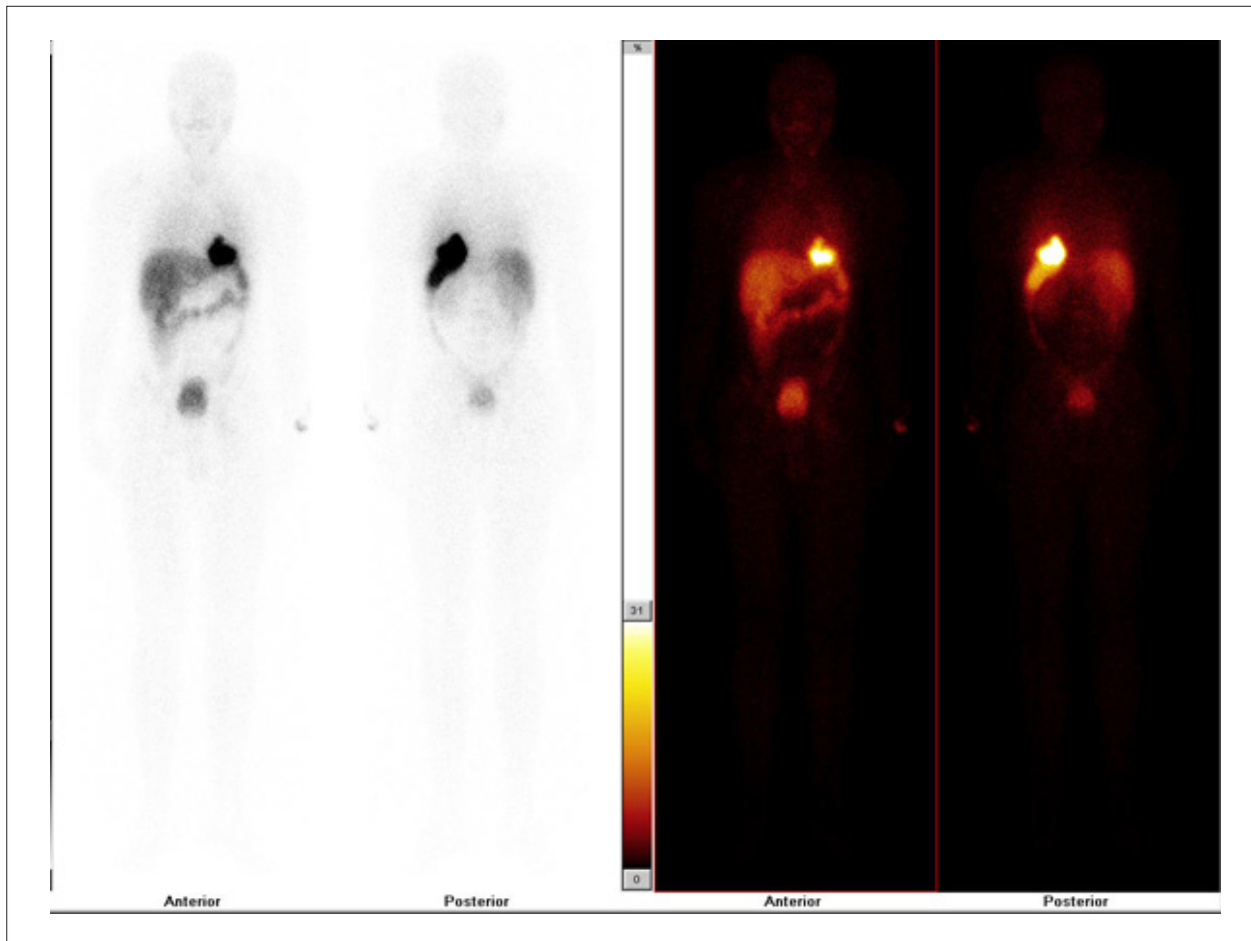


Fig. 2 - Cintilografia de corpo total em projeção anterior e posterior, com CMMO marcadas com  $^{99m}\text{Tc}$ -HMPAO, demonstrando a distribuição dessas células em coração, pulmão e órgãos hematopoiéticos.

## Discussão

Os achados deste estudo demonstram que, embora as vias anterógrada e retrógrada se tenham mostrado viáveis e seguras, a liberação de células no miocárdio infartado mostrou-se mais eficaz com a primeira técnica, em termos de número de células retidas pelo tecido cardíaco, e a obstrução da microcirculação não interferiu no número de células retidas no miocárdio infartado em cada grupo estudado, pela cintilografia miocárdica.

Na maioria dos estudos de terapia com células-tronco autólogas para o tratamento do IAM, a fração de CMMO foi injetada pela artéria relacionada ao infarto após a reperfusão, com o objetivo de alcançar a área de miocárdio que foi diretamente afetada pela interrupção da circulação sanguínea. Essa abordagem anterógrada tem-se mostrado viável e segura. No entanto, a circulação sanguínea na área de infarto pode ser gravemente afetada, dificultando o potencial acesso das células injetadas na área em que elas são necessárias para a reparação tecidual. Portanto, a abordagem retrógrada alternativa intravenosa proposta é viável e segura, mas tem sido menos utilizada para a entrega de células-tronco. Uma comparação entre essas duas técnicas foi necessária para se avaliar se eventual presença de micro-obstrução vascular dificultando o acesso das CMMO ao tecido danificado faria da via retrógrada melhor opção de liberação dessas células.

Nosso grupo publicou uma descrição do primeiro paciente desta série<sup>13</sup>. Uma característica importante das vias estudadas foi a grande presença de células marcadas para outros órgãos como pulmões, provavelmente pelo efeito de primeira passagem em órgãos relacionados com a hematopoiese e a linfopoiese, como fígado e baço. Achados estavam presentes também em estudos pré-clínicos do nosso e de outros grupos<sup>11,14</sup>. O percentual de células retidas precocemente na via IAC (16,14%) é outro dado que nos chama a atenção. Estudos prévios relatam que a taxa de retenção celular pelo miocárdio varia entre 1% a 5% pela via IAC<sup>6,15,16</sup>. Fatores relacionados ao tipo de traçador utilizado e sua meia-vida, tempo para injeção de células e preparo celular podem explicar esses achados. Janssens e cols.<sup>5</sup> realizaram procedimentos de injeção 24 horas após a reperfusão, enquanto nós realizamos, em média, cinco dias após. Diferenças no preparo das células de medula óssea também podem influenciar a qualidade das células e, portanto, a retenção e o benefício terapêutico. Nós realizamos as injeções de CMMO no mesmo dia após o preparo, 8 horas após a coleta. Outros autores utilizaram diferentes protocolos para isolamento e armazenamento, o que pode ter implicações na migração e na retenção dessas células pelo miocárdio<sup>17</sup>. Este estudo fornece evidência de que a adesão e a retenção de CMMO via injeção IAC no miocárdio infartado são viáveis e seguras, corroborando resultados prévios sobre a

sinalização de mobilização e *homing* de células-tronco pelo tecido lesado, no período de lesão isquêmica aguda<sup>18</sup>. Também mostra que a liberação via IAC mostrou-se mais eficaz em termos de retenção de células no miocárdio do que a abordagem IVC. Essa informação é valiosa, porque uma premissa para o benefício da terapia é o enxerto de células do tecido danificado. Novos estudos em terapias celulares devem melhorar os meios possíveis, com a finalidade de liberar mais células na região atingida pela isquemia. Possivelmente, no futuro, a escolha da via será individualizada, baseada em múltiplos critérios, como, por exemplo, tipo celular, tipo de cardiopatia, gravidade da doença,

comorbidades, contraindicações inerentes ao tipo de via e até mesmo escolha baseada na preferência do paciente.

Este estudo foi planejado para responder a questões de técnicas de liberação e consequente distribuição de células<sup>19</sup>. Seu pequeno tamanho amostral e seu caráter aberto nos impedem de chegar a conclusões definitivas em avaliações de subgrupos<sup>20</sup>. Nós decidimos marcar apenas uma pequena fração de células (1%), a fim de evitar efeitos negativos imprevistos sobre as células, devido à maior radiação total. Essa pequena fração pode não refletir a distribuição de células globalmente. Sob as condições estudadas, a via anterógrada parece apresentar vantagem em relação à

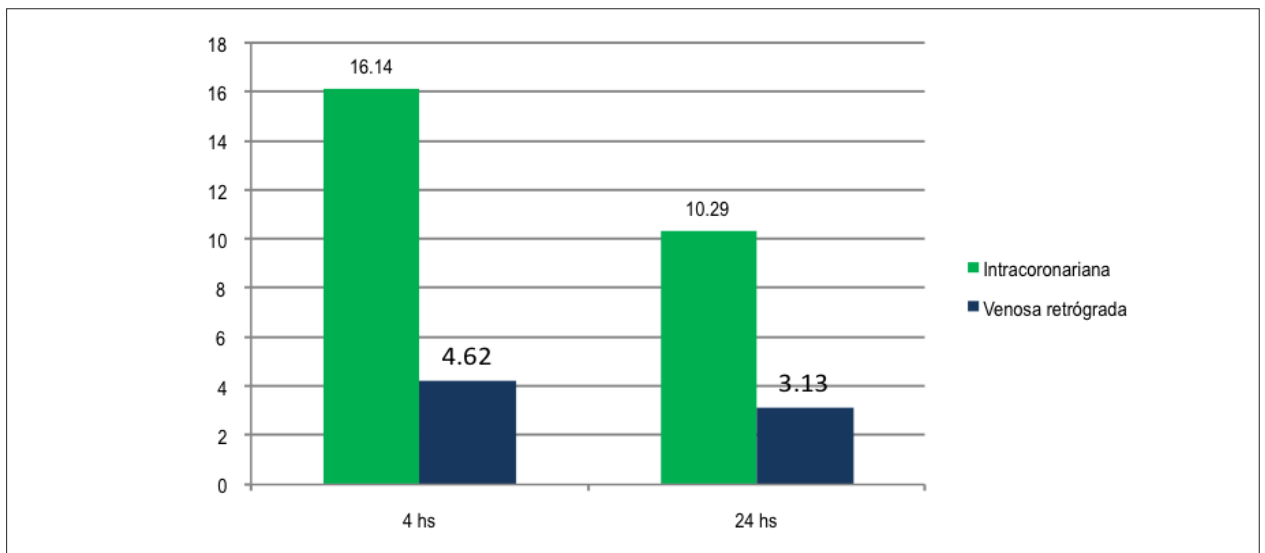


Gráfico 1 - Captação de CMMO marcadas com <sup>99m</sup>Tc- HMPAO pelo miocárdio em relação ao corpo total. Comparação das vias IAC e IVC.

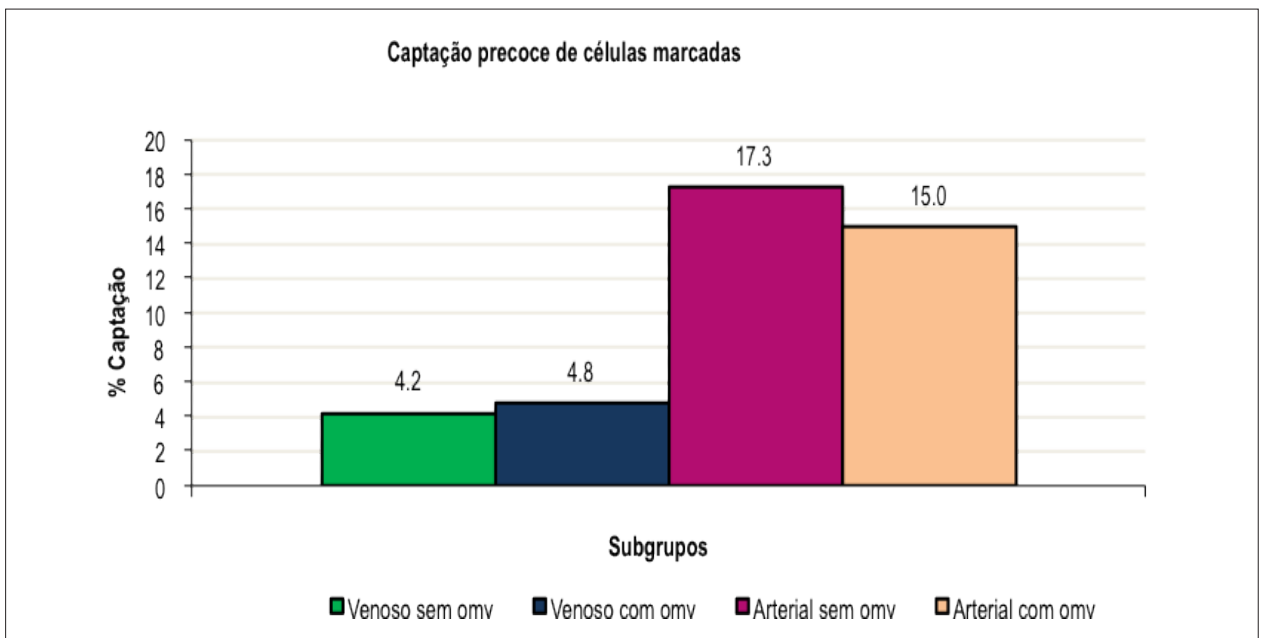


Gráfico 2 - Captação precoce (4h) de CMMO marcadas com <sup>99m</sup>Tc- HMPAO pelo tecido cardíaco. Não houve diferença na retenção de células marcadas comparando-se os grupos IAC ( $p = ns$ ) e IVC ( $p = ns$ ), de acordo com a presença ou ausência de OMV. A retenção foi maior no grupo IAC, independentemente da presença de OMV.

retrógrada, porém mais estudos ainda se fazem necessários, com a introdução de novos parâmetros, como, por exemplo, seleção de células e associação de fatores de crescimento<sup>21,22</sup>.

### Conclusão

A injeção pela abordagem retrógrada demonstrou-se viável e segura. A retenção de células pelo tecido cardíaco foi maior pela via anterógrada. Mais estudos são necessários para confirmar esses achados.

### Agradecimentos

Agradecemos à Jader Cunha de Azevedo do Hospital Pró-Cardíaco pela realização e avaliação das imagens cintilográficas. Vinicio Elia Soares do Hospital Municipal

Miguel Couto pela contribuição no recrutamento de pacientes e Ana Cristina Reis pela realização da parte administrativa e regulatória do estudo

### Potencial Conflito de Interesses

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

### Fontes de Financiamento

O presente estudo não teve fontes de financiamento externas.

### Vinculação Acadêmica

Não há vinculação deste estudo a programas de pós-graduação.

### Referências

1. Sutsch G, Kiowski W, Bossard A, Luscher TF, Maier W, Vogt P, et al. Use of an emboli containment and retrieval system during percutaneous coronary angioplasty in native coronary arteries. *Schweizerische medizinische Wochenschrift*. 2000;130(33):1135-45.
2. Ito H, Maruyama A, Iwakura K, Takiuchi S, Masuyama T, Hori M, et al. Clinical implications of the 'no reflow' phenomenon: a predictor of complications and left ventricular remodeling in reperfused anterior wall myocardial infarction. *Circulation*. 1996;93(2):223-8.
3. Claeys MJ, Bosmans J, Veenstra L, Jorens P, De Raedt H, Vrints CJ. Determinants and prognostic implications of persistent ST-segment elevation after primary angioplasty for acute myocardial infarction: importance of microvascular reperfusion injury on clinical outcome. *Circulation*. 1999;99(15):1972-7.
4. Morishima I, Sone T, Okumura K, Tsuboi H, Kondo J, Mukawa H, et al. Angiographic no-reflow phenomenon as a predictor of adverse long-term outcome in patients treated with percutaneous transluminal coronary angioplasty for first acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2000;36(4):1202-9.
5. Janssens S, Dubois C, Bogaert J, Theunissen K, Deroose C, Desmet W, et al. Autologous bone marrow-derived stem-cell transfer in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: double-blind, randomised controlled trial. *Lancet*. 2006;367(9505):113-21.
6. Hou D, Youssef EA, Brinton TJ, Zhang P, Rogers P, Price ET, et al. Radiolabeled cell distribution after intramyocardial, intracoronary, and interstitial retrograde coronary venous delivery: implications for current clinical trials. *Circulation*. 2005;112(9 Suppl):1150-6.
7. Fearon WF, Ikeno F, Bailey LR, Hiatt BL, Herity NA, Carter AJ, et al. Evaluation of high-pressure retrograde coronary venous delivery of FGF-2 protein. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2004;61(3):422-8.
8. Murad-Netto S, Moura R, Romeo LJM, Manoel Neto A, Duarte N, Barreto F, et al. Terapia de células-tronco no infarto agudo do miocárdio, através de perfusão coronariana retrógrada: uma nova técnica. *Arq Bras Cardiol*. 2004;83(4):349-51.
9. Liu L, Kuberski P. Molecular mechanisms of leukocyte recruitment: organ-specific mechanisms of action. *Thromb Haemost*. 2003;89(2):213-20.
10. Strauer BE, Brehm M, Zeus T, Gattermann N, Hernandez A, Sorg RV, et al. Intracoronary, human autologous stem cell transplantation for myocardial regeneration following myocardial infarction. *Dtsch Med Wochenschr*. 2001;126(34-35):932-8.
11. Samoto VY, Branco ER, Ferreira G. Padrão de distribuição de células mononucleares da medula óssea em tecido cardíaco sadio por diferentes vias de infusão. *Rev Bras Cardiol Invas*. 2009;17(2):220-6.
12. Rochitte CE, Lima JA, Bluemke DA, Reeder SB, McVeigh ER, Furuta T, et al. Magnitude and time course of microvascular obstruction and tissue injury after acute myocardial infarction. *Circulation*. 1998;98(10):1006-14.
13. Mesquita CT, Correa PL, Felix RC, Azevedo JC, Alves S, Oliveira CC, et al. Autologous bone marrow mononuclear cells labeled with Tc-99m hexamethylpropylene amine oxime scintigraphy after intracoronary stem cell therapy in acute myocardial infarction. *J Nucl Cardiol*. 2005;12(5):610-2.
14. Lu M, Zhao S, Liu Q, Jiang S, Song P, Qian H, et al. Transplantation with autologous mesenchymal stem cells after acute myocardial infarction evaluated by magnetic resonance imaging: an experimental study. *J Thorac Imaging*. 2011 Feb 17 [Epub ahead of print].
15. Freyman T, Polin G, Osman H, Cray J, Lu M, Cheng L, et al. A quantitative, randomized study evaluating three methods of mesenchymal stem cell delivery following myocardial infarction. *Eur Heart J*. 2006;27(9):1114-22.
16. Penicka M, Widimsky P, Kobylka P, Kozak T, Lang O. Images in cardiovascular medicine: early tissue distribution of bone marrow mononuclear cells after transcatheter transplantation in a patient with acute myocardial infarction. *Circulation*. 2005;112(4):e63-5.
17. Seeger FH, Tonn T, Krzossok N, Zeiher AM, Dimmeler S. Cell isolation procedures matter: a comparison of different isolation protocols of bone marrow mononuclear cells used for cell therapy in patients with acute myocardial infarction. *Eur Heart J*. 2007;28(6):766-72.
18. Spevack DM, Cavaleri S, Zolotarev A, Liebes L, Inghirami G, Tunick PA, et al. Increase in circulating bone marrow progenitor cells after myocardial infarction. *Coron Artery Dis*. 2006;17(4):345-9.
19. Silva SA, Sousa AL, Haddad AF, Azevedo JC, Soares VE, Peixoto CM, et al. Autologous bone-marrow mononuclear cell transplantation after acute myocardial infarction: comparison of two delivery techniques. *Cell Transplant*. 2009;18(3):343-52.
20. Nogueira FB, Silva SA, Haddad AF, Peixoto CM, Carvalho RM, Tuche FA, et al. Função sistólica de pacientes com infarto miocárdico submetidos a transplante autólogo da medula óssea. *Arq Bras Cardiol*. 2009;93(4):374-9.
21. Ghadge SK, Muhlstedt S, Ozcelik C, Bader M. SDF-1alpha as a therapeutic stem cell homing factor in myocardial infarction. *Pharmacol Ther*. 2011;129(1):97-108.
22. Mosna F, Annunziato F, Pizzolo G, Krampera M. Cell therapy for cardiac regeneration after myocardial infarct: which cell is the best? *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem*. 2010;8(4):227-43.