

EVALUAREA ECOCARDIOGRAFICĂ TRIDIMENSIONALĂ COMPUTERIZATĂ A CINETICII VENTRICULARE PRE ȘI POSTTRANSPLANT DE CELULE STEM LA PACIENȚII CU INFARCT MIOCARDIC

Theodora BENEDEK¹, I. BENEDEK¹, Monica CHIȚU¹, Claudia MATEI¹, S. MADARAS¹, I. BENEDEK¹
¹ - Universitatea de Medicină și Farmacie din Târgu-Mureș

Rezumat

O metodă inovativă de tratament postinfarct miocardic este reprezentată de transplantul de celule stem, care duce la salvarea unor arii miocardice și la recuperarea miocardului hibernat postinfarct. O metodă obiectivă de evaluare a cineticii ventriculare în vederea selectării segmentului țintă a transplantului poate fi reprezentată de ecocardiografia tridimensională computerizată în timp real. În Clinica de Cardiologie din Târgu-Mureș s-au efectuat 4 transplanturi de celule stem la pacienți postinfarct miocardic, la 6 săptămâni postinfarct miocardic anterior. În toate cazurile injectarea celulelor stem a avut loc la nivelul arterei descendente anterioare, iar analiza ecocardiografică tridimensională computerizată a reușit identificarea cu precizie, prin parametrii obiectivi, a segmentului țintă a transplantului localizat la nivelul segmentului anterior bazal în 2 cazuri, respectiv anterior medial în 2 cazuri. S-a obținut o îmbunătățire a simptomatologiei și a calității vieții la toți pacienții, cu o creștere a fracției de ejeție de la 40,7% la 45,5%.

Summary

Stem cell transplantation after myocardial infarction is an innovative therapy which can lead to myocardial salvage and recovery of hibernated myocardium postinfarction. Live computerised threedimensional echocardiography is an objective method for evaluation of ventricular contraction, in order to select the target area for transplantation. In Clinic of Cardiology from Târgu-Mureș stem cell transplantations was performed in 4 patients with acute anterior myocardial infarction, at 6 weeks postinfarction. In all patients, stem cells were injected in the left anterior descendent artery. Using the objective parametres of live computerised threedimensional echocardiography, the target myocardial area for transplatation was identified with high accuracy. Target area was represented by the antero-basal segment in 2 cases and antero-medial segment in the other 2 cases. Improvement of symptomatology and of quality of life was recorded in all patients, with an increase of left ventricular ejection fraction from 40,7% to 45,5%.

Introducere (Introduction)

În ciuda recentelor progrese în managementul infarctului miocardic acut, insuficiența cardiacă congestivă secundară remodelării postinfarct continuă să reprezinte o problemă majoră. Echipele de cercetare europene caută în prezent să identifice terapii inovative care să ducă la salvarea unor arii miocardice și la recuperarea miocardului hibernant postinfarct, una din aceste terapii fiind transplantul de celule stem în vederea reducerii gradului de remodelare și a extensiei infarctului. O metodă obiectivă de evaluare a cineticii ventriculare în vederea selectării segmentului țintă a transplantului poate fi reprezentată de ecocardiografia tridimensională computerizată în timp real.

Transplantul de celule stem la pacienții postinfarct este subiectul unui proiect de cercetare elaborat de Universitatea de Medicină și farmacie din Târgu-Mureș împreună cu universitățile din *Viena, Stockholm, Debrecen, Budapesta, Hamburg și Cracovia*, împreună cu care s-a stabilit integrarea datelor din fiecare centru într-un studiu amplu sub forma de rezultate parțiale.

Material și metodă (Materials and methods)

Conform protocolului de cercetare, vor fi selectați în vederea transplantului pacienții cu infarct miocardic revascularizat în intervalul de timp de 12 ore de la debutul infarctului, cu fracția de ejeție sub 45%. Procedurile de transplant se vor efectua în intervalul de 3-6 săptămâni postinfarct în grupa 1 respectiv la 3 luni postinfarct în grupa 2, fiind precedate de determinarea parametrilor clinici și paraclinici menționați în lista cu parametrii bazei de date.

În cadrul proiectului de cercetare de excelență s-a elaborat următoarea **strategie de cercetare de excelență** în domeniul transplantului medular postinfarct:

1. Criteriile de includere stabilite sunt:

- pacienți cu IMA în urmă cu 21 – 42 zile înaintea randomizării
- Cu angioplastie primară în infarct reușită cu flux TIMI 3
- Cu tulburare de cinetică ventriculară care se corelează cu localizarea infarctului
- Cu viabilitate miocardică păstrată documentată prin ecocardiografie sau ventriculografie
- Cu FE între 30% și 45%

2. Criteriile de excludere stabilite sunt:

- Intervenție chirurgicală pe cord în antecedente
- IM posteroinferior redus
- Infarct în antecedente cu aceeași localizare
- Tulburare de cinetică ventriculară în afara ariei infarctizate
- Tromb ventricular
- Valvulopatie severă
- Afecțiune severă renală, hepatică sau pulmonară
- Afecțiuni hematologice
- Hemoglobina sub 9 mg%
- NYHA 4
- Angină postinfarct
- Vârsta sub 18 ani

Section 1.013. Lotul de studiu

Bolnavi cu IM recent, peste 21 zile și sub 42 zile, care au beneficiat de o procedură de revascularizare și la care examinările paraclinice efectuate relevă prezența de miocard hibernat, viabil și care își poate recupera funcția odată cu creșterea irigației sangvine

Randomizarea pacienților se va face în două subgrupuri:

- cu injectare intracoronariană precoce, la 3-6 săptămâni după IM
- cu injectare intracoronariană tardivă, la 3 luni după IM

4. Endpointuri

- Creșterea rețelei de colaterale la nivelul țesuturilor unde a avut loc transplantul (analiza angiografică)
- Creșterea perfuziei miocardice (prin angiografie miocardică și ecocardiografie de contrast)
- Creșterea contractilității țesutului infarctizat (prin ecocardiografie Color Kinesis și Doppler tisular)
- Reducerea gradului de remodelare ventriculară (analizat prin reconstrucție ecocardiografie tridimensională)
- Evoluția fracției de ejeție
- Îmbunătățirea simptomatologiei și a calității vieții

5. Metodologie

Se vor recolta și introduce în baza de date a proiectului:

Datele clinice ale pacienților: vârstă, sex

Factori de risc coronarian: DZ, HTA, dislipidemia, fumatul, factori ereditari

Antecedente cardiace: IM în antecedente, PTCA și stentare în antecedente, medicația antiangiinoasă folosită

Examen clinic cardiac, stadializarea IC-NYHA dacă este cazul

Explorări neinvazive:

- analize de laborator, ECG
- testul de efort (cicloergometric sau la covor rulant)
- ecocardiografia transtoracică cu analizarea celor 17 segmente standard, cu determinarea contractilității globale și segmentare, utilizând stadializarea: 1. normal, 2. hipokinetic, 3. akinetic, 4. diskinetic
- reconstrucție 3D eco-analiza geometriei ventriculare
- color kinesis, tissue doppler, eco de perfuzie pentru analiza cineticii/viabilității miocardice

Explorări invazive:

- **coronarografia** - evaluarea stării circulației coronariene, analiza circulației colaterale, aprecierea fluxului TIMI
- **IVUS**, prezența afectării 1, 2 sau 3 vasculară
- **ventriculografia** – evaluarea cineticii ventriculare, FE globală, cinetica segmentară corespunzătoare teritoriului ADA, ACX, ACD

Prepararea concentratului celular tipizat ce urmează să fie aplicat la pacienții luați în studiu:

Volumul total de măduvă osoasă este concentrat în final la 40-60ml

- După procesarea și adăugarea a 10% plasmă autologă, fracțiunea celulară va fi depozitată la 4 grade Celsius, ferită de lumină
- Cu o ora înainte de injectarea celulelor stem intracoronarian, fracțiunea MNC (mononuclear cells), va fi centrifugată, obținându-se un volum final de 10-15 ml
- Se adaugă 10 IU heparină/1ml pentru a preveni coagularea
- Concentratul celular final va conține în jur de 110-120 x 1mil. celule/ml
- Produsul final va fi testat dpdv microbiologic
- Separarea celulelor stem include markerii CD 45, CD 34 și CD 133, folosind următoarele combinații de

anticorpi: CD45FI-D34PE, CD45FI-CD133PE, CD34FI-CD133PE

- Parametrii obținuți: nr. total de celule injectate intracoronarian, nr. total de celule CD 34, nr. total de celule CD 45, nr. total de celule CD 133

Transplantul propriu-zis de celule stem prin injectare intracoronariană.

Urmărire în evoluție la 1, 3, 9, 12 luni după transplant

- analize de laborator, ECG, examen clinic
- reconstrucție 3D eco-analiza regresiei remodelării ventriculare
- color kinesis, tissue doppler, eco de perfuzie pentru analiza gradului de îmbunătățire a cineticii/viabilității miocardice
- coronarografia - analiza gradului de îmbunătățire a circulației coronariene
- ventriculografia –evaluarea îmbunătățirii cineticii ventriculare, regresiei remodelării.

În ceea ce privește **analiza ecocardiografică tridimensională** a cavității ventriculare, s-au efectuat:

1. Prelucrări computerizate ecocardiografice tridimensionale ale arhitecturii ventriculare, în vederea analizei gradului de remodelare postinfarct.
2. Analiza computerizată 3D a funcției ventriculare și a cineticii în timp real a diferitelor segmente ventriculare. Se

utilizează un soft tridimensional de analiză a cineticii care realizează grafic o reprezentare computerizată a curbei evoluției volumului fiecărui segment ventricular de-a lungul unui ciclu cardiac, determinându-se cu acuratețe fracția de ejeecție la nivelul fiecărui segment. S-au analizat parametrii cuantificabili cum ar fi amplitudinea maximă și valoarea medie a excursiei sistolice, excursia minimă și întârzierea contracției, utilizându-se totodată și tehnici inovative de diagnostic ecocardiografic, cum ar fi Color Kinesis sau cuantificare acustică.

3. Analiza gradului de sincronism ventricular pe baza curbelor de contracție segmentară de mai sus și calcularea întârzierii între segmentele ventriculare.

Rezultate (Results)

S-a efectuat tratamentul de urgență (angioplastie și stentare) la un număr de 34 bolnavi cu infarct miocardic acut, dintre care au fost selectați pentru transplant, pe baza criteriilor de includere și excludere prevăzute în protocolul proiectului, un număr de 8 pacienți post infarct miocardic acut. La 4 dintre aceștia s-au recoltat celule stem din creasta iliacă care au fost prelucrate de colectivul de hematologi și injectate în artera coronară infarctizată și redeschisă, conform metodologiei prezentate mai sus. După afereză s-a obținut un concentrat de circa 25-40 ml ml cu puritate crescută, cu o concentrație de CD 34+ de 41,46 mil., 18,74 mil., 57 mil. respectiv 28,5 mil. CD34+ (Tab. 1).

Tabelul 1 Volumul de măduvă osoasă (M. O.) și numărul CD34+ recoltate la pacienții la care s-a efectuat transplantul

	Pacient	Volum M.O. (ml)	CD34+ x 10 ⁶
1	Înainte	1350	
	După afereză	75	41,46
2	Înainte	1235	
	După afereză	78	18,74
3	Înainte	1113	
	După afereză	108	57,00
4	Înainte	960	
	După afereză	82	28,50

Șase bolnavi au fost trecuți pe lista de așteptare și se va efectua transplantul după trecerea intervalului

de timp de la infarct necesar conform protocolului de cercetare.

Înainte de efectuarea transplantelor s-au efectuat **ecocardiografii tridimensionale** pentru cercetarea **modificărilor conformaționale postinfarct**, imaginile urmând a fi comparate cu aspectele surprinse la controlul de 3 luni, efectuându-se și evaluarea ecocardiografică **tridimensională a cavității ventriculare posttransplant**. De asemenea, s-a efectuat analiza ecocardiografică prin **cuantificare acustică** și prin **Color Kinesis** a cineticii diferitelor segmente ventriculare, precum și analiza cineticii și viabilității miocardice prin ecografie biplanară la diferite unghiuri de înclinație a fascicolului de ultrasunete, cu ajutorul echipamentului ecocardiografic 3D de ultimă generație.

Prin analiza ecocardiografică tridimensională a cavității ventriculare s-a reușit reconstrucția

computerizată 3D a arhitectonicii ventriculare și a cineticii ventriculare, pe baza unui model spațial al ventricolului stâng care identifică segmentele ventriculare și evidențiază segmentul cu tulburare de cinetică sau supus modificărilor conformaționale (Fig. 1).

Analiza computerizată a cineticii segmentare a reușit evidențierea dissincronismului de contracție la nivelul segmentului anterobazal în 2 cazuri și anterior medial în 2 cazuri, evidențiable prin hărțile polare și curbele de contracție nesincrone cu celelalte 14 segmente, și evidențierea acestor segmente cu tulburare de cinetică sub forma unor hărți polare (Fig. 2). Pe baza acestor date ecocardiografice s-a identificat segmentul care reprezintă ținta transplantului, în concordanță cu artera coronară infarctizată – artera descendentă anterioară.



Figura nr. 1 - Reconstrucție computerizată 3D a arhitectonicii ventriculare și a cineticii segmentare – cazuistica Cl. Cardiologie Tg.Mureș

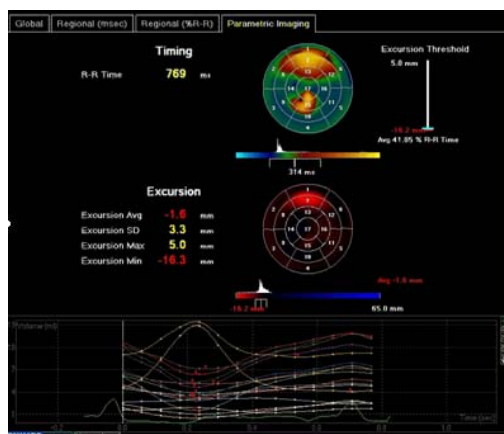


Figura nr. 2 – Analiza computerizată a cineticii segmentelor ventriculare - cazuistica Cl. Cardiologie Tg.Mureș. Se observă dissincronism de contracție la nivelul segmentului anterobazal și anterior medial, evidențiable prin hărțile polare și curbele de contracție nesincrone cu celelalte 14 segmente

Tuturor pacienților li s-a efectuat controlul la trei luni, înregistrându-se îmbunătățirea semnificativă a calității vieții estimată pe baza unui chestionar, ameliorarea simptomatologiei, dispariția simptomelor anginoase și

ameliorarea insuficienței ventriculare stângi, cu o creștere a fracției de ejeecție de la de la 40,7% la 45,5% (Tab. 2).

Tabelul 2 Datele pacienților la care s-a efectuat transplantul

Nr	Vârsta	Localizare infarct	Timp de la infarct	Concentrație CD 34+	FE pretransplant	FE posttransplant
1	40	Artera descendentă anterioară	6 săptămâni	41,46 mil	42%	47%
2	68	Artera descendentă anterioară	6 săptămâni	18,74 mil	34%	39%
3	52	Artera descendentă anterioară	6 săptămâni	57 mil	43%	47%
4	70	Artera descendentă anterioară	6 săptămâni	28,5 mil	44%	49%

Discuții (Discussion)

În ciuda recentelor progrese în managementul infarctului miocardic acut, insuficiența cardiacă congestivă secundară remodelării postinfarct continuă să reprezinte o problemă majoră. Echipele de cercetare europene caută în prezent să identifice terapii inovative care să ducă la salvarea unor arii miocardice și la recuperarea miocardului hibernat postinfarct, una din aceste terapii fiind transplantul de celule stem în vederea reducerii gradului de remodelare și a extensiei infarctului (Dudek 2001). Identificarea acestui miocard hibernat, reprezentat de arii de miocard viabil, situat la periferia zonei infarctizate, cu metabolism încetinit dar care își poate recupera funcția după revascularizare, prezintă o extremă importanță deoarece revascularizarea acestui miocard duce automat la îmbunătățirea funcției ventriculare (Werf Van den 2003, Jaumdally 2007). Printre tehnicile curente de evaluare a miocardului hibernat amintim ecocardiografia de stress cu dobutamină, care implică însă un oarecare grad de subiectivism, sau tehnicile de SPECT, PET sau NOGA (Fox 2000, Gyongyosi 2005), care însă nu sunt încă în realitate disponibile pentru cercetarea românească. O alternativă obiectivă a acestor tehnici poate fi reprezentată de evaluarea tridimensională computerizată a cineticii diferitelor segmente ventriculare și a răspunsului la dobutamină, propusă prin acest proiect (Dudek 2001). Pentru analiza obiectivă a cineticii ventriculare sunt propuse metode inovative ecocardiografice, cum ar fi Dopplerul tisular și analiza strain-ului longitudinal și transversal, Color

kinesis global sau la nivelul diferitelor segmente, cuantificarea acustică, sau analiza gradului de sincronism a contracției între diferite segmente miocardice pe baza curbelor de cinetică 3D sau de Doppler tisular (Nikitin 2006).

În ceea ce privește markerii biologici ai severității afecțiunii sunt propuși în prezent noi markeri, derivați din activarea neuromorală compensatoare, cum ar fi peptidele ProBNP, Cromogranina, factori eliberați de endoteliu, citokine, proteina C reactivă, etc (Terkelsen 2005). Totodată studii recente publicate acest an au arătat că analiza markerilor biochimici obținuți din sinusul coronar se corelează mai exact cu gradul de progresie a afecțiunii (Kastrup 2005).

Una din cele mai frecvente complicații care survin în evoluția acestor bolnavi este apariția disincronismului de contracție între diferite segmente ventriculare, care duce automat la alterarea funcției de pompă și înrăutățirea simptomatologiei. Acesta se datorează întârzierii conducerii la nivelul ariilor de miocard cicatrizat (Benedek 2001, Hoyer 2005). Pe plan mondial se derulează numeroase cercetări referitoare la modalitățile cele mai adecvate de acțiune pentru corectarea acestui disincronism, cum ar fi implantarea de biomateriale în cavitățile cardiace (resincronizatoare intracardiace) care modifică timpii de depolarizare și intervalele dintre depolarizarea diferitelor segmente astfel încât contracția pereților cardiaci să se realizeze în același timp, metoda fiind utilă în special în cazul blocurilor de ramură asociate. Studii recente au arătat rolul terapiei de resincronizare în regresia remodelării ventriculare și blocarea cercului vicios

fiziopatologic al IC, trialul CARE-HF arătând reducerea mortalității de la 11,7% la 7,9% prin tratament de resincronizare în CMD ischemică (Topaz 2003). Răspunsul la terapie de resincronizare a fost de asemenea corelat cu extensia miocardului hibernat și invers corelat cu extensia miocardului cicatriceal (Kilian 2005).

O altă metodă terapeutică inovativă este transplantul de celule stem la nivelul ariilor miocardice hibernate, în scopul stimulării neoangiogenezei, îmbunătățirii circulației colaterale și regenerării de țesut miocardic. În prezent există puține date referitoare la transplantul de celule stem la subiecții umani în perioada postinfarct. Unele trialuri recente au arătat rezultate promițătoare obținute prin injectare intramiocardică respectiv intracoronariană de celule stem. Până în prezent, trialurile TOPCARE, REPAIR-AMI și BOOST au demonstrat îmbunătățirea a fracției de ejeecție la pacienții tratați prin transplant intracoronarian. Orlic et al au injectat celule Lin (-) c-kit (POS) la nivelul zonei de graniță în infarctul miocardic acut, care s-au diferențiat în miocite și structuri vasculare, ameliorând funcția ventriculară, reducând mortalitatea cu 68% iar dimensiunea infarctului cu 40%. Assmus et al au arătat o creștere a FE de la 52% la 60% la 4 luni după injectarea intracoronariană a celulelor stem, în ziua 4-5 postinfarct (Nyolczas 2007). Până în prezent nu este descrisă în literatura internațională o analiză ecocardiografică tridimensională a gradului de regresie a remodelării ventriculare postinfarct prin transplantul de celule stem. Totodată, pentru identificarea locului de injectare a celulelor stem este nevoie de o evaluare cât mai exactă a localizării infarctului și identificarea ariilor de miocard necrozat respectiv hibernat, urmând ca injectarea să se efectueze în artera coronariană care deservește acest teritoriu sau intramiocardic, prin tehnici complexe de mapping electromecanic tridimensional.

Concluzii (Conclusions)

Transplantul de celule stem pare a fi o alternativă benefică în vederea salvării unor arii miocardice cât mai extinse postinfarct. Experiența Clinicii de Cardiologie Târgu-Mureș, deși încă limitată din cauza numărului mic de cazuri, arată creșterea FE posttransplant și îmbunătățirea semnificativă a simptomatologiei pacienților, în concordanță cu datele din literatura internațională. Pentru reușita transplantului este necesară identificarea cu acuratețe a ariei infarctizate și a gradului de extindere a țesutului miocardic viabil, hibernat,

acesta fiind de fapt ținta transplantului. În condițiile în care în România posibilitățile de efectuare a scintigrafiei miocardice sunt extrem de reduse iar PET inexistent, proiectul de față a reușit identificarea unor metode alternative de evaluare a ariei țintă pentru transplant - analiza ecocardiografică tridimensională computerizată în timp real a cineticii segmentare și a gradului de sincronism ventricular între segmentul infarctizat și miocardul înconjurător. Prin analiza computerizată a imaginilor tridimensionale s-a identificat prin parametrii obiectivi localizarea segmentului infarctizat care reprezintă ținta intervenției terapeutice.

Bibliografie (References)

1. Benedek, I., Hintea, T. 2001. Correlations between modifications of left ventricular architectonics, intracavitary flow and perturbations of apical haemodynamics, and their role in apical thrombosis in Dilated cardiomyopathy. *European Heart Journal* 22 413.
2. Dudek, D., Heba, G., Rzeszutko, L., Dubiel, J.S. 2001. Therapeutic angiogenesis for coronary artery disease. Contemporary results and perspectives. *Przeł Lek.* 58 1000-3.
3. Fox, K.A., Cokkinos, D.V., Deckers, J. 2000. The ENACT study: a pan-european survey of acute coronary syndromes. *Eur Heart J.* 21 1440-1449.
4. Gyongyosi, M., Khorsand, A., Zamini, S. 2005. NOGA-guided analysis of regional myocardial perfusion abnormalities treated with intramyocardial injections of plasmid encoding vascular endothelial growth factor A-165 in patients with chronic myocardial ischemia: subanalysis of the EUROINJECT-ONE multicenter double-blind randomized study. *Circulation* 112(9) 157-65.
5. Hoyer, A., Domburg, R., Sonnenschein, K. 2005. Percutaneous coronary intervention for chronic total occlusions: The Thoraxcenter experience 1992-2002. *European heart Journal* 26 2630-2636.
6. Jaumdally, R., Varma, C., Macfayden, R. 2007. Coronary sinus blood sampling: an insight into local cardiac pathophysiology and treatment. *European heart Journal* 28 929-940.
7. Kastrup, J., Jorgensen, E., Gyongyosi, M. 2005. Euroinject One Group. Direct intramyocardial plasmid vascular

- endothelial growth factor-A165 gene therapy in patients with stable severe angina pectoris A randomized double-blind placebo-controlled study: the Euroinject One trial. *J Am Coll Cardiol* 45(7) 982-8.
8. Kilian, J., Celermajer, S., Adam, M. 2005. Safety of coronary angioplasty to chronic total occlusions. *International Journal of Cardiology* 103 256-258.
 9. Nikitin, N., Constantin, C., Loh, P. 2006. New generation 3-dimensional echocardiography for left ventricular volumetric and functional measurements: Comparison with cardiac magnetic resonance. *European Journal of Echocardiography* 7 365-372.
 10. Nyolczas, N., Benedek, I., Hintea, T. 2007. Design and rationale for the Myocardial Stem Cell Administration After Acute Myocardial Infarction (MYSTAR) Study: A multicenter, prospective, randomized, single-blind trial comparing early and late intracoronary or combined (percutaneous intramyocardial and intracoronary) administration of nonselected autologous bone marrow cells to patients after acute myocardial infarction. *American Heart Journal* 153(2) 21221-27.
 11. Terkelsen, C.J., Lassen, J.F., Norgaard, B.L. 2005. Mortality rates in patients with ST-elevation vs non-ST elevation acute myocardial infarction: observations from an unselected cohort. *Eur Heart J* 26(1) 18-26.
 12. Topaz, O., Minisi, A., Bernardo N. 2003. Comparison of effectiveness of Excimer Laser Angioplasty in patients with acute coronary syndromes in those with versus those without normal left ventricular function. *Am J Cardiol* 91 797-802.
 13. Werf Van den, F., Ardissino, D., Betriu, A. 2003. Management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. *Eur Heart J*. 24 28-66.