Cir. Cardiov. 2008;15(1):67-73

Criterio y posibilidades del implante celular

Beatriz Pelacho, Felipe Prósper

Servicio de Cardiología
Clínica Universitaria de Navarra. Pamplona

Cada año mueren en Europa y EE.UU. como consecuencia de las enfermedades cardíacas más de medio millón de personas. Este alto índice de mortalidad se debe principalmente a la isquemia, responsable del daño cardíaco y de la consecuente pérdida de cardiomiocitos. Aunque algunos grupos investigadores han indicado la existencia de células progenitoras cardíacas en el corazón, el miocardio adulto no es capaz de regenerarse de modo efectivo, siendo su pérdida prácticamente irreversible. Hasta el momento, la única terapia disponible ha estado basada en el empleo de fármacos, los cuales han tenido un efecto paliativo más que curativo, siendo necesario en los casos más graves el trasplante de corazón. Debido a que las opciones de tratamiento son muy limitadas, la última meta sería prevenir estas complicaciones mediante la regeneración de la zona dañada, cuando el daño se produce. El trasplante de células madre o progenitoras es la aproximación del siglo XXI que ofrece una opción terapéutica para la regeneración y recuperación del corazón.

Palabras clave: **Trasplante celular. Células madre. Regeneración cardíaca.**

Criteria and possibilities of cellular implants

Every year more than half a million people die in Europe and the US due to heart diseases. This high mortality is mostly due to ischemia, responsible for cardiac damage and loss of cardiomyocites. Although some investigators indicate the existence of precursor cardiac cells in the heart, the adult myocardium is unable to effectively regenerate itself and its loss is virtually irreversible. Up to now, the only available has been drug therapy with more palliative than curative effect; in the most severe cases heart transplantation is required. Due to the limited treatment options, the ultimate goal World be the prevention of complications by jeans of regeneration of the damaged area. Transplantation of stem or precursor cells is the approximation in the XXI century offering a therapeutic option for regeneration and recovery of the heart.

Key words: **Cell transplantation. Stem cells. Cardiac regeneration.**

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte en el mundo occidental. Aunque se ha dado una reducción de la mortalidad por infarto agudo de miocardio (IAM), una gran proporción de pacientes desemboca en fallo cardíaco, siendo 22 millones las personas afectadas en el mundo. Aunque algunos grupos han indicado la existencia de células progenitoras cardíacas[1,2], el miocardio adulto, al contrario que el músculo esquelético, no suele ser capaz de regenerarse de modo efectivo tras la isquemia u otro tipo de daño. Como consecuencia de esto, la pérdida de cardiomiocitos (CM) es irreversible y termina típicamente con la sustitución del tejido cardíaco contráctil por tejido cicatrizado no funcional. Aunque la formación de la cicatriz y la pérdida de la función contráctil que se produce como consecuencia de esto puede quedar compensada de forma limitada por la hipertrofia del miocardio, se sabe que esta hipertrofia puede predisponer al corazón a la aparición de arritmias, terminando frecuentemente en fibrilación ventricular y muerte súbita.

Actualmente, el trasplante de corazón es la única opción curativa en casos terminales. La capacidad de

Correspondencia:
Beatriz Pelacho
Servicio de Cardiología
Clínica Universitaria de Navarra
Avda. Pío XII, 36
31008 Pamplona
E-mail: bpelacho@unav.es

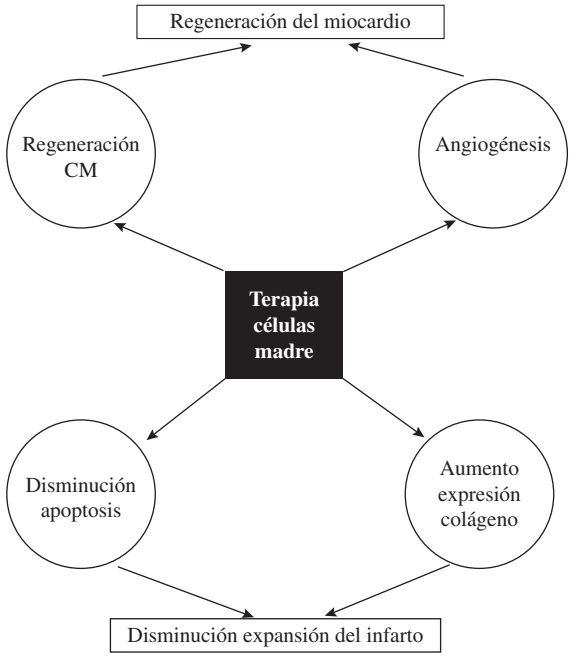

Figura 1. Metas de la terapia celular en las enfermedades cardiovasculares. El tratamiento del corazón infartado pretende, por una parte, regenerar el tejido con nuevas poblaciones de CM y con vasos sanguíneos que irriguen el tejido, y por otra, evitando la expansión de la zona isquémica, impidiendo la entrada en apoptosis de las células localizadas en las zonas isquémicas así como modulando la síntesis y depósito de elementos de la matriz extracelular tales como el colágeno.

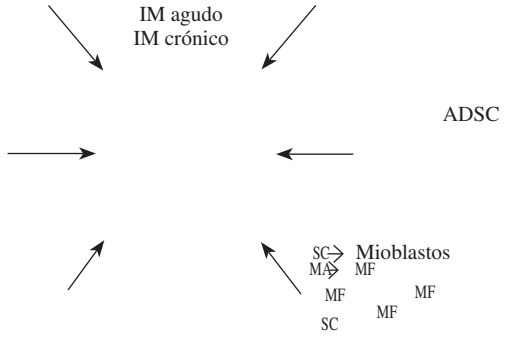

Figura 2. Poblaciones de células madre estudiadas. Son diversas las poblaciones celulares que se han ensayado para el tratamiento del infarto de miocardio agudo o crónico. Desde las más indiferenciadas tales como las células embrionarias (ESC) hasta distintas poblaciones más maduras derivadas de tejidos adultos tales como la médula ósea (frescas [MO] o cultivadas [mesenquinales: MSC]), el tejido adiposo (ADSC) o el músculo esquelético (mioblastos). También se ha descrito la presencia de células madre cardíacas en el propio corazón (CSC).

reemplazar o regenerar el miocardio dañado con CM funcionales y electromecánicamente acoplados en el tejido tendría un obvio valor terapéutico, y para conseguir esto se están estudiando diferentes opciones. Algunos grupos investigadores están centrados en la manipulación *in vivo* de células cardíacas preexistentes mediante: 1) la inducción de la reentrada en el ciclo celular de CM[3,4]; 2) la promoción de la migración celular y supervivencia a través de la activación de proteínas antiapoptóticas (p. ej. Akt)[5,6], y 3) la identificación de genes capaces de iniciar la diferenciación cardiomiogénica de modo que se pudieran transdiferenciar fibroblastos cardíacos a CM[7]. La mayoría de los grupos están enfocados en el trasplante en el corazón enfermo con nuevas células, con la esperanza de que éstas puedan contribuir con éxito a la mejora de la función del miocardio.

La población ideal para regenerar el corazón infartado debería ser capaz de 1) miogénesis, por ejemplo generando específicamente CM que se integrasen entre los CM nativos formando uniones de tipo *gap* y acoplándose electromecánicamente; 2) neovascularización, para restituir así el flujo sanguíneo en la zona viable de miocardio en riesgo, aportando oxígeno y nutrientes a los CM injertados, y 3) afectando positivamente al remodelado ventricular regional y global y a la geometría y estrés de la pared (Fig. 1). Son diversas las poblaciones que se han estudiado en modelos animales de infarto de miocardio, incluyendo células derivadas de la médula ósea (MO) o no derivadas de la MO (CM fetales, mioblastos esqueléticos genéticamente modificados, CM derivados de células embrionarias) (revisado en Rubart M y Field LJ[8]), algunas de las cuales han sido también empleadas clínicamente (revisado en Murry CE, Field LJ y Menasche P[9]) (Fig. 2).

FUENTES CELULARES Y SU POTENCIAL CARDIOMIOGÉNICO

Células embrionarias y cardiomiocitos fetales

Las células embrionarias (ES) son células derivadas a partir de la masa interna del blastocisto y constituyen las células más indiferenciadas que se han conseguido purificar y cultivar *in vitro* a partir de distintas especies (ratón, conejo, mono y humano). Éstas se caracterizan por su capacidad de división prácticamente ilimitada y por su pluripotencialidad. Así, mediante el tratamiento adecuado, son capaces de diferenciarse *in vitro* a prácticamente cualquier tipo celular, y se ha demostrado, entre otros tipos celulares, la formación espontánea de células contráctiles cardiomiocíticas mediante su cocultivo con líneas celulares primarias de endodermo o mediante la formación de cuerpos embrionarios. Debe destacarse, además, que se han realizado diversos estudios experimentales en los que se ha trasplantado CM derivados de ES en corazones de ratón sanos o infartados, y son ca-

paces de injertar de forma estable. Además, los análisis estructurales indican que las células donadoras se encuentran acopladas al miocardio receptor[10], y se ha detectado una mejora funcional en los corazones enfermos tras el trasplante. Resultados similares se han obtenido tras el trasplante de CM fetales.

La posible aplicación de estas células a nivel clínico presenta sin embargo problemas tanto de tipo ético como técnico. En el caso de los CM fetales, su limitada disponibilidad compromete su empleo. Por otra parte, en el caso de las células ES, aunque éstas pueden diferenciarse a CM en las condiciones adecuadas, es difícil obtener un cultivo puro de CM sin una cierta manipulación genética de las células. Esto supone un riesgo, ya que la presencia de células ES indiferenciadas remanentes podría dar lugar a la formación de teratomas[11]. Algunos grupos, como el de Terzic, et al., han descrito un nuevo protocolo para diferenciar y seleccionar ES humanas a CM *in vitro,* lo que permite trasplantar así sólo los CM diferenciados, evitando, por lo tanto, la formación de teratomas[12]. Aunque estos resultados son prometedores, todavía es necesario realizar nuevos estudios en que se analice el posible efecto tumorigénico de las células trasplantadas a más largo plazo. Otro aspecto importante que debe considerarse es el requerimiento de inmunosupresión como consecuencia del alotrasplante. Se ha demostrado que las ES humanas expresan, aunque en bajos niveles, HLA1[13], y que esta expresión se ve aumentada tras su diferenciación *in vitro,* efecto que se ve magnificado, por ejemplo, ante su exposición al IFN γ. Es importante recalcar que tras el IAM (o bien tras la propia agresión provocada en el tejido por la propia inyección de las células) se da un proceso inflamatorio que atrae a las células inmunorreactivas. Aunque se están estudiando procedimientos que eviten este problema, tales como la inducción de inmunotolerancia en una línea de ES humanas mediante el uso de células hematopoyéticas derivadas de ella, todavía no son totalmente satisfactorios.

Células madre cardíacas

El laboratorio de Anversa, et al. identificó por primera vez la presencia en el corazón de células progenitoras (CPC) definidas por el fenotipo Sca1-cKit+ con capacidad de división y multipotencialidad, pudiendo diferenciarse tanto *in vitro* como *in vivo* hacia células endoteliales, células de músculo liso y CM. Además, demostraron que su trasplante en un modelo murino de infarto agudo mejoraba significativamente la función cardíaca[1,14]. Por otra parte, casi simultáneamente, el laboratorio de Schneider, et al. identificó otra población positiva para el marcador Sca1 y negativa para cKit, que podía ser diferenciada hacia CM y que al ser inyectada por vía endovenosa en ratones infartados era capaz de migrar a la región isquémica e injertar y diferenciar hacia CM[2,15]. La población Sca1+ ha sido también purificada por un laboratorio de Japón, con lo que han demostrado su diferenciación *in vitro* e *in vivo* hacia CM y también hacia células vasculares (endotelio y músculo liso)[16,17]. Otros grupos han conseguido resultados similares *in vitro* mediante su cocultivo con CM de rata[18,19].

Células derivadas de la médula ósea

La médula ósea ha sido una de las fuentes celulares con las que mayor número de estudios de regeneración cardíaca se han realizado. En estudios iniciales algunos investigadores observaron un supuesto proceso de cardiomiogénesis en células derivadas de ésta. El laboratorio de Fukuda demostró por primera vez que células estromales tratadas con 5-azacitidina adquirían espontáneamente potencial contráctil con ciertas características típicas de CM[20]. Desafortunadamente, estos resultados han sido poco reproducibles en otros laboratorios, y posteriores análisis indicaron que estas células también expresaban genes específicos de músculo esquelético, lo que indica la posibilidad de que éstas estuvieran parcialmente diferenciadas a miotubos esqueléticos.

In vivo, sin embargo, son numerosos los estudios que parecen indicar la diferenciación de células derivadas de la MO hacia CM, aunque existe controversia todavía en cuanto a su grado de contribución. El laboratorio de Anversa demostró por primera vez que el trasplante en corazones infartados de ratón con progenitores hematopoyéticos Lin^{-}/c-Kit^{HI} daba lugar a un ± 50% de células con fenotipo cardíaco, endotelial y de músculo liso, induciendo una mejora de la función cardíaca[21]. Posteriores estudios realizados por otros grupos indicaron que, aunque se podría dar una mejora tras el implante de esta fracción celular o de la población total de MO, el grado de diferenciación a CM era significativamente menor (< 1%)[22-25]. Por ahora, el mecanismo de diferenciación a CM (y células vasculares) todavía no está claro.

Además de los estudios realizados con células recién extraídas de la MO (bien la población total o bien una fracción seleccionada de ésta), son también numerosos los realizados con la fracción estromal derivada de la MO cultivada *in vitro* y que se ha denominado como población mesenquimal. Se ha demostrado que estas células tienen cierto potencial diferenciador y que al ser trasplantadas *in vivo* en modelos animales tanto de infarto agudo como crónico inducen una mejora funcional. Debido a la relativa facilidad con que estas células pueden ser cultivadas *in vitro,* es posible además su transfección viral con distintos genes. Por ejemplo, el gen

antiapoptótico *Akt,* que, como el grupo de Dzau ha demostrado, mejora significativamente el tamaño del infarto y la función cardíaca[6]. Por otra parte, aunque se han encontrado células mesenquimales diferenciadas a células vasculares y/o cardíacas, el grado de contribución *per se* no es lo suficientemente alto como para ser responsable de dicha mejora, y todos los indicios apuntan a que este efecto positivo sobre el corazón se debe mayoritariamente a su efecto paracrino (revisado en Wollert KC y Drexler H[26]).

Por otra parte, diversos artículos han sugerido que en la MO pueden existir pequeñas poblaciones de células madre que poseen un mayor grado de plasticidad[21,22,27,28]. El laboratorio de Verfaillie identificó por primera vez la existencia de células madre con capacidad pluripotencial en humanos, roedores y cerdo en MO posnatal. Estas células, denominadas como MAPC *(multipotent adult progenitor cells),* se caracterizan porque pueden diferenciar a tipos celulares mesenquimales (osteoblastos, condroblastos, adipocitos y mioblastos esqueléticos), células con fenotipo y función endodérmica o neuroectodérmica y células endoteliales y de músculo liso[29-31]. Las MAPC se definen por un fenotipo $CD44^-$, $CD45^-$, MHC de clase I^- y II^-, $cKit^-$, y $Flk1^{Bajo}$ (así como $Sca1^{Bajo}$ y $SSEA1^{Bajo}$ en ratón), que las diferencia de las células mesenquimales. Éstas pueden ser expandidas en condiciones de bajo suero sin acortamiento del telómero y manteniendo la expresión de factores de transcripción típicos de células ES tales como Oct3/4 y Nanog. Además, cuando son trasplantadas en un hospedador irradiado, las MAPC injertan y diferencian a la línea hematopoyética, epitelio hepático, pulmón e intestino[32]. Se ha demostrado, además, *in vivo* su capacidad de formar vasos arteriales[33] y diferenciar a células que expresan proteínas cardíacas[34], y se ha demostrado su efecto positivo al ser trasplantadas en modelos murinos de infarto de miocardio[35,36]. Por último, a pesar de sus múltiples características de células ES, no existen evidencias hasta el momento de la formación de teratomas tras su trasplante *in vivo*[37] y no existen restricciones éticas para su uso clínico.

Estudios posteriores realizados por grupos independientes al de Verfaillie han demostrado la existencia de otros progenitores en la MO con una gran capacidad de diferenciación, tales como las células MIAMI[38], células SSEA1+[39], células VSEL *(Very Small Embryonic-Like stem cells)* caracterizadas por un fenotipo CXCR4+SSEA1+Oct4+[40], células Oct4+[41], así como células derivadas clonalmente que expresan SSEA1 y SSEA3[42]. Estas últimas fueron además trasplantadas en corazones infartados de ratón y se pudo demostrar una mejora significativa de la función. Existe la posibilidad de que algunos de los distintos tipos celulares descritos por estos grupos constituyan el mismo tipo celular y que las pequeñas diferencias halladas entre ellas sean consecuencia del protocolo de purificación o cultivo.

Células madre derivadas del tejido adiposo

Por otra parte, se ha descrito recientemente, al igual que en la MO, la existencia en la fracción estromavascular (SVF) del tejido adiposo de una población de células precursoras con una gran capacidad de autorrenovación. El laboratorio de Casteillie mostró que esta determinada población era capaz de rescatar ratones letalmente irradiados gracias a la reconstitución de sus principales líneas hematopoyéticas. Demostró además su potencial diferenciador hacia tipos mesenquimales (osteoblastos y adipocitos) y, de forma importante, a endotelio vascular y células del tipo cardíaco[43,44]. Así, cuando estas células son cultivadas en metilcelulosa son capaces de formar agregados con capacidad contráctil espontánea que contienen células de fenotipo ventricular y atrial. Los estudios de electrofisiología demostraron que estas células presentaban actividad de marcapaso y que eran capaces de responder tanto a estímulos adrenérgicos como colinérgicos. Por otra parte, se demostró que estas células, además de su pluripotencia, secretaban factores proangiogénicos y antiapoptóticos[45] que podrían tener un papel importante en su efecto terapéutico. Varios grupos han estudiado el efecto beneficioso de estas células *in vivo,* mostrando por ejemplo su contribución a la neoangiogénesis en modelos de isquemia límbica. Se han realizado, además, modelos de infarto agudo de miocardio en los que se ha detectado la expresión de marcadores cardíacos en las células SVF trasplantadas que se vio acompañado de una reducción en el tamaño de infarto y la consiguiente mejora de la función cardíaca[46]. Aunque estas células todavía necesitan ser caracterizadas en mayor profundidad, podrían ser un excelente candidato para la terapia cardíaca, ya que, además de las propiedades descritas, las SVF pueden ser obtenidas en gran cantidad con un mínimo índice de mortalidad y a partir del propio paciente, lo que permitiría su aplicación autóloga.

Mioblastos esqueléticos y células satélite

Los mioblastos esqueléticos y células satélite están siendo actualmente evaluados como fuente celular para la reparación cardíaca. Las células satélite son precursores que se encuentran en estado quiescente bajo la membrana basal de las fibras musculares esqueléticas y que, como consecuencia de un daño, se movilizan rápidamente, proliferan dando lugar a los mioblastos y se fusionan para reparar las fibras dañadas. Estas células presentan la ventaja de que pueden obtenerse a partir de biopsias musculares esqueléticas del propio paciente, expandirse

in vitro por un corto periodo de tiempo, y ser nuevamente inyectadas sin que esto conlleve problemas éticos o inmunológicos. Además, los mioblastos pueden resistir fuertemente la isquemia, lo que permite una mayor supervivencia celular e injerto en áreas poco perfundidas. Se han realizado numerosos estudios en animales que han sugerido que su implante podría suponer una mejora en la función cardíaca (revisado en Menasche P[47]). Existe todavía, sin embargo, controversia sobre su supervivencia a largo plazo así como su acoplamiento electromecánico con los CM adyacentes. No se han determinado, además, en profundidad los mecanismos implicados en su efecto positivo. Es posible que estas células sean capaces de limitar la expansión del infarto a través de mecanismos fundamentalmente paracrinos, es decir, mediante la secreción de factores que afecten a la organización de la matriz extracelular, la inhibición de la entrada en apoptosis de células presentes en las zonas isquémicas o de periinfarto y/o mediante la estimulación de la vasculogénesis e incluso la nueva formación de CM a partir de progenitores presentes en el propio corazón. Debido a este potencial, se han realizado ya varios ensayos clínicos que se comentarán a continuación.

APLICACIÓN CLÍNICA DE LAS CÉLULAS MADRE EN LAS ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES

Como ya se ha mencionado en párrafos anteriores, en vista de los resultados positivos obtenidos a nivel experimental, se están realizando varios ensayos clínicos con células madre derivadas de la MO y con mioblastos esqueléticos. Se ha comenzado también muy recientemente un ensayo con células derivadas de la grasa (revisado en Menasche P y Bartunek J, et al.[47,48]). La elección de estas dos (tres) poblaciones se ha realizado basándose además de, lógicamente, por su posible beneficio, por su supuesta inocuidad, sencilla extracción y cultivo y por su aplicación autóloga, evitando la aplicación de fármacos inmunosupresores, que hoy por hoy todavía sigue siendo un problema en la clínica. Además, su limitada capacidad de división supone un riesgo de tumorigenicidad prácticamente nulo.

En el caso de las células madre derivadas de la MO, los estudios realizados en la primera fase, además de mostrar la inocuidad de su trasplante, indicaron una cierta mejora de los pacientes trasplantados. En el ensayo BOOST *(BOne marrOw transfer to enhance ST-elevation infarct regeneration)*[49], se realizó trasplante autólogo en pacientes con IAM con células madre derivadas de MO y se les detectó una mejora en la función sistólica del ventrículo izquierdo, aunque no se produjo un remodelado del mismo. En otro estudio[50], células mesenquimales autólogas derivadas de la MO indujeron una reducción de los volúmenes finales sistólico y diastólico, así como un aumento de la fracción de eyección en comparación con el grupo control. De forma importante, el equipo de Janssens[51] realizó por primera vez un estudio de doble ciego, al azar y con control placebo. Se trasplantaron células mononucleadas en las primeras 24 h de la reperfusión y se demostró que, aunque se producía una significativa reducción del tamaño del infarto, no consiguieron mejorar de forma significativa la función ventricular. En estos momentos se están realizando nuevos ensayos con un número mayor de pacientes[52-54] para confirmar la inocuidad de su administración y valorar además el grado de beneficio obtenido tras su trasplante. Se pretende además concretar la dosis celular óptima a aplicar, ya que en los estudios anteriores la cantidad de células trasplantadas ha variado enormemente (de 9×10^6 a 6×10^{10}), así como la población óptima, por ejemplo células previamente cultivadas *in vitro* tales como las mesenquimales o células recién extraídos (purificadas para ciertos marcadores o no).

Por otra parte, son muchas las evidencias experimentales acumuladas a lo largo de los últimos 15 años que sugieren el potencial terapéutico de los mioblastos como tratamiento para el infarto de miocardio. A pesar de su incapacidad de diferenciar a células cardíacas y, por lo tanto, de acoplarse electromecánicamente a los CM adyacentes, se ha demostrado que contribuyen en su vertiente paracrina a la vasculogénesis y pueden alterar el depósito de colágeno, disminuyendo así el grado de fibrosis. Se han iniciado ensayos clínicos en Europa y EE.UU. (revisado en Murry CE, Field LJ y Menasche P[9]) para comprobar su supuesta inocuidad y su posible efecto regenerador; en los estudios realizados hasta ahora el trasplante de mioblastos esqueléticos induce una mejoría en la mayoría de los pacientes, aunque en algunos casos se han detectado arritmias debido en parte a un incorrecto acoplamiento entre las células trasplantadas y las del tejido[55].

Por último, se ha comenzado un estudio de fase I/II en el que se tratarán, mediante inyección directa en el miocardio, 36 pacientes con células estromales extraídas y purificadas a partir del tejido adiposo del paciente, sin cultivo previo.

CONCLUSIONES

La terapia celular ha abierto nuevas expectativas para el tratamiento de múltiples enfermedades. En el caso de las enfermedades isquémicas, diversos tipos celulares

con diversos grados de pluripotencialidad han sido propuestos y estudiados como candidatos para su terapia. A la hora de establecer cuál puede ser la población o poblaciones ideales, existen dos aspectos importantes que deben ser considerados: uno es la propia contribución celular a la formación de tejido cardíaco y/o vascular, y otro, su efecto paracrino, de modo que los factores secretados por estas células sean capaces de influir positivamente en el remodelado del corazón y en la atracción de progenitores del propio organismo hacia la zona lesionada.

Por último, el potencial de las células madre podría incrementarse en gran manera mediante su combinación con otras técnicas como la bioingeniería y/o la terapia génica. La utilización de células transfectadas con genes deficientes en ciertas enfermedades o que secreten proteínas capaces de influir positivamente en la regeneración tisular, la creación de matrices que den un mayor apoyo y supervivencia a las células trasplantadas, e incluso la creación de estructuras hísticas, son posibilidades que han comenzado ya a estudiarse. En línea paralela a esto, es de gran importancia continuar estudiando a nivel molecular el fenómeno de la pluripotencialidad celular y los mecanismos implicados en la regeneración hística como consecuencia del trasplante celular.

BIBLIOGRAFÍA

1. Beltrami AP, Barlucchi L, Torella D, et al. Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. Cell. 2003;114:763-76.
2. Oh H, Bradfute SB, Gallardo TD, et al. Cardiac progenitor cells from adult myocardium: homing, differentiation, and fusion after infarction. Proc Natl Acad Sci USA. 2003;100: 12313-8.
3. Field LJ. Modulation of the cardiomyocyte cell cycle in genetically altered animals. Ann NY Acad Sci. 2004;1015:160-70.
4. Pasumarthi KB, Nakajima H, Nakajima HO, Soonpaa MH, Field LJ. Targeted expression of cyclin d2 results in cardiomyocyte DNA synthesis and infarct regression in transgenic mice. Circ Res. 2005;96:110-18.
5. Bock-Marquette I, Saxena A, White MD, Dimaio JM, Srivastava D. Thymosin β-4 activates integrin-linked kinase and promotes cardiac cell migration, survival and cardiac repair. Nature. 2004;432:466-72.
6. Gnecchi M, He H, Noiseux N, et al. Evidence supporting paracrine hypothesis for akt-modified mesenchymal stem cell-mediated cardiac protection and functional improvement. Faseb J. 2006;20:661-9.
7. Masino AM, Gallardo TD, Wilcox CA, et al. Transcriptional regulation of cardiac progenitor cell populations. Circ Res. 2004;95:389-97.
8. Rubart M, Field LJ. Cardiac regeneration: repopulating the heart. Annu Rev Physiol. 2006;68:29-49.
9. Murry CE, Field LJ, Menasche P. Cell-based cardiac repair: reflections at the 10-year point. Circulation. 2005; 112:3174-83.
10. Kehat I, Kenyagin-Karsenti D, Snir M, et al. Human embryonic stem cells can differentiate into myocytes with structural and functional properties of cardiomyocytes. J Clin Invest. 2001;108:407-14.
11. Nussbaum J, Minami E, Laflamme MA, et al. Transplantation of undifferentiated murine embryonic stem cells in the heart: teratoma formation and immune response. Faseb J. 2007;21:1345-57.
12. Behfar A, Pérez-Terzic C, Faustino RS, et al. Cardiopoietic programming of embryonic stem cells for tumor-free heart repair. J Exp Med. 2007;204:405-20.
13. Drukker M, Katz G, Urbach A, et al. Characterization of the expression of MHC proteins in human embryonic stem cells. Proc Natl Acad Sci USA. 2002;99:9864-9.
14. Urbanek K, Torella D, Sheikh F, et al. Myocardial regeneration by activation of multipotent cardiac stem cells in ischemic heart failure. Proc Natl Acad Sci USA. 2005;102:8692-7.
15. Tateishi K, Ashihara E, Takehara N, et al. Clonally amplified cardiac stem cells are regulated by sca-1 signaling for efficient cardiovascular regeneration. J Cell Sci. 2007;120(pt 10):1791-800.
16. Matsuura K, Nagai T, Nishigaki N, et al. Adult cardiac sca-1+ cells differentiate into beating cardiomyocytes. J Biol Chem. 2004;279:11384-91.
17. Oyama T, Nagai T, Wada H, et al. Cardiac side population cells have a potential to migrate and differentiate into cardiomyocytes *in vitro* and *in vivo*. J Cell Biol. 2007; 176:329-41.
18. Martin CM, Meeson AP, Robertson SM, et al. Persistent expression of the ATP-binding cassette transporter, ABCG2, identifies cardiac SP cells in the developing and adult heart. Dev Biol. 2004;265:262-75.
19. Pfister O, Mouquet F, Jain M, et al. CD31− but not CD31+ cardiac side population cells exhibit functional cardiomyogenic differentiation. Circ Res. 2005;97:52-61.
20. Makino S, Fukuda K, Miyoshi S, et al. Cardiomyocytes can be generated from marrow stromal cells *in vitro*. J Clin Invest. 1999;103:697-705.
21. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. Nature. 2001;410:701-5.
22. Jackson KA, Majka SM, Wang H, et al. Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells. J Clin Invest. 2001;107:1395-402.
23. Murry C, Soonpaa MH, Reinecke H, et al. Haematopoietic stem cells do not transdifferentiate into cardiac myocytes in myocardial infarcts. Nature. 2004;28:664-8.
24. Balsam LB, Wagers AJ, Christensen JL, et al. Haematopoietic stem cells adopt mature haematopoietic fates in ischaemic myocardium. Nature. 2004;428:668-73.
25. Nygren JM, Jovinge S, Breitbach M, et al. Bone marrow-derived hematopoietic cells generate cardiomyocytes at a low frequency through cell fusion, but not transdifferentiation. Nat Med. 2004;10:494-501.
26. Wollert KC, Drexler H. Cell-based therapy for heart failure. Curr Opin Cardiol. 2006;21:234-9.
27. Krause DS, Theise ND, Collector MI, et al. Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. Cell. 2001;105:369-77.
28. Jiang Y, Vaessen B, Lenvik T, et al. Multipotent progenitor cells can be isolated from postnatal murine bone marrow, muscle, and brain. Exp Hematol. 2002;30:896-904.
29. Reyes M, Dudek A, Jahagirdar B, et al. Origin of endothelial progenitors in human postnatal bone marrow. J Clin Invest. 2002;109:337-46.
30. Schwartz RE, Reyes M, Koodie L, et al. Multipotent adult progenitor cells from bone marrow differentiate into functional hepatocyte-like cells. J Clin Invest. 2002;109:1291-302.
31. Ross JJ, Hong Z, Willenbring B, et al. Cytokine-induced differentiation of multipotent adult progenitor cells into functional smooth muscle cells. J Clin Invest. 2006;116: 3139-49.
32. Serafini M, Dylla SJ, Oki M, et al. Hematopoietic reconstitution by multipotent adult progenitor cells: precursors to

long-term hematopoietic stem cells. J Exp Med. 2007; 204:129-39.
33. Aranguren XL, Luttun A, Clavel C, et al. *In vitro* and *in vivo* arterial differentiation of human multipotent adult progenitor cells. Blood. 2007;109:2634-42.
34. Pelacho B, Schwartz D, Gutiérrez M, Prosper F, Verfaillie C. Rodent multipotent adult progenitor cells (MAPC) can commit to a cardiac lineage. Circulation. 2005; 112: 225.
35. Pelacho B, Nakamura Y, Zhang J, Cerfaillie C. Multipotent adult progenitor cells improve left ventricular function by supporting neovascularisation after myocardial infarction. J Tissue Eng Regen Med. 2007;1:51-9.
36. Agbulut O, Mazo M, Bressolle C, et al. Can bone marrow-derived multipotent adult progenitor cells regenerate infarcted myocardium? Cardiovasc Res. 2006;72:175-83.
37. Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. Nature. 2002;418:41-9.
38. D'Ippolito G, Diabira S, Howard GA, et al. Marrow-isolated adult multilineage inducible (MIAMI) cells, a unique population of postnatal young and old human cells with extensive expansion and differentiation potential. J Cell Sci. 2004;117(pt 14):2971-81.
39. Anjos-Afonso F, Bonnet D. Non-hematopoietic/endothelial SSEA-1pos cells defines the most primitive progenitors in the adult murine bone marrow mesenchymal compartment. Blood. 2007;109:1298-306.
40. Kucia M, Reca R, Campbell FR, et al. A population of very small embryonic-like (VSEL) CXCR4(+)SSEA-1(+)oct-4+ stem cells identified in adult bone marrow. Leukemia. 2006; 20:857-969.
41. Nayernia K, Lee JH, Drusenheimer N, et al. Derivation of male germ cells from bone marrow stem cells. Lab Invest. 2006;86:654-63.
42. Yoon YS, Wecker A, Heyd L, et al. Clonally expanded novel multipotent stem cells from human bone marrow regenerate myocardium after myocardial infarction. J Clin Invest. 2005; 115:326-38.
43. Planat-Benard V, Silvestre JS, Cousin B, et al. Plasticity of human adipose lineage cells toward endothelial cells: physiological and therapeutic perspectives. Circulation. 2004; 109:656-63.
44. Planat-Benard V, Menard C, Andre M, et al. Spontaneous cardiomyocyte differentiation from adipose tissue stroma cells. Circ Res. 2004;94:223-9.
45. Rehman J, Traktuev D, Li J, et al. Secretion of angiogenic and antiapoptotic factors by human adipose stromal cells. Circulation. 2004;109:1292-8.
46. Yamada Y, Wang XD, Yokoyama S, Fukuda N, Takakura N. Cardiac progenitor cells in brown adipose tissue repaired damaged myocardium. Biochem Biophys Res Commun. 2006;342:662-70.
47. Menasche P. Skeletal myoblast for cell therapy. Coron Artery Dis. 2005;16:105-10.
48. Bartunek J, Vanderheyden M, Wijns W, et al. Bone-marrow-derived cells for cardiac stem cell therapy: safe or still under scrutiny? Nat Clin Pract Cardiovasc Med. 2007;4 Suppl 1:100-5.
49. Wollert KC, Meyer GP, Lotz J, et al. Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomised controlled clinical trial. Lancet. 2004;364:141-8.
50. Chen SL, Fang WW, Ye F, et al. Effect on left ventricular function of intracoronary transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cell in patients with acute myocardial infarction. Am J Cardiol. 2004;94:92-5.
51. Janssens S, Dubois C, Bogaert J, et al. Autologous bone marrow-derived stem cell transfer in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: double-blind, randomised controlled trial. Lancet. 2006;367:113-21.
52. Assmus B, Honold J, Schachinger V, et al. Transcoronary transplantation of progenitor cells after myocardial infarction. N Engl J Med. 2006;355:1222-32.
53. Schachinger V, Erbs S, Elsasser A, et al. Intracoronary bone marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction. N Engl J Med. 2006;355:1210-21.
54. Lunde K, Solheim S, Aakhus S, et al. Intracoronary injection of mononuclear bone marrow cells in acute myocardial infarction. N Engl J Med. 2006;355:1199-209.
55. Hagege AA, Carrion C, Menasche P, et al. Viability and differentiation of autologous skeletal myoblast grafts in ischaemic cardiomyopathy. Lancet. 2003;361:491-2.

BIOMED
unidix
Especialistas
en cirugía
cardiovascular
desde 1977 al cuidado de tu salud
91 803 28 02
info@biomed.es