

Bioingeniería tisular. Punto de vista del cirujano

Jesús Herreros

Servicio de Cirugía Cardiovascular
Clínica Universitaria. Universidad de Navarra. Pamplona

La terapia celular es una de las áreas más prometedoras del tratamiento de enfermedades con escasas expectativas de curación. La insuficiencia cardíaca es una de las enfermedades que más se pueden beneficiar de este tratamiento. El objetivo es regenerar el músculo, reducir la apoptosis, aumentar la expresión del colágeno intersticial y conseguir una producción efectiva de nuevos vasos que aseguren una nutrición adecuada a la zona afectada. Los estudios multidisciplinarios en curso modificarán las estrategias de tratamiento, antes de elaborar «guías clínicas», con evidencias científicas suficientes para obtener el consenso.

La regeneración cardíaca no debe quedar reducida al implante de células y es necesaria también la regeneración de la matriz extracelular. Este abordaje matriz-células probablemente se convierta en la apuesta del futuro. La ingeniería tisular cardíaca se encuentra ante el desafío de reconstruir o regenerar las pérdidas anatómicas, evitar o retrasar la progresión del remodelado ventricular y revertir la reducción funcional.

Palabras clave: Célula madre. Mioblastos. Médula ósea. Ingeniería tisular.

Tissue bioengineering. The point of view of the surgeon

Cellular therapy is one of the most promising areas in the treatment of terminal diseases with short life expectancy. Cardiac insufficiency is one of those that could benefit the most from this form of treatment. The aim is to regenerate the muscle, reduce apoptosis, increase the expression of interstitial collagen and to get an effective production of new vessels that may ensure an accurate feeding of the affected zone. Multidisciplinary studies in course will modify the treatment strategies before elaborating “guidelines” with enough scientific evidence to reach consensus.

Cardiac regeneration must not be restrained to cell implantation and it is also needed after the regeneration of the extracellular matrix. This approach “matrix-cell” will probably become the bet in future. Cardiac tissue engineering faces the challenge of rebuilding or regenerating the anatomic losses, to avoid or delay the progression of ventricular remodelling and to restore functional reduction.

Key words: Stem cell. Myoblasts. Bone marrow. Tissue engineering.

INTRODUCCIÓN

Las células madre han sido definidas como células clonogénicas, lo que quiere decir que tienen: a) capacidad de autorrenovarse ilimitadamente por división simétrica; b) capacidad de diferenciarse por división asimétrica, y c) posibilidad de reconstruir un tejido por repoblación funcional.

Las células madre pueden derivarse tanto del embrión como de los tejidos adultos (epitelio, sangre,

médula ósea, grasa, músculo, sistema nervioso, limbo corneal). De acuerdo con su plasticidad, pueden ser:

- Totipotenciales, capaces de generar tejidos embrionarios y extraembrionarios. Esta capacidad es exclusiva del cigoto y de las células descendientes inmediatas.
- Pluripotenciales, capaces de diferenciarse a células de las tres capas germinales. Se pensaba que eran exclusivas del embrión pero recientemente se

Correspondencia:
Jesús Herreros
Servicio de Cirugía Cardiovascular
Clínica Universitaria de Navarra
Av. Pío XII, 36
31008 Pamplona
E-mail: jherreros@unav.es

TABLA I. ENSAYOS CLÍNICOS CON MIOBLASTOS

País	Patrocinador	Hospital coordinador	Abordaje	Año
EE.UU.	Diacrin	Michigan Univ.	Cirugía	2000
Francia	Assistance Publique	Hôpital Bichat	Cirugía	2000
EE.UU.	Diacrin	Cleveland Clinic	Cirugía	2001
Argentina	H. Pte. Perón	H. Pte. Perón	Cirugía	2001
Holanda	Bioheart	Thorax Center	Percutáneo-endovent.	2001
Polonia	Poznan Univ.	Poznan Univ.	Hosp. Cirugía	2002
China	Nanjing Univ.	Nanjing Univ.	Cirugía	2002
China	Singapore Univ.	Singapore Univ.	Cirugía	2002
España	Univ. Navarra	Clín. Univ. Navarra	Cirugía	2002
Europa	Genzyme	H. Georges Pompidou	Cirugía	2002
EE.UU.	Bioheart	Mount Sinai	Percutáneo	2003
EE.UU.	Bioheart	Mount Sinai	Cirugía	2003
Polonia	Poznan Univ.	Poznan Univ. Hosp.	Percutáneo transvenoso	2004
Europa	Bioheart	Thorax Center	Percutáneo	2006
España	Indas Biotech	Clín. Univ. Navarra	Cirugía	2006
España	Indas Biotech	Clín. Univ. Navarra	Percutáneo-endoV	2006

ha demostrado que tejidos adultos poseen células con esta plasticidad.

- Multipotenciales, con una capacidad de diferenciación más limitada.
- Unipotenciales, que son las que tienen menor capacidad de diferenciación.

La terapia con células madre, como estrategia para regenerar tejidos dañados, es una de las áreas más prometedoras del tratamiento de las enfermedades con escasas expectativas de curación. La insuficiencia cardíaca, principalmente de origen isquémico, es una de las enfermedades que más se pueden beneficiar de este tratamiento. El objetivo es regenerar el músculo, reducir la apoptosis, aumentar la expresión del colágeno intersticial y conseguir una producción efectiva de nuevos vasos que aseguren una nutrición adecuada a la zona afectada. Estudios experimentales han investigado el uso de varias estirpes celulares entre las que se incluyen las células madre embrionarias, mioblastos, células hematopoyéticas, células progenitoras endoteliales, células multipotenciales adultas, células de la grasa y células cardíacas. Los resultados derivados de los estudios preclínicos han permitido desarrollar los primeros ensayos clínicos, la mayoría fase I o I/II, solamente corroborados por un reducido número de estudios aleatorizados.

Aunque las expectativas abiertas por estos estudios son ilimitadas, subyacen numerosas preguntas pendientes de respuesta: ¿la terapia celular cardíaca es segura, es eficaz y en caso afirmativo tiene la misma eficacia independientemente del tipo celular o de la enfermedad que tratamos?, ¿cuál es el mecanismo de acción?, ¿cuántas células son necesarias y cómo se deben administrar?

La respuesta a estas preguntas permitirá desarrollar guías y protocolos de actuación.

TIPO CELULAR

Los estudios que demuestran la existencia en el corazón humano de células con capacidad proliferativa tienen un gran interés, pero es improbable que tengan repercusión clínica a corto plazo¹. Aunque se han desarrollado estudios experimentales con células embrionarias, las dificultades para seleccionar la línea identificada como precursora de cardiomiocitos, el desarrollo de teratomas, la necesidad de inmunosupresión y los aspectos éticos han desplazado el interés hacia las células adultas. Aunque se ha obtenido *in vitro* diferenciación de tejido neural y de la línea clonal de células hepáticas WB-F344 a cardiomiocitos, queda todavía un largo recorrido antes de prever la utilización de estas células en un contexto clínico.

Mioblastos

La regeneración con mioblastos es atractiva por su origen autólogo, su rápida expansión *in vitro*, la diferenciación bien definida hacia fibras musculares y su resistencia a la isquemia². Los resultados experimentales han permitido desarrollar los primeros ensayos clínicos en pacientes con infarto antiguo a través de un abordaje quirúrgico asociado a revascularización, endoventricular percutáneo o transvenoso percutáneo^{3,5} (Tabla I). Los resultados muestran en general una mejora de la función sistólica ventricular izquierda, perfusión y viabilidad,

TABLA II. ENSAYOS CLÍNICOS CON CÉLULAS DE MEDULA ÓSEA

País	Patrocinador	Hospital coordinador	Abordaje	Célula
Brasil	Incor, São Paulo	Incor, São Paulo	Cirugía	MO
Brasil-EE.UU.	H. Procardíaco	H. Procardíaco-Texas	Heart Percutáneo-EndoV	MO
Argentina	H. Pte. Perón	H. Pte. Perón	IC	MO
Japón	Yamaguchi Univ.	Yamaguchi Univ.	Cirugía	MO
China	Nanjing Univ.	Nanjing Univ.	Percutáneo-EndoV	MO
China	Hong Kong Univ.	Hong Kong Univ.	Percutáneo-EndoV	MO
Alemania	Dusseldorf Clinic	Heinrich Univ. Dusseldorf	ACTP-IC	MO
Alemania	Frankfurt Univ.	Frankfurt Univ.	ACTP-IC	MO
Alemania	Rostock Univ.	Rostock Univ.	Cirugía	AC133
UK	Leicester Univ.	Leicester Univ.	Cirugía	MO
Italia	Padova Univ.	Padova-Milano Univ.	Cirugía	MO
Italia	Milano	Univ. Milano-Roma Univ.	Cirugía	AC133
España	Univ. Valladolid	Univ. Valladolid	ACTP-IC	MO
España	Univ. Navarra	Clín. Univ. Navarra	Cirugía	AC133
Alemania	Hannover Univ.	Hannover Univ.	ACTP-IC	MO
Argentina	H. Pte. Perón	H. Pte. Perón	IC	MO

MO: médula ósea; ACTP-IC: angioplastia coronaria-vía intracoronaria.

aunque solamente cuatro de los ensayos son aleatorizados. Estos ensayos han demostrado la factibilidad y seguridad con aparición de arritmias ventriculares graves que ha exigido la asociación de desfibriladores implantables en varios estudios⁴. Estas arritmias se han asociado al cultivo en suero heterólogo, sin generar arritmias el implante de mioblastos cultivados en suero autólogo⁶.

El implante de mioblastos mejora la función sistólica, la perfusión, viabilidad y el remodelado del ventrículo izquierdo, y esta mejora es directamente proporcional al número de mioblastos inyectados^{3,5}. Estos resultados clínicos se correlacionan con los estudios experimentales que demuestran la formación de nuevos vasos, reducción de la fibrosis y del cociente colágeno tipo I/III⁷. El mecanismo de acción no está aclarado. Aunque los mioblastos se injertan en el miocardio, esta capacidad se reduce rápidamente, no se produce fusión ni diferenciación a cardiomiocitos pero sí a células musculares lisas y formación de nuevos vasos.

Médula ósea

Las células de médula ósea son las que han despertado un interés mayor para su aplicación en regeneración cardiovascular, desde que Orlic⁸ demostrase que la inyección de células mononucleares de médula ósea a ratas con infarto agudo de miocardio mejoraba la función cardíaca y desarrollaba angiogénesis.

La mayoría de las células madre de médula ósea forman el grupo de células mononucleares que incluyen, entre otras, las células hematopoyéticas y mesenquimales. Aunque estudios iniciales mostraban transdiferen-

ciación de las células de médula ósea, la mayoría de los investigadores han sido incapaces de demostrar transdiferenciación. Tampoco se conoce la relación entre transdiferenciación y fusión celular ni sus repercusiones, convirtiéndose en una de las líneas de investigación prioritaria⁹. Las células mesenquimales adquieren el fenotipo de cardiomiocitos con actividad electrofisiológica propia y contracción espontánea¹⁰. Las células MAPC (*multipotent adult progenitor cells*) son en realidad pluripotenciales, con capacidad de diferenciarse a células de las tres capas marginales, pudiendo teóricamente inducir tanto neovascularización como cardiomiogénesis. Sin embargo, la experiencia de nuestro grupo demuestra que esta plasticidad demostrada *in vitro* no se ha traducido en injerto a medio plazo ni en diferenciación cuando las células MAPC han sido implantadas en corazones de ratas con infarto.

La mayoría de los ensayos clínicos han sido realizados con células mononucleares, una población con menos del 0,1% de células madre, implantando un número de células muy variable, entre 40×10^6 y 20×10^7 , por vía intracoronaria, a pacientes con infarto después de la revascularización precoz o con miocardiopatía dilatada o chagásica, endoventricular percutánea o asociada a cirugía de revascularización coronaria a pacientes con infarto antiguo (Tabla II). Entre las células progenitoras, las que expresan AC133 están particularmente enriquecidas en progenitores hemangioendoteliales⁵, y es posible seleccionar un gran número de células de sangre periférica si previamente se ha administrado G-CSF. Esta citocina tiene un efecto protector directo sobre los cardiomiocitos y células endoteliales¹¹. De ahí, el interés

reciente del tratamiento con G-CSF: incrementa el número de células progenitoras circulantes y obtiene un efecto crioprotector cardíaco directo.

Los resultados clínicos muestran, tanto con células mononucleares como con células AC133, una mejora de la función sistólica, a expensas de la mejora de la perfusión del miocardio hibernado que rodea la cicatriz del infarto, sin mejora del remodelado ventricular^{11,12}. El implante de células mesenquimales, además de mejorar la función sistólica y viabilidad, reduce la dilatación ventricular, efecto no demostrado en los ensayos clínicos con otras células de médula ósea¹⁰.

Otras células madre adultas

La grasa contiene un estroma que puede ser aislado fácilmente. Esta fracción estromal contiene células multipotenciales que pueden diferenciarse a células adipocíticas, osteogénicas y miogénicas. El grupo de la Universidad de Toulouse ha demostrado que células mesenquimales obtenidas del estroma de la grasa se diferencian a células del tipo cardiomiocito: latido espontáneo después de 3 semanas, expresión de cadena pesada de miosina, actina y troponina, y alguna de ellas adquiere el fenotipo de las células marcapasos¹³. La potencialidad de estas células está produciendo un interés creciente en el desarrollo de estudios clínicos.

Las células endoteliales adultas sufren una pérdida de plasticidad durante su desarrollo. Sin embargo, células endoteliales relativamente bien diferenciadas de las venas umbilicales humanas se pueden diferenciar a cardiomiocitos, lo que permite plantear la utilización del cordón umbilical como fuente de células endoteliales humanas.

¿Asociación de células madre con terapia génica?

Entre los factores de crecimiento vascular, los más utilizados en ensayos clínicos de angiogénesis son el FGF y VEGF. Su aplicación puede realizarse a través de terapia génica, introduciendo la cadena genética de un factor de crecimiento a una determinada célula, utilizando un vector para que esta célula inicie la síntesis de esta proteína. Los resultados con vectores plásmidos de VEGF han mostrado una mejora de la perfusión miocárdica^{14,15}. La aplicación clínica está frenada por el riesgo potencial de utilizar vectores virales, el desarrollo de angiomas y la aceleración de la aterogénesis.

VÍA DE ADMINISTRACIÓN

La mortalidad de las células supera el 90%, y ésta es mayor cuando el implante se realiza en el centro de la

escara del infarto. El implante celular en áreas periféricas y la asociación de angiogénesis terapéutica puede mejorar la supervivencia celular.

Los abordajes son:

- Inyección transepicárdica. Ha sido el abordaje más utilizado, asociado a cirugía de revascularización coronaria. Los participantes en el *Second International Congress of the Cardiac Bioassist Association* (París, 9-11 octubre 2003) estimaron una supervivencia del 10% de las células. En modelos experimentales, la supervivencia de albúmina inyectada por punción transepicárdica es del 23-30%.
- Inyección endoventricular percutánea. Los catéteres son introducidos por punción femoral hasta la cavidad ventricular. Cuando, por mapeo electro-magnético, el lugar de inyección es confirmado, la aguja es introducida en el miocardio y las células son liberadas. La inyección a través de una aguja en la pared ventricular contráctil produce la regurgitación de una parte de las células, estimada alrededor del 40%. Sin embargo, nuestro grupo ha demostrado una eficacia similar entre la inyección transepicárdica y endoventricular de mioblastos en un modelo de infarto en cerdos⁷.
- Inyección intracoronaria. Es el abordaje en el infarto durante la fase aguda y de la miocardiopatía dilatada. Los estudios de inyección intracoronaria de FGF muestran que solamente el 3% fue recuperado por el corazón. Sin embargo, la inyección intracoronaria con oclusión del seno coronario obtiene injertos celulares superiores al 50%.
- Endovenosa. Solamente el 0,5% del FGF administrado fue recuperado por el corazón. Esta pobre capacidad puede compensarse con un número mayor de células asociando factores de crecimiento y movilización, como el G-CSF.

INDICACIONES

Los estudios preclínicos han permitido desarrollar los primeros ensayos clínicos. Han sido publicados 38 estudios clínicos, la mayoría en cardiopatía isquémica. La aplicación clínica debe estar basada en la seguridad. Las células de médula ósea no han generado complicaciones, ni por vía transepicárdica ni intracoronaria. La inyección de mioblastos cultivados en suero de ternera fetal se ha asociado a arritmias ventriculares graves. El cultivo de mioblastos en suero autólogo no ha generado arritmias ni ha modificado la evolución postoperatoria⁶.

Las indicaciones en los ensayos clínicos son:

- Cardiopatía isquémica.

- Antecedente de infarto antiguo con disfunción sistólica ventricular izquierda y región acinética o discinética sin viabilidad. Ha sido la indicación más frecuente de los ensayos fase I/II, asociada a revascularización coronaria, quirúrgica o por técnicas de cardiología intervencionista.
- Insuficiencia mitral isquémica. La inyección de células en el músculo papilar, asociada a cirugía conservadora mitral, es una indicación muy atractiva.
- Infarto agudo de miocardio tratado con revascularización percutánea, seguido en los días siguientes de inyección intracoronaria de células de médula ósea.
- Cardiopatía isquémica con angina sin posibilidades anatómicas de revascularización coronaria.
- Miocardiopatía dilatada. La aplicación clínica se ha visto retrasada por la dificultad de desarrollar modelos experimentales válidos. Estas dificultades explican que la aplicación clínica se ha reducido a casos aislados del *Arizona Heart Institute* y varios protocolos clínicos del Hospital Presidente Perón de Buenos Aires, con inyección intracoronaria de células de médula ósea, destacando el ensayo clínico en enfermedad de Chagas.

MIOCARDIO BIOARTIFICIAL

La ingeniería de tejidos es una disciplina nueva cuyo objetivo es reparar o sustituir los tejidos u órganos dañados, utilizando biomateriales, células y sustancias biológicamente activas. El desafío principal es desarrollar un músculo artificial recurriendo a los últimos avances en el campo de la fisiopatología de los tejidos orgánicos y a las más modernas técnicas de ingeniería biomédica. La estrategia consiste en aislar células de un órgano determinado para luego cultivarlas en un soporte tridimensional y finalmente colocar la matriz celularizada en el sitio deseado¹⁶. En las miocardiopatías isquémicas y dilatadas, la matriz extracelular de colágeno está alterada, así como el cociente entre las fibras de colágeno tipo I y III. La integridad de las fibras de colágeno es esencial para preservar la estructura y forma del tejido infartado y protegerlo de la dilatación ventricular y el remodelado. Es importante asociar la regeneración de células con capacidad contráctil y la matriz extracelular

Los biomateriales utilizados deben servir no sólo de apoyo físico a las células, sino también tendrán que proveer las sustancias químicas y biológicas necesarias para guiar el crecimiento, diferenciación, implantación, distribución y organización de las células. Los biomate-

TABLA III. MATRICES UTILIZADAS EN INGENIERÍA DE TEJIDOS

Naturales	Sintéticas
Matrices gelatinosas	Compuestos de ácido poliláctico
Matrices porosas de alginato	Matrices de alcohol polivinílico
Matrices gelatinosas de alginato y polietilenglicol	Matrices de poliuretano
Matrices de colágeno	Matrices de ácido polihidrobutoirato poliglicólico
Matrices de cola de fibrina	Matrices de isómeros del caprolactone láctico
	Matrices de isómeros del caprolactone y carbonato

riales deberán ser capaces de responder a estímulos celulares específicos, facilitar la formación de una red vascular capaz de aportar oxígeno y los nutrientes necesarios y finalmente favorecer la actividad electromecánica eventualmente desarrollada por las células. Es decir, entre los biomateriales empleados y las células en ellos implantadas deben establecerse interacciones capaces de mimetizar los procesos fisiológicos que se desarrollan en los tejidos de nuestro organismo¹⁶ (Tabla III). La matriz debe poseer la especificidad biológica de los componentes de la matriz extracelular, tales como el colágeno tipo I, y las propiedades fisicoquímicas que garanticen una resistencia adecuada durante un periodo determinado, para dar lugar a la integración celular y degradación sin desarrollar productos de degradación ni desencadenar una respuesta inmunológica.

Hemos estudiado con el Grupo del Hospital Georges Pompidou de París el efecto de una matriz de colágeno tipo I asociada a células mononucleares de médula ósea en ratas con infarto anterior de 8 semanas de evolución (Fig. 1). Los resultados están aún en fase de evaluación. A los 45 días, la fracción de eyección del ventrículo izquierdo aumentó significativamente en los grupos de células mononucleares y matriz de colágeno + células mononucleares. Sin embargo, en el estudio del remodelado, el volumen telediastólico del ventrículo izquierdo se redujo muy significativamente en el grupo de matriz + células mononucleares de médula ósea sin reducción significativa en el grupo de células mononucleares. A los 45 días, fragmentos de la matriz de colágeno engruesan y protegen las áreas de infarto con segmentos de la matriz imbricados a lo largo del ventrículo izquierdo con una arquitectura de la matriz relativamente bien preservada.

Los resultados experimentales han llevado a desarrollar el ensayo MAGNUM (Francia - Argentina - España - Austria - Italia) con matriz de colágeno tipo I asociada a células mononucleares de médula ósea. Los resultados

Figura 1. Matriz de colágeno tipo I.

preliminares de los 18 pacientes que han superado un seguimiento de 6 meses muestran un incremento significativo de la fracción de eyección, tanto en el grupo de matriz + células como en el grupo de células, aunque mayor en el grupo de matriz. Sin embargo, solamente el grupo de matriz + células mejora significativamente los parámetros de remodelado ventricular. La mejora de la perfusión en los segmentos tratados con la matriz + células se ha correlacionado con la recuperación de la viabilidad en el 38% de los segmentos con necrosis transmural. Estos resultados preliminares confirman nuestros resultados experimentales, en el sentido de que la asociación de la matriz con células mejora el remodelado del ventrículo izquierdo, efecto inexistente en los ensayos clínicos publicados con células de médula ósea y limitado en los estudios con mioblastos¹⁷.

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS DE FUTURO

En el desarrollo de las técnicas de regeneración se han integrado equipos con múltiples disciplinas: biología celular y molecular, ingeniería tisular, biofísica, bioquímica, cardiología intervencionista, hematología, electrofisiolo-

gía, cardiología y cirugía cardiovascular. Los estudios multidisciplinarios en curso modificarán las estrategias de tratamiento, antes de elaborar «guías clínicas», con evidencias científicas suficientes para obtener el consenso y la aceptación de los grupos investigadores. Los resultados de los estudios experimentales han demostrado la seguridad-eficacia del procedimiento y han aportado información sobre los mecanismos de acción, desarrollo de angiogénesis y efectos paracrinos. Cuando los mecanismos responsables de los beneficios se conozcan mejor, la terapia celular será una estrategia rutinaria.

La regeneración cardíaca no debe quedar reducida al implante de células y es necesaria también la regeneración de la matriz extracelular. Los resultados experimentales y los preliminares del ensayo MAGNUM sugieren que la matriz de colágeno, además de mejorar el injerto de las células, contribuye a reconstruir la matriz extracelular cardíaca y mejora el remodelado. Este abordaje matriz-células probablemente se convierta en la apuesta del futuro. La ingeniería tisular cardíaca se encuentra ante el desafío de reconstruir o regenerar las pérdidas anatómicas, evitar o retrasar la progresión del remodelado ventricular y revertir la reducción funcional después de un infarto agudo de miocardio. La supervivencia de las matrices celularizadas en condiciones de isquemia, el desarrollo de una vascularización y la integración funcional del tejido formado son problemas cruciales que deben ser resueltos. Con toda la prudencia, pero al mismo tiempo con toda la rapidez que la solución del problema requiere, es necesario establecer protocolos experimentales y clínicos para evaluar estrategias combinadas de terapia celular, ingeniería de tejidos y terapia molecular. La utilización complementaria de estas técnicas podrá mejorar el beneficio que cada tratamiento puede ofrecer individualmente.

La regeneración y su implicación terapéutica no es un tema más. Sus posibilidades ofrecen un horizonte nuevo que debe inscribirse en las palabras vertidas décadas atrás por Ludolf Krehl: «tardíamente comprendí que la terapéutica no es una consecuencia de las enfermedades, sino su complemento». En este hallazgo se presenta el valor de la regeneración como efecto curativo. Este beneficio está a favor del proceso natural, y si comprendemos su mecanismo y la potencialidad de este efecto a través de la artesanía humana, puede llegar a cambiar bases fundamentales de las enfermedades del hombre.

BIBLIOGRAFÍA

1. Beltrami A, Barlucchi L, Torella D, et al. Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. *Cell*. 2003;114:763-76.

2. Chachques JC, Cattadori B, Herreros J, et al. Treatment of heart failure with autologous skeletal myoblasts. *Herz*. 2002; 27:570-8.
3. Herreros J, Prosper F, Pérez A, et al. Autologous intramyocardial injection of cultured skeletal muscle-derived stem cells in patients with non acute myocardial infarction. *Eur Heart J*. 2003;24:2012-20.
4. Menasché P, Hagege AA, Vilquin JT, et al. Autologous skeletal myoblast transplantation for severe postinfarction left ventricular dysfunction. *J Am Coll Cardiol*. 2003;41: 1078-83.
5. Gavira JJ, Herreros J, Pérez A, et al. Autologous skeletal myoblast transplantation in patients with non acute myocardial infarction: 1 year follow-up. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2006;131:799-804.
6. Chachques JC, Herreros J, Trainini J, et al. Autologous human serum for cell culture avoids the implantation of cardioverter-defibrillators in cellular cardiomyoplasty. *Int J Cardiol*. 2004;95 Suppl 1:29-33.
7. Gavira JJ, Abizanda G, Pérez-Ilzarbe M, et al. Improvement of ventricular function after transplantation of autologous skeletal myoblast in a swine model of chronic myocardial infarction is associated with increased vasculogenesis and decreased myocardial fibrosis. *Cardiovasc Res*. 2006;71:744-53.
8. Orlic D, Kajstura J, Climent S, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature*. 2001;401:701-5.
9. Laflamme MA, Murry CE. Regenerating the heart. *Nature Biotech*. 2005;23:845-56.
10. Shake JG, Gruber PJ, Baumgartner WA, et al. Mesenchymal stem cell implantation in a swine myocardial infarct model: engraftment and functional effects. *Ann Thorac Surg*. 2002; 73:1919-26.
11. Stamm C, Kleine HD, Choi YH, et al. Intramyocardial delivery of CD133+ bone marrow cells and coronary artery bypass grafting for ischemic heart disease: safety and efficacy studies. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2007;133:717-25.
12. Meyer GP, Wollert K, Lotz J, et al. Intracoronary bone marrow cell transfer after myocardial infarction. *Circulation*. 2006;113:1287-94.
13. Planat-Bernard 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.
14. Epstein SE, Kornowsky R, Fuchs S, Dvorak HP. Angiogenesis therapy: amidst the hype, the neglected potential for serious side effects. *Circulation*. 2001;104:115-9.
15. Chachques JC, Acar C, Herreros J, et al. Cellular cardiomyoplasty: clinical applications. *Ann Thorac Surg*. 2004;77: 1121-30.
16. Cortes Morichetti M, Frati G, Chachques JC. Aplicación de la ingeniería de tejidos en cardiología: miocardio artificial. En: Chachques JC, Herreros J, Trainini JC, eds. *Regeneración cardíaca*. Buenos Aires: Magister Eos; 2005. p. 199-205.
17. Herreros J, González Santos JM, Juffé A, et al. Regeneración cardíaca quirúrgica con mioblastos. Experiencia en España. *Cir Cardiovasc*. 2006;12:215-24.



BIOMED



unidix

Especialistas en cirugía cardiovascular

desde 1977 al cuidado de tu salud



91 803 28 02



info@biomed.es