



ARTÍCULO DE REVISIÓN

## La terapia celular en la cardiopatía isquémica

Carlos David Escobedo-Uribe<sup>a,\*</sup>, Adriana Elizabeth Monsiváis-Urenda<sup>b</sup>,  
Juan Manuel López-Quijano<sup>c</sup>, Jorge Carrillo-Calvillo<sup>c</sup>, José Luis Leiva-Pons<sup>c</sup> y  
Marco Antonio Peña-Duque<sup>d</sup>

<sup>a</sup> Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez, México D.F., México

<sup>b</sup> Departamento de Inmunología, Facultad de Medicina de San Luis Potosí, San Luis Potosí, México

<sup>c</sup> Departamento de Cardiología, Hospital Central Dr. Ignacio Morones Prieto San Luis Potosí, San Luis Potosí, México

<sup>d</sup> Departamento de Hemodinámica, Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez, México D.F., México

Recibido el 11 de agosto de 2011; aceptado el 17 de abril de 2012

### PALABRAS CLAVE

Células madre  
derivadas de médula  
ósea;  
Células madre  
mesenquimatosas;  
Cardiopatía  
isquémica;  
Infarto agudo  
del miocardio;  
Fracción de expulsión  
del ventrículo  
izquierdo;  
México

### KEYWORDS

Bone marrow stem  
cells;  
Mesenchymal stem  
cells;  
Ischemic heart  
disease;

**Resumen** La cardiopatía isquémica es la principal causa de muerte e insuficiencia cardiaca a nivel mundial. Esto hace de vital importancia el desarrollo de nuevas modalidades terapéuticas, que disminuyan la mortalidad y complicaciones a largo plazo en estos pacientes. Una de las principales líneas de investigación a nivel mundial es la regeneración miocárdica a partir de células progenitoras, con el fin de mejorar la función sistólica y diastólica de los pacientes con cardiopatía isquémica, además de incrementar su sobrevida.

Con bases teóricas y fisiológicas sobre la función de estas células, se han llevado a cabo con gran entusiasmo a nivel mundial, estudios en animales y humanos para tratar de definir la utilidad del empleo de las células madre, en el manejo de los pacientes con cardiopatía isquémica. En la actualidad, la terapia regenerativa en la cardiopatía isquémica es considerada una herramienta terapéutica novedosa, de beneficios teóricos considerables y pocos efectos adversos. En esta revisión presentamos los fundamentos científicos básicos que apoyan el empleo de esta terapia, la evidencia clínica actual sobre su beneficio. Señalamos los puntos controversiales y las perspectivas sobre su empleo y utilidad a corto y largo plazo.

© 2011 Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez. Publicado por Masson Doyma México S.A. Todos los derechos reservados.

### Cell therapy for ischemic heart disease

**Abstract** Ischemic heart disease is the leading cause of death and heart failure worldwide. That is why it is important to develop new therapeutic modalities to decrease mortality and long-term complications in these patients. One of the main lines of research worldwide is myocardial regeneration, using progenitor cells in order to improve systolic and diastolic function in patients with ischemic heart disease, as well as to increase their survival.

\* Autor para correspondencia: Juan Badiano No. 1, Colonia Sección XVI, Tlalpan. C.P. 14080. México D.F., México.

Teléfono: +(55) 5573 2911, extensión 1377; Fax: +52(55) 5573 0994.

Correo electrónico: cardieu@hotmail.com (C.D. Escobedo-Uribe).

Acute myocardial infarction;  
Ejection fraction;  
Mexico

There have been carried out, with great enthusiasm worldwide, human and animal studies to define the usefulness of stem cells in the management of patients with ischemic heart disease. Today, regenerative therapy in ischemic heart disease is considered a novel therapeutic tool, with substantial theoretical benefits and few side effects. Here we present the scientific principles that support the use of this therapy, discuss the current clinical evidence available; and point out the controversial issues still not clarified on its use and usefulness in the short and long term.

© 2011 Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez. Published by Masson Doyma México S.A. All rights reserved.

## Introducción

Las enfermedades cardiovasculares son una de las principales causas de muerte y morbilidad en México y en el mundo<sup>1</sup>. A pesar de que en los últimos años la mortalidad de la cardiopatía isquémica ha disminuido<sup>2,3</sup>, un gran porcentaje de estos pacientes desarrollan remodelación cardiaca posterior al infarto, proceso que deteriora la función contráctil y que no siempre logra revertirse con el manejo habitual<sup>4</sup>, por lo cual en la actualidad, la cardiopatía isquémica es la principal causa de insuficiencia cardiaca<sup>5</sup>. Esto hace de vital importancia el estudio de nuevas modalidades terapéuticas, que disminuyan la mortalidad y complicaciones a largo plazo en estos pacientes<sup>6-9</sup>.

Una de las principales líneas de investigación a nivel mundial es el desarrollo de fármacos y/o estrategias terapéuticas, que disminuyan la mortalidad y morbilidad de los pacientes con cardiopatía isquémica<sup>10,11</sup>. Entre estas, se han evaluado con gran interés las técnicas de regeneración miocárdica a partir de células progenitoras, con el fin de mejorar la función sistólica y diastólica de los pacientes con cardiopatía isquémica<sup>12-14</sup>. Con bases teóricas y fisiológicas acerca del reclutamiento normal de dichas células en el tejido isquémico, y la evidencia de diferenciación de células primitivas en células de tipo miocárdico, así como los resultados favorables, tanto en fracción de expulsión del ventrículo izquierdo (FEVI) como en viabilidad miocárdica, se han llevado a cabo estudios en animales y humanos para tratar de definir la utilidad del empleo de las células madre en el manejo de los pacientes con cardiopatía isquémica<sup>15,16</sup>, presentándose como una herramienta terapéutica novedosa, de beneficios teóricos considerables y pocos efectos adversos<sup>17-19</sup>.

En la actualidad, el campo de investigación de células madre sigue siendo intrigante, promisorio y lleno de preguntas sin respuesta<sup>20</sup>. En esta revisión presentamos los fundamentos básicos que apoyan el empleo de la terapia celular, la evidencia clínica sobre su beneficio y señalamos la necesidad de estudios prospectivos de mayor magnitud, que nos proporcionen resultados sólidos sobre su beneficio a corto y largo plazo.

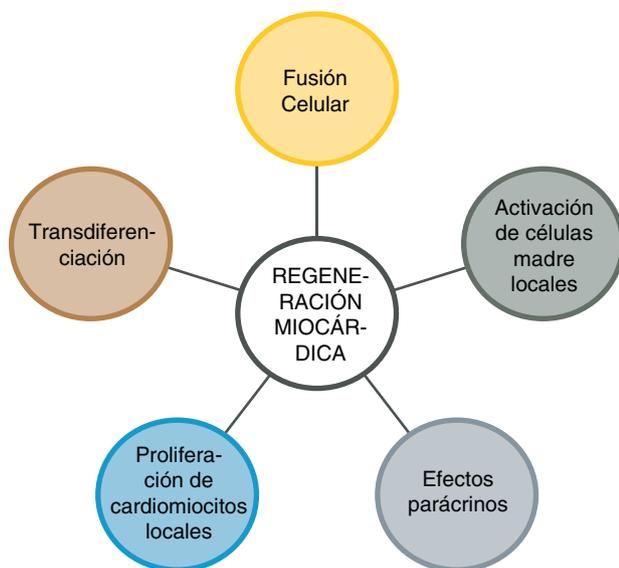
## Mecanismos de acción

El trabajo sobre la vasculogénesis posnatal a través de células progenitoras endoteliales derivadas de médula ósea (Ashara y colaboradores), abrió la puerta para la investigación de nuevas formas encaminadas a mejorar el flujo

sanguíneo en el miocardio dañado. Estos estudios revolucionaron la antigua creencia de la incapacidad de regeneración cardiaca, en la cual se consideraba que los cardiomiocitos no se regeneran después del nacimiento, y que responden a las señales de proliferación sólo con hipertrofia y no con hiperplasia<sup>21-23</sup>. Los descubrimientos sobre la replicación del miocito dieron pie a la teoría de la "plasticidad miocárdica", concepto que en la actualidad ha sido demostrado tanto *in vitro* como *in vivo*, al observar que las células derivadas de médula ósea pueden diferenciarse en cardiomiocitos, estimulando la regeneración a partir de células infundidas y de las células progenitoras del tejido local<sup>24-26</sup>. Makino y colaboradores demostraron que las células estromales de la médula ósea de ratón al ser estimuladas con 5-azatidina, adquirían características similares a las del miocardio, como tinción positiva para miosina, actina y desmina, latido espontáneo a las tres semanas, además de una ultraestructura similar a la de los cardiomiocitos<sup>27</sup>. De igual manera, Orlic informó que al inyectar células derivadas de médula ósea en ratones con infarto, estas eran capaces de anidarse, diferenciarse y regenerar el tejido miocárdico dañado<sup>28</sup>.

Una de las principales controversias en relación al empleo de las células madre es la capacidad de cierto tipo celular para diferenciarse *in vivo* a cardiomiocitos (principalmente, las células de origen hematopoyético). Se ha observado diferenciación *in vitro* e *in vivo* de células hematopoyéticas progenitoras, pero su relevancia clínica en el contexto de la regeneración de un número importante de células afectadas por la isquemia se desconoce<sup>29,30</sup>. Rupp publicó un estudio de "prueba de concepto" en el que demostró la expresión de marcadores genéticos cardiacos específicos, en células progenitoras circulantes al ser modificadas *ex vivo*<sup>31</sup>. A pesar de esta controversia, la "diferenciación" es uno de los mecanismos postulados como primordiales en el efecto benéfico de la terapia celular. En la actualidad, el debate sigue y se estudia la posibilidad de transdiferenciación de múltiples líneas celulares a cardiomiocitos<sup>32</sup>. Otro mecanismo postulado para la regeneración miocárdica es la "fusión celular"<sup>33</sup>, teoría que propone la fusión de las células trasplantadas con las células miocárdicas locales formando células "híbridas" con marcadores celulares de ambas, creando así, una nueva generación celular con capacidad de regeneración. Sin embargo, aún cuando este mecanismo ha sido demostrado *in vitro*, su importancia clínica es incierta<sup>34</sup>.

Dado que el porcentaje de células que finalmente se acoplan en el miocardio es variable, y a que el número de cardiomiocitos y vasos sanguíneos que llegan a generarse después del trasplante es también variable y



**Figura 1** Mecanismos implicados en el efecto de la terapia celular sobre la regeneración miocárdica.

además reducido en relación al tejido dañado<sup>7</sup>, se ha propuesto otra teoría para explicar el beneficio de la terapia celular. Ésta se basa en la idea de que las células no sólo actúan mediante la diferenciación y proliferación de cardiomiocitos, sino también mediante la producción de factores de crecimiento y citocinas angiogénicas que estimulan la neovascularización, previniendo así la apoptosis y reclutando células madre cardíacas locales, además de mejorar el microambiente para la implantación celular y crecimiento tisular. Lo anterior es conocido como “efecto paracrino” de las células madre<sup>35-37</sup>. Entre estas sustancias las más estudiadas han sido el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), factor de crecimiento fibroblástico (FGF), angiogenina, factor de crecimiento placentario, factores de crecimiento de los hepatocitos, factor de crecimiento similar a la insulina, interleucina (IL)-10, IL-11, adrenomodulina y la proteína morfogénica de hueso-1 (MBP-1)<sup>38-40</sup>. Los beneficios de estos efectos parácrinos se han observado al administrar el sobrenadante obtenido de cultivos de células madre<sup>41</sup>. Quienes defienden esta postura consideran que el efecto de las células madre, se basa en la interacción de los diversos mecanismos de acción conocidos en la actualidad con tres principales vías: neovascularización, cardiomiogénesis y reparación cardíaca (fig. 1).

Cabe mencionar que no sólo los aspectos relacionados al mecanismo de acción de esta terapia, sino también los inherentes a las condiciones propias de los pacientes en quienes se emplean, pueden modificar el efecto e influir en el beneficio observado en los ensayos clínicos realizados<sup>42</sup> (tablas 1 y 2).

## Tipos celulares

La célula madre se define como aquella capaz de regenerarse y diferenciarse a uno o más tipos celulares. Para su estudio pueden ser clasificadas según su función, origen anatómico u embriológico, así como por sus marcadores

**Tabla 1** Factores del huésped que influyen en el efecto de la terapia celular

- Edad
- Estadio de la enfermedad cardiovascular
- Función ventricular previa
- Número de factores de riesgo cardiovascular
- Tiempo de isquemia-reperusión
- Tiempo reperusión-inyección
- Localización del infarto
- Presencia de circulación colateral
- Alteración microvascular

celulares de superficie, factores de transcripción o proteínas características.

Quizá la división más clara para su agrupación es el origen embrionario, que las divide en dos grupos principales, células madre embrionarias y adultas<sup>43-45</sup>. Las células madre adultas pueden ser derivadas de médula ósea, circulantes o específicas de tejido. En la médula ósea encontramos la subpoblación de células madre hematopoyéticas (HSC), células madre mesenquimatosas (MSC), células progenitoras endoteliales (EPC), células adultas progenitoras multipotenciales y a una más, que ha sido denominada en inglés como *side-population*. Otras poblaciones de células madre adultas incluyen aquellas de origen fetal y de cordón umbilical, mioblastos esqueléticos, de tejido adiposo, las células residentes progenitoras cardíacas, además de una novedosa población pluripotente que puede ser inducida a partir de fibroblastos, a través de reprogramación nuclear utilizando genes ectópicos<sup>46,47</sup>.

## Células madre embrionarias

Son células pluripotenciales con la mayor capacidad de regeneración tisular, ya que se puede obtener una cantidad indeterminada de cardiomiocitos a partir de estas células. Se derivan del blastocisto y son capaces de diferenciarse a cualquier tipo celular del organismo, incluyendo cardiomiocitos. Su ventaja radica en una menor inmunorreactividad,

**Tabla 2** Características celulares relacionadas con el efecto de la terapia celular

- Número de células inyectadas
- Capacidad de adhesión celular
- Capacidad de transdiferenciación
- Supervivencia postrasplante
- Número de células “anidadas”
- Línea celular específica
- Capacidad de acoplamiento electromecánico
- Capacidad de liberar factores parácrinos
- Inducción de angiogénesis
- Activación de células madre locales
- Estimulación de proliferación miocárdica
- Modificación genética previa al trasplante
- Estimulación celular previa al trasplante (factor de crecimiento fibroblástico-2, factor de crecimiento similar a insulina-1, proteína morfogénica de hueso-1)

debido a la menor cantidad de proteínas de superficie antigénicas. Su uso se ha visto limitado por causas de tipo ético, así como el riesgo de teratomas y teratocarcinomas<sup>48</sup>.

### **Células madre adultas: células derivadas de la médula ósea**

#### **Células madre hematopoyéticas**

Las células madre hematopoyéticas son identificadas por sus marcadores de superficie CD34<sup>+</sup> y CD133<sup>+</sup>, son utilizadas para el tratamiento de las enfermedades hematológicas. Pueden distinguirse diversas subpoblaciones de estas células según sus marcadores de superficie. Tienen capacidad de diferenciarse a células endoteliales<sup>32</sup>.

#### **Células mesenquimatosas**

Representan una rara población celular en los tejidos del adulto con fenotipo CD34<sup>-</sup> CD133<sup>-</sup>, CD90<sup>+</sup>, CD105<sup>+</sup>, CD166<sup>+</sup>, y que pueden diferenciarse a osteocitos, condrocitos, cardiomiocitos, células endoteliales, adipocitos y músculo liso<sup>49</sup>. Pueden obtenerse de la médula ósea y sangre periférica. Las MSC pueden diferenciarse a cardiomiocitos, previniendo la remodelación y mejorando la movilidad miocárdica, además de incorporarse a la neovascularización con fenotipo de células endoteliales y de músculo liso<sup>50,51</sup>. Estas células se han manipulado genéticamente mediante transducción con vectores, con fines de mejorar la anidación celular y la sobrevida postransplante<sup>52</sup>, por lo que representan una de las líneas celulares más estudiadas y más prometedoras en la actualidad.

#### **Células progenitoras endoteliales**

Normalmente radican en la médula ósea y puede ser liberadas a la circulación, después del daño miocárdico. Expresan las moléculas CD133<sup>+</sup>, CD34<sup>+</sup> y VEGFR-2, poseen la capacidad de incorporarse a los sitios de neovascularización y diferenciarse a células endoteliales<sup>53</sup>. Han demostrado aumentar la neovascularización, disminuir la dilatación ventricular y preservar la función sistólica posinfarto. Una de sus limitantes es el número restringido de células, que se pueden obtener de cada paciente.

#### **Células de cordón umbilical y origen fetal**

Estas células poseen gran plasticidad dado su origen prenatal. Sin embargo, a pesar de que han demostrado tener potencial proliferativo y de diferenciación, los resultados en estudios animales han sido contradictorios con respecto a la mejora en la función ventricular izquierda. Hasta el momento no se cuentan con estudios clínicos que utilicen esta población celular.

#### **Mioblastos esqueléticos**

Son células que se encuentran en las fibras musculares, pueden ser utilizados como precursores celulares para formar nuevos miocitos. Se obtienen mediante biopsia muscular, lo cual facilita su trasplante autólogo. Tienen una

mayor resistencia a la isquemia, lo que permite su integración a tejidos con pobre irrigación sanguínea como en los pacientes con cardiopatía isquémica. Han demostrado disminuir la disfunción ventricular izquierda y mejorar la función sistólica, aumentando la capacidad de ejercicio<sup>54</sup>.

### **Células residentes progenitoras cardiacas**

Estas células han sido aisladas en el tejido cardiaco. Sus características principales son el carácter autólogo y la posibilidad de expansión *in vitro*. Pueden diferenciarse a células endoteliales, de músculo liso y cardiomiocitos, además de poder integrarse funcionalmente al tejido miocárdico local<sup>55</sup>. Messina y colaboradores han descrito cúmulos celulares denominados "cardioesferas", derivados de cultivos de células de origen atrial o ventricular de corazones adultos de humanos y murinos, estos cúmulos demostraron marcadores de células progenitoras y vasculares. Además, tienen propiedades de células madre cardiacas y se diferencian en cardiomiocitos y células vasculares<sup>56,57</sup>.

### **Células madre de tejido adiposo**

Se encuentran normalmente en el tejido adiposo y han sido empleadas experimentalmente por su fácil obtención y numerosa cantidad<sup>58</sup>. Se pueden diferenciar hacia células con características de cardiomiocitos. En estudios experimentales en animales han demostrado mejorar la función y perfusión miocárdica, a través de un incremento en la neovascularización del tejido infartado, estudios como APOLLO y PRECISE, evalúan su aplicación en la clínica con resultados prometedores<sup>59</sup>.

Cabe mencionar que aún y cuando existen diferencias significativas entre las poblaciones y subpoblaciones de células madre, y se ha demostrado en un modelo animal de infarto del miocardio, que las MSC poseen mayor capacidad de proliferación y diferenciación comparadas con las HSC, la mayor parte de los estudios clínicos se han realizado utilizando HSC. Recientemente se ha centrado la atención en las células residentes progenitoras cardiacas y las de tejido adiposo, en estas últimas por su relativa abundancia y fácil obtención. Se sugiere que dichas poblaciones muestran una mayor capacidad de diferenciación. Sin embargo, hasta hoy no se cuentan con estudios adecuados que permitan asegurar la superioridad de alguna de las diferentes poblaciones de células madre<sup>60,61</sup>.

### **Modificación ex vivo de las células madre**

Con la finalidad de mejorar los resultados obtenidos en estudios previos, se han modificado las células madre ex vivo con la intención de incrementar su capacidad inherente de mejorar la vasculogénesis<sup>62</sup>. Una de las variantes de modificación génica ha sido la preprogramación celular con TGF- $\beta$ <sup>63</sup>. Actualmente, se utiliza de manera experimental una terapia dual, en la cual la terapia celular se combina con la terapia génica para crear "súper células madre" con capacidad incrementada de mejorar la vasculogénesis e inhibir la apoptosis<sup>64</sup>.

## Dosis administrada

El porcentaje de retención celular después del trasplante es menor al 10%. Esto toma importancia, ya que una de las principales diferencias en los estudios realizados hasta la fecha ha sido la dosis de células infundidas. Iwasaki y colaboradores demostraron en un estudio experimental de infarto en ratas, que con una dosis ascendente de células CD34+ (dosis baja  $1 \times 10^3$ , media  $1 \times 10^5$ , o alta  $5 \times 10^5$ ), la densidad capilar y limitación de la fibrosis ventricular fue mayor a dosis más altas. Resultados similares se infieren en los ensayos clínicos<sup>65</sup>, sin embargo, llama la atención que en dichos estudios las dosis empleadas de las líneas celulares vayan desde  $7 \times 10^7$  hasta  $2.5 \times 10^9$ , incluyendo estudios en los que no se menciona la cantidad de células infundidas, todos con resultados variables respecto a mejoría en FEVI y supervivencia<sup>66,67</sup>. Por esto, podremos concluir que no existe una dosis perfecta para cada línea celular en la actualidad, pero parece que en términos de beneficio, más será mejor.

## Vía de administración

Un objetivo principal en el empleo de las células madre, es que se administre el mayor número de células posibles en el sitio isquémico y que permanezcan ahí, ya que la neovascularización y anidación tienen relación directa con la dosis y la vía de administración, que se emplea para llevar las células al tejido miocárdico<sup>68</sup>. Existen diferentes vías de administración, entre las que se encuentran:

- **Infusión intracoronaria:** Por esta vía se administran las células mediante el empleo de un catéter con balón, el cual se insufla durante la administración de las células para incrementar el tiempo durante el cual éstas permanecen en el tejido isquémico, incrementando la posibilidad de distribución de una manera homogénea, a diferencia de la distribución que se obtiene por la vía intramiocárdica, en la cual la distribución celular es en "islas". Se desconoce el tiempo exacto de retención para lograr un mayor número de anidación celular en el tejido isquémico, y disminuir la isquemia inducida por la oclusión arterial, esta técnica es relativamente sencilla en las manos de un operador experimentado<sup>13,17</sup>.
- **Inyección intramiocárdica:** Esta técnica implica la inyección directa de las células en el tejido miocárdico, ofreciendo la ventaja de una menor cantidad de células inyectadas para lograr la anidación, además de que pueden ser utilizadas en zonas con baja producción de señales de anidación, como es el tejido cicatricial o en sitios con oclusiones arteriales no accesibles por cateterismo, como en la cardiopatía isquémica crónica. Se prefiere esta vía de aplicación para la administración de células de mayor tamaño como los mioblastos y las células mesenquimatosas<sup>68</sup>, es la utilizada en protocolos diseñados para administración en cirugía cardíaca.
- **Inyección transendocárdica:** Se utiliza un catéter con una aguja especial, la cual se introduce a través de la válvula aórtica y se adosa a la pared endocárdica inyectando las células directamente. Esta técnica requiere un estudio de viabilidad miocárdica previo para delimitar el tejido viable, cicatricial e isquémico. La distribución de las células no siempre es homogénea, lo cual puede causar discinesia

miocárdica al mejorar de manera heterogénea la contractilidad regional. Se considera una posibilidad atractiva ya que su aplicación es sencilla y práctica, sin embargo, para una administración precisa de las células en la región de interés, requiere del uso de navegadores que realizan una reconstrucción tridimensional del ventrículo izquierdo o mapeo electromecánico<sup>69</sup>.

Existen otras vías de administración como: la transvenosa sistémica y venosa retrógrada, a través del seno coronario<sup>70</sup>. Actualmente, la forma de administración más utilizada es la infusión intracoronaria.

## Papel de la imagen cardiovascular en la terapia celular

La imagen cardiovascular tiene un papel primordial en la evaluación de la anidación celular, pero más aún en la evaluación del efecto benéfico de esta terapia en la estructura y función miocárdica. Existen novedosas técnicas que utilizan el marcaje celular combinado con la imagen cardiovascular. Los principales métodos para evaluar el acoplamiento celular son el marcaje radioactivo celular, el marcaje genético y la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real<sup>71</sup>. Los estudios de imagen pueden evaluar la distribución temprana y tardía de las células, así como su diferenciación y supervivencia en el tejido. Para evaluar la distribución pueden dividirse en dos grandes grupos: los que permiten el marcaje directo de las células, o los que emplean el marcaje genético para identificar la localización de las células. Los más empleados son los basados en la marcación directa con empleo de medio de contraste específico como la 2-(F-18)-fluro-2-deoxy-D-glucosa para la tomografía con emisión de positrones, el In-111 oxine para la tomografía computarizada con emisión de positrones y el óxido de hierro súper-paramagnético para la resonancia magnética<sup>72,73</sup>. Sin duda, el empleo de esta tecnología en los futuros estudios clínicos ayudará a determinar las características específicas de tipo celular y técnica de aplicación, para obtener los mejores resultados<sup>74,75</sup>.

Los métodos de imagen más utilizados en los ensayos clínicos para evaluar la función ventricular postrasplante son el ecocardiograma, la resonancia magnética y el SPECT. Una vez más con una gran variabilidad entre los diferentes estudios, en relación al método seleccionado y aún más, en el objetivo a evaluar ya que no todos los estudios informan sobre el grado de tejido isquémico o la viabilidad según corresponda.

## Estudios clínicos

Los primeros estudios realizados en humanos incluyeron pacientes con infarto agudo del miocardio tratados con angioplastia primaria, inicialmente se incluyó un número reducido de paciente para evaluar la respuesta hemodinámica y la seguridad del procedimiento (Strauer)<sup>46,76</sup> (tabla 3). Assmus y colaboradores publican en el 2002, el estudio TOP CARE AMI, en el cual se analizan pacientes que recibieron tratamiento intracoronario con células madre de médula ósea (n=9), u obtenidas por aféresis plasmática (n=11) en un promedio de  $4.3 \pm 1.5$  días, después del

**Tabla 3** Resultados de los principales ensayos clínicos

Estudio	Tipo celular	Dosis celular Cel/mm <sup>2</sup>	Seguimiento	Tiempo Post IAM	Estudios para evaluar resultados	N	FE Inicial %	FE Final %	Resultados	Complicaciones
Assmus TOCARE <sup>47</sup> 2002	CMC	6.4 x 10 <sup>5</sup>	4 meses	4.3 días	Angiografía coronaria	Control 20	51 ± 10	53.5 ± 7.9	↑ FEVI, ↑ contractilidad general, ↓ VVTS, ↑ Flujo de reserva coronario, ↑ Viabilidad en zona infartada	No arritmias No inflamación No diferencia en mortalidad
	CMO	7.35 x 10 <sup>6</sup>			ETT c/dobutamina PET-FDG	Tratados 20	51.6 ± 9.6	60.1 ± 8.6		
Kang MAGIC <sup>77</sup> 2004	CMC 34+	1x 10 <sup>9</sup>	6 meses	3 a 270 d	Angiografía coronaria	Control 10	40.3	55.1	↑ Capacidad de ejercicio, ↓ Porcentaje de defectos de perfusión, ↑ FEVI	No incremento en inflamación Mayor re- estenosis intra- stent
	FECG				SPECT ETT c/dobutamina Prueba de esfuerzo	Células 7 FECG 7	48.9 50			
Meyer BOOST <sup>78,79</sup> 2006	CMO CD34+	9.5 x 10 <sup>6</sup>	6 y 18 meses	4.8 días	IRM	Control 30	51.3	52 54.4	↑ FEVI a 6 meses, sin diferencia a 18 meses, en FEVI, volúmenes ventriculares, grosor de la pared, movilidad segmentaria	Sin diferencia
						Estudio 30	50	56 55.9		
Assmus <sup>95</sup> 2006	CMC	22 x 10 <sup>6</sup>	3 meses	3 meses	Angiografía coronaria	Control 23	43 ± 13	42 ± 13	↑ en FEVI con CMO Sin cambios significativos en FEVI con CMC	Sin diferencia
	CMO	205 x 10 <sup>6</sup>			IRM	CMC 34	39 ± 10	39 ± 10		
					ETT c/dobutamina, SPECT o PET FDG	CMO 35	41 ± 11	43 ± 10		
Schachinger REPAIR AMI <sup>82</sup> 2006	CMO	236 x 10 <sup>6</sup>	4 y 12 meses	3-7 días	Angiografía coronaria	Control 103	46.9 ± 10.4	49.9 ± 13	↑ en FEVI con CMO Disminución de eventos combinados a un año (Muerte, revascularización, re-infarto e internamiento por falla cardiaca	Sin cambio en FEVI, VVTD, contractilidad regional, tamaño del infarto
						CMO 101	48.3 ± 9.2	53.8 ± 10.2		
Lunde ASTAMI <sup>84</sup> 2006	CMO	68 x 10 <sup>6</sup>	6 meses	6 días	SPECT	Control 50	46.9	49		
					ETT IRM	CMO 47	45.7	48.8		

Tendera	CMO totales	1.78x10 <sup>8</sup> o 1.9x10 <sup>6</sup> seleccionada (CD4+, CXCR4+)	6 meses	7 días	IRM	Control	40 CMO 80 CMOs 80	37 35	40 38	Sin diferencia en FEVI ↑ FEVI en pacientes con FEVI < 37	Sin diferencia
Cao <sup>97</sup> 2009	CMO	5 x 10 <sup>7</sup>	6, 12 meses 4 años	7 días	SPECT ETT	Control 41 CMO 46	39 38.6	46.4 50.5	↑ FEVI, ↓ VVTS, ↑ movilidad segmentaria. Sin diferencia en el tamaño del infarto	Sin diferencia	
Yousef BALANCE <sup>83</sup> 2009	CMO CD 34+, CD 133, CD 34-	6.1 X 10 <sup>7</sup>	3, 12, 60 meses	7 días	Angiografía Angiografía ETT	Control 62 CMO 62	51.6 ± 10.6 57.2 ± 10.4	46.9 ± 8.3 56.9 ± 9	Disminución del área de infarto, ↑ FEVI, ↓ VVTD, VVTS, ↑ contractilidad segmentaria Disminución de mortalidad ↓ de arritmias a largo plazo	Sin diferencia	

CMO: células de médula ósea; CMC: células madre circulantes; FECCG: factor estimulante de colonias de granulocitos; PET-FDG: tomografía por emisión de positrones con 2-(F-18)-fluro-2-deoxy-D-glucosa; ETT: ecocardiograma transtorácico; SPECT: tomografía computarizada por emisión de fotones individuales; FEVI: fracción de expulsión del ventrículo izquierdo; VVTD: volumen ventricular telediastólico; VVTS: volumen ventricular telesistólico; IRM: imagen por resonancia magnética; IAM: infarto agudo del miocardio.

infarto agudo del miocardio, comparándose con 20 controles. El grupo tratado con células madre mejoró su función ventricular, tuvo recuperación en el movimiento de la región infartada así como disminución del volumen ventricular telesistólico, además de mejoría en el flujo de reserva coronario y mayor miocardio viable en la zona infartada. No hubo diferencia en respuesta inflamatoria o arritmias, y no se observaron eventos adversos<sup>47</sup>. En el estudio MAGIC CELL realizado por Kang y colaboradores, se comparó el empleo intracoronario de células madre movilizadas con factor estimulante de colonias de granulocitos y obtenidas por aféresis plasmática. Se incluyeron pacientes con infarto agudo del miocardio a quienes se les colocó *stent* intracoronario, 10 pacientes recibieron infusión intracoronaria, 10 sólo factor estimulante de colonia de granulocitos y un grupo control. Se analizaron los cambios en la función ventricular y la perfusión a los seis meses, además de la capacidad de ejercicio mediante prueba de esfuerzo, ecocardiografía de estrés y SPECT con talio/sistamibi. No se encontró incremento en los niveles de marcadores inflamatorios, isquemia, arritmias, falla cardíaca o alteración de la microcirculación. La capacidad de ejercicio mejoró, y disminuyeron los defectos de perfusión miocárdica de 11.6% vs 5.3% ( $p=0.020$ ). Además hubo mejoría en la FEVI, en el grupo que recibió infusión intracoronaria de células madre. En este estudio se encontró un inesperado aumento en el porcentaje de reestenosis intra *stent* en ambos grupos de tratamiento, cinco de siete pacientes tratados con infusión celular, y en dos de tres pacientes en el grupo que recibió factor estimulante de colonias de granulocitos. Esto se consideró asociado a la movilización de neutrófilos y plaquetas durante el procedimiento, así como proliferación de músculo liso vascular en el sitio de colocación del *stent*<sup>77</sup>, estos resultados adversos no fueron consistentes en estudios posteriores.

Woller y colaboradores publicaron el estudio BOOST de 60 pacientes, incluidos en dos grupos de tratamiento con infusión intracoronaria de células madre derivadas de médula ósea durante coronariografía percutánea, comparado con placebo. Se analizó la función ventricular con IRM. Los pacientes tratados con células madre tuvieron mayor FEVI a los seis meses con incremento de 0.7% en el grupo control, y 6.7% en el grupo de células madre ( $p=0.0026$ ). Además hubo mejoría en el movimiento sistólico en la zona periinfarto. No se encontró diferencia en el desarrollo de arritmias o reestenosis intracoronaria<sup>78</sup>. En el seguimiento a 18 meses de este estudio, no se observó diferencia en la FEVI entre ambos grupos y no hubo eventos adversos tardíos. Estos datos cuestionaron los mecanismos implicados en el beneficio de esta terapia<sup>79</sup>.

En un estudio realizado con mioblastos autólogos en pacientes con cardiopatía isquémica sometidos a cirugía de revascularización miocárdica, se analizó la seguridad y efectividad de esta línea celular, así como su efecto a largo plazo con un seguimiento de cuatro años. Se incluyeron 24 pacientes con FEVI < 40%, a quienes se les realizó cirugía de revascularización. Se analizó la viabilidad miocárdica mediante PET e IRM, encontrando un aumento en la perfusión de las zonas tratadas, además un incremento en la FEVI de 28% a 35% en un año, y disminución en los volúmenes ventriculares. Con este estudio se demostró la seguridad de los mioblastos como medida de regeneración miocárdica, sin una mayor incidencia de arritmias<sup>80</sup>.

En el 2006, se publicó el estudio ASTAMI en el cual Lunde y colaboradores evalúan de manera aleatoria y cegada a 47 pacientes con infarto agudo del miocardio, llevados a inyección intracoronaria de células mononucleares derivadas de la médula ósea, sin encontrar diferencia a los seis meses en FEVI, volúmenes ventriculares y tamaño del infarto evaluados mediante SPECT, ecocardiograma e IRM<sup>81</sup>. De igual manera, en 2006 Schachinger y colaboradores publican el estudio REPAIR-AMI, que es sin duda uno de los trabajos más relevantes sobre el empleo de células madre en la cardiopatía isquémica, pues incluyó el mayor número de pacientes analizados en un solo estudio hasta esa fecha. Es un estudio multicéntrico aleatorizado y doble ciego, se incluyeron 204 pacientes que recibieron infusión intracoronaria de células progenitoras derivadas de médula ósea o placebo, a los tres a siete días posterior a terapia de reperfusión con ACTP. Se evaluó la FEVI mediante ventriculografía a los cuatro y doce meses, y se observó incremento significativo de la FEVI en el grupo tratado en comparación con el placebo ( $5.5\% \pm 7.3\%$  vs  $3.0 \pm 6.5\%$ ;  $p=0.01$ ), siendo mayor el beneficio en los pacientes con una FEVI basal menor de 48.9%. A un año de seguimiento hubo disminución en el compuesto de muerte, recurrencia de infarto y revascularización ( $p=0.01$ )<sup>82</sup>.

En un meta-análisis publicado en el 2007 por Abdel Latif y colaboradores, se incluyeron 18 estudios casos-control y aleatorizados, con un total de 999 pacientes estudiados, incluyendo terapia con células mesenquimatosas y tanto células mononucleares como células progenitoras circulantes derivadas de médula ósea. Se observó una mejoría en la FEVI del 3.6% (IC 95% 1.93 a 5.4;  $p=0.01$ ), disminución en el tamaño del infarto ( $-5.49\%$ , IC 95%  $-9.10\%$  a  $-1.8\%$ ;  $p=0.003$ ) y disminución de volumen ventricular telesistólico ( $-4.8$  mL, IC 95%  $-8.2$  a  $-1.4$ ;  $p=0.006$ ), sin diferencia en eventos adversos<sup>66</sup>. En ese mismo año es publicado un meta-análisis diseñado para evaluar la mejoría en FEVI en pacientes con isquemia aguda, se incluyeron 10 estudios con un total de 698 pacientes, observando mejoría de la FEVI de 3% (IC 95% 1.9 a 4.1;  $p=0.001$ ), disminución en el tamaño del infarto ( $-5.6$ , IC 95%  $-8.7\%$  a  $-2.5$ ) y volumen ventricular telesistólico ( $-7.4$  mL, IC 95%  $-12.2$  a  $-2.7$ );  $p=0.002$ ). En este trabajo se observó disminución en infarto recurrente y tendencia a disminución en muerte, rehospitalización por falla cardíaca y necesidad de revascularización, en el análisis de meta-regresión se sugiere una asociación entre la dosis de células infundidas y la mejoría en la FEVI, sin llegar a ser estadísticamente significativo<sup>67</sup>.

Recientemente, se estudió prospectivamente el efecto de la inyección intracoronaria de células madre autólogas derivadas de la médula ósea a los siete días del infarto, en la hemodinámica, geometría y contractilidad ventricular, así como los beneficios a largo plazo de esta modalidad terapéutica en 124 pacientes aleatorizados. Estos pacientes fueron seguidos por 60 meses, se les realizó angiografía coronaria, electrocardiograma de ejercicio, ecocardiograma, potenciales tardíos, análisis de variabilidad miocárdica y monitoreo Holter de 24 horas. A los tres meses se observó una mejoría en la FEVI y disminución en el tamaño del infarto del 8%, además de mejoría en la contractilidad en la zona del infarto evaluado por un incremento de la velocidad de acortamiento del VI, hubo disminución en la variabilidad de la frecuencia cardíaca, potenciales tardíos y extrasístoles

en el grupo de terapia celular. A los 12 y 60 meses los parámetros de mejoría en contractilidad, estado hemodinámico y geometría se mantuvieron sin cambios durante el seguimiento, la capacidad de ejercicio fue mayor en el grupo tratado (como ya había sido descrito en el seguimiento a seis meses del estudio ASTAMI) y la mortalidad fue menor ( $p=0.03$ )<sup>83,84</sup>.

Un tema controversial relacionado con la regeneración celular es el empleo del factor estimulante de colonias de granulocitos, para movilizar a las células madre de médula ósea. Inicialmente esta terapia se asoció a un incremento en el número de estenosis intra *stent*<sup>77</sup>, sin embargo este hallazgo no se reprodujo en otros estudios. Si bien en estudios iniciales se observó una mejoría en la FEVI, sin mayor número de eventos adversos como en el estudio FIRSTLINE AMI<sup>85</sup>, en el meta-análisis realizado por Zohlnhöfer publicado en 2008, que incluye 445 pacientes, no se observó diferencia en FEVI y no hubo reducción del tamaño del infarto. Por tanto, en la actualidad se reconoce que no existe beneficio del empleo del factor estimulante de colonias de granulocitos, en el manejo de los pacientes con infarto agudo del miocardio<sup>86</sup>.

La mayoría de los estudios actuales acerca de células madre se han enfocado sobre su empleo en los pacientes con infarto agudo del miocardio, y existe un menor número de pacientes incluidos en estudios prospectivos aleatorizados sobre el trasplante de células madre, en el contexto de pacientes con enfermedad arterial coronaria crónica o insuficiencia cardíaca crónica. Sin embargo, hasta el momento los estudios realizados a este respecto han encontrado mejoría en la función ventricular, isquemia y grado de angina<sup>87,88</sup>.

En la sesión científica del AHA 2011, se presentaron los resultados de dos trabajos que aportan información novedosa a este tema. El seguimiento a cinco años del estudio REPAIR AMI informó un resultado positivo (consistente con lo publicado previamente por este grupo en 2006) en relación a muerte (7 vs 15 placebo;  $p=0.09$ ), infarto recurrente y necesidad de revascularización, así como una mejoría sostenida a cinco años en la FEVI (diferencia absoluta de  $5 \pm 8\%$  vs  $3.3 \pm 7.6\%$  en placebo;  $p=0.02$ ), y un mayor grosor sistólico del VI analizado mediante IRM<sup>89</sup>. Además de los resultados iniciales del estudio SCPIO, en el que se incluyeron 16 pacientes con FEVI  $<40\%$  posterior a un infarto agudo del miocardio, a quienes se administró 113 días después de cirugía de revascularización, infusión de células madre cardíacas nativas aisladas de fragmentos de miocardio obtenidos durante su propia cirugía, observándose mejoría sustancial en la FEVI a los cuatro y 12 meses (12.3% de cambio en FEVI al año de seguimiento), además de disminución del tamaño del infarto medido por IRM. Este y otros resultados han motivado al desarrollo e investigación de esta línea celular<sup>90</sup>. En nuestro país, se publicaron este año los resultados iniciales de un ensayo clínico bien estructurado como es el estudio TRACIA, en el cual se demuestra la factibilidad y seguridad de esta terapia en nuestro medio<sup>91</sup>.

## Discusión

La terapia celular en la cardiopatía es sin duda uno de los temas de mayor interés a nivel mundial, es un fascinante campo de la ciencia moderna no sólo para el investigador

básico sino también para el clínico. Actualmente nos encontramos lejos de saber, si el futuro de la terapia celular se encuentra en la regeneración celular mediada por la infusión celular o en la modulación tisular de la respuesta a la lesión isquémica. Lo que sabemos es que el lograr entender el sustrato molecular de los mecanismos de lesión celular, apoptosis y de autorregeneración tisular será de vital importancia para el futuro terapéutico de la cardiopatía isquémica.

Hasta el momento no se ha establecido cual es el mecanismo exacto relacionado con el beneficio de la terapia celular, se desconoce la cantidad exacta de células necesarias para obtener el máximo beneficio, así como el grupo específico de pacientes que tiene una mejor respuesta a este tratamiento<sup>92,93</sup>. Aunque la evidencia apunta a los pacientes con FEVI baja después de un infarto, lo cual es de vital importancia ante la necesidad de limitar la pandemia que representa actualmente la insuficiencia cardiaca. Se han obtenido resultados variables con el empleo de diferentes líneas celulares, por lo que se desconoce cuál es el tipo celular que ofrece mayores beneficios, mayor porcentaje de acoplamiento celular y angiogénesis postransplante<sup>51,94,95</sup>. A pesar de que estudios clínicos han evaluado el acoplamiento y migración periférica de las células madre posterior a la infusión por las diversas vías de administración, no se ha establecido una vía que ofrezca mejores resultados clínicos. El método de evaluación de la respuesta mecánica y funcional del miocardio no ha sido homogéneo en los ensayos clínicos. Sin embargo, hoy sabemos que el perfil de seguridad de la terapia celular es adecuado a corto y largo plazo<sup>96,97</sup>, y que la mejoría en FEVI y volúmenes ventriculares es consistente en los ensayos clínicos realizados<sup>66,67</sup>, con beneficios evaluados hasta por cinco años.

La modificación genética de las células madre estimulando la miocardiogénesis y la producción de citocinas proangiogénicas que mejoren la anidación y función de las células entregadas, se postula como una medida que modifique de manera favorable los resultados clínicos con el empleo de las células madre, sin embargo, esto no se ha comprobado clínicamente<sup>98</sup>. No se ha realizado un estudio prospectivo con un número adecuado de pacientes para evaluar los beneficios en mortalidad. Actualmente se está llevando a cabo el estudio multicéntrico BAMI (*Bone Marrow Cells in Acute Myocardial Infarction*), en el cual se plantea reclutar 3 000 pacientes para evaluar la mortalidad en aquellos tratados con células mononucleares derivadas de médula ósea, sin duda este estudio responderá a muchas de las preguntas relacionadas con el empleo clínico de las células madre.

## Conclusiones

Mientras las enfermedades cardiovasculares sigan siendo una de las principales causas de mortalidad a nivel mundial, la búsqueda de nuevas modalidades terapéuticas que modifiquen la progresión de la enfermedad y limiten el daño, será sin duda uno de los grandes retos de la medicina. Ante este panorama, el empleo de las células madre como tratamiento de la cardiopatía isquémica se presenta como una nueva y prometedora propuesta. Sin duda se requiere de estudios prospectivos controlados con seguimiento a largo

plazo, en los cuales se incluya un mayor número de pacientes y se estandaricen los protocolos de la terapéutica, para poder aceptar de manera contundente el empleo de esta prometedora modalidad en la población general<sup>99</sup>.

## Financiamiento

No se recibió patrocinio de ningún tipo para llevar a cabo este artículo.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

## Referencias

- Lloyd-Jones D, Adams R, Brown T, et al. Heart disease and stroke statistics-2010 update. A report from the American Heart Association. *Circulation* 2010;121:e46-215.
- Yusuf S, Reddy S, Ounpuu S, et al. Global burden of cardiovascular diseases, part I: general considerations, the epidemiologic transition, risk factors, and impact of urbanization. *Circulation* 2001;104:2746-53.
- Ford E, Ajani U, Croft J, et al. Explaining the decrease in U.S. deaths from coronary disease, 1980-2000. *N Engl J Med* 2007;356:2388-98.
- Jessup M, Abraham W, Casey D, et al. 2009 Focused update: ACCF/AHA Guidelines for the diagnosis and management of heart failure in adults: A report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association task force on practice guidelines developed in collaboration with the international society for heart and lung transplantation. *J Am Coll Cardiol* 2009;53:1343-82.
- Fox KF, Cowie MR, Wood DA, et al. Coronary artery disease as the cause of incident heart failure in the population. *Eur Heart J* 2001;22:228-36.
- Reffelmann T, Könemann S, Kloner R, et al. Promise of blood- and bone marrow-derived stem cell transplantation for functional cardiac repair. Putting it in perspective with existing therapy. *J Am Coll Cardiol* 2009;53:305-8.
- Gersh B, Simari R, Behfar A, et al. Cardiac cell repair therapy: a clinical perspective. *Mayo Clin Proc* 2009;84:876-92.
- Segers VF, Lee RT. Stem-cell therapy for cardiac disease. *Nature* 2008;451:937-42.
- Rosenthal N. Prometheus's vulture and stem cell promise. *N Engl J Med* 2003;349:267-74.
- Strauer B, Kornowsky R. Stem cell therapy in perspective. *Circulation* 2003;107:929-34.
- Bartunek J, Dimmeler S, Drexler H, et al. The consensus of the task force of the European Society of Cardiology concerning the clinical investigation of the use of autologous adult stem cells for repair of the heart. *Eur Heart J* 2006;11:1338-40.
- Dimmeler S, Zeiher AM, Schneider MD. Unchain my heart: the scientific foundations of cardiac repair. *J Clin Invest* 2005;115:572-83.
- Beeres SL, Atsma DE, van Ramshorst J, et al. Cell therapy for ischaemic heart disease. *Heart* 2008;94:1214-26.
- Martin-Rendon E, Brunskill SJ, Hyde CJ, et al. Autologous bone marrow stem cells to treat acute myocardial infarction: a systematic review. *Eur Heart J* 2008;15:1807-18.
- Vulliet R, Greeley M, Halloran M, et al. Intracoronary arterial injection of mesenchymal stromal cells and microinfarction in dogs. *Lancet* 2004;363:783-4.

16. Kinnaird T, Stabile E, Burnett S, et al. Bone marrow-derived cells for enhancing collateral development, Mechanisms, animal data, and initial clinical experiences. *Circ Res* 2004;95:354-63.
17. Marthor A, Martin JF. Stem cells and repair of the heart. *Lancet* 2004;364:183-92.
18. Wollert K, Drexler H. Clinical applications of stem cells for the heart. *Circ Res* 2005;96:151-63.
19. Von Harsdorf R, Poole-Wilson P, Dietz R. Regenerative capacity of the myocardium: implication for treatment of heart failure. *Lancet* 2004;363:1306-13.
20. Dimmeler S, Zeiher AM. Cell therapy of acute myocardial infarction: open questions. *Cardiology* 2009;113:155-60.
21. Bergmann O, Bhardwaj RD, Bernard S, et al. Evidence for cardiomyocyte renewal in humans. *Science* 2009;324:98-102.
22. Beltrami AP, Urbaneck K, Kajstura J, et al. Evidence that human cardiac myocytes divide after myocardial infarction. *N Engl J Med* 2001;344:1750-7.
23. Anversa P, Leri A, Kajstura J. Cardiac Regeneration. *J Am Coll Cardiol* 2006;47:1769-76.
24. 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.
25. Tomita S, Li RK, Weisel RD, et al. Autologous transplantation of bone marrow cells improves damaged heart function. *Circulation* 1999;100:II247-56.
26. Messina E, De Angelis L, Frati G, et al. Isolation and expansion of adult cardiac stem cells from human and murine heart. *Circ Res* 2004;95:911-21.
27. 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.
28. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 2001;410:701-5.
29. Toma C, Pittenger MF, Cahill KS, et al. Human mesenchymal stem cells differentiate to a cardiomyocyte phenotype in the adult murine heart. *Circulation* 2002;105:93-8.
30. Murry CE, Soonpaa MH, Reinecke H, et al. Hematopoietic stem cells do not transdifferentiate into cardiac myocytes in myocardial infarcts. *Nature* 2004;428:664-8.
31. Rupp S, Koyanagi M, Iwasaki M, et al. Genetic proof-of-concept for cardiac gene expression in human circulating blood-derived progenitor cells. *J Am Coll Cardiol* 2008;51:2289-90.
32. 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.
33. Alvarez-Dolado M, Pardo R, Gracia-Verdugo J, et al. Fusion of bone marrow-derived cells with Purkinje neurons, cardiomyocytes and hepatocytes. *Nature* 2003;425:968-73.
34. Kajstura J, Rota M, Whang B, et al. Bone marrow cells differentiate in cardiac cell lineages after infarction independently of cell fusion. *Circ Res* 2005;96:127-37.
35. Gneocchi M, He H, Liang OD, et al. Paracrine action accounts for marked protection of ischemic heart by Akt-modified mesenchymal stem cells. *Nat Med* 2005;11:367-8.
36. Gneocchi M, Zhang Z, Ni A, et al. Paracrine mechanisms in adult stem cell signaling and therapy. *Circ Res* 2008;103:1204-19.
37. Kinnaird T, Stabile E, Burnett MS, et al. Local delivery of marrow-derived stromal cells augments collateral perfusion through paracrine mechanisms. *Circulation* 2004;109:1543-9.
38. Urbich C, Aicher A, Heeschen C, et al. Soluble factors released by endothelial progenitor cells promote migration of endothelial cells and cardiac resident progenitor cells. *J Mol Cell Cardiol* 2005;39:733-42.
39. Burchfield JS, Iwasaki M, Koyanagi M, et al. Interleukin-10 from transplanted bone marrow mononuclear cells contributes to cardiac protection after myocardial infarction. *Circ Res* 2008;103:203-11.
40. Payne T, Oshima H, Okada M, et al. A Relationship between vascular endothelial growth factor, angiogenesis, and cardiac repair after muscle stem cell transplantation into ischemic hearts. *J Am Coll Cardiol* 2007;50:1677-84.
41. Korf-Klingebiel M, Kempf T, Sauer T, et al. Bone marrow cells are a rich source of growth factors and cytokines: implications for cell therapy trials after myocardial infarction. *Eu Heart J* 2008;29:2851-8.
42. Penn MS. Patient and cellular characteristics determine efficacy of cell therapy. *Circ Res* 2007;100:1101-3.
43. Beltrami AP, Barlucchi L, Torella D, et al. Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. *Cell* 2003;114:763-76.
44. Yoon Y, 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.
45. Rosenzweig A. Cardiac cell therapy — mixed results from mixed cells. *N Engl J Med* 2006;12:1274-7.
46. Strauer BE, Brehm M, Zeus T, et al. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. *Circulation* 2002;106:1913-8.
47. Assmus B, Schächinger V, Teupe C, et al. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI). *Circulation* 2002;106:3009-17.
48. Kumar D, Kamp T, LeWinter M. Embryonic stem cells: differentiation into cardiomyocytes and potential for heart repair and regeneration. *Coronary artery disease* 2005;16:111-6.
49. Wollert K, Drexler H. Mesenchymal stem cells for myocardial infarction promises and pitfalls. *Circulation* 2005;112:151-3.
50. Barbash IM, Chouraqui P, Baron J, et al. Systemic delivery of bone marrow-derived mesenchymal stem cells to the infarcted myocardium: feasibility, cell migration, and body distribution. *Circulation* 2003;19:863-8.
51. Armiñán A, Gandía C, García-Verdugo J, et al. Mesenchymal stem cells provide better results than hematopoietic precursors for the treatment of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2010;55:2244-53.
52. Hare J, Transverse J, Henry T, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-escalation study of intravenous adult human mesenchymal stem cells (Prochymal) after acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2009;54:2277-86.
53. Losordo D, Dimmeler S. Therapeutic angiogenesis and vasculogenesis for ischemic disease. Part I: Angiogenic cytokines. *Circulation* 2004;109:2487-91.
54. Hare JM, Traverse JH, Henry TD, et al. The myoblast autologous grafting in ischemic cardiomyopathy (MAGIC) trial: first randomized placebo controlled study of myoblast transplantation. *Circulation* 2008;117:1189-200.
55. Chimenti I, Ruckdeschel R, Li Tao-sheng, et al. Relative roles of direct regeneration versus paracrine effects of human cardiosphere-derived cells transplanted into infarcted mice. *Circ Res* 2010;106:971-80.
56. Messina E, De Angelis L, Frati G, et al. Isolation and expansion of adult cardiac stem cells from human and murine heart. *Circ Res* 2004;29:911-21.
57. Zhang J, Wilson G, Soerens AG, et al. Functional cardiomyocytes derived from human induced pluripotent stem cells. *Circ Res* 2009;104:e30-41.
58. Planat-Bénard V, Menard C, André M, et al. Spontaneous cardiomyocyte differentiation from adipose tissue stroma cells. *Circ Res* 2004;94:223-9.
59. Valina C, Pinkernell K, Song Y, et al. Intracoronary administration of autologous adipose tissue-derived stem cells improves left ventricular function, perfusion, and remodeling after acute myocardial infarction. *Eu Heart J* 2007;28:2667-77.

60. Sanchez P, Sanz-Ruiz R, Fernandez-Santos M, et al. Cultured and freshly isolated adipose tissue-derived cells: fat years for cardiac stem cell therapy. *Eu Heart J* 2010;31:394-7.
61. Dubois C, Liu X, Claus P, et al. Differential effects of progenitor cell populations on left ventricular remodeling and myocardial neovascularization after myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2010;55:2232-43.
62. Penn MS, Mangi A. Genetic enhancement of stem cell engraftment, survival, and efficacy. *Circ Res* 2008;102:1471-82.
63. Li T, Hayashi M, Ito H, et al. Regeneration of infarcted myocardium by intramyocardial implantation of ex vivo transforming growth factor- $\beta$ -preprogrammed bone marrow stem cells. *Circulation* 2005;111:2438-45.
64. Dzau VJ, Gnechchi M, Pachori A. Enhancing stem cell therapy through genetic modification. *J Am Coll Cardiol* 2005;46:1351-3.
65. Meluzin J, Mayer J, Groch L, et al. Autologous transplantation of mononuclear bone marrow cells in patients with acute myocardial infarction: the effect of the dose of transplanted cells on myocardial function. *Am Heart J* 2006;152:9-15.
66. Abdel-Latif A, Bolli R, Tleyjeh IM, et al. Adult bone marrow-derived cells for cardiac repair: a systematic review and meta-analysis. *Arch Intern Med* 2007;167:989-97.
67. Lipinski MJ, Biondi-Zoccai GG, Abbate A, et al. Impact of intracoronary cell therapy on left ventricular function in the setting of acute myocardial infarction: a collaborative systematic review and meta-analysis of controlled clinical trials. *J Am Coll Cardiol* 2007;50:1761-7.
68. Ben-Dor I, Fuchs S, Kornowski R. Potential hazards and technical considerations associated with myocardial cell transplantation protocols for ischemic myocardial syndrome. *J Am Coll Cardiol* 2006;48:1519-26.
69. Gyongyosi M, Khorsand A, Zamini S, et al. 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* 2005;112 Suppl. 1:1157-65.
70. Siminiak T, Fiszer D, Jerzykowska O, et al. Percutaneous transvenous transplantation of autologous myoblasts in the treatment of postinfarction heart failure: the POZNAN trial. *Eur Heart J* 2004;25:264.
71. Zhou R, Acton PD, Ferrari VA. Imaging stem cells implanted in infarcted myocardium. *J Am Coll Cardiol* 2006;48:2094-106.
72. Hoyt G, Yang P, Rosenberg J, et al. Imaging survival and function of transplanted cardiac resident stem cells. *J Am Coll Cardiol* 2009;53:1229-40.
73. Terrovitis J, Lautamaki R, Bonios M, et al. Noninvasive quantification and optimization of acute cell retention by in vivo positron emission tomography after intramyocardial cardiac-derived stem cell delivery. *J Am Coll Cardiol* 2009;54:1619-26.
74. Wu JC. Antidote to cardiac stem cell controversy. *J Am Coll Cardiol* 2008;52:1661-4.
75. Amado L, Schuleri K, Saliaris AP, et al. Multimodality noninvasive imaging demonstrates in vivo cardiac regeneration after mesenchymal stem cell therapy. *J Am Coll Cardiol* 2006;48:2116-24.
76. Fernández-Avilés F, San Román JA, García-Frade J, et al. Experimental and clinical regenerative capability of human bone marrow cells after myocardial infarction. *Circ Res* 2004;95:742-8.
77. Kang HJ, Kim HS, Zhang SY, et al. Effects of intracoronary infusion of peripheral blood stem-cells mobilized with granulocyte-colony stimulating factor on left ventricular systolic function and restenosis after coronary stenting in myocardial infarction: the MAGIC CELL randomized clinical trial. *Lancet* 2004;363:751-6.
78. 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.
79. Meyer G, Wollert KC, Lotz J, et al. Intracoronary bone marrow cell transfer after myocardial infarction eighteen months' follow-up data from the randomized, controlled BOOST (BOne marrow transfer to enhance ST-elevation infarct regeneration) Trial. *Circulation* 2006;113:1287-94.
80. Dib N, Michler RE, Pagani FD, et al. Safety and feasibility of autologous myoblast transplantation in patients with ischemic cardiomyopathy four-year follow-up. *Circulation* 2005;112:1748-55.
81. 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.
82. 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.
83. Yousef M, Schannwell C, Köstering M, et al. Clinical benefit and long-term outcome after intracoronary autologous bone marrow cell transplantation in patients with acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2009;53:2262-9.
84. Lunde K, Solheim S, Aakhus S, et al. Exercise capacity and quality of life after intracoronary injection of autologous mononuclear bone marrow cells in acute myocardial infarction: Results from the Autologous Stem cell Transplantation in Acute Myocardial Infarction (ASTAMI) randomized controlled trial. *Am Heart J* 2007;154, e1-710-e718.
85. Ince H, Petzsch M, Kleine H, et al. Prevention of left ventricular remodeling with granulocyte colony-stimulating factor after acute myocardial infarction. Final 1-year results of the front-integrated revascularization and stem cell liberation in evolving acute myocardial infarction by granulocyte colony-stimulating factor (FIRSTLINE-AMI) Trial. *Circulation* 2005;112 Suppl. 1:173-80.
86. Zohnhöfer D, Dibra A, Koppa T, et al. Stem cell mobilization by granulocyte colony-stimulating factor for myocardial recovery after acute myocardial infarction. A meta-analysis. *J Am Coll Cardiol* 2008;51:1429-37.
87. Losordo D, Schatz R, White C, et al. Intramyocardial transplantation of autologous CD34+ stem cells for intractable angina. *Circulation* 2007;115:3165-72.
88. Ramshorst JV, Bax JJ, Beeres S, et al. Intramyocardial Bone marrow cell injection for chronic myocardial ischemia. A randomized controlled trial. *JAMA* 2009;301:1997-2004.
89. Leistner D, Assmus B, Erbs S, et al. Intracoronary infusion of bone marrow-derived mononuclear cells in acute myocardial infarction: 5 year clinical outcome and MRI data of the randomized, double-blind, placebo-controlled REPAIR-AMI trial. En: American Heart Association. Scientific Sessions 2011.
90. Bolli R, Chugh A, D'Amaro D, et al. Cardiac stem cells in patients with ischaemic cardiomyopathy (SCIPIO): initial results of a randomised phase 1 trial. *Lancet* 2011;26:1847-57.
91. Peña-Duque M, Martínez-Ríos MA, Calderón E, et al. Design and implementation of the TRACIA: intracoronary autologous transplant of bone marrow-derived stem cells for acute ST elevation myocardial infarction. *Arch Cardiol Mex* 2011;81:183-7.
92. Penn MS. Stem-cell therapy after acute myocardial infarction: the focus should be on those at risk. *Lancet* 2006;367:87-8.
93. Dimmeler S, Leri A. Aging and disease as modifiers of efficacy of cell therapy. *Circ Res* 2008;102:1319-30.
94. Tendra M, Wojakowski W, Ruz W, et al. Intracoronary infusion of bone marrow-derived selected CD341CXCR41 cells and non-selected mononuclear cells in patients with acute STEMI and reduced left ventricular ejection fraction: results of randomized, multicentre Myocardial Regeneration by Intracoronary

- Infusion of Selected Population of Stem Cells in Acute Myocardial Infarction (REGENT) Trial. *Eu Heart J* 2009;30:1313–21.
95. Assmus B, Honold J, Schächinger V, et al. Transcoronary transplantation of progenitor cells after myocardial infarction. *N Engl J Med* 2006;355:1222–32.
96. 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.
97. Cao F, Sun D, Li C, et al. Long-term myocardial functional improvement after autologous bone marrow mononuclear cells transplantation in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: 4 years follow-up. *Eu Heart J* 2009;30:1986–94.
98. Behfar A, Yamada S, Crespo-Diaz R, et al. Guided cardiopoiesis enhances therapeutic benefit of bone marrow human mesenchymal stem cells in chronic myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2010;56:721–34.
99. Terzic A, Nelson T. Regenerative medicine advancing health care 2020. *J Am Coll Cardiol* 2010;55:2254–7.