

FISIOLOGIA CELULAR

**USO DE CELULAS MADRE EN LA
TERAPEUTICA DE LAS
ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES:
DESDE LA CIENCIA BASICA A LA
APLICACIÓN CLINICA.
Parte III: Aplicación Clínica**

Fernando Zeledón S. *
Carlos Escalante G. **
Orlando Morales M. ***
Edgar Méndez J ****

S U M M A R Y

The last decade has seen great strides in the drug treatment of myocardial infarction and consequent heart failure, with associated improvements in quality of life, haemodynamics and survival. Despite this, the benefits of pharmacotherapy are limited in more severe cases, and mortality and morbidity remain high. The ability to replace damaged myocardium by use of stem cell therapy offers a new and potentially exciting treatment modality, but its benefits are at present far from established. While clinical trials explore cells derived from skeletal muscle and bone marrow, basic researchers are investigating sources of new cardiomyocytes, such as resident myocardial progenitors. Here, we briefly review the use of bone marrow derived and cardiac

derived stem/progenitor cells in myocardial regeneration studies. We also discuss the challenge of translating basic cellular and molecular mechanism into effective, clinically relevant options.

I N T R O D U C C I Ó N**¿Cuál Célula Madre Transplantar?**

Varios tipos celulares han sido considerados para un potencial tratamiento de las enfermedades cardíacas, dentro de las cuales destacan la cardiopatía isquémica, las miocardiopatías y la insuficiencia cardíaca de cualquier etiología. A continuación se resumirán las ventajas y desventajas de cada tipo célula, excluyendo las CMDTA, las cuales no han sido bien estudiadas

en el momento de la redacción de este artículo.(53,12,15,36).

Las **células madre embrionarias** son pluripotentes y pueden generar todos los linajes celulares; pero su potencial terapéutico en humanos se encuentra limitado por consideraciones éticas y por aspectos inmunológicos, ya que a muchas de estas células "se les encamina" hacia una diferenciación y se transplantan como células parcialmente diferenciadas. Además existe el riesgo de formar teratomas miocárdicos. Por otro lado, en nuestro medio, tanto el equipo científico como el soporte económico son escasos para la manipulación de tales células. (33,21). **Los cardiomiocitos fetales** son otro tipo de células que se podrían transplantar a corazones lesionados; no obstante, po-

* Prof. Fisiología Departamento de Fisiología. Universidad de Ciencias Médicas UCIMED. San José. Costa Rica. Programa de Maestría en Fisiología de Sistemas.

** Programa de Maestría en Fisiología de Sistemas U.C.R. Gineco-obstreta. Hospital San Juan de Dios.

*** Profesor de Fisiología. Jefe Departamento de Fisiología. Universidad de Ciencias Médicas UCIMED. San José, Costa Rica.

**** Profesor de Cirugía, Universidad de Ciencias Médicas UCIMED. Servicio de Cirugía Cardiovascular, Hospital México.

seen importantes limitaciones tales como, la escasez de donadores y las restricciones éticas. Estos problemas no los presentan los **mioblastos del músculo esquelético**, pero como otras células, presentan un potencial limitado de crecimiento y proliferación al transplantarse y además, en algunos casos no se acoplan electromecánicamente con los cardiomiocitos que los rodean, y, por lo tanto, promueve el fenómeno de reentrada en la conducción del potencial de acción miocárdico, que fomentan la aparición de arritmias.(33)

Las **células madre adultas (CMA)** son derivadas de la médula ósea o del cordón umbilical, y han demostrado ser útiles en la regeneración del tejido cardiaco. La médula ósea contiene una población heterogénea de células primitivas, dentro de las cuales están las células madre hematopoyéticas, las estromales o mesenquimatosas, las células denominadas "poblaciones de al lado" y las células endoteliales progenitoras. Las CMA tienen una extensa capacidad de regenerar muchos tejidos no hematopoyéticos; tales como mioblastos esqueléticos, endotelio, epitelio, hepatocitos, células neuroectodérmicas, y cardiomiocitos, entre otros.(33) La transdiferenciación puede ser definida simplemente, como la adquisición de un inesperado fenotipo de un linaje celular. Mientras que cuando una célula madre hematopoyética da origen a un eritrocito o granulocito, lo cual es esperado, se denomina diferenciación. (36,33)

Dentro de este contexto, en algunos casos la llamada transdiferenciación de las CMA ha sido otorgada

a un proceso de fusión celular; pero las proteínas y marcadores que se manifiestan en la membrana plasmática se han dado paulatinamente y por otro lado, este proceso se ha podido confirmar en muy pocos casos, por lo que ambas situaciones, se oponen a que tal mecanismo (la fusión celular), sea el encargado de la regeneración de miocitos en la mayoría de los casos, como se había propuesto inicialmente.(33) Las CMM tanto de origen murino como de humano, han demostrado generar cardiomiocitos con baja eficiencia y aunque la expansión de las CMM in vitro es más factible que las CMH, las primeras requieren el uso de suero animal, lo cual podría limitar su aplicabilidad en humanos. Por último, las células madre progenitoras endoteliales han mostrado resultados variables.(40). Con respecto del origen de las CMA, estas pueden tomarse de médula ósea como ya hemos comentado, de sangre periférica o de cordón umbilical. Estas últimas poseen mayor cantidad de células madre que la sangre periférica, y al menos igual o mayor que la médula ósea. (16). Las células derivadas del cordón umbilical presentan un alto potencial de transdiferenciación, en una variedad de tipos celulares, y parecen proliferar y diferenciarse en forma más rápida que las CM derivadas de otros orígenes, posiblemente debido a su origen neonatal.(16)

Métodos por los cuales se pueden administrar las Células Madre.

El objetivo principal de cualquier modo de administrar CM va dirigido a lograr la concentración ideal

de células necesitadas, para reparar el tejido miocárdico dañado con el menor riesgo para los pacientes. Debido a que la movilización de células madre provenientes de la médula ósea es un fenómeno natural, parece razonable que ante un infarto cardiaco se **administren factores** que promuevan dicho proceso; tales como la eritropoyetina o el factor estimulante de colonias granulocíticas.(39) Sin embargo, este mecanismo no ha demostrado los resultados esperados, ya que al parecer también promueven un estado pro-inflamatorio, el cual no es ventajoso para la extensión y consecuencias del remodelado cardiaco. Por otro lado, existe el riesgo de tumorigénesis y en un estudio, este método produjo la reestenosis de arterias coronarias, por lo cual se ha dejado para casos como insuficiencias cardiacas con fracciones de eyección bajas, hasta que no se esclarezcan los mecanismos en estudios multicéntricos. La **infusión intravenosa de células madre**, como es realizada en los trasplantes de médula ósea, podría ser una técnica conveniente. Sin embargo, no se podría utilizar en pacientes con isquemia crónica, pues las señales que promueven la movilización y el anidamiento de dichas células, quizás no sean lo suficientemente enérgicas como para producir tales fenómenos. Además, existiría el riesgo, tanto en eventos isquémicos agudos como crónicos, que las células madre administradas se queden atrapadas en la microvasculatura pulmonar, hígado, y tejidos linfoides, lo cual provocaría que las células que llegan al miocardio lesionado, sean insuficientes para la regenera-

ción.(39). **La infusión de células por el seno coronario** supone la entrega de gran cantidad de CM y una distribución uniforme de estas. También existe el método de inyección transcoronaria, en el cual se inyectan las células de forma paralela y no perpendicular, (como en el **método transendocárdico**), lo cual supone una mayor retención de estas células en el miocardio. Sin embargo, dentro de las limitaciones de la infusión por el seno coronario, se encuentra la pérdida de una región específica del miocardio (cuando esto es lo buscado) y la variabilidad y tortuosidad del sistema venoso coronario, toman dicha administración muy difícil de realizar o incluso algunas veces imposible.(39)

La **infusión intracoronaria** es el método más popular en la práctica clínica; especialmente después de un infarto agudo del miocardio. Las CM administradas de cuatro a nueve días después del infarto, se han asociado con una mejoría en la hemodinamia cardíaca. Sin embargo, las células no llegarían a zonas de isquemia en pacientes quienes presenten múltiples trombos o ateromas en sus arterias coronarias, y los cuales no se puedan remover por angioplastia.(39). **La administración transepicárdica** de CM es la más usada en la terapia de regeneración miocárdica. Esta se ha realizado durante procedimientos de revascularización quirúrgica, en la cual las células son inyectadas en los bordes de zonas de infartos o cicatrizadas bajo la visualización directa. Esta vía requiere de una esternotomía y, como es altamente invasiva,

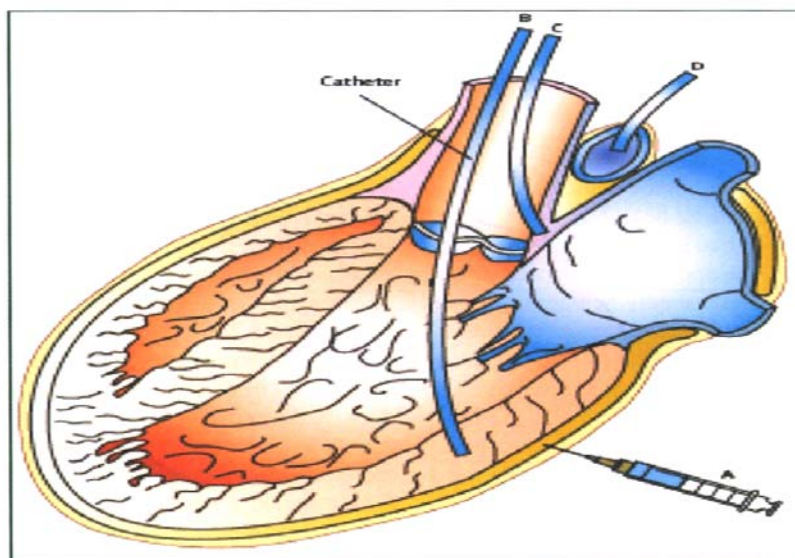


Figura 4. Métodos por los cuales se pueden administrar las células madre en el tejido cardíaco

es asociada con una significativa morbilidad quirúrgica. Sin embargo, en una cirugía planeada de "corazón abierto, la terapéutica alternativa de administración de CM sería fácilmente justificada. Una importante ventaja de esta técnica, es que permite administrar gran cantidad de CM por unidad de área inyectada. De cualquier modo, no todas las áreas de tejido miocárdico son accesibles; como por ejemplo, el septum ventricular.(39). **La inyección transendocárdica** es llevada a cabo por la canulación de la arteria femoral y se introduce un catéter que llegue a la cavidad ventricular izquierda. Hasta la fecha, dos tipos de catéteres son utilizados para este procedimiento: el Stiletto™ y el Myostar™. El primero es guiado fluoroscópicamente, usualmente en dos planos y por lo tanto, pierde la precisión

asociada con la fluoroscopia, y no muestra adecuadamente la zona deseada del miocardio. Por otro lado, el Myostar representa un estudio electromecánico, el cual es guiado por campos magnéticos y se puede valorar tanto la actividad mecánica del miocardio por un índice denominado acortamiento lineal local y también valora el voltaje unipolar preservado del miocardio. Por lo cual, otorga una ubicación muy aproximada de las zonas de isquemia o infarto, en donde deben de administrarse las CM de acuerdo con los valores de los índices de acortamiento y voltaje.(39) (ver Figura 4). De las técnicas antes citadas, pareciera que la mejor hasta la fecha es la inyección transepicárdica, dentro del contexto de una cirugía coronaria; ya que no solo se está mejorando la irrigación tisular mediante el puente corona-

rio, sino también la supervivencia y mayor incorporación de las CM en el miocardio carente de células contráctiles.

Regeneración Cardíaca

Como ya hemos comentado, existen una serie de trabajos científicos que se han publicado recientemente y que apoyarían la capacidad de las células madre hematopoyéticas (CMH) de diferenciarse en células de músculo cardíaco. El grupo de Orlic³⁸ ha demostrado, en un modelo de infarto de miocardio murino, que una inyección de células de médula ósea Lin- y c-kit+ (fenotipo de marcadores de superficie típico de CMH) en el corazón dañado, resulta de la colonización de estas células en más de la mitad del área infartada. Estas posibles CMH adquirieron un fenotipo característico de células de miocardio y contribuyen a la mejora y supervivencia de los animales al disminuir el remodelado ventricular.^(38,52) . A los nueve días la presión telediastólica disminuyó 36% y disminuyó el remodelado ventricular, aunque también hubieron células madre que manifestaron el fenotipo fibrótico. También se han realizado estudios con la movilización previa de CM con citoquinas. Por ejemplo, Kocher et al , estimularon 30 días antes de provocar infartos en ratas mediante la administración de G-CSF y VEGF; luego, tras la oclusión de la arteria coronaria inyectaron las células madre, dos días después se detectó el anidamiento de dichas células en el tejido miocárdico, 15 semanas después se encontraron nuevos vasos, disminución de células apoptóti-

cas, el tejido infartado disminuyó de 36 al 12%, y el gasto cardíaco mejoró de 26% al 48% con respecto a los controles.⁽⁵²⁾ Mientras tanto, Orlic et al⁽³⁸⁾, también trabajaron con la estimulación pre-infarto. Tomaron ratas y le administraron G-CSF 5 días pre-infarto y 3 días post-infarto. A los 21 días, la mortalidad disminuyó el 68%, la zona de infarto 40%, la presión telediastólica a 26%. La fracción de eyección mejoró en forma progresiva, es decir, a los 9 días un 48%, a los 16 días un 62% y a los 26 días un 114%. El incremento de nuevos miocitos fue de 5×10^6 . ^(38,52) Con respecto a estudios en humanos, la mayoría no han sido randomizados, lo que supone una desventaja. No obstante, 6 pacientes a los cuales se les realizó un bypass coronario, Stamm et al, inyectaron $1,5 \times 10^6$ células autólogas mononucleares AC133+ tomadas de la médula ósea del paciente en la zona peri-infarto. A los 9-16 meses después de la cirugía, ninguno de los pacientes había experimentado arritmias ventriculares. Todos los 6 pacientes mostraron notable mejoría en la capacidad de ejercicio y mejoraron en la clasificación de la New York Heart Association, además de mejorar la fracción de eyección de un 37% a un 48%. Las pruebas de perfusión miocárdica también mostraron mejoría en 5 de 6 pacientes.⁽⁵²⁾ Strauer et al. , realizaron un estudio no randomizado, en el cual tomaron 10 pacientes y les administraron células madre y fueron comparados con 10 pacientes control.⁽¹⁾ Células madre autólogas extraídas de la médula ósea fueron inyectadas

intracoronariamente de 5 a 9 después de sufrir un IAM. El retraso en parte refleja el tiempo requerido para la aspiración, separación y cultivación de las células madre autólogas de médula ósea.⁽⁵²⁾ Las células fueron administradas mediante infusiones de alta presión 2 a 3 ml de una suspensión celular directamente en el sitio de del infarto. A los 3 meses, los pacientes controles no mostraron diferencias estadísticamente en la función cardíaca o la perfusión. El grupo tratado tuvo una reducción en dimensiones del infarto, como una mejoría en el movimiento de la pared ventricular del 30 al 12% y una reducción en la región del infarto como métodos de perfusión con talio. Aunque el volumen sistólico incrementó significativamente, la fracción de eyección permaneció sin mayores cambios. No se reportaron efectos adversos.⁽⁵²⁾

Estudios Clínicos en la Reparación Cardíaca: PRIMUN NON NOCERE.

Después de 10 años de estudios preclínicos en animales, los estudios sobre la reparación cardíaca basados en la terapia celular han comenzado. El primer ensayo clínico fue realizado con la administración de mioblastos autólogos; en los cuales se necesitaron varias semanas, para realizar la expansión de los cultivos celulares, y luego se administraron a pacientes con enfermedad isquémica crónica. Los estudios con células derivadas de la médula ósea iniciaron varios años después, e involucran tanto condiciones de isquemia miocárdica aguda y crónica. La mayoría

Tabla 1.
Estudio clínicos sobre células madre en la regeneración cardíaca realizados en Europa

Estudios Europeos	Número de Pacientes	Seguridad y mejoría funcional
Strauer et al Circulation 2002	Células de la médula ósea (CMDMO) = 20 Control (Ctrl) = 20	<ul style="list-style-type: none"> • Seguro • + Contractilidad regional • - VTS • + Perfusión
TORCARE-AMI Circulation 2002 J Am Coll Cardiol 2004	(CMDMO) = 29 Ctrl = 30	<ul style="list-style-type: none"> • Seguro • + Contractilidad global • - VTS • + Viabilidad • + Flujo reserva
BOOST Lancet 2004	(CMDMO) = 30 Ctrl = 30	<ul style="list-style-type: none"> • Seguro • + Contractilidad global
Aviles et al. Cir Res 2004	(CMDMO) = 20	<ul style="list-style-type: none"> • Seguro • + Contractilidad Global • - VTS
Janssens et al Lancet 2006	Placebo = 34 CMDMO = 33	<ul style="list-style-type: none"> • Seguro • = Contractilidad global • - Área de infarto
REPAIR-AMI AHA 2005	Placebo = 103 CMDMO = 101	<ul style="list-style-type: none"> • Seguro • + Contractilidad global • - VTS • + Flujo reserva

AHA: American Heart Association; AMI: infarto agudo miocárdico; + aumentó; - disminuyó; = no cambió; VTS= volumen telesistólico

de estos han sido seguros y fácilmente realizables, y además, han demostrado mejorar la función cardíaca.(36). Muchos de estos estudios se han llevado a cabo en Europa, debido en parte a las menores restricciones que existen con respecto de los Estados Unidos de Norteamérica. Algunos de estos se resumen en la tabla 1 (11). Por lo tanto, ante la escasa evidencia de efectos adversos, por lo menos en

la terapia celular con CMA, y ante la mejoría de la función cardíaca, se deberían establecer más estudios con poblaciones grandes, que nos ayuden a tomar decisiones objetivas sobre los lineamientos por seguir con esta prometedora terapéutica a corto plazo. (45)

La otra cara de la moneda.

A finales de la década de los 90's y durante los primeros años de

esta década, fueron marcados por los dramáticos reportes de transdiferenciación en múltiples tipos de células de los diferentes órganos. Ejemplos incluyen células de médula ósea a músculo esquelético(13); de médula ósea/sanguíneas a endotelio(2); de células madre neuronales a sangre(7); de músculo esquelético a sangre(20); de médula ósea a pulmón(22); de médula ósea a cerebro(34); de

médula ósea a hígado(23); y de médula ósea a corazón.(38). Después de pocos años, de cualquier modo, se demostró que varias de estas conclusiones no se debían a fenómenos de transdiferenciación. Por ejemplo, la formación de sangre a partir de células de músculo esquelético terminó por resultar en células hematopoyéticas ectópicas las cuales inesperadamente residían en el músculo esquelético. La formación de hepatocitos a partir de células de médula ósea resultó de la fusión de las células sanguíneas con los hepatocitos, y la subsecuente reprogramación del núcleo de los leucocitos hacia un fenotipo hepático. Otras observaciones no fueron reproducibles o resultaron de artefactos experimentales. Por ejemplo, la formación de células sanguíneas a partir de células madre neurales no pudo ser reproducida por otros laboratorios, a pesar de los exhaustivos esfuerzos. Adicionalmente, la formación postulada del epitelio pulmonar a partir de células de la médula ósea, recientemente ha sido sugerido como un artefacto relacionado con la autofluorescencia o con la aproximación de los leucocitos y el epitelio pulmonar.(36). De particular relevancia para la comunidad cardiovascular fue la hipótesis que las CM derivadas de médula ósea pueden transdiferenciarse en cardiomiocitos. Un estudio realizado por Orlic et al.(38) sugirieron que la inyección intramiocárdica de CMH resultó en una extensa regeneración cardiaca. No obstante, otros estudios; incluso realizados en 42 y en 66 animales no demostraron tal transdiferenciación.(36). Otros grupos también fracasaron

en comprobar dicha hipótesis. Por ejemplo, Balsam et al.(4) encontraron que las CMH no se transdiferenciaron en cardiomiocitos, y también demostraron que estas células adquirieron un fenotipo leucocitario (predominantemente granulocítico) dentro de la zona del infarto. Nigren et al (37) reportaron que las CMH forman exclusivamente leucocitos dentro de la zona del infarto, con la no activación de los genes cardiacos en las células transplantadas. Ellos también demostraron que la administración de citoquinas que promueven la movilización de CM, no resultó en la formación de nuevos cardiocitos, aunque sí se encontraron células progenitoras fusionadas con cardiomiocitos. Una implicación que podría explicar los resultados que se dieron en estos estudios, radica en que las células administradas fueron insuficientes para generar el número adecuado de miocitos cardiacos. De todas formas, lo que sí se ha comprobado es que las CM derivadas de la médula ósea evitan el remodelado cardiaco y promueven quizás factores paracrinos que reducen la extensión del infarto o mejoran la angiogénesis, en las zonas isquémicas crónicamente.(36,53,12,36).

C ONCLUSIONES

Las células madre nos ofrecen la oportunidad de "reconstruir órganos dañados"; ya sea por la formación de nuevo tejido o por la mejoría del sobreviviente. Por ejemplo, un corazón infartado podría ser reconstruido a partir de sus diferentes partes, es decir, células endotelia-

les, cardiocitos y células de músculo liso. Lo que era una noción radical hace 10 años atrás, ahora es una verdad experimental, y múltiples estudios se están realizando actualmente a través del mundo entero. Gran parte de la comunidad científica y social, se encuentran extremadamente entusiastas sobre los resultados y mejoras que la terapia celular podría brindar a millones de enfermos. No obstante, es necesario tener presente que este entusiasmo no debe ser suficiente. Por el contrario, debemos mantenernos rigurosos, escépticos y analizar los futuros trabajos al respecto, para así poder ofrecer en algún momento esta nueva terapia a los pacientes, a sabiendas que la balanza final estará inclinada hacia el beneficio más que al perjuicio e ilusiones de los enfermos.

B IBLIOGRAFÍA

1. Angelini P, Markwald R. Stem Cell Treatment of the Heart. *Tex Heart Inst J* 2005; 32:479-88.
2. Asahara T, Murohara T, Sullivan A, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science* 1997 275:964-7.
3. Ashman LK. The biology of stem cell factor and its receptor c-kit. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 1999; 31:1037-1051.
4. Balsam LB, Wagers AJ, Christensen JL, Kofidis T, Weissman IL, Robbins RC. Haematopoietic stem cells adopt mature haematopoietic fates in ischaemic myocardium. *Nature* 2004;428:668-73.
5. Behfar A, Zingman LV, Hodgson DM. Stem cell differentiation requires a paracrine pathway in the heart. *FASEB J* 2002;16:1558-66.
6. Beltrami AP, Barlucchi L, Torella D, et col. Adult cardiac stem cell are multipotent and support myocardial regeneration. *Cell* 2003;114:763-76.
7. Bjornson CR, Rietze RL, Reynolds BA, Mгли MC, Vescoci AL. Turning brain into blood:

- a hematopoietic fate adopted by neural stem cells in vivo. *Science* 1999;283:534-7.
8. Blackburn EH. Structure and function of telomeres. *Nature*. 1991;350:569-573,
 9. Caparelli DJ, Cattaneo S, Shake JG, et col. Cellular cardiomyoplasty with allogenic mesenchymal stem cells results in improved cardiac performance in a swine model of myocardial infarction. *Circulation* 2001;104(suppl II): II-599.
 10. Chiu RCJ. "Stealth Immune Tolerance" in Stem Cell Transplantation: Potential for "Universal Donors" in Myocardial Regenerative Therapy. *J Heart Lung Transplant* 2005;24:511-516.
 11. Dimmeler S. Viewpoint: Stem Cells in Cardiology. *Circulation* 2006;113:69-72.
 12. Eisenberg LM, Eisenberg CA. Adult Stem Cell and Their Cardiac Potential. *Anat Rec Part A* 2004; 276:103-112.
 13. Ferrari G, Cusella-De Angelis G, Coletta M, et col. Muscle regeneration by bone marrow-derived myogenic progenitors. *Science* 1998;279: 1528-30.
 14. Forrester JS, Price MJ, Makkar RR. Stem cell repair of Infarcted Myocardium: an overview for clinicians. *Circulation* 2003;108:1139-1145.
 15. Fraser JK, Schreiber RE, Zuk PA, Hedrick MH. Adult stem cell therapy for the heart. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 2004;36:658-666.
 16. Friedrich EB, Bohm M. Human umbilical cord blood cells and myocardial infarction: Novel ways to treat an old problem. *Circ Res* 2005;66:4-6.
 17. Haider KH, Jiang SJ, Ye L. Transient immunosuppression is effective for xenotransplantation of human myoblasts for cardiac repair in a porcine heart mode. *Circulation* 2002;16:106-69.
 18. Heeschen C, Aicher A, Lehmann R, et col. Erythropoietin is a potent physiologic stimulus for endothelial progenitor Cell mobilization. *Blood* 2003;102:1340-1346.
 19. Hiyama K, Hirai Y, Kyoizumi S, et col. Activation of telomerase in human lymphocytes and hemaopoietic progenitor cells. *J Immunol*. 1995; 155:3711-3715.
 20. Jackson KA, Mi T, Goodell MA. Hematopoietic potential of stem cells isolated from murine skeletal muscle. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:1482-6.
 21. Keller G. Embryonic stem cell differentiation: emergence of a new era in biology and medicine. *Genes Dev* 2005; 19:1129-1255.
 22. Krause DS, Theise ND, Collector MI, et col. Multi-organ, multilineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. *Cell* 2001;105:369-77.
 23. Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M, et col. Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo. *Nat Med* 2000;6:1229-34.
 24. Lapidot T, Petit I. Current understanding of stem cell mobilization: The roles of chemokines, proteolytic enzymes, adhesion molecules, cytokines, and stromal cells. *Exp Hematol*. 2002; 30:973-981.
 25. Laugwitz KL, Moretti A, Lam J, et col. Postnatal isl-1+ cardioblasts enter fully differentiated cardiomyocyte lineages. *Nature* 2005;433:647-53.
 26. Leri A, Kajstura J, Anversa E Cardiac Stem Cells and Mechanisms of Myocardial Regeneration. *Physiol Rev*. 2005;85:1373-1416.
 27. Levine M, Hoey T. Homeobox proteins as sequence-specific transcription factors. *Cell*. 1998; 55:537-540.
 28. Liechty KW, Mackenzie TC, Shaaban A, et col. Human mesenchymal stem cells engraft and demonstrate site-specific differentiation after in utero transplantation in sheep. *Nature Med* 2000; 6:1282-6.
 29. Linnekin D. Early signaling pathways activated by c-kit in hematopoietic cells. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 1999; 31:1053-1074.
 30. Makkar RR, Price M, Lill M. Multilineage differentiation of transplanted allogenic mesenchymal stem cells in a porcine model of recent myocardial infarction improves left ventricular function. *Circulation* 2002;106(suppl II):II34.
 31. Matzinger P. An innate sense of danger. *Sem Immunol* 1998;10:399-415.
 32. Matzinger P. The danger model: a renewed sense of self. *Science* 2002; 296:301-5.
 33. Méndez-Ferrer S, Ellison GM, Torella D, Nadal-Ginard B. Resident progenitors and bone marrow stem cells in myocardial renewal and repair. *Nature Clinical Practice Cardiovascular Medicine*. 2006;3:s83-s89.
 34. Mezey E, Chandross KJ, Harta G, Maki RA, Mckercher SR. Turning blood into brain: cells bearing neuronal antigens generated in vivo from bone marrow. *Science* 2000;290: 1779-82.
 35. Min JY, Yang Y, Converso KL, et col. Transplantation of embryonic stem cells improves cardiac function in postinfarcted rats. *J Appl Physiol* 2002;92:288-96.
 36. Murry ChE, Reinecke H, Pahon LM. Regeneration Gaps: observations on stem cells and cardiac repair. *J Am Coll Cardiol* 2006;47: 1777-85.
 37. Nygren JM, Jovinge S, Breitbach M, et col. Bone marrow-derived hematopoietic cells generate cardiomyocytes at a low frequency through cell fusion, but no transdifferentiation *Nat Med* 2004;10:494-501.
 38. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et col. Bone Marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 2001;410:701-5.
 39. Perin EC, López J. Methods of stem cell delivery in cardiac diseases. *Nature Clinical Practice Cardiovascular Medicine* 2006; 3: s110-s113.
 40. Pittenger MF, Martin BJ. Mesenchymal stem cells and their potential as cardiac therapeutics. *Circ Res* 2004; 95:9-20.
 41. Reya T, Duncan AW, Ailles L, et col. A role for Wnt signaling in self-renewal of haematopoietic stem cells. *Nature*. 2003; 423:409-414.
 42. Saha M, Ferro A. Cardiac stem cell therapy: present and future. *Br J Clin Pharmacol* 2006; 61:727-729.
 43. Schober A, Karshovska E, et col. SDF-1 alpha Mediated Tissue Repair by Stem Cells: A Promising Tool in Cardiovascular Medicine?. 2006; 16: 103-108.
 44. Saito T, Kuang JQ, Bittira B, Al-khaldi A, Chiu RCJ. Xenotransplant cardiac chimera: immune tolerance of adult stem cells. *Ann Thorac Surg* 2002;74:19-24.
 45. Siepe M, Heilmann C, von Samson P, et col. Stem cell research and cell transplantation for myocardial regeneration. *Eur J Cardiothorac Surg* 2005; 28:318-324.
 46. Stein MI, Zhu J, Emerson SG. Molecular pathways regulating the self-renewal of haematopoietic stem cell. *Exp Hematol*. 2004; 32:1129- 1136.
 47. Torella D, Ellison GM, et col. Resident human cardiac stem cells : role in cardiac cellular homeostasis and potential for myocardial regeneration. *Nature Clinical Practice Cardiovascular Medicine*. 2006;3:s8-s13.
 48. Vandervelde S, van Luyn MJA, Tio RA, Harnsen MC. Signaling factors in stem cell-mediated repair of infarcted myocardium. *J Mol Cell Cardiol*. 2005; 39:363-376.
 49. Wald MR, Borda ES, Sterin —Borda L. Mitogenic effect of erithropoietin on neonatal rat cardiomyocytes: signal transduction pathways. *J Cell Physiol*. 1996; 167:461-468.
 50. Wollert K, Drexler H. Cell-based therapy for heart failure. *Curr Opin Cardiol* 2006; 21:234-239.
 51. Xiao YF, Min JY, Morgan JP. Immunosuppression and Xenotransplantation of Cells for Cardiac Repair. *Ann Thorac Surg* 2004;77:73744
 52. Zeledón FS, Morales O, Méndez EJ, et col. Células madre en la reparación de tejido miocárdico: Biología y Clínica. *Revista Costarricense de Cardiología*. 2005; 7: 13-20.
 53. Zuk PA, Zhu M, Ashjian P et al. Human Adipose Tissue is a Source of Multipotent Stem Cells. *Mol Biol Cell* 2002; 13: 4279-4295.