

Cardiomieloplastia: El papel de las células madre en la regeneración miocárdica

Palabras clave: Células madre, cardiomiositos, enfermedad isquémica cardiaca, infarto del miocardio, angiogénesis, transdiferenciación, plasticidad.

Key words: Stem cells, cardiomyocytes, ischaemic heart disease, myocardial infarction, transdifferentiation, plasticity.

Recibido: 07/01/2009
Aceptado: 23/01/2009

José Roberto Barba Evia*

* Unidad Médica de Alta Especialidad No. 10 de Mérida, Yucatán.
Instituto Mexicano del Seguro Social.

Correspondencia:
Dr. José Roberto Barba Evia.
Calle 34 por 41 No. 439. Exterrenos «El Fénix».
Col. Industrial. C.P. 97150. Mérida, Yucatán, México.
Tel: (01999) 9-22-56-56 ext. 5054 y 5055.
E-mail: jose.barbae@imss.gob.mx

Resumen

50

Recientes avances en el estudio de las células madre han permitido una nueva posibilidad en la regeneración del daño tisular y de órganos como una nueva terapéutica para tratar diversas enfermedades degenerativas.

Abstract

Recent progress in stem cell area is opening a new possibility of regenerating damaged tissue and organs as a new therapeutic approach for many degenerative diseases.

Introducción

En los últimos 50 años, la enfermedad cardiovascular ha sido la principal causa de muerte en los Estados Unidos, siendo la patología cardiaca la primera y la cerebrovascular la tercera, y se ha estimado una erogación en los sistemas de salud de \$ 350 billones de dólares por año. Desde la década de los 80, diversos avances han permitido variaciones en el tratamiento de la enfermedad coronaria debido a: modificación de los factores de riesgo, utilización de nuevos medicamentos (Por ejemplo: anticoagulantes, agentes antiplaquetarios, β -bloqueadores, inhibidores de angiotensina, etcétera) y perfeccionamiento en

las técnicas de revascularización tanto percutánea como quirúrgica, lo que ha permitido la reducción significativa de la morbilidad por cardiopatía isquémica (proceso que depende de la transformación aguda y crónica tanto de la región necrótica infartada como del tejido periinfartado y no necrótico), así como de la falla cardiaca secundaria (principal secuela postinfarto).¹⁻⁵

No obstante, a pesar de estos avances, la progresión natural de la cardiopatía isquémica, las fallas posteriores en los bypass venosos y/o las restenosis después de intervenciones percutáneas, han propiciado que un número creciente de pacientes que no son candidatos a los procedimientos convencionales, o aquéllos con insuficiencia car-

diaca resistentes a las terapias farmacológicas, requieran estrategias alternativas.^{3,6-8}

Antecedentes históricos

Durante el siglo XIX, Virchow y Schwann describieron que los tejidos de los mamíferos se encontraban compuestos por células, y por primera vez se afirmó que las células se originan exclusivamente de otras células («*omnis cellula a cellula*»). En los comienzos del siglo XX, el concepto de célula madre tisular como base para la regeneración de tejidos fue introducido, analizando la filogénesis de la hematopoyesis en la médula ósea y basándose únicamente en observaciones morfológicas. Esta aseveración fue corroborada por diversos grupos en la década de los 50 que afirmaron la existencia de una célula madre hematopoyética en la médula ósea (MO), hecho que se confirmó con la recuperación de la hematopoyesis en la médula ósea transplantada en pacientes con daño medular por radiación.⁹ Debido a que desde los años 60 se utiliza el trasplante de médula ósea, la célula madre (stem) hematopoyética ha sido la más estudiada. En 1976, Friedenstein y colaboradores reportaron que los aspirados de médula ósea crecían en bajas diluciones, formando colonias de fibroblastos, y que éstos podían diferenciarse en hueso y cartílago. A pesar de que las células madre embrionarias de ratón se estudiaron desde el inicio de la década de los 80, no fue hasta 1997 cuando se publicó la primera clonación de un mamífero. Un año más tarde se obtuvieron las primeras células madre embrionarias de procedencia humana; este hecho marcó la pauta para las investigaciones relacionadas con la biología y diferenciación celular. Estos estudios han continuado hasta la presente década y el concepto de regeneración tisular proveniente de una pequeña población de células madre tisulares fue aceptado, y aplicado a tejidos no hematopoyéticos, como por ejemplo: médula ósea (MO) a múscu-

lo esquelético, MO a endotelio, células tallo neuronales a sangre, músculo esquelético a sangre, MO a pulmón, MO a cerebro, MO a hígado y MO a corazón. En el año 2001, Menasché y colaboradores reportaron el primer trasplante de mioblastos esqueléticos autólogos en humanos. En este mismo año, Orlic y asociados trataron experimentalmente la posible conversión de células madre hematopoyéticas a células miocárdicas.^{2,8,10-16}

A lo largo de la vida de un individuo, de manera natural o por enfermedad, las células que forman sus tejidos sufren desgaste y/o degeneración que pueden comprometer a corto plazo la vida del paciente o llevarlo hacia condiciones de incapacidad grave. Debido a esto, uno de los mayores desafíos para la investigación biomédica del siglo XXI radica en desarrollar estrategias terapéuticas tendientes a reemplazar o reparar estas células y tejidos dañados. El incremento en la demanda de estas estrategias de regeneración ha propiciado la formación de una nueva disciplina denominada «medicina regenerativa» o «ingeniería en tejido», la cual tiene como objetivo el cultivo de tejidos humanos para sustituir a los dañados o perdidos, basándose en la autogeneración celular, combinando el uso de factores de crecimiento específico para cada linaje celular, esto es, disponer de células adultas con cierta indiferenciación, capaces de generar células más diferenciadas (transdiferenciación) que pueden reproducirse *in vitro* e *in vivo*, y que pueden ser autólogas o alogénicas.^{1,6,9,11,16,18}

51

Definición y tipos de células madre (stem cells)

Desde el momento de la fecundación, una única célula tiene la capacidad de diferenciarse y especializarse hasta formar un tejido embrionario. Cuando el cigoto llega al periodo bicelular, experimenta una serie de divisiones mitóticas que produce un incremento en el número celular. Estas

células cada vez se tornan más pequeñas y compactas en cada división, denominándose blastómeras. Tres días después de la fecundación, las células del embrión vuelven a dividirse formando una mórula, donde las células centrales constituyen la masa celular interna. Esta masa de células internas del blastocisto preimplantado puede proliferar de manera indefinida.¹⁷

Dentro de las principales células con estas características tenemos: **Células madre o stem cells** (por ejemplo: hematopoyéticas) y **células progenitoras**. Se definen como aquéllas con capacidad de clonación y autorrenovación, las cuales se diferencian hacia múltiples linajes, dando lugar a células maduras específicas de tejido especializadas en reparar órganos dañados, incluyendo el corazón. El término totipotencial se reserva para las células madre con capacidad limitada, que pueden dar origen a todos los tejidos diferenciados del cuerpo humano, incluyendo la placenta y membranas ovulares. Los términos multipotente y pluripotente son sinónimos y se refieren a la habilidad de diferenciarse hacia múltiples linajes celulares del organismo. El mantenimiento de estas células se logra a través de un proceso de división asimétrica, en la cual durante la división celular se produce una célula hija que hereda factores determinantes de diferenciación, que le permite lograr la reconstitución funcional de un tejido determinado.^{12,17} De acuerdo con su capacidad de diferenciación las células madre (*stem cells*) se dividen en:

- **Totipotenciales:** son aquéllas capaces de diferenciarse en embrión y tejidos extraembrionarios, contribuyendo a la formación de todos los tipos celulares de un organismo.
- **Pluripotentes:** las que pueden diferenciarse a todos los tipos celulares de las tres capas germinales.
- **Multipotentes:** son aquéllas con capacidad limitada para diferenciarse hacia tipos celulares de un tejido u órgano específico.¹²

En los mamíferos las células madres se clasifican de la siguiente manera:

- **Células madre embrionarias y fetales:** son las más primitivas de todas las poblaciones de células madre. Derivan de la masa celular interna del blastocisto preimplantado después del quinto día de fertilización. Durante la vida intrauterina su división y diferenciación conlleva a un vasto potencial de diferenciación (formar tejidos del embrión y posteriormente tejidos especializados), proporcionando el crecimiento celular de las tres capas germinativas embrionarias. Las células madre mesenquimales son las células progenitoras multipotentes con potencial de diferenciación hacia progenie mesenquimal: fibroblasto, músculo, hueso, tendón, ligamentos y tejido adiposo; por lo tanto, estas células pueden aislarse de tejido muscular, piel, tejido adiposo y médula ósea. Cuando estas células son aisladas y transferidas a un medio de cultivo apropiado, retienen su capacidad para diferenciarse en tipos celulares específicos, incluyendo cardiomiocitos.^{17,19}
- **Células madre germinales:** en la embriogénesis, éstas se localizan en las crestas germinales, las cuales migran hacia las gónadas primitivas, diferenciándose en células germinales masculinas o femeninas.¹⁷
- **Células progenitoras somáticas y de renovación celular normal:** en el adulto, sus células son renovadas constantemente, y esta sustitución es mediada por la proliferación de células progenitoras. Se definen como aquéllas con capacidad de autogeneración y que pueden diferenciarse en múltiples líneas celulares. Su principal función es estimular los componentes y proceso mitótico de las células somáticas.¹⁷
- **Células madre hematopoyéticas:** éstas se localizan en la médula ósea. Normalmente producen aproximadamente tres billones de eritrocitos y plaquetas, así como un billón de granulocitos por kilogramo de peso por día

en el adulto sano. El número de células progenitoras hematopoyéticas en proceso de proliferación se estima en 0.05% del total de la médula ósea.¹⁷

La clasificación de las células madre, basada en marcadores celulares, se encuentra en evolución. La primera distinción es entre células tallo embrionario y adulta (*cuadro I*).²⁰

Infarto del miocardio y sus consecuencias

El corazón se considera como un órgano de diferenciación terminal debido a que, durante la etapa embrionaria y fetal, hay replicación activa de cardiomiositos por la presencia de reguladores positivos del ciclo celular que permiten la cariogenesis. Antes del nacimiento, la actividad dismi-

nuye y se produce duplicación genómica con aumento de reguladores negativos que detienen el ciclo celular en un estado postmitótico, sin replicación celular activa significativa en la edad adulta; por lo tanto, las células miocárdicas, presentes de manera muy breve después del nacimiento, son incapaces de dividirse, su número disminuye progresivamente con la edad, su tamaño se incrementa y su función se deteriora, por lo que, en la vida adulta, el potencial regenerativo del tejido cardiaco está limitado y no es suficiente para prevenir la degeneración que ocurre en condiciones patológicas como el infarto agudo del miocardio (IAM).²¹

El miocardio contiene aproximadamente 20 billones de cardiomiositos por gramo de tejido. El peso promedio del ventrículo izquierdo es de 200 g y contiene cuatro billones de cardiomiositos. Las células progenitoras pueden tener origen

53

Cuadro I. Glosario de términos. Tomado y modificado de: *Circulation* 2003; 108: 1139-1145, *Circulation Research* 2002; 91: 1092-1102 y *BioWave* 2004; 6 (11): 1-26.

Término	Definición
Células madre o stem cells	Células con capacidad para extender su permanencia y con habilidad para diferenciarse en múltiples tipos celulares.
Células madre embrionarias	Células pluripotenciales derivadas de la masa celular cercana al blastocisto; que proporciona el crecimiento celular de las tres capas germinativas.
Células madre adultas	Presentes en todos los tejidos renovables; estas células se dividen para asegurar su renovación y diferenciarse en múltiples tipos de progenitores celulares.
Hemangioblasto	Célula madre embriogénica precursor de células sanguíneas y endoteliales.
Células madre hematopoyéticas	Células madre medulares precursor de células sanguíneas y células endoteliales.
Células precursoras endoteliales	Células madre hematopoyéticas con marcadores específicamente definidos.
Células madre mesenquimatosas	Células madre medulares precursores de células de estroma y fibroblastos.
Células autólogas	Células provenientes del mismo individuo.
Células alogénicas	Células provenientes de la misma especie.
Células heterólogas	Células provenientes de diferentes especies.
Plasticidad o transdiferenciación	Capacidad de las células madre adultas que residen en un tejido para diferenciarse en células maduras de un tejido no relacionado o diferente al de su origen embrionario.
Células sanguíneas de cordón umbilical	Células con alto contenido de células madre hematopoyéticas primitivas con la ventaja de que las células inmunitarias que posee se encuentran inmaduras, lo que disminuye la incidencia de enfermedad severa de injerto contra huésped.

en el embrión o en estructuras adultas, como las células satélites o mioblastos esqueléticos y células madre mesenquimatosas aisladas de la médula ósea.^{1,22,23}

El infarto agudo del miocardio (IAM) es por naturaleza una lesión irreversible, la cual comienza entre 15 a 20 minutos después de ocurrida la oclusión de la arteria coronaria. El miocardio subendocárdico es el más vulnerable a la isquemia debido a que posee una alta necesidad metabólica. La extensión del infarto depende de la duración y severidad del defecto perfusorio. Una vez que ocurre la agresión (oclusión de un vaso coronario) se produce un proceso de cicatrización con formación de una escara y remodelación que lleva a dilatación ventricular y reducción de la función sistólica semanas o meses después del evento inicial, con el consecuente desarrollo de un síndrome de falla cardiaca debido a disfunción ventricular. Para causar insuficiencia cardiaca, un infarto necesita matar aproximadamente 25% del ventrículo, lo que equivale a un déficit aproximado de un billón de cardiomiositos. En el cuadro II se especifica la cantidad de células que se localizan normalmente en el miocardio.^{6,10,19,23-26}

En el IAM, existen además alteraciones simultáneas de la matriz extracelular, la cual está constituida en 80% por colágeno tipo I (responsable de la geometría del esqueleto ventricular y del alineamiento de los cardiomiositos) y en 10% por colágeno tipo III (responsable de la interconexión entre las células y del acortamiento sistólico). Después de un IAM, el colágeno tipo I se reduce a 40% y el colágeno tipo II aumenta a 35%, crean-

do una fibrosis patológica.⁶ En modelos caninos, se ha estudiado la fisiopatología del IAM, así como de la remodelación del ventrículo izquierdo. El proceso inicia con expansión temprana del infarto (cuatro días), seguida por resorción del mismo con formación de escara, y adelgazamiento de la pared (seis semanas). Miocitos necróticos, edema intersticial, hemorragia y células inflamatorias son reabsorbidas y reemplazadas por escaras de tejido colagenoso, también existe reposición en los bordes de las zonas del área infartada por células madre circulantes.²⁷

La restauración temprana del flujo sanguíneo coronario epicárdico reduce el tamaño del infarto, proporcionando un efecto benéfico en el miocardio postinfartado y en la remodelación del ventrículo izquierdo. Sin embargo, la reperfusión temprana también ocasiona disfunción endotelial y extravasación de fluidos hacia el intersticio. Entender el curso natural del IAM y los efectos de la reperfusión temprana sobre el miocardio lesionado ha contribuido al desarrollo de nuevas terapias para la enfermedad cardiaca isquémica.²⁷

Muchas de las terapias disponibles hoy en día pueden proveer al clínico del pronóstico del evento. Aunque la angioplastia y los agentes trombolíticos pueden relevar la causa del infarto, el tiempo que va desde el momento en que ocurrió la oclusión hasta la reperfusión determina el grado de irreversibilidad de la lesión miocárdica.¹⁰ Clínicamente, no existe medicación o procedimiento utilizado en el reemplazo de la cicatriz miocárdica con tejido contráctil funcional, por lo tanto se necesita de nuevas terapéuti-

Cuadro II. Miocitos y no miocitos en el miocardio. Tomado y Modificado de: *Circulation* 2003; 108: 1395-1403.

Grupo	Por número de células	Por volumen celular	Por masa celular
Cardiomiocto	25 a 35%	33 al 75%	90%
No miocitos	65 a 75%	20 a 33%	10% (90-95% son fibroblastos)

cas de regeneración de cardiomiositos normales (cardiomiplastia).¹⁹

Bases conceptuales de la terapia celular

Anversa y colaboradores reportaron la existencia de células madre cardiacas (CD117+) residentes en el corazón adulto, tanto normal como patológico, las cuales tienen capacidad de diferenciarse hacia células endoteliales, musculares lisas y cardiomiositos funcionantes; por lo tanto, son capaces de producir regeneración miocárdica después de un IAM.¹⁰ En pacientes que han sufrido IAM se ha encontrado aumento en el número de células CD34+ circulantes con un pico máximo a los siete días, lo que se cree representa una activación del mecanismo de regeneración ante una lesión del miocardio; sin embargo, como se ha mencionado anteriormente, el miocardio adulto por sí mismo es incapaz de reparar en forma efectiva su lesión después de un infarto debido a la escasez de células progenitoras. Por esta razón, han sido diseñadas estrategias de trasplante celular para el tratamiento de la insuficiencia cardiaca de etiología isquémica y no isquémica, con el fin de reemplazar las células destruidas con otras células que puedan realizar el trabajo cardíaco.^{6,20} Por otra parte, después del trasplante de médula ósea, células madre hematopoyéticas han sido aisladas en diversos tejidos no hematopoyéticos como músculo cardíaco, conductos biliares hepáticos y endotelio vascular.²⁴ Variables como edad, antecedentes de enfermedad coronaria y/o de angioplastia precoz e infecciones, parecen influir en el número de las células que pueden movilizarse hacia la sangre periférica.¹⁰ Estudios experimentales y clínicos han demostrado que las células progenitoras derivadas de la médula ósea pueden utilizarse no sólo para regenerar cardiomiositos, sino para producir angiogénesis debido a su plasticidad a través de mecanismos como transdiferenciación y fusión que les permite desarrollar patrones, características es-

tructurales y expresión de proteínas específicas, por ejemplo troponina y actina I.¹² Esto puede brindar la posibilidad de utilizar las células madre para impedir el deterioro progresivo en el caso de la falla cardíaca, o para restaurar la función en pacientes con daño miocárdico agudo o crónico.²⁰

Las células madre presentan dos características definidas: 1) capacidad de diferenciarse en un amplio espectro de diferentes tipos celulares y 2) capacidad de renovarse constantemente.

El principio biológico para entender la terapia celular es la diferenciación tisular dirigida; por ejemplo, células madre adultas aisladas de tejido hepático y reinjertadas en el hígado se convierte en hepatocitos; sin embargo, las mismas células injertadas en el miocardio se convierten en miocitos. Este tipo de terapia ha sido utilizado en un espectro amplio de tejidos, incluyendo regeneraciones óseas y de tejido neuronal, distrofia de músculo esquelético y lesiones de músculo esquelético.²⁰ No se encuentra bien definido cómo ocurre la migración de las células madre hacia el sitio de la lesión; sin embargo, se cree que ocurre mediante un complejo proceso multipaso. El primer paso del proceso es la movilización de las células madre. El estímulo puede ser debido a un factor de las células madre y/o factor estimulante de colonias de granulocitos y otras citoquinas. Proteínas de matriz extracelular y enzimas proteolíticas facilitan esta movilización celular. Posteriormente, las células entran a la circulación sanguínea, existe expresión de moléculas de adhesión en el sitio de la lesión mediante ataque a la célula endotelial. La migración transendotelial es entonces manejada en parte por citoquinas. Finalmente la diferenciación a tejido dentro del órgano lesionado está probablemente influenciado tanto por el contacto célula a célula como por factores de crecimiento.²⁰

55

Cardiomiplastia

A pesar de que la revascularización quirúrgica o intervencionista del miocardio isquémico puede

tratar los estados de angina, reduciendo el riesgo de IAM, mejorando la función del miocardio viable, la viabilidad del miocardio necrótico no puede ser restaurada. El término cardiomioplastia fue descrito por Chiu y colaboradores y tiene como objetivos:^{2,10}

- Reemplazar los miocitos dañados necróticos e hipofuncionantes por miocitos funcionantes (miogénesis).
- Mejorar la angiogénesis y la vasculogénesis del corazón dañado.
- Limitar la expansión de la escara y de la dilatación ventricular, lo que potencialmente incrementa la contractilidad regional y mejora la función ventricular.
- Mejorar la función contráctil del corazón.

El primer paso de la cardiomioplastia es la elección apropiada de la estirpe celular que será utilizada para la regeneración miocárdica. Las células implantadas actúan produciendo miogénesis y/o angiogénesis. Los tipos de células utilizadas de manera experimental se han clasificado de acuerdo con su mecanismo de acción predominante:^{10,28}

56

A) Inducción de miogénesis y/o cardiomigénesis:

- Células musculares esqueléticas (mioblastos).
- Células mesenquimales de la médula ósea.
- Células embrionarias.
- Células musculares lisas.
- Cardiomiocitos fetales y neonatales.
- Cardiomiocitos atriales como marcapasos biológicos cardiacos.
- Cardiomiocitos ventriculares adultos.

B) Inducción de angiogénesis y arteriogénesis:

- Células mononucleares seleccionadas de médula ósea.
- Células mononucleares aisladas de sangre periférica.

- Células sanguíneas y/o medulares progenitoras endoteliales (CD34+ y CD133+).
- Células progenitoras del cordón umbilical.
- Células endoteliales vasculares (aisladas a partir de la íntima de arterias y venas).
- Células mesoteliales extraídas del epiplón.
- Células progenitoras extraídas del tejido adiposo.

El reemplazo del miocardio infartado comienza con la inyección directa de mioblastos fetales y esqueléticos con el fin de inducir el crecimiento de nuevas fibras musculares (repopulación celular) y el desarrollo de angiogénesis en el miocardio lesionado, restaurando la contractilidad y, con esto, mejorando tanto la función ventricular sistólica como diastólica, previniendo la formación de una escara fibrótica, y con ello el deletéreo patológico después de la remodelación del miocardio infartado.²⁹ Este procedimiento puede aplicarse en pacientes que presentan insuficiencia ventricular postisquémica y en cardiopatías no isquémicas (incluyendo la chagásica). Estudios en modelos animales han demostrado que los cardiomiocitos, los mioblastos esqueléticos y las células de músculo liso pueden sobrevivir y proveer contractilidad al miocardio necrótico una vez realizado el procedimiento.^{6,30}

El tipo de célula más lógico para la terapia celular debe ser el cardiomiocito normal; sin embargo, se ha demostrado que el trasplante de cardiomiocitos adultos y fetales da lugar a injertos muy pequeños y usualmente mueren después de ser implantados debido a su baja capacidad de división. Se ha reportado que las células madre pueden transformarse en cardiomiocitos *in vivo*, basándose en el desarrollo de patrones, características estructurales, y la expresión de proteínas cardíacas específicas como son actina y tropomodulina.

En la regeneración miocárdica pueden utilizarse diferentes tipos de células: mioblastos autólo-

gos (células madre extraídas de músculo estriado), células madre derivadas de la médula ósea, células circulantes en sangre y células madre pluripotenciales; estas últimas tienen potencial para multiplicarse y diferenciarse en el tejido isquémico, tanto en células contráctiles como en células formadoras de vasos sanguíneos. Actualmente también se consideran a las células mesenquimatosas de la médula ósea y células progenitoras circulantes en sangre.^{6,30} En el cuadro III se enlistan los principales tipos celulares evaluados en la regeneración cardiaca, así como sus principales características.^{10,20}

Entre la multitud de subtipos de células progenitoras, CD133+ circulantes tienen alto potencial para integrarse a tejidos isquémicos, contribuyendo a la curación por promoción de la angiogénesis local.³¹ Diversas investigaciones cardiovasculares han utilizado células madre adultas derivadas de la médula ósea, así por ejemplo, Fuchs y asociados encontraron que la inyección intramiocondrial de médula ósea autóloga promueve la circulación colateral en miocardio porcino isquémico. El procedimiento incluye tres etapas: aspiración de la médula ósea del paciente, aislamiento y enriquecimiento de las células progenitoras mononucleares autólogas, y/o inyección intracoronaria (bajo anestesia local durante el cateterismo cardiaco) o intracardiaca (durante la cirugía de bypass de la arteria coronaria) de estas células.³² En la práctica

clínica, las células de la médula ósea son fácilmente obtenidas mediante aspirado a través de la piel, y el cual contiene células progenitoras multipotenciales que pueden diferenciarse en varios tipos de células, incluyendo células miogénicas. Dentro de la médula ósea, una distinción simplificada es entre células madre hematopoyéticas (CD34+) que son precursoras de células sanguíneas y endoteliales, y células madre mesenquimatosas (CD34-), las cuales son precursoras de células de estroma, incluyendo fibroblastos y osteocitos. CD34- han sido clasificadas como células madre multipotentes con base en su capacidad de diferenciación hacia ambos linajes.^{20,29} Conteo de células mononucleares circulantes CD34+ y niveles plasmáticos de factor de crecimiento endotelial están significativamente incrementadas en pacientes con IAM, con «picos» después del día siete de presentado el evento.²⁰

Existen estudios que han demostrado que las células alogénicas trasplantadas sobreviven en el miocardio infartado después de seis meses.²⁹

Para entender el destino de las células madre *in vivo*, técnicas de imagen han sido propuestas y evaluadas en un limitado número de modelos celulares. Una técnica es el marcaje celular con el radionúclido F-18 fluorodeoxiglucosa, la cual tiene como limitante para ser utilizada en las primeras horas del trasplante su corta vida media (alrededor de 110 minutos). Otra técnica utilizada es

Cuadro III. Células empleadas en la regeneración cardiaca. Tomado de: Rev Cub Hematol Inmunol Hemoter 2006; 22 (1): 1-17.

Características	Mioblastos autólogos	Mioblastos alogénicos	Célula madre hematopoyética	Células embrionarias
Necesidad de inmunosupresión	-	+	-	±
Carcinogénesis	-	?	-	++
Disponibilidad	+	±	++	±
Transformación en cardiomiositos (plasticidad)	+	+	+	+
Arritmogénesis	+	+	-	-
Problemas éticos	-	±	-	++

la resonancia magnética de las células madre marcadas con partículas de óxido de hierro o con agentes perfluoropolímeros, los cuales tienen como desventaja proporcionar una localización anatómica detallada incapaz de cuantificar la actividad de señal celular debido a efectos dilucionales durante la división celular. Además, estas técnicas no permiten distinguir células viables de las no viables. Una tercera modalidad es el reporte de la imagen genética mediante tomografía de emisión de positrones⁸.

Métodos de separación

Algunos autores mencionan que se debe separar una población específica con capacidad de diferenciación, mientras que otros sugieren utilizar la totalidad de las células de la médula ósea con el argumento de que en ella se encuentran todas las células progenitoras con capacidad de transdiferenciación y no es necesario emplear métodos más costosos y que requieren manipulación *ex vivo* y que además demoran la aplicación de este tipo de terapia.¹⁰

Una vez obtenidas las células pueden emplearse métodos de aislamiento y selección celular, utilizando anticuerpos monoclonales para separar poblaciones muy específicas o mediante técnicas de separación por gradiente de Ficoll, obteniéndose todas las células mononucleares. Experimentalmente, se puede inducir la prediferenciación de las células de la médula ósea a miocitos mediante un sistema de cocultivo con cardiomiositos con la inclusión de 5-azacitidina (con la limitante que puede provocar mutaciones potenciales) en los cultivos. En otros trabajos se sugiere que las células extraídas sean colocadas en medios de cultivo que favorezcan su diferenciación y aumenten su número.¹⁹

En cuanto a la obtención de la célula madre hematopoyética, puede ser con el procedimiento habitual o bien de sangre periférica después de su movilización mediante el uso de factores de crecimiento como el granulocítico (el cual se ha

utilizado como tratamiento único en la etapa isquémica aguda debido a que potencia el proceso natural de movilización celular), granulocítico y macrófagos, de *stem cell* o una asociación de los mismos. También puede utilizarse como fuente de obtención celular al cordón umbilical; sin embargo, éste se encuentra en fase de investigación.¹⁰

Formas de administración

La regla de oro es trasplantar el número suficiente de células en la región del miocardio dañada y alcanzar el máximo de retención de las mismas en dicha región. Es importante el lugar de la administración, no sólo para inyectar con certeza en el sitio de la lesión, sino porque las células parecen diferenciarse hacia la estirpe celular del sitio en que se inyectan. La mortalidad celular puede ser muy alta cuando se implantan en el centro de una escara fibrótica debido a la disminución de nutrientes y de oxígeno en esta zona. El implante de células debe hacerse preferentemente en las áreas periféricas (zonas intermedias entre escaras y miocardio normal).¹⁰

Las vías de administración pueden ser:

a) **Transvascular:** comprende la vía endovenosa, la inyección intracoronaria y la movilización de células progenitoras hacia la sangre periférica. La forma transvascular ha sido la ruta más empleada en el IAM, ya que en este momento las moléculas de adhesión se expresan de forma significativa.¹⁰

La vía intravenosa consiste en la inyección de las células al torrente sanguíneo mediante un catéter venoso central. Tiene la ventaja de ser un procedimiento simple y que puede utilizarse en eventos agudos. Una de sus desventajas es la dispersión de las células hacia otros órganos, lo que reduce el número de células que llegan al miocardio para su adherencia.¹⁰

La infusión intracoronaria es similar a la técnica de cateterización. Las células se inyectan a tra-

vés de un catéter intracoronario y, dependiendo del lugar donde se encuentren, las células se dispersan por el lecho arterial coronario o se sitúan en un área específica del miocardio.¹⁰ La movilización de células progenitoras de la sangre periférica es un método que se basa en la utilización de factores estimuladores de la movilización de células madre endógenas, sin realizar extracción celular basándose en la hipótesis de la migración mediante un mecanismo de atracción hacia el área del tejido dañado, donde se asientan y diferencian.¹⁰

b) **Inyección directa en el músculo cardíaco:** ésta es la ruta preferida en pacientes en fases más avanzadas con cardiopatía isquémica crónica y enfermedad coronaria avanzada. Puede realizarse por tres vías:¹⁰

Vía transepicárdica: las células se inyectan directamente en el miocardio durante una cirugía de revascularización o bypass o durante la colocación de un dispositivo mecánico ventricular. La inyección de las células se hace directamente en el área afectada y sus bordes. Teóricamente, representa la forma más precisa de administración celular. Como limitante tiene que sólo se puede realizar en pacientes que van a ser sometidos a cirugía de revascularización, debido al riesgo quirúrgico y anestésico. Como ventaja potencial es la posibilidad de visualizar directamente el área necrótica e inyectar las células con mayor precisión en el área afectada y en la que la circunda.¹⁰

Vía transendocárdica: se realiza por vía percutánea y se emplea un sistema de mapeo electromecánico mediante un catéter que incluye un método de identificación electrofisiológica del área infartada y, simultáneamente, se realiza el tratamiento celular, inmovilizando mediante succión la zona infartada con un sistema desplegable tipo «ventosa». Mediante este método es posible determinar con precisión qué área del miocardio está viable y cuál no, precisando mejor el sitio de la inyección. Entre sus desventajas se encuen-

tra lo costoso del sistema y el que no todos los centros tienen acceso al mismo.¹⁰

Inyección a través de las venas coronarias: Se basa en el empleo de un catéter que tiene incorporado en su punta un sistema de ultrasonido para guiarlo y una aguja extensible que permite la inyección de las células mononucleares en el miocardio. En contraste con la vía trasendocárdica, en que las células se inyectan en forma perpendicular en la pared ventricular, con este sistema se inyectan en forma paralela a la pared del ventrículo y con mayor profundidad. La colocación del catéter en la vena coronaria específica no es un procedimiento fácil ni carente de riesgo.¹⁰

Momento de la administración

La terapia celular tiene las siguientes indicaciones:¹⁰

1) eventos agudos (Ejemplo: IAM y traumas cardíacos) y 2) enfermedades crónicas (Ejemplo: cardiopatía isquémica crónica, miocardiopatía dilatada, cardiopatías causadas por la enfermedad de Chagas).

No existen conclusiones sobre cuál es el momento óptimo para efectuar el trasplante de células después de un infarto del miocardio. Sin embargo, parece ser que el momento del trasplante tiene un efecto sobre la transdiferenciación *in vivo*. Si el trasplante se realiza inyectando las células en una zona de escara fibrótica, la diferenciación será hacia fibroblastos; mientras que si se inyectan de forma temprana en la zona del infarto donde aún existe miocardio viable, esto inducirá a las células trasplantadas a diferenciarse hacia células musculares contribuyendo a la biogénesis.¹⁰

Número de células a administrar

Es variable y esto depende del tipo de célula, de la fuente de obtención y de la vía de administración.¹⁰

Tipo de célula: cuando se administra una población de células de médula ósea sin purificar, su

número varía entre 1 a 10×10^6 células CD34+; mientras que cuando se emplean fracciones purificadas, como la CD133+, su número varía de 1.5 a 2.8×10^6 .

Fuente de obtención: en el caso de trasplantes realizados a partir de células movilizadas y obtenidas de la sangre periférica, la cantidad ha oscilado entre 13 y 80×10^6 de CD34+ y entre 4.5 y 63.5×10^9 CMN+.

Vía de administración: cuando se emplea la vía intravascular, el número de células requeridas es mayor por la dispersión celular que ocurre; mientras que con la inyección intramiocárdica, ya sea por vía epicárdica o transendocárdica, se utiliza una cantidad menor de células.

No existen estudios que comparan el número de células administradas con la mejoría de la función miocárdica.¹⁰

Aspectos inmunológicos del trasplante de células progenitoras

60

Existen dos alteraciones básicas, una relacionada con la supervivencia de las células transplantadas, y la otra concerniente a los trastornos del sistema inmunológico del receptor.

Para todas las terapias de trasplante celular, las células del donador introducidas deben tener la habilidad para sobrevivir en el medio ambiente del receptor. Sin embargo, existen trabajos que han demostrado muerte de 90% de las células donadas dentro de las primeras horas de realizar el procedimiento, presentando necrosis masiva. Esta muerte masiva de las células inyectadas del donador se ha reconocido como un problema mayor en ciertas terapias como en el caso del trasplante de cardiomiocitos, los cuales mueren por apoptosis, reportándose supervivencia de tan sólo un día postrasplante.³³

Los pacientes pueden presentar por un periodo prolongado disfunción inmunológica (tanto humoral como celular) que puede persistir por

varios años, lo cual hace que estos enfermos tengan un riesgo elevado de infecciones con gran morbilidad.³⁴

La recuperación de la respuesta inmune depende también del tipo de trasplante realizado, ya que en el alogénico se adicionan otros factores. La naturaleza de la inmunidad disfuncional surge de alteraciones cuantitativas y cualitativas de los linfocitos T y B, lo que en ausencia de enfermedad injerto contra huésped (EICH) crónica se resuelve en un periodo de seis a 12 meses. También existe una pérdida de la memoria de la inmunidad acumulada durante toda la vida.³⁴

El número de linfocitos T y B se recupera en las seis primeras semanas; sin embargo, mantienen su déficit funcional.³⁴

La recuperación inmunológica es más rápida en trasplantes singénicos y autólogos que en los alogénicos y en los de sangre periférica en comparación con los de médula ósea. El número CD3+ se recupera en corto plazo, con inversión prolongada del índice CD4+/CD8+; mientras que la relación CD4+/CD45RA+ no se recupera hasta los dos años. Durante este tiempo existe pérdida de receptores T, la cual persiste por más de un año; mientras que la función de las células T se mantiene alterada durante seis a 12 meses después del trasplante.³⁴

Otras células que son afectadas son: CD16+ y CD56+, las cuales aumentan en el primer mes de trasplante alogénico y autólogo, incrementando sus niveles en los primeros tres meses; los neutrófilos se recuperan en dos o tres semanas, pero con quimiotaxis disminuida hasta cuatro meses después; los monocitos se recuperan después de 40 días; mientras que los macrófagos aparecen en hígado y pulmón cerca del día 80, los cuales se ha demostrado son del donante.³⁴

En cuanto a la inmunidad humoral, las células periféricas que expresan CD19+ y CD20+ regresan a la normalidad después de tres a seis meses postrasplante. La respuesta proliferativa de células B a mitógenos está casi abolida durante los

Cuadro IV. Recuperación inmunológica según tipo de trasplante.
Tomado y modificado de Rev Cub Hematol Inmunol Hemoter 2006; 22 (3): 21-27.

Tipo de trasplante	Factor predisponente
Autólogo	<ul style="list-style-type: none">Desnutrición de los elementos linfoides.Neutropenia prolongada.Daño de la mucosa gastrointestinal.En adultos, ausencia de timo funcional.
Alogénico	<p>Además de los factores presentes en los autólogos:</p> <ul style="list-style-type: none">Reeducación de las células linfoides.Presencia de enfermedad injerto contra huésped (EICH) y fenómenos inmunes asociados.Inmunosupresión postrasplante.

primeros meses. Las concentraciones séricas de IgM son normales en los primeros tres a seis meses, pero las de IgG se mantienen muy bajas durante al menos nueve meses y los niveles de IgA pueden demorar hasta dos años en recuperarse. La recuperación de IgG2 e IgG4 está demorada en los primeros tres meses sin lograr incrementar los niveles de IgM en respuesta a la inmunización.³⁴

En el cuadro IV se enlistan los factores que afectan la recuperación inmunológica.

Debido al daño inmunológico antes descrito, los pacientes experimentan infecciones en diferentes períodos postrasplante:³⁴

Fase I, pre implante (0 a 30 días): el paciente presenta dos factores de riesgo para la infección que son neutropenia mantenida y ruptura de la barrera cutánea-mucosa. Los agentes que prevalecen son grampositivos, *Candida* y *Aspergillus*. Ocasionalmente se reactiva el virus herpes simple.³⁴

Fase II, postimplante (31 a 100 días): se caracteriza por el daño de la inmunidad celular; este defecto se puede prolongar por la presencia de enfermedad injerto contra huésped (EICH) y la terapia inmunosupresora utilizada para esto. Después del implante, los herpes virus (particularmente citomegalovirus) son los agentes patógenos más frecuentes y pueden causar casos de

neumonía, hepatitis, colitis. También durante este periodo son frecuentes los gérmenes gramnegativos, el *Pneumocystis carinii* y algunas especies de *Aspergillus*.³⁴

Fase III (fase tardía): las infecciones son más frecuentes en los pacientes con trasplante alogénico que sufren de EICH. En estos casos se mantienen los defectos de inmunidad humoral y celular, así como daño en la función del sistema reticuloendotelial. Los pacientes tienen riesgo de sufrir infecciones por citomegalovirus, virus varicela-zoster, virus Epstein-Barr, virus respiratorios y por bacterias encapsuladas como *H. influenzae* y *S. pneumoniae*.³⁴

61

Otras aplicaciones preclínicas y clínicas

Prácticamente todos los sitios del organismo resultan en la actualidad de interés para la investigación relacionada con la medicina regenerativa. Entre las aplicaciones clínicas no cardiovasculares de la terapia celular, en las que se plantean posibles beneficios se encuentran:³¹

Trasplante de médula ósea y células de la sangre periférica: siendo su indicación fundamental las enfermedades hematológicas, oncológicas e inmunológicas. Dentro de las hematológicas se

encuentran: leucemias agudas y crónicas, síndromes mielodisplásicos, mieloma múltiple, amiloidosis primaria, linfoma de Hodgkin y no Hodgkin, algunos tipos de anemia (aplasia medular, aplasia selectiva de eritrocitos, anemia de Fanconi), y recientemente en betatalasemia mayor y anemia drepanocítica con alto riesgo. Dentro de las oncológicas se encuentran: tratamiento del glioma, sarcoma de partes blandas, tumores germinales, sarcoma de Erwing y otros tumores sólidos (retinoblastoma, cáncer de ovario, cáncer testicular, cáncer de mama, neuroblastoma y cáncer renal). Dentro de los trastornos inmunológicos primarios se incluyen: inmunodeficiencias combinadas severas, síndrome de Wiskott-Aldrich, linfoproliferativos ligado al cromosoma X y el de hiper IgM.^{31,35}

Trasplante de médula ósea y células de la sangre periférica en la regeneración de tejido no hematopoyético: existen dos estrategias esenciales para la utilización de este tipo de células para la reparación de tejidos, una es el aprovechamiento basado en la identificación y expansión *in vitro* de células progenitoras multipotentes adultas, como células madre embrionarias, capaces de generar tejido meso, ecto y endodérmico. El otro aprovechamiento se basa en la disponibilidad *in vivo* de un «pool» de células madre adultas circulantes que pueden ser manipuladas para generar o reparar tejido de órganos sólidos. Se indica principalmente para el tratamiento de enfermedades genéticas, metabólicas, degenerativas y autoinmunes, tales como: osteogénesis imperfecta, osteopetrosis, enfermedad de Gaucher (para revertir las anomalías producidas en el sistema nervioso central), síndrome de Hurler, distrofia muscular de Duchenne, leucodistrofias, artritis autoinmune, nefritis autoinmune, diabetes mellitus, miastenia gravis, encefalomielitis autoinmune, lupus eritematoso sistémico, enfermedad de Crohn, dermatitis herpetiforme, diabetes mellitus insulinodependiente, vasculitis sistémica, psoriasis, artritis reumatoidea, artritis juvenil, esclerodermia y esclerosis múltiple.^{31,35-39}

Terapia celular con células madre: este proceso incluye el uso de células embrionarias o de células adultas; de estas últimas las que se han empleado más frecuentemente son las derivadas de la médula ósea, siendo la selección celular con mayor frecuencia las células CD34+, CD33+ y CD133+; y con menos frecuencia el uso de células mesenquimales, endoteliales o adiposas. En el caso de las células CD133+ (expresadas en las células progenitoras endoteliales y células de la médula ósea) colaboran en la vascularización de los tejidos isquémicos. Estas células se integran en los sitios de neovascularización diferenciándose a células endoteliales maduras. Debido a que menos de 1% de las células nucleadas de la médula ósea son CD133+, un número limitado de éstas pueden obtenerse para propósitos terapéuticos.⁴⁰ Las principales enfermedades en que se ha empleado la terapia celular en algunas de sus formas son: isquemia de miembros inferiores, alteraciones óseas (con fines regenerativos), alteraciones oculares (retina y córnea), trastornos neurológicos (se han utilizado en modelos de isquemia cerebral, anoxia cerebral, traumas cerebrales o de procesos neurovegetativos), miopatías, diabetes mellitus, enfermedades hepáticas, nefropatías, pulmón (para regeneración de queratinocitos), piel (utilizado para la expansión de queratinocitos), tracto digestivo (para tratar la formación de fistulas en la enfermedad de Crohn), aparato reproductor femenino (en endometrio y ovarios para tratamiento de esterilidad).³¹

Células satélites: los mioblastos en el músculo postnatal se consideran ser derivadas de células localizadas en la superficie de la miofibrilla y la membrana basal. Éstas fueron originalmente definidas con base en su

geografía y fueron nombradas células satélites, las cuales parecen ser reserva de células precursoras de músculo. En el músculo esquelético maduro se encuentran normalmente de manera inerte y son activadas solamente como respuesta al crecimiento o daño muscular. Dentro de los marca-

dores de superficie de las células miogénicas están CD45-, CD34+; sin embargo, CD34+ no es un marcador que se utilice debido a que se encuentra presente en muchas células de la vasculatura y células madre hematopoyéticas. Básicamente este tipo de células han sido utilizadas para reparar músculo esquelético.³³

Comentarios finales

La elevada incidencia y riesgo de enfermedad cardiovascular ha motivado al desarrollo de nuevas estrategias que ayuden al tratamiento de las patologías asociadas. En las últimas dos décadas han existido enormes avances en el manejo del IAM con principal énfasis en la terapia de reperfusión temprana, en conjunto con el uso de aspirina, β -bloqueadores, inhibidores de la enzima conver-

tadora de angiotensina, así como reducción en los factores de riesgo. Sin embargo, estas terapias convencionales para el manejo del IAM sólo atenúan la progresión de la enfermedad sin contribuir significativamente a reparar la lesión resultante, ya que la lesión miocárdica deja perdida de cardiomiositos, remodelación ventricular y consecuentemente disfunción ventricular, además de que la capacidad mitótica de los cardiomiositos está limitada para soportar la regeneración miocárdica adecuada. El dogma de que el corazón es un órgano postmitótico ha cambiado recientemente, cuando se identificó en corazones humanos infartados la presencia de una subpoblación de cardiomiositos sin diferenciación terminal de origen extracardíaco y que tienen habilidad de reincorporarse al ciclo celular mediante división mitótica nuclear. Múltiples can-

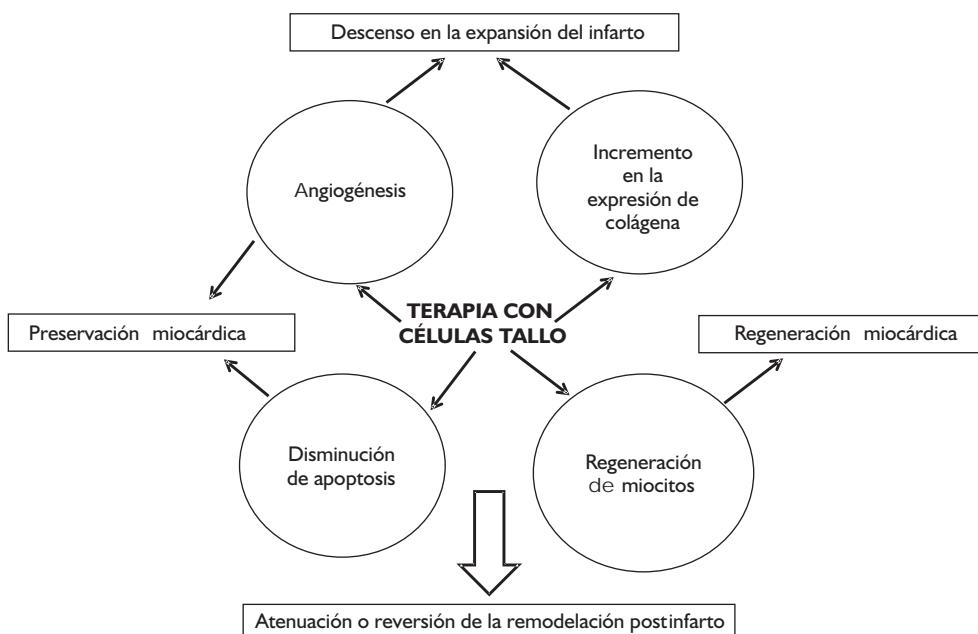


Figura 1. Mecanismos benéficos potenciales de la terapia con células tallo después del infarto del miocardio. Angiogénesis, apoptosis disminuida de los cardiomiositos nativos y aumento en la formación de colágena pueden limitar la expansión del infarto y preservar al miocardio. Proliferación de nuevos cardiomiositos pueden favorecer la remodelación miocárdica. Sin embargo, estos elementos pueden disminuir la remodelación ventricular izquierda negativa que se observa después del infarto, principalmente estabilizando las dimensiones ventriculares y la función sistólica, con el potencial de mejorar los síntomas en el paciente. Tomado y modificado de *Circulation* 2003; 108: 1139-1145.

didatos de tipos celulares han sido aisladas tanto de superficies cardíacas como no cardíacas, los cuales han mostrado un grado variable de cardiogenicidad. Dentro de éstas y debido a su capacidad de neocardiogénesis, las células madre embrionáreas son consideradas como el origen potencial para la regeneración miocárdica (*figura 1*). Por lo tanto, el trasplante celular ha surgido como alternativa de solución de este problema. Esto ha propiciado una serie de numerosas investigaciones, por ejemplo células embrionáreas, fetales o adultas.^{7,23,41,42}

Recientemente se ha demostrado una significante movilización temprana de células madre que expresan además de CD34+, otros antígenos como CD117 (c-kit), c-met, y CXCR4, con incremento de citoquinas inflamatorias y hematopoyéticas (factor 1 derivado de células estromales), factor de crecimiento de hepatocitos, factor de crecimiento de endotelio vascular en el momento de la elevación del segmento ST en IAM. El número de células tallo en sangre periférica en IAM se incrementan dentro de las primeras 12 horas de iniciado los síntomas, permaneciendo significativamente elevados después de siete días, sobre todo si se compara frente a pacientes con angina estable o sujetos sanos. Además, de manera sincronizada, con el aumento en el número de células CD34+/CD117+ y CD34+/CXCR4+, también existe un marcado incremento en la expresión de ARNm para marcadores cardíacos (NKx2.5/Csx, GATA-4, MEF2C), endotelial (VE-caderina, von Willebrand), y muscular (Myf5, MyoD, miogenina) en células mononucleares sanguíneas periféricas. Esta movilización se normaliza después de 60 días. En modelos animales, el infarto del miocardio moviliza tanto células madre hematológicas como mesenquimáticas, lo que demuestra la capacidad de diferenciación a cardiomiositos, pasando a formar parte de la regeneración miocárdica probablemente por incremento en neovascularización y modulación paracrina de la remodelación miocárdica; sin embargo,

no existe evidencia directa de que los mecanismos de reparación sean viables en casos de IAM en humanos.⁴³

Existen más de 30 estudios experimentales en modelos animales publicados en los últimos años, los cuales revelan el efecto benéfico de la cardiomieloplastia celular sobre la función cardíaca, así como en disfunciones ventriculares de diversas etiologías. Para la regeneración miocárdica se han utilizado el trasplante de mioblastos esqueléticos alogénicos y autólogos, células musculares lisas, células madre embrionarias, células endoteliales vasculares, cardiomiositos fetales, neonatales y adultos, células progenitoras de sangre periférica y derivadas de la médula ósea.⁶ Finalmente, se ha demostrado que el trasplante de células madre no seleccionadas puede resultar en la formación de teratomas en sujetos receptores inmunocomprometidos.^{15,44,45}

Referencias

- Velásquez O, Senior JM, Cuéllar F, Velásquez M, García LF, Navas C. Trasplante autólogo de células progenitoras derivadas de la médula ósea, por vía intramiocárdica, para revascularización en cardiopatía isquémica crónica. Rev Col Cardiol 2005; 12: 80-84.
- Senior SJM. Trasplante celular para regeneración miocárdica. Rev Med 2005; 13 (1): 17-29.
- Laham RJ, Oettgen P. Bone marrow transplantation for the heart: Fact or fiction? Lancet 2003; 361: 11-12.
- Britten MB, Abolmaali ND, Assmus B, Lehmann R, Honold J, Schmitt J et al. Infarct remodeling after intracoronary progenitor cell treatment in patients with acute myocardial infarction (TOP-CARE-AMI). Mechanistic insights serial contrast-enhanced magnetic resonance imaging. Circulation 2003; 108: 2212-2218.
- Assmus B, Schächinger V, Teupe C, Britten M, Lehmann R, Döbert N et al. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI). Circulation 2002; 106: 3009-3017.
- Chachques JC. Miocardio bioartificial y trasplante celular para asistir y regenerar el miocardio isquémico. Rev Arg Cir Cardiovasc 2005; 3: 152-158.
- Caplice NM, Gersh BJ. Stem cells to repair the heart. A clinical perspective. Circ Res 2003; 92: 6-8.
- Cao F, Lin S, Xie X, Ray P, Patel M, Zhang X et al. *In vivo* visualization of embryonic stem cell survival, proliferation, and migration after cardiac delivery. Circulation 2006; 113: 1005-1014.
- Wulf GG, Jackson KZ, Goodell MA. Somatic stem cell plasticity: Current evidence and emerging concepts. Exp Hematol 2001; 29: 1361-1370.

10. Dörticós BE, Hernández RP. Medicina regenerativa: Células madre en enfermedades del corazón. Rev Cub Hematol Inmunol Hemoter 2006; 22 (1): 1-17.
11. Hernández RP. Medicina regenerativa II. Aplicaciones, realidad y perspectivas de la terapia celular. Rev Cub Hematol Inmunol Hemoter 2006; 22 (3): 1-20.
12. Beltran O, Osmarla QL, Chaparro O. Plasticidad y transdiferenciación en células stem adultas-revisión. Rev Med 2005; 13 (1): 10-16.
13. Hawley RG, Sobieski DA. Somatic stem cell plasticity: To be or not to be... Stem Cell 2002; 20: 195-197.
14. Forbes SJ, Vig P, Poulsom R, Wright NA, Alison MR. Adult stem cell plasticity: New pathways of tissue regeneration become visible. Clin Sci 2002; 103: 355-369.
15. Sylvester KG, Longaker MT. Stem cells. Review and update. Arch Surg 2004; 139: 93-99.
16. Hoan Oh. Biology and therapeutic application of stem cell. Bio Wave 2004; 6 (11): 1-26.
17. Lechner V. Stem cells: Proyecciones en ingeniería en tejido. Rev Ped Elec 2007; 4 (1): 17-21.
18. Xiuli Wang, Schundi Ge, González I, McNamara G, Barth RC, Kenny Kezhe Xi et al Formation of pancreatic duct epithelium from bone marrow during neonatal development. Stem Cells 2006; 24 (2): 307-314.
19. Orlic D, Hill JM, Arai AE. Stem cells for myocardial regeneration. Cir Research 2002; 91: 1092-1102.
20. Forrester JS, Price MJ, Makkar RR. Stem cell repair of infarcted myocardium. An overview for clinicians. Circulation 2003; 108: 1139-1145.
21. Capogrossi M. Cardiac stem cells fail with aging. A new mechanism for the age-depend decline in cardiac function. Circ Res 2004; 94: 411-413.
22. Lew YYW. Mobilizing Cells to the injured myocardium. JACC 2004; 44 (7): 1521-1522.
23. Planat-Bernard V, Menard C, André M, Puceat M, Peréz A, JM García-Verdugo et al. Spontaneous cardiomyocyte differentiation from adipose tissue stroma cells. Circ Res. 2004; 94: 223-229.
24. Jackson KA, Majka SM, Hongyu Wang, Jennifer Poc Hartley, Majesky MW, Entman ML et al. Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells. J Clin Invest 2001; 107 (11): 1395-1402.
25. Murry CE, Reinecke H, Pabon LM. Regeneration gaps. Observations on stem cells and cardiac repair. J Am Coll Cardiol 2006; 47: 1777-1785.
26. Jugdutt BI. Ventricular remodeling after infarction and the extracellular collagen matrix. When is enough enough? Circulation 2003; 108: 1395-1403.
27. Timo Baks, Robert-Jan van Geuns, Elena Biagini, Wielopolski P, Mollet NR, Cademartiri F et al. Effects of primary angioplasty for acute myocardial infarction on early and late infarct size and left ventricular wall characteristics. J Am Coll Cardiol 2006; 47: 40-44.
28. Semenza GL. Therapeutic angiogenesis. Another passing phase? Circ Res 2006; 98: 1115-1116.
29. Wangde Dai, SDharon L. Hale, Bradley J. Martin, Jin-Qiang Kuang, Joan S. Dow, Loren E. Wold et al. Allogeneic mesenchymal stem cell transplantation in postinfarcted rat myocardium. Short and long term effects. Circulation 2005; 122: 214-223.
30. Stamm C, Westphal B, Kleine HD, Petzsch M, Kittner C, Klinge H et al. Autologous bone-marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration. Lancet 2003; 361: 45-46.
31. Vöö S, Eggermann J, Dunaeva M, Ramakers Oosterhoud C, Waltenberger J. Enhanced functional response of CD133+ circulating progenitor cells in patients early after acute myocardial infarction. Eur Heart J 2008; 29: 241-250.
32. Venkatesan T. Stem cell therapy of myocardial dysfunction: Are there any anaesthetic implications for autologous bone marrow harvest? Act Anaesthesiol Scand 2006; 50: 644.
33. Grounds MD, White JD, Rosenthal N, Bogoyevitch MA. The role stem cells in skeletal and cardiac muscle repair. J Histochem Cytochem 2002; 50: 589-610.
34. Jaime FJC, Dörticós BE, Pavón MV, Jauma RAJ, Cortina RL. Aspectos inmunológicos del trasplante de células progenitoras hematopoyéticas. Rev Cub Hematol Inmunol Hemoter 2006; 22 (3): 21-27.
35. Daley GQ, Goodell MA, Snyder EY. Realistic prospects for stem cell therapeutics. Hematology 2003; 1: 398-413.
36. Korbling Martín, Estrov Zeev. Medical progress: Adult stem cells for tissue repair. A new therapeutic concept?. N Engl J Med 2003; 349 (6): 570-582.
37. Corti S, Locatelli F, Papadimitriou D, Strazzer S, Comi GP. Somatic stem cell research for neuronal repair: Current evidence and emerging perspective. J Cell Mol Med 2004; 8 (3): 329-337.
38. Montanya E. Trasplante de células madre hematopoyéticas en la diabetes tipo I. Endocrinol Nutr 2007; 54 (10): 509-511.
39. Mesples AD, Pretiñe B, Bellomo R. Tratamiento de la diabetes mellitus tipo I con implante pancreático de células madre adultas autólogas. Endocrinol Nutr 2007; 54 (10): 512-518.
40. Kai C, Wollert, Helmut Drexler. Clinical Applications of stem cells for the heart. Circ Res 2005; 96: 151-163.
41. Leone AM, Sutella S, Bonanino G, Abbate A, Rebuzzi AG, Lombardi SGG et al. Mobilization of bone marrow-derived stem cells after myocardial infarction and left ventricular function. Eur Heart J 2005; 26: 1196-1204.
42. Kellar RS, Landeen LK, Sheoherd BR, Naughton GK, Ratcliffe A, Williams SK. Scaffold-Based three-dimensional human fibroblast culture provides a structural matrix that supports angiogenesis in infarcted heart tissue. Circulation 2001; 104: 2063-2068.
43. Wojakowski W, Tendera M, Zebzda A, Michałowska A, Majka M, Kucia M et al. Mobilization of CD34+, CD117+, CXCR4+, c.met+ stem cells is correlated with left ventricular ejection fraction and plasma NT-proBNP levels in patients with acute myocardial infarction. Eur Heart J 2006; 27: 283-289.
44. Hodgson DM, Behfar A, Zingman LV, Kane GC, Perez-Terzic C, Alekseev AE et al. Stable benefit of embryonic stem cell therapy in myocardial infarction. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2004; 287: 471-479.
45. Strauer BE, Brehm M, Zeus T, Kösterling M, Hernandez A, Sorg RV, Kögl G, Werner P. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. Circulation 2002; 106: 1913-1918.