

EDITORIALES

Utilización de células madre para la regeneración miocárdica en la insuficiencia cardíaca

Felipe Prósper Cardoso^a, Jesús Herreros González^b y Eduardo Alegría Ezquerra^b

^aServicio de Hematología y Área de Terapia Celular. Clínica Universitaria. Universidad de Navarra. Pamplona. ^bDepartamento de Cardiología y Cirugía Cardiovascular. Clínica Universitaria. Universidad de Navarra. Pamplona. España.

La terapia celular en la reparación miocárdica se vislumbra como una de las estrategias terapéuticas con mayor futuro en el tratamiento de la insuficiencia cardíaca. Numerosos estudios *in vitro* recientes apoyan la potencialidad de distintos tipos de células madre de diferenciarse hacia los tejidos necesarios para regenerar el tejido miocárdico dañado, mientras que estudios en animales de experimentación sugieren que células madre de músculo (mioblastos), médula ósea (progenitores mesenquimales, endoteliales o hematopoyéticos) e incluso del propio corazón pueden contribuir *in vivo* a mejorar la contractilidad cardíaca. Estos trabajos han conducido a que diversos grupos hayan iniciado estudios en pacientes con infarto de miocardio. Sin embargo, la utilización de la terapia celular en ensayos clínicos no está desprovista de controversia, fundamentalmente relacionada con la necesidad de aumentar nuestro conocimiento antes de pasar a la aplicación clínica de estas estrategias terapéuticas. Aunque es fundamental aumentar significativamente el conocimiento de los procesos, no consideramos irrazonable iniciar ensayos clínicos en los que se identifiquen preguntas concretas cuya respuesta nos permita avanzar en esta dirección.

Palabras clave: *Insuficiencia cardíaca. Células madre. Mioblastos. Regeneración cardíaca. Transdiferenciación.*

La utilización de células como estrategia para la regeneración o reparación de tejidos es una de las áreas de investigación en biomedicina que mayor interés ha despertado en los últimos años. El concepto de la medicina regenerativa basado en la utilización de las células del propio organismo está adquiriendo cada vez

Trabajo financiado en parte por ayudas del Ministerio de Ciencia y Tecnología (SAF 2002-04574-C02), Fondos Europeos FEDER (INTERREG IIIA) y la Universidad de Navarra (PIUNA).

Correspondencia: Dr. F. Prósper.
Servicio de Hematología y Área de Terapia Celular.
Avda. Pío XII, 36. 31008 Pamplona. España.
Correo electrónico: fprosper@unav.es

Stem Cells to Regenerate Cardiac Tissue in Heart Failure

Myocardial regeneration is one of the most promising therapeutic strategies for heart failure patients. Many experimental studies have demonstrated that different types of stem cell can differentiate into myocardial cells and tissues necessary for regeneration of the damaged myocardium, while studies in experimental animals suggest that muscle (myoblast), bone marrow (mesenchymal, endothelial or hematopoietic progenitors) and even heart cells can help to improve heart contractility *in vivo*. These findings have led several groups to undertake studies in patients with myocardial infarction. However, the use of cellular therapy in clinical trials is not without controversy, mainly related with the need for better knowledge before these therapeutic strategies are used in clinical practice. Although significant enhancement of our knowledge of the processes involved is fundamental, we do not consider it unreasonable to initiate clinical trials in which specific questions are posed, whose answers will allow us to make further progress.

Key words: *Heart failure. Stem cells. Myoblasts. Cardiac regeneration. Transdifferentiation.*

Full English text available at: www.revespcardiol.org

más fuerza¹. Sin embargo, la aplicación de estas estrategias está aún lejos de la práctica clínica y tan sólo se han iniciado ensayos clínicos muy preliminares. En las siguientes líneas, basándonos en la experiencia adquirida por diversos grupos en los últimos años, damos una perspectiva de la situación actual de la terapia celular regenerativa cardíaca e identificamos algunas de las preguntas fundamentales en este campo.

CÉLULAS MADRE Y CARDIOMIOCITOS

Es evidente que existen diferentes tipos de células madre, tanto en tejidos embrionarios como en adultos,

capaces de proliferar y producir células maduras y funcionales. Las células madre embrionarias pueden diferenciarse hacia prácticamente cualquiera de los más de 200 tejidos que existen en un organismo adulto. En los distintos órganos existen, a su vez, células madre multipotenciales capaces de diferenciarse hacia tejidos funcionales, como las células madre hepáticas (células ovales), neurales, de músculo, gastrointestinales o médula ósea, entre otras. Aunque todavía es un tema controvertido, existen evidencias de que ciertas células adultas tendrían una potencialidad muy superior a la esperada, pudiendo dar lugar a la mayoría de los tejidos adultos²⁻⁶.

La posibilidad de obtener tejido muscular y endotelial a partir de células madre, la elevada incidencia de enfermos con insuficiencia cardíaca, la eficacia limitada del tratamiento médico y la escasez de órganos para trasplante cardíaco han llevado a que una de las áreas en las que se ha aplicado la terapia celular con células madre haya sido el tratamiento de los pacientes con insuficiencia cardíaca, principalmente de origen isquémico⁷⁻¹¹.

Células madre embrionarias

A pesar de que las células madre embrionarias son capaces de diferenciarse a cardiomiocitos y regenerar el miocardio¹², su potencial inmunogénico¹³, la posibilidad de generar tumores *in vivo*, su potencial arritmogénico¹⁴ y los aspectos éticos relacionados con la utilización de células embrionarias han limitado su aplicación a estudios en animales de experimentación.

Células madre cardíacas

De forma análoga a lo sucedido con las células neuronales, la visión tradicional de los cardiomiocitos como células sin capacidad para proliferar ha tenido que ser revisada a la vista de varios estudios recientes, que demuestran la existencia en el corazón humano de células con capacidad proliferativa^{15,16}. Se desconoce si estas células están efectivamente en el corazón (células madre cardíacas existentes en la aurícula) o, por el contrario, provendrían de otros tejidos adultos, como la médula ósea¹⁷. Aunque conceptualmente estos estudios tienen un enorme interés como fenómeno biológico, parece improbable que tengan una repercusión clínica significativa en pacientes con infarto de miocardio¹⁸. Sin embargo, la posibilidad de estimular la migración y proliferación de las células madre *in vivo* posee gran interés como estrategia terapéutica. En esta dirección, estudios recientes en modelos animales a los que se han administrado factores de crecimiento sugieren que es posible estimular la regeneración cardíaca mediante la «movilización» de estas células madre¹⁹.

Células madre de médula ósea

Probablemente sean las células madre obtenidas de la médula ósea (MO) las que han demostrado mayor capacidad para diferenciarse a fibras musculares cardíacas o células endoteliales, contribuyendo a la angiogénesis o vasculogénesis^{7,20-24}. Frente a estudios en los que se han utilizado células mononucleadas de MO²⁰, el grupo de Anversa y Orlic ha utilizado poblaciones seleccionadas y enriquecidas de células madre hematopoyéticas de MO, pudiendo demostrar que la inyección intracardíaca de células Lin⁻ Kit⁺ en la cicatriz del infarto en un modelo de infarto en ratón induce colonización de la cicatriz por cardiomiocitos y estructuras vasculares derivadas de las células implantadas²³. Esta regeneración se acompaña de una mejoría de la función cardíaca y de un aumento de la supervivencia de los animales. Además de las células madre hematopoyéticas, en la MO existen células madre endoteliales con capacidad de contribuir a la neoangiogénesis, favoreciendo la regeneración miocárdica²⁴⁻²⁶. En modelos de infarto, la administración por vía sistémica de estas células contribuye a la mejoría de la función cardíaca²⁴, gracias al aumento de la vasculogénesis en el área del infarto, la disminución de la apoptosis de los cardiomiocitos y la mejora de la contractilidad. Sin embargo, las células madre endoteliales no adquieren características de músculo cardíaco. Las células madre mesenquimales (MSC) de MO son capaces de diferenciarse a tejidos mesodérmicos, como osteoblastos, condrocitos, adipocitos o músculo esquelético²⁷, e incluso existen estudios recientes que indican que las MSC son capaces de diferenciarse, tanto *in vitro* como *in vivo*, a cardiomiocitos^{20,28}. Utilizando modelos animales de infarto, varios grupos han demostrado que las células madre mesenquimales inyectadas en la cicatriz miocárdica no sólo son capaces de injertarse, sino que adquieren características de cardiomiocitos y, lo que es más importante, contribuyen a mejorar la función cardíaca^{20,29}. Recientemente se ha descrito una población de células madre mesenquimales pluripotenciales, denominadas MAPC, con capacidad para diferenciarse a tejidos derivados de cualquiera de las tres capas embrionarias^{5,30}.

Células madre musculares

Además de las células madre de MO o cardíacas, las células madre musculares (células satélite o mioblastos esqueléticos) precursoras de las fibras musculares también podrían tener aplicabilidad práctica, ya que su potencial muscular es indudable³¹. La posibilidad de expandir *in vitro* el número de progenitores musculares ha permitido realizar estudios en modelos animales de infarto en los que se han implantado mioblastos, demostrando que dichas células son capaces de injertarse y terminar su proceso de diferenciación hacia fi-

bras musculares, lo que contribuye a mejorar la función cardíaca y la supervivencia de los animales^{32,33}. Además de la inyección intracardíaca, es posible administrar los mioblastos de forma percutánea^{34,35}, pues son capaces de migrar a través de la microcirculación y de integrarse en el intersticio. Uno de los principales inconvenientes de las células madre musculares es la imposibilidad de adquirir las características de músculo cardíaco necesarias para poder transmitir el estímulo electromecánico y, por tanto, su función^{33,36,37}.

Es indudable que los estudios *in vitro* e *in vivo* con animales de experimentación apoyan la existencia de células madre con capacidad de contribuir a mejorar la función cardíaca. Sin embargo, en estos momentos las preguntas son numerosas y es fundamental hacer un esfuerzo tratando de dar respuestas que justifiquen la exploración terapéutica de estos tratamientos: en otras palabras, está claro que existen células madre en el organismo con potencialidad endotelial, cardíaca, muscular, etc., pero es fundamental identificar dichas células y determinar qué señales necesitan para desarrollar ese potencial, así como qué señales son necesarias para que, al desarrollar su potencial, lo hagan en armonía con los tejidos en los cuales se incorporan y que contribuyan eficazmente a su funcionalidad.

EXPERIENCIA CLÍNICA EN TERAPIA REGENERATIVA CARDÍACA

A pesar de la gran cantidad de incógnitas existentes, la acumulación de resultados derivados de los estudios preclínicos en los últimos 2 años ha impulsado el desarrollo de los primeros ensayos clínicos de factibilidad y seguridad de regeneración cardíaca con células madre. Hasta el momento, estos ensayos no han estado desprovistos de cierto grado de controversia, derivada de la opinión de distintos investigadores cuyo argumento es la falta de suficientes evidencias que apoyen el inicio de la investigación clínica. Hasta el momento se han publicado 7 estudios clínicos^{7-11,38,39} en los que se han utilizado las vías percutánea, intracavitaria o intramiocárdica, se han implantado células mononucleadas de médula ósea, células enriquecidas en progenitores hematopoyéticos o endoteliales, o mioblastos, y los resultados se han monitorizado mediante técnicas de imagen y función, como resonancia magnética, ecocardiografía o tomografía por emisión de positrones. Algunos estudios han utilizado grupos control con la intención de comparar los resultados entre los pacientes que han recibido células y los que no pero, en cualquier caso, todos los pacientes han recibido, además de las células, tratamientos adicionales.

El grupo de Menasché ha sido pionero en la utilización de mioblastos esqueléticos, realizando el primer implante de mioblastos autólogos en un paciente con infarto en junio del año 2000⁴⁰. La estrategia diseñada por este grupo consiste en la obtención de una biopsia

muscular del propio paciente 2-3 semanas antes de la cirugía de revascularización en pacientes con infarto antiguo y tejido miocárdico no viable en la zona. A continuación, durante la cirugía, las células cultivadas *in vitro* se implantan mediante inyección intramiocárdica en la región periinfarto. Recientemente han aparecido los resultados de los primeros 10 pacientes sometidos a este tratamiento¹¹, y sugieren una mejoría de la función cardíaca con un aumento significativo de la fracción de eyección. Sin embargo, a pesar de que la inyección de células se realizó en zonas no revascularizadas, no es posible determinar con seguridad si el efecto es debido a la cirugía de derivación o al implante de mioblastos. Es importante destacar que en cuatro de los 10 pacientes incluidos en el estudio se observaron arritmias ventriculares (taquicardia ventricular) que requirieron la implantación de un desfibrilador. Esta circunstancia sugiere que el tratamiento con mioblastos podría inducir arritmias³⁹.

Otros grupos han utilizado células mononucleadas de médula ósea en vez de mioblastos^{8,10}. En el estudio realizado por Strauer se incluyeron pacientes con infarto agudo a los que se inyectaron células mononucleadas de médula ósea mediante coronariografía, a la vez que se les colocaba una endoprótesis coronaria, en el período inmediato postinfarto⁸. Como grupo de control se utilizaron 10 pacientes, en los que se realizó el mismo procedimiento terapéutico exceptuando la inyección de células. A las 10 semanas del tratamiento se observó una disminución del tamaño del infarto, así como un incremento de la fracción de eyección, del índice cardíaco y del volumen sistólico en comparación con los pacientes que no recibieron terapia celular. Esta mejoría de la función ventricular se atribuyó al aumento de la perfusión miocárdica medida mediante isótopos radiactivos. En el estudio de Tse, 8 pacientes con enfermedad isquémica grave recibieron células mononucleadas de médula ósea mediante un catéter intracardíaco guiado por un sistema de mapeo cardíaco electromecánico¹⁰. La mejoría de la perfusión y de la función cardíaca se determinó mediante resonancia magnética cardíaca.

También se han inyectado células progenitoras de médula ósea enriquecidas en progenitores endoteliales con la finalidad de inducir un aumento de la angiogénesis y vasculogénesis en el tejido infartado que contribuya a mejorar la función cardíaca y a disminuir la apoptosis celular y el remodelado del ventrículo^{7,9}. Ambos estudios se diferencian tanto en la indicación de tratamiento como en el tipo de células implantadas. En el estudio alemán⁷, 20 pacientes con infarto en fase aguda sometidos a reperfusión recibieron por vía intracoronaria una población heterogénea de células, incluyendo un elevado porcentaje de progenitores endoteliales de sangre periférica o de médula ósea cultivados durante 4 días *in vitro*. Los pacientes tratados con células mostraron una mejoría de la contractilidad regio-

nal medida por ecocardiografía. Asimismo, se pudo demostrar un incremento de la viabilidad de la región infartada mediante tomografía por emisión de positrones⁷. En el estudio recientemente publicado por Stamm se utilizaron células AC133 purificadas a partir de médula ósea de pacientes con infarto antiguo. Un grupo de 6 pacientes fue sometido a cirugía de derivación aortocoronaria y durante la cirugía recibieron $1,5 \times 10^6$ células AC133 directamente en el miocardio periinfarto⁹. De forma análoga a lo descrito en los otros ensayos, se produjo aumento de la contractilidad cardíaca y de la perfusión de la región infartada medida en los estudios con isótopos radiactivos.

CONCLUSIONES

A pesar de los numerosos estudios experimentales y clínicos publicados hasta el momento, es evidente la dificultad de obtener conclusiones sólidas y definitivas. El interés por la utilización de la terapia celular en la insuficiencia cardíaca se basa en las expectativas que genera este tipo de tratamientos. Sin embargo, la complejidad de la biología celular induce a enfrentarse a estos resultados con gran cautela antes de decidirnos a aplicar clínicamente este tipo de tratamientos. Un aspecto adicional, en el que por limitaciones de espacio no vamos a extendernos, es el papel de las técnicas de imagen en la determinación del beneficio terapéutico de este tipo de tratamientos⁴¹. También en este aspecto los avances técnicos desempeñan un papel fundamental a la hora de diseñar los estudios clínicos y experimentales.

Quizá, el mensaje más importante que deberíamos transmitir es la necesidad de continuar investigando en esta área, facilitando una colaboración entre grupos multidisciplinarios que permita responder a algunas de las preguntas pendientes: ¿cuál es la fuente ideal de células madre?, ¿los distintos tipos celulares pueden producir beneficios en distintas situaciones?, ¿cuántas células es necesario trasplantar?, ¿por qué vía, percutánea, inyección intracardiaca directa o incluso administración intravenosa, sería mejor administrar las células madre?, ¿cuáles son las indicaciones de la terapia celular en enfermedades cardíacas, es decir, es mejor la administración de células en la fase aguda del infarto o en infartos antiguos?, o ¿es posible utilizar este tratamiento en miocardiopatías dilatadas? En definitiva, muchas más preguntas que respuestas. Sin duda, estamos ante un panorama estimulante en un nuevo campo que, sin duda, traerá soluciones y contribuirá a mejorar de forma decisiva la terapéutica.

BIBLIOGRAFÍA

1. Lagasse E, Shizuru JA, Uchida N, Tsukamoto A, Weissman IL. Toward regenerative medicine. *Immunity* 2001;14:425-36.
2. Weissman IL. Stem cells: units of development, units of regeneration, and units in evolution. *Cell* 2000;100:157-68.
3. Weissman IL, Anderson DJ, Gage F. Stem and progenitor cells: origins, phenotypes, lineage commitments, and transdifferentiations. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2001;17:387-403.
4. Poulson R, Alison MR, Forbes SJ, Wright NA. Adult stem cell plasticity. *J Pathol* 2002;197:441-56.
5. Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, Schwartz RE, Keene CD, Ortiz-González XR, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 2002;418:41-9.
6. Blau HM, Brazelton TR, Weimann JM. The evolving concept of a stem cell: entity or function? *Cell* 2001;105:829-41.
7. Assmus B, Schachinger 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;106:3009-17.
8. Strauer BE, Brehm M, Zeus T, Kostering M, Hernández A, Sorg RV, et al. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. *Circulation* 2002;106:1913-8.
9. 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;361:45-6.
10. Tse HF, Kwong YL, Chan JK, Lo G, Ho CL, Lau CP. Angiogenesis in ischaemic myocardium by intramyocardial autologous bone marrow mononuclear cell implantation. *Lancet* 2003;361:47-9.
11. Menasche P, Hagege AA, Vilquin JT, Desnos M, Abergel E, Pouzet B, et al. Autologous skeletal myoblast transplantation for severe postinfarction left ventricular dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:1078-83.
12. Kehat I, Kenyagin-Karsenti D, Snir M, Segev H, Amit M, Gepstein A, et al. Human embryonic stem cells can differentiate into myocytes with structural and functional properties of cardiomyocytes. *J Clin Invest* 2001;108:407-14.
13. Gepstein L. Derivation and potential applications of human embryonic stem cells. *Circ Res* 2002;91:866-76.
14. Zhang YM, Hartzell C, Narlow M, Dudley SC Jr. Stem cell-derived cardiomyocytes demonstrate arrhythmic potential. *Circulation* 2002;106:1294-9.
15. Beltrami AP, Urbanek K, Kajstura J, Yan SM, Finato N, Bussani R, et al. Evidence that human cardiac myocytes divide after myocardial infarction. *N Engl J Med* 2001;344:1750-7.
16. Laflamme MA, Myerson D, Saffitz JE, Murry CE. Evidence for cardiomyocyte repopulation by extracardiac progenitors in transplanted human hearts. *Circ Res* 2002;90:634-40.
17. Deb A, Wang S, Skelding KA, Miller D, Simper D, Caplice NM. Bone marrow-derived cardiomyocytes are present in adult human heart: a study of gender-mismatched bone marrow transplantation patients. *Circulation* 2003;107:1247-9.
18. Rosenthal N, Tsao L. Helping the heart to heal with stem cells. *Nat Med* 2001;7:412-3.
19. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Limana F, Jakoniuk I, Quaini F, et al. Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:10344-9.
20. Tomita S, Li RK, Weisel RD, Mickle DA, Kim EJ, Sakai T, et al. Autologous transplantation of bone marrow cells improves damaged heart function. *Circulation* 1999;100:II247-56.
21. Kamihata H, Matsubara H, Nishiue T, Fujiyama S, Tsutsumi Y, Ozono R, et al. Implantation of bone marrow mononuclear cells into ischemic myocardium enhances collateral perfusion and regional function via side supply of angioblasts, angiogenic ligands, and cytokines. *Circulation* 2001;104:1046-52.
22. Kawamoto A, Tkebuchava T, Yamaguchi J, Nishimura H, Yoon YS, Milliken C, et al. Intramyocardial transplantation of autologous endothelial progenitor cells for therapeutic neovascularization of myocardial ischemia. *Circulation* 2003;107:461-8.
23. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Jakoniuk I, Anderson SM, Li B, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium.

- Nature 2001;410:701-5.
24. Kocher AA, Schuster MD, Szabolcs MJ, Takuma S, Burkhoff D, Wang J, et al. Neovascularization of ischemic myocardium by human bone-marrow-derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function. *Nat Med* 2001;7:430-6.
 25. Takahashi T, Kalka C, Masuda H, Chen D, Silver M, Kearney M, et al. Ischemia- and cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization. *Nat Med* 1999;5:434-8.
 26. Asahara T, Murohara T, Sullivan A, Silver M, van der Zee R, Li T, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science* 1997;275:964-7.
 27. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999;284:143-7.
 28. Toma C, Pittenger MF, Cahill KS, Byrne BJ, Kessler PD. Human mesenchymal stem cells differentiate to a cardiomyocyte phenotype in the adult murine heart. *Circulation* 2002;105:93-8.
 29. Shake JG, Gruber PJ, Baumgartner WA, Senechal G, Meyers J, Redmond JM, et al. Mesenchymal stem cell implantation in a swine myocardial infarct model: engraftment and functional effects. *Ann Thorac Surg* 2002;73:1919-25.
 30. Reyes M, Lund T, Lenvik T, Aguiar D, Koodie L, Verfaillie CM. Purification and ex vivo expansion of postnatal human marrow mesodermal progenitor cells. *Blood* 2001;98:2615-25.
 31. Seale P, Asakura A, Rudnicki MA. The potential of muscle stem cells. *Dev Cell* 2001;1:333-42.
 32. Kessler PD, Byrne BJ. Myoblast cell grafting into heart muscle: cellular biology and potential applications. *Annu Rev Physiol* 1999;61:219-42.
 33. Taylor DA, Atkins BZ, Hungspreugs P, Jones TR, Reedy MC, Hutcheson KA, et al. Regenerating functional myocardium: improved performance after skeletal myoblast transplantation. *Nat Med* 1998;4:929-33.
 34. Suzuki K, Brand NJ, Smolenski RT, Jayakumar J, Murtuza B, Yacoub MH. Development of a novel method for cell transplantation through the coronary artery. *Circulation* 2000;102:III359-64.
 35. Robinson SW, Cho PW, Levitsky HI, Olson JL, Hruban RH, Acker MA, et al. Arterial delivery of genetically labelled skeletal myoblasts to the murine heart: long-term survival and phenotypic modification of implanted myoblasts. *Cell Transplant* 1996;5:77-91.
 36. Chiu RC, Zibaitis A, Kao RL. Cellular cardiomyoplasty: myocardial regeneration with satellite cell implantation. *Ann Thorac Surg* 1995;60:12-8.
 37. Reinecke H, Poppa V, Murry CE. Skeletal muscle stem cells do not transdifferentiate into cardiomyocytes after cardiac grafting. *J Mol Cell Cardiol* 2002;34:241-9.
 38. Perin EC, Dohmann HF, Borojevic R, Silva SA, Sousa AL, Mesquita CT, et al. Transendocardial, autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic ischemic heart failure. *Circulation* 2003;107:2294-302.
 39. Pagani FD, DerSimonian H, Zawadzka A, Wetzel K, Edge ASB, Jacoby DB, et al. Autologous skeletal myoblasts transplanted to ischemia-damaged myocardium in humans. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:879-88.
 40. Menasche P, Hagege AA, Scorsin M, Pouzet B, Desnos M, Duboc D, et al. Myoblast transplantation for heart failure. *Lancet* 2001;357:279-80.
 41. Orlic D, Hill JM, Arai AE. Stem cells for myocardial regeneration. *Circ Res* 2002;91:1092-102.