

Células madre en terapia celular cardíaca

Stem cells for cardiac cell therapy

Manuel Lobo González

Servicio de Cardiología Hospital Universitario Virgen Macarena, Sevilla.

Resumen

La enfermedad cardiovascular, y su frecuente resultado final, el fallo cardíaco del ventrículo izquierdo, son la principal causa de morbimortalidad en los países desarrollados. La investigación con células madre podría regenerar una variedad de células que incluye a los cardiomiocitos. Se han utilizado diferentes fuentes celulares para la terapia regenerativa cardíaca, incluyendo células madre cardíacas, mioblastos de músculo esquelético, células madre derivadas de la médula ósea, células madre mesenquimales, células madre embrionarias y células madre pluripotenciales inducidas. En la presente revisión se recogen las diferentes fuentes celulares utilizadas y el ámbito donde han sido usadas: ensayos clínico o estudios experimentales.

Palabras clave: Regeneración cardíaca, enfermedad cardíaca, terapia con células madre.

Abstract

Cardiovascular disease and its frequent consequence, left ventricular failure, are the leading cause of morbidity and mortality in the developed countries. The stem cell research could be useful regenerating a variety of tissue cells, including cardiomyocytes. Different sources of stem cells for regenerative cardiac therapy have been reported, including cardiac stem cells, skeletal myoblasts, bone marrow-derived stem cells, mesenchymal stem cells, embryonic stem cells and induced pluripotent stem cells. The present review shows the different cell sources used as well as their field of application: clinical trials or experimental studies

Keywords: Cardiac regeneration, heart disease, stem cell therapy.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad cardiovascular (ECV) comprende un amplio espectro de entidades patológicas. En muchas de estas enfermedades, y como paradigma de ellas el infarto agudo de miocardio extenso, la evolución puede dirigirse hacia la pérdida de las funciones contráctiles y el fracaso ventricular izquierdo avanzado. (1,2).

La ECV aparece cada vez a edades más precoces al mismo tiempo que aumenta la prevalencia de factores de riesgo a edades más tempranas en la población (diabetes mellitus, sedentarismo, hiperlipidemia, obesidad...) (3, 4, 5). Tanto es así que se han detectado signos de enfermedad aterosclerótica en individuos de 18 años de edad e incluso de edad pediátrica (6).

Por otro lado el desarrollo de los desfibriladores implantables, los recientes avances farmacológicos, y las estrategias de re-perfusión, si bien han reducido de forma espectacular la mortalidad precoz tras un infarto agudo de miocardio (IAM), y optimizado el control crónico de los pacientes cardiopatas, han originado como resultado un aumento en la incidencia de fallo cardíaco entre los supervivientes. De modo que las tasas de mortalidad, la re-hospitalización, y el desarrollo en última instancia de fallo de la bomba cardíaca, siguen siendo elevados y suponen un costo abrumador. Para los pacientes en fase final de insuficiencia cardíaca, el trasplante de corazón es la única terapia posible.

Sin embargo, y a pesar de ser España uno de los países con mayores tasas de donación cardíaca, la disponibilidad está lejos de poder suplir toda la demanda existente.

En términos epidemiológicos la insuficiencia cardíaca afecta anualmente a 25 millones de personas en todo el mundo, y solo en Estados Unidos origina unos costes médicos que superan los 500 billones de dólares (7).

Estos datos han llevado a la comunidad científica e investigadora a plantearse la necesidad de nuevas estrategias terapéuticas que permitan reemplazar las células dañadas durante el IAM para así prevenir e incluso revertir el proceso de remodelado cardíaco vinculado a la insuficiencia cardíaca (1). En respuesta a esta necesidad, en los últimos años se están investigando y desarrollando protocolos de terapia celular con el objetivo de hacer de la medicina regenerativa celular una opción terapéutica en este contexto (8).

En algunos casos estos protocolos ya se han llevado al ámbito del ensayo clínico obteniéndose resultados controvertidos, debido, según algunos autores, a su precipitado paso de fases preclínicas a ensayos en pacientes, y a la falta de un conocimiento detallado de las variables que afectan a la terapia celular cardíaca, a saber: tipos celulares, control de calidad y de viabilidad celular, vía de administración celular, número de células implantadas, microambiente proinflamatorio en miocardio, estado de

evolución clínica, y técnicas de evaluación de la actividad funcional cardíaca. En el presente trabajo analizamos la situación en relación con la primera de las variables mencionadas: los tipos celulares. En concreto se describen las características de las células y los resultados obtenidos en los ensayos clínicos efectuados o en ejecución hasta el momento presente y los desarrollados tan solo a nivel experimental.

FUENTES CELULARES USADAS EN ENSAYOS CLÍNICOS

-LAS CÉLULAS MADRE CARDÍACAS INTRÍNECAS (CMCIs):

Un importante campo en la terapia de regeneración cardíaca ha sido la identificación de células madre residentes cardíacas (CMCI). La caracterización de las CMCIs es muy reciente (9, 10, 11, 12, 13, 14). Actualmente se han aislado varias poblaciones de células indiferenciadas a partir de corazones neonatales y corazones que fallan como consecuencia de un infarto agudo (15): CMCIs C-Kit+, CMCIs Sca-1, CMCIs Sca-1/pdgfr-alfa+, CMCIs Isl+, CMCIs S.P. (Side-population), Cardioesferas, CMCIs derivadas del epicardio y de la grasa pericárdica. Las CMCIs se encuentran en nichos específicos diseminados en el espesor de la pared cardíaca y en el epicardio y grasa pericárdica (16). En muchos casos expresan varios marcadores de células madre y pueden realizar división asimétrica, lo que asegura la auto-renovación. Son células multipotenciales, capaces de originar progenitores cardíacos comprometidos a cada uno de los linajes cardíacos, cardiomiocitos, células del músculo liso y células endoteliales (17). Los progenitores cardíacos tienen la capacidad de proliferar y convertirse en precursores y, finalmente, en células diferenciadas (14). Se cree que el factor que define la tasa de expansión para las CMCIs de ratón ronda el 1000x. La cantidad de cardiomiocitos nuevos producidos diariamente en el corazón humano ha sido cuantificada en aproximadamente 5×10^6 , pero podría verse incrementado unas 100 veces tras un IAM. Este incremento se debe por un lado al crecimiento en el número de CMCIs y a un aumento en la frecuencia del ciclo celular. Las CMCIs también aumentan durante la hipertrofia cardíaca inducida por la estenosis aórtica (17). Por tanto podemos afirmar que las células madre procedentes del tejido miocárdico tienen potencial para originar diferentes tipos de células miocárdicas; sin embargo, no se conoce bien por qué las células madre endógenas del borde sano de la lesión cardíaca no son capaces de regenerar el tejido de forma más eficiente cuando este sufre un daño, ni siquiera al recibir estímulos exógenos con factores de crecimiento (18). Esto, probablemente es debido a la escasa viabilidad de las células madre cardíacas intrínsecas en pacientes mayores (18).

En resumen, la posibilidad de obtener, aislar y expandir las CMCIs y su potente capacidad de reparación del músculo cardíaco hace de estas poblaciones celulares una atractiva estrategia terapéutica para el futuro una vez se superen los principales inconvenientes: la baja viabilidad de estas células, el difícil acceso para su obtención y la escasa experiencia en su uso (19).

A pesar de estos inconvenientes, ya se han realizado dos ensayos clínicos con CMCIs: Cardiosphere-Derived autologous stem cells to reverse ventricular dysfunction (CADUCEUS), basado en terapia con cardioesferas mediante aplicación intracoronaria (20).

El estudio Stem cell infusion in patients with ischemic cardiomyopathy (SCPIO) (21), estudia el tratamiento del IAM con CMCIs de tipo C-kit+, instiladas por vía intracoronaria. Los resultados han mostrado mejorar la capacidad funcional cardíaca en términos de mejoría en la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) según datos del SCPIO. El estudio CADUCEUS no mostró mejoría funcional aunque sí, aumento de la masa de miocardio afectado, de la contractilidad regional y reducción de la escara. Sin embargo algunos autores han señalado la baja capacidad regeneradora de las C-kit cardíacas adultas (22) y proponen a las C-kit procedentes de la médula ósea como las posibles responsables de la mejoría funcional (23). Dos años después del inicio del ensayo SCPIO los datos de seguimiento indican que esta terapia es útil, aunque se requieren nuevos estudios para obtener conclusiones más sólidas.

En cualquier caso, ambos ensayos parecen demostrar la se-

guridad de la terapia con CMCI, si bien la comparación en términos de mejoría de la funcionalidad cardíaca aún no se ha concluido, y son necesarios nuevos ensayos clínicos para obtener datos más concretos (24).

-LAS CÉLULAS MADRE DEL MÚSCULO ESTRIADO ESQUELÉTICO.

El músculo esquelético del adulto contiene una población de células inmaduras, mioblastos, capaces de reparar las lesiones sufridas por el músculo durante toda la vida. Aunque se ha propuesto el uso de mioblastos en una fase relativamente temprana tras el IAM, su aplicación clínica actual se centra fundamentalmente en el remodelado cardíaco, en el que la disfunción del ventrículo izquierdo (VI) y la fracción de eyección (FE) baja respaldan la necesidad de formación de músculo nuevo.

En 2007, Invernici y cols. (25) estudiaron la capacidad de diferenciación de mioblastos humanos a cardiomiocitos sometiéndolos a ácido retinoico y co-cultivándolos con cardiomiocitos de ratón. Los resultados prometedores de este estudio dieron paso al primer estudio prospectivo aleatorizado y controlado con placebo en pacientes con cardiopatía isquémica crónica, en el llamado estudio MAGIC: "Myoblast Autologous Grafting in Ischemic Cardiomyopathy Trial" (26). En este estudio se incluyó a 97 pacientes con disfunción del VI severa que fueron sometidos a la inyección transepicárdica de progenitores de músculo esquelético cardíaco autólogos en el momento de la cirugía de revascularización coronaria mediante bypass, utilizando 30 inyecciones. A los seis meses, los grupos de tratamiento con mioblastos no mejoraron la función del ventrículo izquierdo respecto al grupo placebo. Se observó una excesiva tendencia a desarrollar arritmias ventriculares en pacientes tratados con inyección de mioblastos y el estudio fue prematuramente interrumpido. Se ha sugerido que el lugar de la cicatriz cardíaca (centro o periferia) donde se inyectan las células mioblásticas podría ser el causante de la mayor o menor tasa de arritmias cardíacas, siendo el centro de la cicatriz un punto de alto riesgo, al contrario de lo que ocurriría en las zonas periféricas de la misma. De ahí el concepto de colocación dirigida (27). Resultados similares al MAGIC ofreció el ensayo con mioblastos autólogos aplicados por vía transendocárdica denominado SEISMIC. El seguimiento de los pacientes a 4 años no mostró cambios significativos en la función del ventrículo izquierdo entre el grupo tratado con mioblastos y el grupo tratado con placebo (28). Recientemente, Narita y cols. (29), han trasplantando mioblastos de músculo esquelético aplicando la técnica de "cell-sheet" en modelo animal de rata. Sus resultados muestran una reducción en el tamaño del infarto, disminución de la fibrosis y de la hipertrofia, con aumento de la neovascularización, sin la presencia de arritmias. Estos resultados hacen replantear nuevos ensayos clínicos usando este método como el estudio MARVEL o el estudio PERCUTANEO (NCT00908622), este último todavía sin resultados preliminares.

En el ensayo MARVEL, al administrar de 400 a 800 millones de células mioblásticas a través de catéter en pacientes con insuficiencia cardíaca post-infarto, no se detectaron efectos adversos graves, más allá de taquicardias ventriculares, posiblemente en relación a la propia inyección (30).

-LAS CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES (CMMs):

Son una población de células presentes en tejidos adultos como la médula ósea, el tejido adiposo y el propio corazón entre otros, (31,32,33) caracterizada por la ausencia de marcadores de célula madre de médula ósea hematopoyética. Se pueden aislar y ampliar en cultivo fácilmente y, como los estudios experimentales han demostrado, pueden transdiferenciarse en una amplia variedad de estirpes celulares, incluyendo cardiomiocitos totalmente funcionales que aplicados al tejido cardíaco anómalo podrían originar una mejoría en la función ventricular y en los procesos de re-modelado (34,35,36,37). Además tienen la capacidad de actuar como moduladores en la respuesta inmune (38). La capacidad real de transdiferenciación que ofrecen estas células está actualmente en estudio, pero hasta ahora, los resultados preliminares en modelos animales apoyan la diferenciación activa de las CMMs trasplantadas en tejido miocárdico hacia estirpes cardíacas (39). Sin embargo, parece que el efecto beneficioso de

este tipo celular no es tanto su capacidad de diferenciarse a cardiomiocitos, como su efecto paracrino, que mediante secreción de citoquinas promueve la supervivencia, crecimiento y diferenciación de otros tipos celulares en el área de infarto; además poseen no solo bajo potencial inmunogénico, sino que tienen cierta capacidad de inmunosupresión.(40) El tejido adiposo derivado del mesénquima embrionario contiene gran cantidad de CMMS, células progenitoras endoteliales y células adiposas. Los datos experimentales sugieren que las células derivadas de tejidos adiposo y mesenquimales pueden transdiferenciarse en células con las características de cardiomiocitos e incluso en vasos sanguíneos, o al menos en tejidos neovasculares (41,42). El uso de células adiposas es muy atractivo porque el acceso a ellas es fácil y se encuentran en elevada cantidad en prácticamente todos los individuos (43). En 2009, Hare JM. Y cols. (44) realizan un ensayo aleatorizado, doble ciego y prospectivo, en el que estudiaron la seguridad y la eficacia de la terapia intravenosa con CMMS alogénicas aisladas de la médula ósea (hCMMS) en pacientes con IAM (n=53). Las tasas de eventos adversos fueron similares entre el grupo tratado con hCMMS (5,3 por paciente) y el tratado con placebo (7,0 por paciente), y los índices de función renal, hepática, y la hematología no fueron diferentes. La monitorización electrocardiográfica ambulatoria demostró una reducción de episodios de taquicardia ventricular ($p = 0,025$), y las pruebas de función pulmonar demostraron mejoras en el volumen espiratorio forzado en 1 s ($p = 0,003$) en los pacientes tratados con hCMMS. La puntuación de los síntomas globales en todos los pacientes ($p = 0,027$) y la fracción de eyección en el subgrupo en los pacientes con IAM anterior fueron significativamente mejor en pacientes tratados con hCMMS frente a los tratados con placebo. Se comprobó una mejora en la fracción de eyección del ventrículo izquierdo medido con resonancia magnética cardíaca en los pacientes tratados con hCMMS. A la luz de estos resultados se concluyó que la aplicación intravenosa de hCMMS alogénicos es segura en pacientes que han sufrido un IAM. Este ensayo proporciona sólidos datos de seguridad y datos provisionales de eficacia que deberán ser corroborados en ensayos clínicos posteriores. Además, ofrece un dato interesante, ya que la terapia con CMMS parece disminuir el riesgo de arritmias según se evidencio mediante monitorización electrocardiográfica ambulatoria. En estudios preclínicos con cerdos y roedores el tratamiento del IAM con CMMS derivadas de la grasa ha mostrado resultados prometedores (45,46). Tanto es así, que se ha iniciado un ensayo clínico utilizando CMMS adiposas aplicadas vía intracoronaria (estudio APOLLO, NCT 00442806). Otro estudio, en fase 1-2 (POSEIDON) en el que se realizan inyecciones transendocárdicas de CMMS autólogas y alogénicas a dos grupos respectivos, sin grupo control, muestra que la terapia de con estas células tanto endógenas como exógenas son seguras, incluso en términos de inmunogenicidad. (47)

Los últimos estudios que se están llevando a cabo, pretenden combinar los aspectos beneficiosos de diferentes estirpes celulares en una mismas aproximación terapéutica. Williams AR. Y cols. Han publicado los datos obtenidos al aplicar hCMMS junto a CMCi C-kit+ en modelos porcinos, comparando con placebo. El resultado ha sido una reducción en la extensión de la cicatriz, así como una mejoría tanto en la función sistólica como en la diastólica. Este nuevo estudio abre una nueva e interesante rama investigadora en la terapia regenerativa cardíaca.(48)

-LAS CÉLULAS MADRE HEMATOPÓYÉTICAS DE LA MÉDULA ÓSEA (CMHMOs)

Las CMHMOs son el tipo celular mejor caracterizado en términos de marcadores de superficie y comportamiento de crecimiento tanto in vivo como in vitro. Encontramos dos precursores celulares en la médula ósea, las hCMMS, ya mencionadas en el apartado anterior, y las CMHMOs. Las CMHMOs autólogas se utilizan por primera vez en personas en Marzo del 2001, en un paciente de 46 años con fallo de ventrículo izquierdo tras un IAM, por vía intracoronaria. Más tarde, en Julio de 2001, se realiza la primera aplicación intramiocárdica de CMHMO en un paciente de 64 años con fallo cardíaco tras IAM, iniciando un ensayo clínico en fase I. Estos primeros estudios dieron paso a una serie de investigaciones en las que se han empleado las CMHMOs en enfermedades cardíacas agudas y crónicas, como el IAM, la disfunción cardíaca sistólica y la cardiomiopatía dilatada (49).

Las CMHMOs tienen la ventaja de ser una fuente relativamente accesible y de una alta disponibilidad. Un requisito para esta modalidad de terapia celular es una precisa y cuidadosa preparación de las células aspiradas de la médula ósea adulta, para lograr una elevada concentración celular en la zona infartada, predominantemente en la zona de penumbra isquémica, y evitar en la medida de lo posible la recirculación de las CMHMOs hacia la médula ósea, el bazo, el hígado o los pulmones.

Para la terapia celular con CMHMOs se han ensayado diversos protocolos, técnicas de aislamiento, de cultivo y expansión con y sin medios diferenciadores, así como las ya mencionadas técnicas de aplicación en el tejido cardíaco dañado, llevados a cabo en una gran cantidad de ensayos clínicos, que han alcanzado en algunos casos las fases II y III (50). Hay dos cuestiones que cobran gran relevancia en la terapia con este tipo de célula madre: La cantidad de células infundidas, según los datos obtenidos hasta ahora en los diferentes estudios, es directamente proporcional a los efectos beneficiosos alcanzados. El método de administración o instilación de las células madre en el tejido miocárdico dañado. (50). Se han descrito 4 procedimientos para hacer llegar las CMHMOs hasta la zona infartada y la zona de penumbra cardíaca: la aplicación intracoronaria, la aplicación intravenosa, la inyección transendocárdica y la inyección transepicárdica.

Un buen ejemplo de ensayo clínico con CMHMOs, es el ya concluido estudio REPAIR-AMI (Reinfusion of Enriched Progenitor cells And Infarct Remodeling in Acute Myocardial Infarction) (51,52): en él se incluyeron un total de 204 pacientes con IAM en los que se había realizado una intervención coronaria percutánea; a ellos se les asignó aleatoriamente un tratamiento con placebo o con CMHMOs, y se hizo un seguimiento a un año incluyendo imágenes de resonancia magnética. Los resultados obtenidos muestran una mejora en la fracción de eyección ventricular izquierda en los pacientes que recibieron infusión de células madre, igualmente la progresión del volumen final diastólico fue menor, y en comparación con los pacientes que recibieron placebo, esta no incrementó (53,54). En 2010, Assmus B. y cols. publican los resultados del ensayo REPAIR-AMI dos años después de su finalización, . Los datos analizados 24 meses tras la terapia con CMHMOs muestran que la administración intracoronaria de las mismas se asoció con una reducción significativa de la incidencia de eventos adversos cardiovasculares, la cual se mantuvo durante 2 años tras el IAM. Por tanto, las mejoras funcionales después de la terapia de CMHMOs pueden persistir al menos durante 2 años.(55)

En 2011 se publicaron los resultados del seguimiento a cinco años tras la terapia con CMHMOs del ensayo TOPCARE-AMI, poniéndose de manifiesto la persistencia de efectos beneficiosos en términos de función ventricular izquierda (56).

Parece estar bien establecido que la terapia con CMHMOs es beneficiosa, sin embargo es necesario protocolarizar su aplicación. Por ello se llevan a cabo ensayos clínicos como el llevado a cabo por Traverse y cols. (57) en el que se estudia el efecto de iniciar la terapia celular a los tres días o a los siete después de la reperfusión coronaria, aunque en este caso no se ha demostrado una mejoría significativa de la función cardíaca en ninguno de los dos grupos.

Los recientes resultados del ensayo TIME (Effect of the use and timing of bone marrow mononuclear cell delivery on left ventricular function after acute myocardial infarction) obtenidos al administrar una infusión intracoronaria de CMHMOs en pacientes que habían sufrido IAM con elevación del segmento ST, no mejoraron la función cardíaca en términos de FEVI ni a los 3 ni a los 7 días, en comparación con el grupo que recibió placebo. (58)

Los metanálisis sobre terapia con CMHMOs muestran que estos procedimientos son seguros en cuanto que no causan empeoramiento de la isquemia ni incrementan las arritmias cardíacas. Esto unido a los prometedores resultados ofrecidos por estudios como el REPAIR-AMI o el TOPCARE-AMI, han estimulado a numerosos investigadores a iniciar nuevos ensayos clínicos para confirmar los efectos de la administración de CMHMOs sobre la mortalidad y la progresión de la insuficiencia cardíaca en pacientes con IAM (59) La reciente revisión sistemática llevada a cabo por Clifford y cols. pone de manifiesto que la mortalidad y la morbilidad de los pa-

cientes incluidos en 33 ensayos clínicos randomizados (1765 pacientes en total) no fue significativamente mayor que en los pacientes sometidos a terapia de reperfusión estándar; además sí que hubo una mejoría en la fracción de eyección en los pacientes tratados con CMHMOs que se mantuvo en los primeros meses tras la terapia (60).

Sin duda, es esta la modalidad de terapia celular cardíaca más estudiada, y sin embargo hay una gran cantidad de interrogantes que requieren nuevos ensayos así como protocolos concretos para resolverlos.

FUENTES CELULARES UTILIZADAS EN ESTUDIOS EXPERIMENTALES:

-LAS CÉLULAS MADRE EMBRIONARIAS (CMEs)

Son células derivadas de la masa embrionaria en etapa de blastocisto que tienen el mayor potencial para la regeneración de órganos y son el prototipo de célula madre (61). Las CMEs de origen murino fueron aisladas por primera vez en 1981 (62,63) y sus homólogas humanas en 1998 (64). Las CMEs pueden originar una gran variedad de tipos celulares y tejidos de las tres capas germinales, incluidos los cardiomiocitos; Sin embargo su aptitud innata para la proliferación también representa un riesgo añadido para el desarrollo de teratomas (65,66,67). La cardiopoyesis guiada, en la cual se imita el entorno natural de la cardiopoyesis embrionaria para originar poblaciones de progenitores cardíacos, es una importante línea de investigación que procura la diferenciación celular previa a la aplicación de las mismas en el tejido u órgano a regenerar (68). Las moléculas relacionadas con este proceso se han identificado mediante caracterización genómica y proteómica de señales cardio-inductivas naturales, obteniéndose así una "guía cardiopoyética" (69). Además de establecer las señales moleculares, este enfoque explota el sinergismo entre los factores tróficos y de crecimiento para replicar el impacto sobre el secretoma endodérmico y así focalizar la plasticidad de las células madre pluripotentes hacia una estirpe cardíaca, anulando su comportamiento propenso al crecimiento descontrolado. Este proceso de "desarrollo guiado" se está llevando al área clínica con propuestas similares a las empleadas con CMMOs (70). En 2007 Behfar y cols. (70) caracterizaron el comportamiento de las CMEs cuando estas son sometidas al factor TNF-alfa, y a un posterior cóctel cardiopoyético. El resultado fue una clara diferenciación cardiogénica. Basándonos en este y en otros estudios posteriores, podemos afirmar que los cardiomiocitos derivados de CMEs muestran fenotipo, inmunohistoquímica, ultraestructura y funciones inequívocamente cardíacos. Además realizan actividad de latido espontáneo, corrientes iónicas características, y potenciales de acción similares a los registrados en células atriales, nodales y ventriculares (71,72). En modelos de experimentación animal con IAM y cardiomiopatías no isquémicas, el trasplante de CMEs ha dado como resultado una importante mejoría en la función y estructura cardíacas, así como un buen acoplamiento eléctrico (73,74,75,76). Además, las CMEs pueden reparar deficiencias metabólicas y restaurar conexiones celulares defectuosas. En conjunto estos efectos beneficiosos podrían ser decisivos para lograr una actividad regeneradora cardíaca, siendo sin duda una fuente celular a tener muy en cuenta en futuras investigaciones. A pesar de sus prometedoras cualidades, las células madre embrionarias, y los procesos mediante los cuales se obtienen a pesar de los nuevos avances técnicos como la extracción de blastómeros individuales, todavía están sujetos a la problemática del posible desarrollo tumoral así como a las grandes controversias éticas y morales que frenan su desarrollo, investigación y experimentación en campos clínicos y preclínicos (76,77).

-LAS CÉLULAS MADRE PLURIPOTENCIALES INDUCIDAS (iPSCs)

Recientemente, se han logrado generar poblaciones celulares con características de CMEs a partir de células procedentes de tejidos somáticos adultos, como por ejemplo los fibroblastos. Para ello se utilizan técnicas de reprogramación con genes relacionados con la pluripotencialidad (78,79,80,81). Esta novedosa estrategia ofrece una fuente alternativa para obtener células con potencial cardiogénico similares a las presentes en el blastocisto,

pero sin recurrir al embrión. Además, estas técnicas permitirían obtener células nativas y específicas de cada paciente. Desde que el equipo del premio nobel S. Yamanaka generó la primera iPSC a partir de fibroblastos adultos de ratón, utilizando cuatro factores inductores (82), seguido de la generación de iPSC humanas (83), se han empleado distintos vectores para introducir factores inductores, así como varias combinaciones de los mismos en forma de factores de transcripción o microRNA. Además, recientemente se ha puesto de manifiesto como determinados compuestos químicos, como el butirato, puede estimular la capacidad inductora de los factores de transcripción (84), o otros como el Oct 4 que por sí solo es capaz de inducir el paso de células somáticas a iPSC (85). Una vez obtenidas las colonias de iPSC, estas pueden diferenciarse en cardiomiocitos funcionales a partir de métodos, similares a los tradicionalmente empleados para producir los cardiomiocitos a partir de CMEs. Las últimas líneas investigadoras de este campo proponen la reprogramación directa de fibroblastos a miocardiocitos usando tres factores de transcripción: Gata4, MeF2c y Tbx5 (GMT) (86).

A pesar del entusiasmo que ha despertado el uso de la tecnología de iPSC en la medicina regenerativa se ha visto obstaculizada por los problemas comentados anteriormente: su naturaleza impredecible, el comportamiento y potencial teratogénico (87), la capacidad proaritmica, un menor potencial cardiogénico del esperado y reacciones de rechazo inmunológico en modelos animales, a pesar de su origen autólogo (87). Todas estas cuestiones deben ser abordadas antes de llevar las iPSCs al ámbito clínico.

CONCLUSIONES

Basándonos en los estudios y ensayos llevados a cabo hasta ahora, así como en las revisiones sistemáticas y meta-análisis, podemos concluir que la terapia con algunos tipos celulares puede tener efectos positivos en la regeneración cardíaca. La utilización de la terapia celular en la patología cardíaca constituye en el momento presente un instrumento terapéutico objeto de una importante labor investigadora, cuyas variables fundamentales están relacionadas con el tipo de célula madre utilizada y su viabilidad, los métodos de incorporación de las mismas en el tejido cardíaco, y las distintas técnicas de determinación de la funcionalidad cardíaca. A pesar de los resultados alentadores, los diferentes estudios realizados ponen de relieve resultados contradictorios sin que exista hasta el momento una técnica gold standard para la terapia celular cardíaca. Por ello hay tres cuestiones fundamentales que deben ser valoradas:

Primero, establecer el tipo celular con mayor capacidad para regenerar el músculo cardíaco, así como la viabilidad de su utilización y su seguridad. A este respecto, sería muy interesante valorar las nuevas posibilidades que ofrecen las iPSCs y las combinaciones de estirpes celulares. Esta última opción, estando aun en estadios muy precoces de desarrollo ha ofrecido resultados francamente alentadores.

Segundo, la cantidad de células, en términos de dosis que debe emplearse. Es necesario usar una gran concentración celular ya que del total infundido solo una pequeña porción permanece en el tejido cardíaco, y de estas solo una pequeña parte inicia procesos de división (88).

Tercero, el método de administración celular, ya sea mediante instilación coronaria, intravenosa, transepicárdica o transendocárdica, así como la cronología que debe llevarse a cabo a la hora de realizar estas terapias (89).

REFERENCIAS

1. Martín-Puig S, Fuster V, Torres M. Heart repair: from natural mechanisms of cardiomyocyte production to the design of new cardiac therapies. *Ann N Y Acad Sci.* 2012;1254:71-81.
2. Sun Y. Myocardial repair/remodelling following infarction: roles of local factors. *Cardiovasc Res.* 2009 15;81:482-90.
3. Juonala M, Viikari JS, Räsänen L, Helenius H, Pietikäinen M, Raitakari OT. Young adults with family history of coronary heart disease

have increased arterial vulnerability to metabolic risk factors: the Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006;26:1376-82.

4. Haffner SM. Metabolic syndrome, diabetes and coronary heart disease. *Int J Clin Pract Suppl.* 2002 Oct;(132):31-7.

5. Pearson TA, Blair SN, Daniels SR, Eckel RH, Fair JM, Fortmann SP, et al. AHA Guidelines for Primary Prevention of Cardiovascular Disease and Stroke: 2002 Update: Consensus Panel Guide to Comprehensive Risk Reduction for Adult Patients Without Coronary or Other Atherosclerotic Vascular Diseases. American Heart Association Science Advisory and Coordinating Committee. *Circulation.* 2002 Jul 16;106:388-91.

6. Nissen SE. Who is at risk for atherosclerotic disease? Lessons from intravascular ultrasound. *Am J Med.* 2002 Jun 3;112.

7. Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, Adams RJ, Berry JD, Brown TM, et al; American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart disease and stroke statistics—2011 update: a report from the American Heart Association. *Circulation.* 2011 Feb 1;123:e18-e209

8. Poon E, Kong CW, Li RA. Human pluripotent stem cell-based approaches for myocardial repair: from the electrophysiological perspective. *Mol Pharm.* 2011 3;8:1495-504.

9. Anversa P, Leri A, Rota M, Hosoda T, Bearzi C, Urbanek K, Kajstura J, Bolli R. Concise review: stem cells, myocardial regeneration, and methodological artifacts. *Stem Cells.* 2007;25:589-601.

10. Balsam LB, Robbins RC. Haematopoietic stem cells and repair of the ischaemic heart. *Clin Sci (Lond)* 2005; 109, 483-492.

11. Fukuda K. Progress in myocardial regeneration and cell transplantation. *Circ J* 2005; 69, 1431-1446.

12. Beltrami AP, Barlucchi L, Torella D, Baker M, Limana F, Chimenti S, et al. Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. *Cell* 2003;114, 763-776.

13. Urbanek K, Torella D, Sheikh F, De Angelis A, Nurzynska D, Silvestri F, et al. Myocardial regeneration by activation of multipotent cardiac stem cells in ischemic heart failure. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102, 8692-8697.

14. Torella D, Ellison GM, Nadal-Ginard B, Indolfi C. Cardiac stem and progenitor cell biology for regenerative medicine. *Trends Cardiovasc Med* 2005;15, 229-236.

15. Oh H, Bradfute SB, Gallardo TD, Nakamura T, Gaussin V, Mishina Y, et al. Cardiac progenitor cells from adult myocardium: homing, differentiation, and fusion after infarction. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003;100:12313-8.

16. Urbanek K, Cesselli D, Rota M, Nascimbene A, De Angelis A, Hosoda T, et al. Stem cell niches in the adult mouse heart. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103, 9226-9231.

17. Urbanek K, Quaini F, Tasca G, Torella D, Castaldo C, Nadal-Ginard B, et al. Intense myocyte formation from cardiac stem cells in human cardiac hypertrophy. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100, 10440-10445.

18. Bergmann O, Bhardwaj RD, Bernard S, Zdunek S, Barnabé-Heider F, Walsh S, et al. Evidence for cardiomyocyte renewal in humans. *Science* 2009; 324: 98-102.

19. Doris A, Taylor, Matthew J, Robertson. The basics of cell therapy to treat cardiovascular disease: One cell does not fit all. *Rev Esp Cardiol* 2009;62:1032-1044.

20. Makkar RR, Smith RR, Cheng K, Malliaras K, Thomson LE, Berman D, et al. Intracoronary cardiosphere-derived cells for heart regeneration after myocardial infarction (CADUCEUS): a prospective, randomised phase 1 trial. *Lancet* 2012; 10;379(9819):895-904

21. Bolli R. The late phase of preconditioning. *Circ Res* 2000; 87:972-983.

22. Zaruba MM, Soonpaa M, Reuter S, Field LJ. Cardiomyogenic potential of C-kit (+)-expressing cells derived from neonatal and adult mouse hearts. *Circulation.* 2010 11;121:1992-2000.

23. Fazel S, Cimini M, Chen L, Li S, Angoulvant D, Fedak P, et al. Cardioprotective c-kit+ cells are from the bone marrow and regulate the myocardial balance of angiogenic cytokines. *J Clin Invest.* 2006 ;116:1865-77.

24. Chugh AR, Beache GM, Loughran JH, Mewton N, Elmore JB, Kajstura J, et al. Administration of cardiac stem cells in patients with ischemic cardiomyopathy: the SCIPIO trial: surgical aspects and interim analysis of myocardial function and viability by magnetic resonance. *Circulation.* 2012 11;126:S54-64

25. Invernici G, Cristini S, Madeddu P, Brock S, Spillmann F, Bernasconi P, et al. Human adult skeletal muscle stem cells differentiate into cardiomyocyte phenotype in vitro. *Exp Cell Res.* 2008 15;314:366-76

26. Menasché P, Alfieri O, Janssens S, McKenna W, Reichenspurner H, Trinquart L, et al. The Myoblast Autologous Grafting in Ischemic Cardiomyopathy (MAGIC) trial: first randomized placebo-controlled study of myoblast transplantation. *Circulation* 2008;117:1189-200.

27. McCue JD, Swingen C, Feldberg T, Caron G, Kolb A, Denucci C, et al. The real estate of myoblast cardiac transplantation: negative remodeling is associated with location. *J Heart Lung Transplant.* 2008;27:116-23.

28. Veltman CE, Soliman OI, Geleijnse ML, Vletter WB, Smits PC, ten Cate FJ, et al. Four-year follow-up of treatment with intramyocardial skeletal myoblasts injection in patients with ischaemic cardiomyopathy. *Eur Heart J.* 2008;29:1386-96.

29. Narita T, Shintani Y, Ikebe C, Kaneko M, Harada N, Tshuma N, et al. The use of cell-sheet technique eliminates arrhythmogenicity of skeletal myoblast-based therapy to the heart with enhanced therapeutic effects. *Int J Cardiol.* 2012 Oct 6 (in press)

30. Povsic TJ, O'Connor CM, Henry T, Taussig A, Kereiakes DJ, Fortuin FD, et al. A double-blind, randomized, controlled, multicenter study to assess the safety and cardiovascular effects of skeletal myoblast implantation by catheter delivery in patients with chronic heart failure after myocardial infarction. *Am Heart J.* 2011; 162:654-662.

31. Chong JJ, Chandrakanthan V, Xaymardan M, Asli NS, Li J, Ahmed I, et al. Adult cardiac-resident MSC-like stem cells with a proepicardial origin. *Cell Stem Cell* 2011;9:527-40.

32. 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 (suppl):II247-II256.

33. da Silva Meirelles L, Chagastelles PC, Nardi NB. Mesenchymal stem cells reside in virtually all post-natal organs and tissues. *J Cell Sci* 2006;119:2204-13.

34. Makino S, Fukuda K, Miyoshi S, Konishi F, Kodama H, Pan J, et al. Cardiomyocytes can be generated from marrow stromal cells in vitro. *J Clin Invest.* 1999;103:697-705.

35. Mazhari R, Hare JM. Mechanisms of action of mesenchymal stem cells in cardiac repair: potential influences on the cardiac stem cell niche. *Nat Clin Pract Cardiovasc* 2007;4(suppl 1):S21-S26.

36. Schuleri KH, Amado LC, Boyle AJ, Centola M, Saliaris AP, Gutman MR, et al. Early improvement in cardiac tissue perfusion due to mesenchymal stem cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2008;294:H2002-H2011.

37. 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;105:93-98.

38. Aggarwal S, Pittenger MF. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. *Blood* 2005; 15;105:1815-1822.

39. Liechty KW, MacKenzie TC, Shaaban AF, Radu A, Moseley AM, Deans R, et al. Human mesenchymal stem cells engraft and demonstrate site-specific differentiation after in utero transplantation in sheep. *Nat Med.* 2000;6:1282-1286.

40. Caplan AL, Dennis JE. Mesenchymal stem cells as trophic mediators. *J Cell Biochem.* 2006 1;98:1076-84.

41. Planat-Bénard V, Menard C, André M, Puceat M, Perez A, Garcia-Verdugo JM, et al. Spontaneous cardio-myocyte differentiation from adipose tissue stroma cells. *Circ Res.* 2004; 94:223-229.

42. Planat-Benard V, Silvestre JS, Cousin B, André M, Nibelink M, Tamarat R, et al. Plasticity of human adipose lineage cells toward endothelial cells: physiological and therapeutic perspectives. *Circulation*. 2004;109:656-663.
43. Nieto-Aguilar R, Serrato D, Garzón I, Campos A, Alaminos M. Pluripotential differentiation capability of human adipose-derived stem cells in a novel fibrin-agarose scaffold. *J Biomater Appl*. 2011;25:743-68.
44. Hare JM, Traverse JH, Henry TD, Dib N, Strumpf RK, Schulman SP, et al. "A randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-escalation study of intravenous adult human mesenchymal stem cells (prochymal) after acute myocardial infarction," *Journal of the American College of Cardiology*, 2009;. 24,2277-2286.
45. Cai L, Johnstone BH, Cook TG, Tan J, Fishbein MC, et al. IFATS collection: Human adipose tissue-derived stem cells induce angiogenesis and nerve sprouting following myocardial infarction, in conjunction with potent preservation of cardiac function. *Stem Cells* 2009;27: 230-7.
46. Valina C, Pinkernell K, Song YH, Bai X, Sadat S, Campeau RJ, et al. Intracoronary administration of autologous adipose tissue-derived stem cells improves left ventricular function, perfusion, and remodeling after acute myocardial infarction. *Eur Heart J* 2007;28:2667-77.
47. Hare JM, Fishman JE, Gerstenblith G, DiFede Velazquez DL, Zambrano JP, et al. Comparison of allogeneic vs autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells delivered by transendocardial injection in patients with ischemic cardiomyopathy: the POSEIDON randomized trial. *JAMA*. 2012;12;308:2369-79.
48. Williams AR, Hatzistergos KE, Addicott B, McCall F, Carvalho D, Suncion V, et al. Enhanced effect of combining human cardiac stem cells and bone marrow mesenchymal stem cells to reduce infarct size and to restore cardiac function after myocardial infarction. *Circulation*. 2013;127:213-23.
49. Strauer BE, Steinhoff G. 10 years of intracoronary and intramyocardial bone marrow stem cell therapy of the heart: from the methodological origin to clinical practice. *J Am Coll Cardiol*. 2011;6;58:1095-104.
50. Vassalli G, Vanderheyden M, Renders F, Eeckhout E, Bartunek J. Bone marrow stem cell therapy for cardiac repair: challenges and perspectives. *Minerva Cardioangiol*. 2007;55:659-67.
51. Mills JS, Rao SV. REPAIR-AMI: stem cells for acute myocardial infarction. *Future Cardiol*. 2007;3:137-40.
52. Erbs S, Linke A, Schächinger V, Assmus B, Thiele H, Diederich KW, et al. Restoration of microvascular function in the infarct-related artery by intracoronary transplantation of bone marrow progenitor cells in patients with acute myocardial infarction: the Doppler Substudy of the Reinfusion of Enriched Progenitor Cells and Infarct Remodeling in Acute Myocardial Infarction (REPAIR-AMI) trial. *Circulation*. 2007;24;116:366-74.
53. Dill T, Schächinger V, Rolf A, Möllmann S, Thiele H, Tillmanns H, et al. Intracoronary administration of bone marrow-derived progenitor cells improves left ventricular function in patients at risk for adverse remodeling after acute ST-segment elevation myocardial infarction: results of the Reinfusion of Enriched Progenitor cells And Infarct Remodeling in Acute Myocardial Infarction study (REPAIR-AMI) cardiac magnetic resonance imaging substudy. *Am Heart J*. 2009;157:541-7.
54. Schächinger V, Assmus B, Erbs S, Elsässer A, Haberbosch W, Hambrecht R, et al. Intracoronary infusion of bone marrow-derived mononuclear cells abrogates adverse left ventricular remodeling post-acute myocardial infarction: insights from the reinfusion of enriched progenitor cells and infarct remodeling in acute myocardial infarction (REPAIR-AMI) trial. *Eur J Heart Fail*. 2009;11:973-9.
55. Assmus B, Rolf A, Erbs S, Elsässer A, Haberbosch W, Hambrecht R, et al. Clinical outcome 2 years after intracoronary administration of bone marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction. *Circ Heart Fail*. 2010;3:89-96
56. Leistner DM, Fischer-Rasokat U, Honold J, Seeger FH, Schächinger V, Lehmann R, et al. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI): final 5-year results suggest long-term safety and efficacy. *Clin Res Cardiol* 2011;100:925-34.
57. Traverse JH, Henry TD, Pepine CJ, Willerson JT, Zhao DX, Ellis SG, et al; for the Cardiovascular Cell Therapy Research Network (CCTRN). Effect of the Use and Timing of Bone Marrow Mononuclear Cell Delivery on Left Ventricular Function After Acute Myocardial Infarction: The TIME Randomized Trial. *JAMA*. 2012;6:1-10.
58. Traverse JH, Henry TD, Pepine CJ, Willerson JT, Zhao DX, Ellis SG, et al; Cardiovascular Cell Therapy Research Network. Effect of the use and timing of bone marrow mononuclear cell delivery on left ventricular function after acute myocardial infarction: the TIME randomized trial. *JAMA*. 2012;12;308:2380-9.
59. Zhang C, Sun A, Zhang S, Yao K, Wu C, Fu M, et al. Efficacy and safety of intracoronary autologous bone marrow-derived cell transplantation in patients with acute myocardial infarction: insights from randomized controlled trials with 12 or more months follow-up. *Clin Cardiol*. 2010;33:353-60.
60. Clifford DM, Fisher SA, Brunskill SJ, Doree C, Mathur A, Watt S, et al. Stem cell treatment for acute myocardial infarction. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; 2: CD006536.
61. Smith AG. Embryo-derived stem cells: of mice and men. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2001;17:435-462.
62. Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotent cells from mouse embryos. *Nature*. 1981;292:154-156.
63. Martin GR. Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1981;78:7634-7638.
64. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*. 1998;282:1145-1147.
65. Huber I, Itzhaki I, Caspi O, Arbel G, Tzokerman M, Gepstein A, et al. Identification and selection of cardiomyocytes during human embryonic stem cell differentiation. *FASEB J*. 2007;21:2551-2563.
66. Solter D. From teratocarcinomas to embryonic stem cells and beyond: a history of embryonic stem cell research. *Nat Rev Genet*. 2006;7:319-327.
67. Tomescot A, Leschik J, Bellamy V, Dubois G, Messas E, Bruneval P, et al. Differentiation in vivo of cardiac committed human embryonic stem cells in postmyocardial infarcted rats. *Stem Cells*. 2007;25:2200-2205.
68. Behfar A, Faustino RS, Arrell DK, Dzeja PP, Perez-Terzic C, Terzic A. Guided stem cell cardiopoiesis: discovery and translation. *J Moll Cell Cardiol* 2008;45:523-529.
69. Faustino RS, Behfar A, Perez-Terzic C, Terzic A. Genomic chart guiding embryonic stem cell cardiopoiesis. *Genome Biol*. 2008;9:R6.
70. Behfar A, Perez-Terzic C, Faustino RS, Arrell DK, Hodgson DM, Yamada S, et al. Cardiopoietic programming of embryonic stem cells for tumor-free heart repair. *J Exp Med*. 2007;19;204:405-20.
71. He JQ, Ma Y, Lee Y, Thomson JA, Kamp TJ. Human embryonic stem cells develop into multiple types of cardiac myocytes: action potential Heart disease and strokes update. *Circ Res*. 2003;93(1):32-9
72. Sartiani L, Bettiol E, Stillitano F, Mugelli A, Cerbai E, Jaconi ME. Developmental changes in cardiomyocytes differentiated from human embryonic stem cells: a molecular and electrophysiological approach. *Stem Cells*. 2007;25:1136-1144.
73. 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 Physiol*. 2004;287:H471-H479.
74. Ménard C, Hagège AA, Agbulut O, Barro M, Morichetti MC, Brasselet C, et al. Transplantation of cardiocommitted mouse embryonic stem cells to infarcted sheep myocardium: a pre-clinical study. *Lancet*. 2005;366:1005-1012.
75. Yamada S, Nelson TJ, Crespo-Diaz RJ, Perez-Terzic C, Liu XK, Miki T, et al. Embryonic stem cell therapy of heart failure in genetic cardiomyopathy. *Stem Cell* 2008;26:2644-2653.
76. Murry CE, Keller G. Differentiation of embryonic stem cells to cli-

nically relevant populations: lessons from embryonic development. *Cell*. 2008;132:661-680.

77. Passier R, van Laake LW, Mummery CL. Stem-cell-based therapy and lessons from the heart. *Nature*. 2008;453:322-329.

78. Hochedlinger K, Jaenisch R. Nuclear reprogramming and pluripotency. *Nature*. 2006;441:1061-1067.

79. Jaenisch R, Young R. Stem cells, the molecular circuitry of pluripotency and nuclear reprogramming. *Cell*. 2008;132:567-582.

80. Nakagawa M, Koyanagi M, Tanabe K, Takahashi K, Ichisaka T, Aoi T, et al. Generation of induced pluripotent stem cells without Myc from mouse and human fibroblasts. *Natur Biotechnol*. 2008;26:101-106.

81. Yu J, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, Antosiewicz-Bourget J, Frane JL, Tian S, Nie J, et al. Cardiac Applications for Human Pluripotent Stem Cells. *Curr Pharm Des*. 2009; 15: 2791–2806.

82. Yamanaka S, Takahashi K. Induction of pluripotent stem cells from mouse fibroblast cultures. *Tanpakushitsu Kakusan Koso*. 2006;51:2346-51.

83. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*. 2007;131:861– 872.

84. Mali P, Chou BK, Yen J, Ye Z, Zou J, Dowey S, et al. Butyrate greatly enhances derivation of human induced pluripotent stem cells by promoting epigenetic remodeling and the expression of pluripotency-associated genes. *Stem Cells*. 2010;28:713–720

85. Zhu S, Li W, Zhou H, Wei W, Ambasadhan R, Lin T, et al. Reprogramming of human primary somatic cells by OCT4 and chemical compounds. *Cell Stem Cell*. 2010;7:651–655

86. Ieda M, Fu JD, Delgado-Olguin P, Vedantham V, Hayashi Y, Bruneau BG, et al. Direct reprogramming of fibroblasts into functional cardiomyocytes by defined factors. *Cell* 2010; 142: 375 – 386.

87. Pera MF. Stem cells: the dark side of induced pluripotency. *Nature*. 2011;471:46–7.

88. Chamuleau SA, Vrijnsen KR, Rokosh DG, Tang XL, Piek JJ, Bolli R. Cell therapy for ischaemic heart disease: Focus on the role of resident cardiac stem cells. *Neth Heart J* 2009; 17: 199 – 207.

89. Mozid AM, Arnous S, Sammut EC, Mathur A. Stem cell therapy for heart diseases. *Br Med Bull* 2011; 98: 143 – 159.