

Cardiomioplastia celular

Cellular cardiomyoplasty

Rosa S Kawasaki-Oyama¹; Érika C. Pavarino-Bertelli²; Mario Abbud Filho³; Domingo M. Braile⁴; Eny M. Goloni-Bertollo²

¹ Pós-Doutoranda do Departamento de Biologia Molecular*; ² Professora Adjunta do Departamento de Biologia Molecular*; ³ Professor Adjunto do Departamento de Medicina*; ⁴ Professor Livre Docente do Departamento de Cardiologia e Cirurgia Cardiovascular*

*Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto - FAMERP.

Resumo Infarto do miocárdio é uma das principais causas da insuficiência cardíaca progressiva, responsável pelo alto índice de mortalidade em pacientes cardíacos. Recentes estudos sobre a biologia das células-tronco criaram muitas expectativas à respeito de uma nova alternativa terapêutica, denominada cardiomioplastia celular, que consiste no transplante de células-tronco em lesões cardíacas, com o objetivo de promover a substituição e/ou regeneração dos cardiomiócitos. Estudos pré-clínicos e clínicos utilizando diferentes tipos celulares mostraram resultados promissores. Entretanto, ainda é preciso esclarecer algumas questões que poderão otimizar os efeitos benéficos dessa terapia como, o tipo celular, a quantidade ideal e o procedimento a ser empregado, bem como o local e o tempo gasto para a injeção dessas células.

Este artigo tem como objetivo rever os dados mais recentes e mostrar as futuras direções dessa área. Diferentes estudos demonstraram que células-tronco mesenquimais (CTMs), presentes em tecidos adultos e também na medula óssea, podem ser isoladas, expandidas após cultivo e caracterizadas *in vitro* e *in vivo*. Além disso, podem se diferenciar em condrócitos, adipócitos, osteócitos e adquirir características fenotípicas de células endoteliais, neurais, músculo liso, de mioblastos esqueléticos e de miócitos cardíacos. Quando introduzidas no coração após infarto, migram para as áreas lesadas, evitam a remodelação e melhoram o desempenho cardíaco. Entretanto, ainda é necessário investigar o comportamento dessas células nas lesões cardíacas (scar).

Palavras-chave Células-tronco; Células-tronco mesenquimais; Terapia celular; Cardiomioplastia celular; Cardiomiopatia.

Abstract Myocardial infarction is one of the leading causes of progressive heart failure accounting for high mortality rates in cardiac patients. Recent new insights into stem cell biology have raised considerable hopes for novel therapeutic approaches aimed at cardiac myocyte replacement/regeneration through cell transplantation called cellular cardiomyoplasty. Different cell types are being explored in preclinical and clinical studies with encouraging results. Critical issues, such as types of cells, ideal number of cells, route of delivery, timing, and targets of delivery remain to be optimized to maximize the benefits of cell therapy.

In this review, we seek to summarize the latest data and postulated future directions in this potentially exciting field. Different studies show that mesenchymal stem cells (MSCs) present in adult tissues and in bone marrow can be isolated, expanded in culture, characterized *in vitro* and *in vivo*. MSCs differentiate readily into chondrocytes, adipocytes, osteocytes and can express phenotypic characteristics of endothelial, neural, smooth muscle, skeletal myoblasts, and cardiac myocyte cells. When introduced into a postinfarcted heart, the MSCs migrate to the site of injury, and prevent deleterious remodeling and improve recovery, although further understanding of MSC differentiation in cardiac scar tissues is still needed.

Keywords Stem cells; Mesenchymal stem cells; Cellular therapy; Cellular cardiomyoplasty; Cardiomyopathy.

Introdução

Infarto do miocárdio ocorre devido a um bloqueio do suprimento sanguíneo, que rapidamente desencadeia um processo de necrose das bandas de contração do miocárdio¹. Esse processo inicia imediatamente após o infarto e, caso o fluxo sanguíneo não seja prontamente restaurado, ocorre uma remodelação

ventricular patológica, de forma que os cardiomiócitos lesados são substituídos por tecido fibroso não contrátil. Isso leva à perda progressiva das funções ventriculares, acarretando aumento na carga de trabalho dos miocárdios saudáveis. Quando a área atingida é muito grande, ocorre uma deterioração generalizada do coração⁸, resultando em falhas no bombeamento

mento sanguíneo e eventual morte dos pacientes^{2,3}

Até recentemente o coração era considerado um órgão plenamente diferenciado, incapaz de se regenerar após injúria grave. Entretanto, vários estudos relatam a ocorrência de replicação dos cardiomiócitos humanos e animais sob condições fisiológicas e patológicas^{4,5}. Análises com marcadores de superfície específicos de células-tronco (CTs), determinaram que essas células correspondem às CTs cardíacas que estão distribuídas no miocárdio ventricular e atrial, com morfológica menor do que os miócitos. Com o emprego desses marcadores foi possível isolar e cultivar CTs cardíacas, comprovando assim o seu potencial proliferativo^{6,7}. Entretanto, na maioria dos casos, o reparo endógeno proporcionado pela proliferação dessas CTs é insuficiente para substituir os cardiomiócitos lesados.

Atualmente são utilizados diferentes procedimentos clínicos que tentam minimizar os efeitos devastadores do infarto como, o uso de drogas, o transplante de coração e o uso de aparelhos que proporcionam uma circulação mecânica⁸. Entretanto, o uso desses recursos nem sempre é possível, dificultando ainda mais a recuperação dos pacientes. O transplante de coração, que é o tratamento mais indicado para lesões cardíacas em estágios avançados, é limitado pela falta de doadores compatíveis e pelas complicações pós-transplante⁹.

Essas limitações levaram ao desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas que poderão contribuir para melhorar as funções sistólicas e diastólicas ventriculares e reverter o processo de remodelação patológica do miocárdio após o infarto. Um desses procedimentos é a cardiomioplastia celular, que consiste no implante *in situ* de células com potencial de induzir o crescimento de novas fibras musculares e a angiogênese (formação novos vasos sanguíneos) no miocárdio lesado^{10,11}.

A cardiomioplastia celular já foi experimentalmente testada empregando-se diferentes tipos celulares como cardiomiócitos fetais¹², mioblastos esquelético autólogo^{13,14}, CTs embrionárias¹⁵ e CTs mesenquimais da medula óssea^{16,17}. Apesar do grande número de células com potencial terapêutico, até o momento somente mioblastos esqueléticos e células derivadas da medula óssea foram utilizadas com segurança em procedimentos clínicos^{18,19}.

De acordo com Shim e Wong⁹, embora os resultados da cardiomioplastia sejam promissores, algumas questões básicas devem ser respondidas antes que esse procedimento seja adotado em larga escala: a) Quem deve receber essa terapia?; b) Qual o melhor tipo celular e qual a quantidade ideal de células a ser injetada?; c) Qual a melhor técnica para transplantar essas células?; d) Esse procedimento pode ser repetido?; e) Quais critérios devem ser adotados para avaliar os resultados do procedimento?; f) Quais as possíveis consequências e complicações a longo prazo?

Escolha do tipo celular

A escolha do tipo celular a ser utilizado na cardiomioplastia depende da lesão a ser tratada. Nos casos em que há prevalência de isquemia crônica ou quando o objetivo primário é restaurar o fluxo sanguíneo, as células mais indicadas são aquelas com potencial angiogênico. Dentre elas temos as células não miogênicas derivadas da medula óssea, as células mononucleadas, as células progenitoras endoteliais ou vasculares, os angioblastos²⁰ e as células progenitoras multipotentes adultas²¹.

Quando o objetivo é recuperar a função contrátil, observa-

dos pós-infarto em que o fluxo sanguíneo foi restituído, mas houve perda de grande número de cardiomiócitos, as células mais indicadas são aquelas com potencial contrátil, como os mioblastos, as CTs cardíacas ou outras células progenitoras mesenquimais⁸.

Mioblasto Esquelético

Os mioblastos autólogos, derivados das células progenitoras ou CTs do músculo esquelético, denominadas células satélites, foram as primeiras células indicadas para o reparo de lesões cardíacas⁸. Essas células compreendem uma pequena população de células mononucleadas indiferenciadas, localizadas na região periférica dos miotubos multinucleados maduros da fibra muscular e da lâmina basal²². Embora em pequeno número, apresentam uma extraordinária capacidade proliferativa e de auto-renovação, em resposta às demandas fisiológicas e às injúrias musculares²³.

Outras características favoráveis dessas células são: a) a relativa facilidade na obtenção por meio de uma pequena biópsia do músculo esquelético; b) grande potencial proliferativo *in vitro*; c) capacidade de manter-se em estágio indiferenciado por vários ciclos de divisão, podendo diferenciar-se em células estriadas maduras, após estímulo adequado; d) maior resistência à isquemia quando comparadas aos cardiomiócitos, o que pode aumentar as chances de sobrevivência e o sucesso do enxerto; e) quando transplantadas no coração, mantêm a capacidade proliferativa por um longo período, produzindo grande área de enxerto⁸.

O transplante de células autólogas dispensa o tratamento de imunossupressão, necessário nos transplantes alogênicos. Além disso, seu uso não fere nenhum dos princípios éticos, não há limitação imposta pela falta de doadores de órgãos ou tecidos⁸, diminui os riscos de formação de tumores após o transplante por se tratar de células primárias, e não de células imortalizadas ou CTs totipotentes²⁴.

Estudos pré-clínicos demonstraram que mioblastos esqueléticos autólogos, transplantados no miocárdio após injúrias agudas ou crônicas, diferenciam-se em músculos estriados e são capazes de aumentar a performance diastólica e sistólica do miocárdio em diferentes espécies animais^{18,25}. Com base nesses resultados, deu-se início aos primeiros estudos clínicos de transplante de células derivadas do músculo esquelético em pacientes acometidos por infarto do miocárdio há cerca de 6 a 7 anos²⁶, bem como, em associação a outros procedimentos clínicos como enxertos vasculares coronarianos¹⁸. Em ambos os estudos foram observados que houve uma melhora na função diastólica e, um aumento na espessura e na contração da parede do miocárdio, tanto nas áreas lesadas como nas áreas vizinhas. Isso sugere que esses procedimentos são passíveis de execução em pacientes acometidos por lesões cardíacas em períodos que variam de um mês a cerca de 6 anos⁸.

Embora os dados pré-clínicos e os dados clínicos iniciais pareçam positivos, a cardiomioplastia empregando mioblastos também pode estar sujeita à limitações, pois, muitas questões a respeito da técnica ainda necessitam ser respondidas: a) qual a sobrevida dessas células?; b) como elas se integram ao miocárdio?; c) como elas se diferenciam?; d) qual seu efeito funcional?

Essas questões foram levantadas porque ainda não está determinado como essas células se comportam a longo prazo. Considerando que a cardiomioplastia é uma terapia cujo efeito deve ser mantido por um longo prazo e as células transplanta-

das devem ser capazes de sobreviverem por vários anos no coração, é de extrema importância elucidar essas questões⁸.

Do mesmo modo, ainda não está claro como e nem se realmente esses mioblastos integram-se eletricamente ao miocárdio pré-existente e qual o impacto dessa integração sobre a função e o ritmo cardíaco. Por fim, resta concluir se esses mioblastos realmente melhoram a contração cardíaca ou se apenas previnem a deterioração da região lesada. Essas questões só poderão ser respondidas com novas pesquisas e o ganho de novos conhecimentos poderá determinar novas estratégias para o reparo cardíaco⁸.

Cardiomiócitos

À primeira vista, os cardiomiócitos adultos parecem ser as células mais indicadas para a cardiomioplastia celular. Porém, vários obstáculos inviabilizam seu uso nas terapias de reparo do coração, como a grande dificuldade em obter essas células, devido seu baixo potencial proliferativo *in vivo* e *in vitro* e a necessidade de um suprimento sanguíneo maior do que o disponível após o transplante^{8,27}.

Estudos experimentais, realizados com cardiomiócitos fetais ou neonatais, demonstraram que, ao contrário dos cardiomiócitos adultos, a capacidade proliferativa *in vitro* é mantida, permitindo que elas sejam multiplicadas em quantidades suficientes para serem transplantadas. A formação de discos intercalares e a presença da *conexina 43*, um marcador das junções comunicantes (*gap junctions*), responsável pela ligação elétrica das células, são os indicadores de sucesso do enxerto após o transplante. A proliferação dessas células na área do enxerto leva a uma melhora nas funções do miocárdio, prevenindo uma remodelação patológica e contribui para o desenvolvimento das forças ventriculares sistólicas e diastólicas^{28,29}.

Apesar do grande potencial terapêutico das CTs fetais e neonatais, a principal limitação ainda é a questão ética que pode impedir seu uso clínico⁹. Outro fator desfavorável é a quantidade limitada de células que requer o multiplicação *in vitro* para o transplante³⁰.

Embora alguns pesquisadores tenham obtido sucesso no transplante de cardiomiócitos fetais ou neonatais, outros grupos questionam a extensão da diferenciação desses cardiomiócitos após transplante. Segundo eles, essas células permanecem no local de injeção e mantêm o fenótipo de células fetais em uma área isolada, mesmo após longo período. Isso parece ser o resultado de um processo lento e contínuo de rejeição imunológica e de um procedimento imunossupressor crônico^{31,32}. Foi também demonstrado que, após transplante, os cardiomiócitos fetais alogênicos sobrevivem por apenas um curto período de tempo e então, são gradativamente eliminados em resposta um processo de imunorejeição³³.

Todos esses fatores limitantes, associados às descobertas de novos tipos celulares, principalmente células autólogas com grande potencial proliferativo e de diferenciação, parece limitar cada vez mais o uso de cardiomiócitos fetais ou neonatais na cardiomioplastia³⁰.

Células-Tronco Embrionárias

As CTs embrionárias, derivadas da massa celular interna de embriões no estágio de blastocisto, possuem potencial de proliferação por tempo indeterminado, sem sofrer senescência. Essas células são as mais versáteis e as mais promissoras para uso na terapia celular regenerativa, pois são capazes de se manter indiferenciadas e, quando estimuladas corretamente,

diferenciam-se em todos os tipos celulares encontradas em um organismo vivo³⁴. Estudos experimentais *in vitro* demonstram que CTs embrionárias de murinos¹⁵ e humanas^{35,36} são capazes de se diferenciar em cardiomiócitos. Quando transplantadas na área do miocárdio de camundongos, lesada por infarto, enxertam-se com sucesso no tecido hospedeiro, reduzindo o tamanho da lesão, melhorando a função e a contração ventricular^{15, 37, 38}.

Apesar do grande potencial clínico das CTs embrionárias e, em particular pelos resultados favoráveis obtidos no transplante de CTs embrionárias de murinos^{37,38}, o uso clínico de CTs embrionárias humanas ainda não foi aprovado. No Brasil, recentemente as Câmaras do Senado e dos Deputados aprovaram a Lei de Biossegurança (PL- 2401/03), que regulamenta as pesquisas, para fins terapêuticos, de CTs embrionárias provenientes de embriões obtidos por fertilização *in vitro* e congelados a mais de três anos. Entretanto, uma parte da população ainda é contrária à sua utilização em pesquisas ou terapias reparadoras, por defenderem que essa prática fere vários princípios éticos³⁹.

Estudos mostram que a capacidade de diferenciação das CTs embrionárias humanas em cardiomiócitos é menor do que as de camundongos. Kehat *et al*³⁶ observaram que apenas cerca de 10% das CTs embrionárias humanas são capazes de se diferenciar e adquirir contração espontaneamente, ao passo que, em murinos o sucesso é de 80%. Resta determinar se isso é consequência de diferenças entre as espécies ou se é decorrente do atual estágio de conhecimento dos sistemas e microambientes envolvidos nesses processos.

Um outro obstáculo para o uso dessas células é a incompatibilidade com os antígenos leucocitários humanos, o HLA. Aparentemente, o nível de expressão dos antígenos de histocompatibilidade nas células indiferenciadas é baixo. Entretanto, após sua diferenciação em cardiomiócitos, ocorre um aumento na expressão de antígenos, que pode atingir níveis normais. Em consequência, os cardiomiócitos se transformam em indutores ou alvos de uma reação alo-imune³⁶. Portanto, para que essas células não sejam destruídas ou rejeitadas, após o transplante no miocárdio, haverá sempre a necessidade de algum tratamento imunossupressor¹.

O risco de formação de teratomas após transplantes de CTs embrionárias, o qual é decorrente das dificuldades em controlar o processo de diferenciação, bem como, o potencial de proliferação dessas células é outro fator limitante. Ainda não está totalmente estabelecido como essas células interagem no miocárdio e se elas irão responder aos sinais reguladores do crescimento dentro do coração⁴⁰.

Estudos experimentais demonstram que cardiomiócitos derivados de CTs embrionárias podem conter diferentes subtipos de células musculares que, quando transplantadas no ventrículo esquerdo do miocárdio podem causar uma arritmia cardíaca⁴¹.

Em virtude de todas essas limitações, até o momento, não há grandes perspectivas do uso de CTs embrionárias humanas na regeneração cardíaca¹, o que tem estimulado a busca de fontes alternativas de CTs³⁰.

Células-tronco Mesenquimais da Medula Óssea

A medula óssea possui duas populações de CTs, a hematopoética e a mesenquimal. A primeira promove a manutenção e reconstrução do sistema hematopoético, ao passo que, a segunda derivada do estroma da medula óssea, origina células

não hematopóéticas^{21,42}. Inicialmente acreditava-se as CTs mesenquimais da medula óssea atuavam unicamente na regeneração das células da medula óssea ou das células hematopoéticas em circulação. Entretanto, as investigações realizadas na última década, demonstraram que essas células têm um potencial muito maior e são capazes de gerar fibras de músculo esquelético⁴³, hepatócitos⁴⁴, células endoteliais⁴⁵, células neurais⁴⁶ e células do músculo cardíaco⁴⁵.

A hipótese mais aceita atualmente é que as CTs mesenquimais atuam como suporte das CTs hematopoéticas, produzindo as citocinas, como as interleucinas-6 (IL-6) e fatores inibidores de leucócitos (LIF), bem como, a matriz extracelular que, juntas, formam um micro-ambiente dentro da medula óssea, favorável ao funcionamento das CTs hematopoéticas⁴⁷.

A descoberta do grande potencial de proliferação e diferenciação das CTs mesenquimais, em tipos celulares de diferentes tecidos, mudou o conceito de que CTs adultas estão limitadas à produção de células restritas ao tipo celular do órgão ao qual pertence⁴⁸. Além disso, criou muitas expectativas sobre as inúmeras possibilidades de uso no reparo e modulação de uma variedade de lesões ou doenças degenerativas, cujas opções terapêuticas são muito restritas⁴⁹.

O uso de CTs mesenquimais da medula óssea no tratamento de doenças cardiovasculares tem recebido atenção especial, visto que, uma vez injetado no miocárdio lesado, essas células podem se diferenciar em cardiomiócitos e se integrar com as células do tecido hospedeiro^{16, 50, 51}. Do mesmo modo, o potencial de diferenciação em células endoteliais, permite que elas participem na regeneração da vascularização do músculo cardíaco, atuando diretamente na angiogênese e na neovascularização⁵².

A relativa facilidade na obtenção e manuseio das CTs mesenquimais da medula óssea, permite que essas células sejam utilizadas em transplantes autólogos, eliminando assim, os riscos relacionados a imunorjeição³⁰.

Apesar de todas as vantagens citadas acima, muitos pacientes apresentam um número limitado de CTs mesenquimais na medula óssea, exigindo um procedimento de estimulação de CTs, denominado mobilização celular. Esse procedimento requer a administração de fatores de crescimento de CTs, por via intravenosa, para estimulação da produção de CTs que serão posteriormente coletadas através da aférese. Entretanto, muitas vezes esse procedimento acarreta complicações, como infecções relacionadas ao uso do catéter, febres, dores ósseas e reações alérgicas, inviabilizando o procedimento⁵³. O cultivo de CTs mesenquimais é outro recurso utilizado nos casos em que o número de células está reduzido, possibilitando a multiplicação, *in vitro*, e posterior transplante³⁰.

A terapia celular com CTs da medula óssea mostrou resultados positivos em modelos experimentais envolvendo camundongos e suínos, porém, o mesmo não foi observado em primatas. O impacto funcional dessas células ainda não está totalmente estabelecido, portanto, é extremamente relevante avaliar a contribuição das CTs mesenquimais da medula óssea no reparo de lesões cardíacas⁸.

O principal problema em relação ao transplante de CTs mesenquimais da medula óssea no miocárdio pós-infarto é que, uma vez inseridas nas lesões, denominadas "cicatriz" (*scar*), elas podem se diferenciar em fibroblastos e contribuir para a formação de uma "cicatriz dentro da cicatriz"⁵⁴. Outras dificuldades são integração incompleta das CTs dentro do miocárdio que pode aumentar os riscos de uma taqui-arritmia ventricu-

lar⁵⁵. e a migração dessas células para áreas não cardíacas com posterior diferenciação em cardiomiócitos, principalmente quando são injetadas por via intravenosa³⁰.

Métodos utilizados no transplante de células-tronco na cardiomioplastia

Basicamente há três procedimentos de transplante de CTs na cardiomioplastia: a injeção intramiocárdica, a injeção intracoronária e injeção intravenosa.

Injeção Intramiocárdica

A injeção intramiocárdica consiste na injeção de CTs, obtidas da medula óssea do próprio paciente, diretamente nas áreas do miocárdio circundadas pela lesão. Por se tratar de um procedimento invasivo, seu uso é indicado em pacientes que estão sendo submetidos à cirurgia cardíaca. Esse método permite a visualização direta do local a ser injetado, porém, os pacientes ficam sujeitos a todos os riscos associados a esse tipo de técnica¹⁶.

A vantagem desse procedimento é que ela requer uma menor quantidade de células e permite a regeneração de um número significativo de miocárdios contráteis, melhorando a hemodinâmica cardíaca⁵⁶.

As CTs também podem ser injetadas no miocárdio com o emprego de um catéter que possibilita o posicionamento preciso no local onde as células devem ser injetadas. A vantagem é que se evita uma cirurgia invasiva e todos os riscos associados a técnica^{57, 58}.

Injeção Intracoronária

A injeção intracoronária é um método não cirúrgico e seguro de liberar CTs na artéria relacionada ao infarto, utilizando-se um catéter. Esse procedimento parece ser mais eficiente que a intramiocárdica e a intravenosa pois, permite uma distribuição e fixação mais homogênea das CTs sobre as áreas afetadas e as áreas circunvizinhas à lesão⁵¹. Entretanto, ainda não está definido a quantidade ideal de células que deve ser infundida e o tempo necessário para a injeção, pois esses fatores podem afetar a perfusão coronária e induzir a necrose do miocárdio³⁰.

Injeção Intravenosa

A injeção intravenosa é o método mais simples e menos invasivo de infusão de CTs, pois, dispensa a realização de cirurgia e o uso de catéter⁵⁹. A grande desvantagem é que esse procedimento requer a injeção de um número muito grande de CTs, pois essas células necessitam percorrer um longo percurso até atingir o coração e muitas podem se perder em outros órgãos antes de chegar ao tecido cardíaco lesado³⁰.

Perspectivas futuras

A cardiomioplastia é um conceito novo e seu efeito benéfico necessita ser confirmado. Para tal, é necessário o desenvolvimento de estudos clínicos amplos e bem elaborados. Inúmeras questões ainda permanecem sem respostas, como, o tipo celular mais indicado a ser transplantado em cada paciente, a quantidade ideal de células que devem ser injetadas, bem como o método mais preciso para aumentar a eficiência do enxerto²⁷.

Diferentes estudos demonstram que as CTs isoladas do sangue de cordão umbilical possuem um potencial de plasticidade celular muito semelhante à observada nas CTs da medula óssea e das CTs embrionárias, inclusive o potencial de diferenciação, *in vitro*, em cardiomiócitos. Considerando o potencial

das CTs do sangue de cordão umbilical e que sua obtenção não fere nenhum dos princípios éticos, seu uso em procedimentos clínicos como a cardiomioplastia parece viável^{1,60}.

Os maiores desafios das pesquisas futuras são: a) determinar as condições para a diferenciação das CTs antes do transplante; b) melhorar a interação, mecânica e elétrica, das CTs com o hospedeiro; c) otimizar a taxa de sobrevivência das CTs após o transplante no miocárdio.

Referências bibliográficas

- Dengler TJ, Katus HA. Stem cell therapy for the infarcted heart ("cellular cardiomyoplasty"). *Herz*, 2002; 7: 598-610.
- Olivares EL, Ribeiro VP, Castro JPSW, Ribeiro KC, Mattos EC, Goldenberg RCS, et al. Bone marrow stromal cells improve cardiac performance in healed infarcted rat hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2004; 787: 464-70.
- Pittenger MF, Martin BJ. Mesenchymal stem cells and their potential as cardiac therapeutics. *Circ Res*. 2004; 95: 9-20.
- Beltrami AP, Urbaneck K, Kajstura J, Yan S-M, Finato N, Bussani R, et al. Evidence that human cardiac myocytes divide after infarction. *N Engl J Med*, 2001; 344: 1750-1757.
- Kajstura J, Leri A, Finato N, Di Loreto C, Beltrami CA, Anversa P. Myocyte proliferation in end-stage cardiac failure in humans. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998; 95: 8801-8805.
- Anversa P, Leri A, Kajstura J, Nadal-Ginard B. Myocyte growth and cardiac repair. *J Mol Cell Cardiol*, 2002; 34: 91-105
- Beltrami AP, Barluchi L, Torella D, Baker M, Chimenti S, Kasahara H, et al. Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. *Cell*, 2003; 114: 763-776
- Taylor DA. Cell-based myocardial repair: How should we proceed? *Int J Cardiol*, 2004; 95 (suppl 1): S-8-12.
- Shim W, Wong P. Stem cell cardiomyoplasty: State-of-the-art. *Ann Acad Med Singapore*, 2004; 33: 451-60.
- Chiu RCJ. Therapeutic cardiac angiogenesis and myogenesis: the promises and challenges on a new frontier. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2001; 122: 851-2.
- Rajnoch C, Chachques JC, Berrebi A, Bruneval P, Benoit MO, Carpenter A. Cellular therapy reverses myocardial dysfunction. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2001; 121: 871-8.
- Koh GY, Soonpaa MH, Klug MG, Field LJ. Long-term survival of AT-1 cardiomyocyte grafts in syngeneic myocardium. *Am J Physiol*, 1993; 264: 1727-33.
- Kessler PD, Byrne BJ. Myoblast cell grafting into heart muscle: cellular biology and potential applications. *Annu Rev Physiol*, 1999; 61: 219-42.
- Taylor DA, Atkins BZ, Hungspreugs P, Jones TR, Reedy MC, Hutcherson KA, et al. Regenerating functional myocardium: improved performance after skeletal myoblast transplantation. *Nat Med*, 1998; 4: 929-33.
- Klug MG, Soonpaa MH, Koh GY, Field LI. Genetically selected cardiomyocytes from differentiating embryonic stem cells form stable intracardiac grafts. *J Clin Invest*, 1996; 98: 216-24
- Orlic D, Katjstura J, Chimenti S, Jakoniuk I, Anderson SM, Li B, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature*, 2001; 410: 701-05.
- Wang JS, Shum-Tim D, Galipeau J, Chedrawy E, Eliopoulos N, Chiu RC. Marrow stromal cells for cellular cardiomyoplasty: Feasibility and potential clinical advantages. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2000; 120: 999-1006.
- Menasche P. Cellular transplantation: hurdles remaining before widespread clinical use. *Curr Opin Cardiol*, 2004; 19: 154-61.
- 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.
- Itescu S, Kocher AA, Schuster MD. Myocardial neovascularization by adult bone marrow-derived angioblasts: strategies for improvement of cardiomyocyte function. *Heart Fail Rev*, 2003; 8: 253-8.
- Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, Schwartz RE, Keene CD, Ortiz-Gonzalez XR, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature*, 2002; 418: 41-9.
- Mauro A. Satellite cell of skeletal muscle fibers. *J Biophys Biochem Cytol*, 1961; 9: 493-8.
- Hawke TJ, Garry DJ. Myogenic satellite cells: physiology to molecular biology. *J Appl Physiol*. 2001; 91: 534-51.
- Tremblay JP, Roy B, Goulet M. Human myoblast transplantation: a simple model for tumorigenicity. *Neuromuscul Disord*, 1991; 1: 341-3.
- Atkins BZ, Hume MT, Meuchel JM, Cottman MJ, Hutcherson KA, Taylor DA. Myogenic cell transplantation improves in vivo regional performance in infarcted rabbit myocardium. *J Heart Lung Transplant*, 1999; 18: 1173-80.
- Smits PC, van Genus RJ, Poldermans D, Bountiokos M, Onderwater EE, Lee CH, et al. Catheter-based intramyocardial injection of autologous skeletal myoblasts as a primary treatment of ischemic heart failure: clinical experience with six-month follow-up. *J Am Coll Cardiol*, 2003; 42: 2063-9.
- Chachques JC, Acar C, Herreros J, Trainini JC, Prosper F, D'Atellis N, et al. Cellular cardiomyoplasty: clinical application. *Ann Thorac Surg*, 2004; 77: 1121-30.
- Reinecke H, Zhang M, Bartosek T, Murry CE. Survival, integration, and differentiation of cardiomyocyte grafts: a study in normal and injured rat hearts. *Circulation*, 1999; 100: 193-202
- Yoo KJ, Li RK, Weisel RD, Mickle DA, Li G, Yau TM. Autologous smooth muscle cell transplantation improved heart function in dilated cardiomyopathy. *Ann Thorac Surg*, 2000; 70: 859-65.
- Lee MS, Lill M, Makkar RR. Stem cell transplantation in myocardial infarction. *Rev Cardiovasc Med*, 2004; 5: 82-98.
- Leor J, Patterson M, Quinones MJ, Kedes LH, Kloner RA. Transplantation of fetal myocardial tissue into the infarcted myocardium of rat. A potential method for repair of infarcted myocardium? *Circulation*, 1996; 94: II332-36.
- Scorsin M, Marotte F, Sabri A, Le Dref O, Demirag M, Samuel JL, et al. Can grafted cardiomyocytes colonize peri-infarct myocardial areas? *Circulation*, 1996; 94: II337-40.
- Li RK, Mickle DAG, Weisel RD, Mohabbeer MK, Zhang J, Rao V, et al. The natural history of fetal rat cardiomyocytes transplanted into adult rat myocardial scar tissue. *Circulation*, 1997; 96: III79-87.
- Martin GR. Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. *Proc Natl Acad Sci*. 1981; 78: 7634-7638.
- Hescheler J, Fleischmann BK. Indispensable tools: embryonic stem cells yield insights into the human heart. *J Clin Invest*, 2001; 108: 363-4.
- 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.
- Min JY, Yang Y, Converso KL, Liu L, Huang Q, Morgan JP, et al. Transplantation of embryonic stem cells improves cardiac function in postinfarcted rats. *J Appl Physiol*, 2002; 92: 288-96.
- Min JY, Yang Y, Sullivan MF, Ke Q, Converso KL, Chen Y, et al. Long term improvement of cardiac function in rats after infarction by transplantation of embryonic stem cells. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2003; 125: 361-9.
- Green RM. Four moral questions for human embryonic stem cell research. *Wound Repair Regen*, 2001; 9: 425-428.
- He Q, Trindade P, Li J, Stumm M, Bettiol E, Lerch R, et al. Undifferentiated mouse embryonic stem cells transplanted in the rat heart: role of myocardial infarction and cyclosporine A. *Eur Heart J*, 2003; 24 (suppl S): 590
- Fijnvandraat AC, Lekanne-Deprez RH, Moorman AF. Development of heart muscle-cell diversity: a help or a hindrance for phenotyping embryonic stem cell-derived cardiomyocytes. *Cardiovasc Res*, 2003; 58: 303-12.

42. Reyes M, Verfaillie CM. Characterization of multipotent adult progenitor cells, a subpopulation of mesenchymal stem cells. *Ann NY Acad Sci*, 2001; 938: 231
43. Ferrari G, Cusella-De Angelis G, Coletta M, Paolucci E, Stornaiuolo A, Cossu G, et al. Muscle regeneration by bone marrow-derived myogenic progenitors. *Science*, 1998; 279: 1528-1530.
44. Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M, Reitsma M, Dohse M, Osborne L, et al. Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo. *Nat Med*, 2000; 6: 1229-34.
45. Jackson KA, Majka SM, Wang H, Pocius J, Hartley CJ, Majesky MW, et al. Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells. *J Clin Invest*, 2001; 107: 1395-1402.
46. Brazelton TR, Rossi FM, Keshet GI, Blau HM. From marrow to brain: expression of neuronal phenotypes in adult mice. *Science*, 2000; 290: 1775-9.
47. Caplan AI, Bruder SP. Mesenchymal stem cells: building blocks for molecular medicine in the 21st century. *Trends Mol Med*, 2001; 7: 259-64.
48. Goodell MA, Jackson KA, Majka SM, Mi T, Wang H, Pocius J, et al. Stem cell plasticity in muscle and bone marrow. *Ann NY Acad Sci*, 2001; 938: 208
49. Rezai N, Podor TJ, McManus BM. Bone marrow cells in the repair and modulation of heart and blood vessels: emerging opportunities in Native and engineered tissue and Biomechanical materials. *Artif Org*, 2004; 28: 142-52.
50. Perin EC, Dohmann HF, Borojevic R, Silva SA, Sousa ALS, Mesquita CT, et al. Transendocardial, autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic ischemic heart failure. *Circulation*, 2003a; 107: 2294-2302.
51. Strauer BE, Brehm M, Zeus T, Köstring M, Hernandez A, Sorg RV, et al. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. *Circulation*, 2002; 107: 2294-2302.
52. Kim EJ, Li RK, Weisel RD, Mickle DA, Jia ZQ, Tomita S, et al. Angiogenesis by endothelial cell transplantation. *L Thorac Cardiovasc Surg*, 2001; 122: 963-71.
53. Bachier CR, Gokmen E, Teale J, Lanzkron S, Childs C, Franklin W, et al. Ex-vivo expansion of bone marrow progenitor cells for hematopoietic reconstitution following high-dose chemotherapy for breast cancer. *Exp Hematol*, 1999; 27: 615-23.
54. Terada N, Hamazaki T, Oka M, Hoki M, Mastalerz DM, Nakano Y, et al. Bone marrow cells adopt the phenotype of other cells by spontaneous cell fusion. *Nature*, 2002; 416: 542-5.
55. Zhang ZG, Zhang L, Jiang Q, Chopp M. Bone marrow-derived endothelial progenitor cells participate in cerebral neovascularization after focal cerebral ischemia in adult mouse. *Cir Res*, 2002; 90: 284-288.
56. Perin EC, Geng YJ, Willerson JT. Adult stem cell therapy in perspective. *Circulation*, 2003b; 107: 935-8.
57. Perin EC, Silva GV, Sarmiento-Leite R, Sousa AL, Howell M, Muthupillai R, et al., 2002. Assessing myocardial viability and infarct transmural extent with left ventricular electromechanical mapping in patients with stable coronary artery disease: validation by delayed-enhancement magnetic resonance imaging. *Circulation*, 2002; 106: 957-61.
58. Wolf T, Gepstein L, Dror U, Hayam G, Shofti R, Zaretzky A, et al. Detailed endocardial mapping accurately predicts the transmural extent of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*, 2001; 37: 1590-7.
59. 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.
60. Hirata Y, Sata M, Motomura N, Takanashi M, Suematsu Y, Ono M et al. Human umbilical cord blood cells improve cardiac function after myocardial infarction. *Biochem Biophys Res Comm*, 2005; 327: 609-14.

Correspondência:

Eny Maria Goloni Bertollo
 Av. Brigadeiro Faria Lima, 5416
 15090-000 São José do Rio Preto- SP
 e-mail: eny.goloni@famerp.br
