

Anuario 2012: La terapia celular en la enfermedad cardiovascular. Las revistas de las Sociedades Nacionales presentan una selección de las investigaciones que han impulsado avances recientes en Cardiología Clínica

Almanac 2012: Cell therapy in cardiovascular disease. The National Society Journals present selected research that has driven recent advances in Clinical Cardiology

Daniel A Jones^{a,b,c}, Fizzah Choudry^{a,c} y Anthony Mathur^{a,b,c}✉

^a Departamento de Cardiología, London Chest Hospital. Londres, Reino Unido.

^b Departamento de Farmacología Clínica, William Harvey Research Institute, Queen Mary University. Londres, Reino Unido.

^c NIHR Cardiovascular Biomedical Research Unit, London Chest Hospital. Londres, Reino Unido.

Full English text of this article is also available

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Recibido en Heart: 19 de marzo de 2012

Versión revisada en Heart: 7 de junio de 2012

Aprobado en Heart: 8 de junio de 2012

Recibido en CorSalud: 20 de octubre de 2012

Aprobado en CorSalud: 21 de octubre de 2012

Este artículo fue publicado por primera vez en la revista Heart [2012;98(22):1626-31. doi: 10.1136/heartjnl-2011-301540. En línea el 2 de septiembre de 2012] y se reproduce con permiso de los autores y de la Red de Editores de la Sociedad Europea de Cardiología.

Es una publicación simultánea en todas las revistas de las Sociedades Nacionales pertenecientes a la Sociedad Europea de Cardiología y en otras revistas seleccionadas.

RESUMEN

La rápida puesta en práctica de la investigación de transferencia que se ha visto en la aplicación de la medicina regenerativa a la cardiología ha dado lugar a interesantes avances en nuestra comprensión de algunos de los mecanismos fundamentales relacionados con la biología humana. La primera generación de

células utilizadas en ensayos fase I-II (principalmente células mononucleares de la médula ósea), están entrando ahora en la fase III de los ensayos clínicos, con el objetivo de producir una estrategia terapéutica basada en células que puedan cambiar el pronóstico de la enfermedad cardíaca. La primera generación de terapia celular parece haber abordado las preocupaciones de seguridad, y mostró "actividad" en numerosos meta-análisis publicados. Con los conocimientos adquiridos hasta el momento, esta disciplina se está moviendo hacia la próxima generación de células -las células modificadas-, que se han desarrollado para mostrar un fenotipo que mejorará aún más el proceso

✉ A Mathur

Department of Cardiology, London Chest Hospital
Bonner Road, Bethnal Green

London E2 9JX, UK;

Correo electrónico: a.mathur@qmul.ac.uk

de reparación/rescate del miocardio. Este anuario cubre las últimas investigaciones básicas que pueden tener aplicación en los seres humanos próximamente, así como los resultados de los últimos ensayos clínicos.

Palabras Clave: Terapia Tisular, Terapia Celular, Enfermedades Cardiovasculares

ABSTRACT

The rapid translation from bench to bedside that has been seen in the application of regenerative medicine to cardiology has led to exciting new advances in our understanding of some of the fundamental mechanisms related to human biology. The first generation of cells used in phase I-II trials (mainly bone marrow mononuclear cells) are now entering phase III clinical

trials with the goal of producing a cell based therapeutic that can change the outcome of cardiac disease. First generation cell therapy appears to have addressed safety concerns as well as showing 'activity' in numerous published meta-analyses. With the knowledge gained to date, the field is moving towards the next generation of cells-the 'engineered' cell-that have been developed to display a phenotype that will further enhance the myocardial repair/salvage process. This almanac review covers the latest basic research that may soon have application to humans as well as the results of the latest clinical trials.

Key words: Tissue Therapy, Cell Therapy, Cardiovascular Diseases

ACTUALIZACIÓN SOBRE LA TERAPIA CELULAR PARA EL TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

La terapia celular es uno de los "nuevos horizontes" más importantes de la enfermedad cardiovascular. Esta ofrece nuevas oportunidades para desarrollar terapias que podrían revolucionar la forma en que tratamos a los pacientes, y constituye un campo de investigación que combina una mayor comprensión de la fisiopatología de la enfermedad cardiovascular con algunos de los conceptos biológicos más elementales relacionados con la embriología. El consecuente crecimiento de la investigación preclínica en el sistema cardiovascular y la rápida aplicación a los seres humanos han dado lugar a beneficios para la biología humana como un todo. La disciplina se está desarrollando rápidamente, y aquí presentamos los principales avances en los últimos 2 años. Con el fin de reflejar la sinergia entre la investigación básica y la aplicada, dividimos esta revisión en dos secciones.

ACTUALIZACIÓN DE LAS CIENCIAS BÁSICAS EN TERAPIA CELULAR EN LA ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

Nuevos modelos que mejoran nuestra comprensión de la regeneración

El pez cebra

Existe una larga historia de investigaciones sobre la regeneración del corazón anfibio, con el pez cebra como el modelo más adoptado, dada su importante capacidad regenerativa y susceptibilidad a la manipu-

lación genética. El corazón del pez cebra se regenera totalmente después de la amputación quirúrgica del ápex cardíaco: una lesión que corresponde a una pérdida de aproximadamente el 20 % de la masa ventricular total¹. Los experimentos iniciales sugirieron que las células progenitoras indiferenciadas eran la fuente principal de la regeneración de miocardiocitos en el pez cebra; sin embargo, dos estudios recientes de mapeo de genes demuestran claramente que los miocardiocitos preexistentes comprometidos son la fuente principal^{2,3}. Estos dos grupos generaron independientemente peces cebras transgénicos en los que el promotor específico de miocardiocito *cmlc2* (también conocido como *myl7*) dirige la expresión de recombinasa Cre inducible por tamoxifeno. Estos animales se cruzaron con una línea reportera en la que la escisión, mediada por Cre, de una secuencia de parada flanqueada por sitios *loxP*, induce la expresión constitutiva de la proteína verde fluorescente (*GFP*, por sus siglas en inglés). En la descendencia de este cruce, todos los miocardiocitos preexistentes y su progenie fueron inducidos a expresar la GFP mediante tratamiento con tamoxifeno. Por lo tanto, si la regeneración del miocardio se derivó de células progenitoras indiferenciadas, el nuevo ápex ventricular debe ser GFP⁻. En cambio, ambos grupos encontraron que la gran mayoría de los miocardiocitos regenerados recientemente fueron GFP⁺, lo que sugiere que la regeneración del corazón del pez cebra está mediada principalmente por la proliferación de miocardiocitos pre-existentes. Esto es contrario a la creencia sostenida anteriormen-

te de que la generación de nuevos miocardiocitos a partir de células madre, constituía la etiología subyacente.

Ratones vs. pez cebra

A pesar de que carecen de la capacidad de regeneración del corazón del pez cebra, los corazones posnatales de los mamíferos también se someten a un grado de renovación de miocardiocitos durante el envejecimiento normal y la enfermedad. Recientemente, un estudio⁴ mostró que las diferencias entre los corazones de mamíferos y peces no se aplican necesariamente en el desarrollo temprano. Utilizando enfoques del modelo del pez cebra, los autores extirparon el ápex del ventrículo izquierdo (VI) de ratones recién nacidos de 1 día, y se observó una rápida respuesta regenerativa similar a la del pez cebra adulto. A las 3 semanas después de la lesión, el defecto había sido reemplazado por tejido normal del miocardio, el cual mostró una función contráctil normal a las 8 semanas. Los estudios de mapeo de destino genético indicaron que esta regeneración fue mediada por la proliferación de miocardiocitos preexistentes, nuevamente como en el pez cebra. En particular, esta capacidad regenerativa no se observó en los ratones con 7 días de edad, lo que sugiere que su pérdida puede coincidir con la binucleación de los miocardiocitos y la reducción de la actividad del ciclo celular. Sin embargo, este estudio indica que los mecanismos regenerativos, como los del pez cebra, están latentes en el corazón de los mamíferos. También proporciona un modelo genéticamente viable para la disección de los bloqueos a estos mecanismos en el mamífero adulto.

Fuentes alternativas de miocardiocitos: nuevos conceptos y conocimientos avanzados

Los fibroblastos como fuente de miocardiocitos

Recientemente se ha demostrado que los fibroblastos en infartos podrían potencialmente ser reprogramados directamente a miocardiocitos. Hace quince años, los investigadores mostraron que los fibroblastos pueden ser diferenciados en el músculo esquelético *in vitro*, o en el corazón lesionado mediante la sobreexpresión del gen que codifica el factor de transcripción miogénica, MyoD. Sin embargo, a pesar de un extenso trabajo, no se encontró ningún gen maestro similar para el músculo cardíaco, y decayó el interés en la reprogramación. Estimulados por el descubrimiento de células madre pluripotentes inducidas (iPSCs o

células IPS, por sus siglas en inglés), los científicos han regresado a este campo, utilizando combinaciones de factores de transcripción para reactivar las redes básicas de transcripción de los tipos celulares deseados. En los últimos 2 años, dos grupos han logrado avances en este objetivo. El primer grupo⁵ exploró un total de 14 factores de transcripción cardíacos y encontró que una combinación específica de tres factores de transcripción, Gata4, MEF2C y Tbx5, era suficiente para generar miocardiocitos funcionales contráctiles directamente de fibroblastos dérmicos o cardíacos de ratones posnatales, y que los miocardiocitos inducidos se reprogramaban generalmente para adoptar un perfil de expresión genética similar al de los miocardiocitos. Estos factores activaron el transgén en el 20 % de los fibroblastos, de los cuales aproximadamente el 4 % de las células expresaron proteínas sarcoméricas endógenas, como la troponina T cardíaca, con ~ 1 % que mostraba propiedades funcionales, como lo es la contractilidad espontánea. Así, la mayoría de las células estaban solo parcialmente reprogramadas, aunque sus patrones globales de expresión génica se habían desplazado marcadamente de los fibroblastos a los miocardiocitos.

El segundo grupo⁶ utilizó un método diferente para reprogramar los fibroblastos de embriones de ratón a miocardiocitos. Ellos utilizaron los “factores de Yamanaka”: OCT4 (también conocido como POU5F1), SOX2, KLF4 y c-MYC, para iniciar una reprogramación, pero después bloquearon la señalización a través de la vía JAK-STAT, que se requiere para la pluripotencia en el ratón, y añadieron el factor de BMP4 cardiogénico. Estas modificaciones produjeron una generación mínima de células IPS, pero a su vez activaron el programa progenitor cardíaco y, a las 2 semanas, generaron un número sustancial de colonias contráctiles. A los 18 días después de la inducción, aproximadamente el 40 % de las células expresó troponina T cardíaca. Cabe señalar que este estudio utilizó fibroblastos de embriones de ratón, mientras que Leda *et al.*⁵ utilizaron principalmente fibroblastos cardíacos posnatales de ratón. La reprogramación del fibroblasto de cicatrización a un miocardiocito es atractiva, en particular si se puede hacer directamente en el infarto. Para tener éxito clínico, necesitamos saber cuán normales son estos miocardiocitos reprogramados, y el proceso tendrá que ser mucho más eficiente y libre de transgenes.

Células madre pluripotentes inducidas

Un informe reciente, publicado en esta revista, llamó la atención sobre la gran promesa de las células IPS (células somáticas reprogramadas), como fuente renovable de células autólogas⁷. Estas células fueron descubiertas hace sólo 5 años por Takahashi y Yamanaka⁸, después de la introducción de genes en células de ratón adulto y de su reprogramación para parecerse a células madre embrionarias (células ES, por sus siglas en inglés). Dado que el ADN de estas células es idéntico al del paciente, se ha supuesto que éstas no serían atacadas por el sistema inmune, aunque su inmunogenicidad no se ha examinado profundamente. Sin embargo, un estudio⁹ publicado en *Nature* en 2011 demostró que en un modelo de trasplante de ratón, algunas células IPS son, en efecto, inmunogénicas, aumentando las preocupaciones acerca de su uso terapéutico. Este estudio examinó la inmunogenicidad de las células IPS de ratón, utilizando un ensayo de formación de teratoma. Se inyectaron células IPS en ratones que estaban inmunodeprimidos o que eran genéticamente compatibles con las células del donante. Esto normalmente da como resultado la formación de tumores benignos llamados teratomas, que consisten en muchos tipos de células diferenciadas. El método fue validado utilizando una línea de células madre embrionarias genéticamente compatibles (autólogas), que dieron lugar a teratomas, mientras que una línea de células madre embrionarias no compatibles fue rechazada antes que se produjeran los teratomas. El trasplante de células IPS autólogas derivadas de fibroblastos fetales en ratones compatibles, trajo como consecuencia el rechazo de los teratomas, independientemente del método utilizado para generar las células IPS, lo que indica que, en este ensayo, las células IPS compatibles son más inmunogénicas que las células ES compatibles.

El estudio también identificó los antígenos que pueden haber causado el rechazo inmune de las células IPS, y descubrió un grupo de nueve genes que se expresaban a niveles anormalmente altos. La inducción de la expresión de tres de estos genes (*Hormad1*, *Zg16* y *Cyp3a11*) en las células madre embrionarias no inmunogénicas, deterioró significativamente la capacidad de las células para formar teratomas en el trasplante en ratones genéticamente compatibles. Este estudio ofrece más preguntas que respuestas, y tiene muchas limitaciones en relación con los estudios clínicos; sin embargo, también destaca que se necesita

aprender mucho acerca de los mecanismos subyacentes de la reprogramación celular, y las inherentes similitudes y diferencias entre las células madre embrionarias y las células IPS.

Terapias complementarias para mejorar la diferenciación de células madre

Como beneficios derivados de la terapia celular, se han presentado dos nuevos enfoques a la reparación cardíaca.

Timosina β 4

Uno de los avances más interesantes en la medicina regenerativa en los últimos 2 años ha sido la identificación de la “fuente auténtica de las progenitoras del miocardio” (células derivadas del epicardio)¹⁰, que pueden ser inducidas por timosina β 4 para diferenciarse en miocardiocitos. Este estudio sin precedentes realizado por Smart *et al.*¹¹ constituye un gran paso de avance en la identificación de una fuente viable de células madre/progenitoras, que podría contribuir al nuevo músculo después de una cardiopatía isquémica e infarto agudo de miocardio (IAM). Ellos demostraron que en un modelo de ratón, el corazón adulto contiene una población de células progenitoras permanente, que tiene el potencial de convertirse en miocardiocitos diferenciados después de un infarto de miocardio (IM). Las células progenitoras fueron preparadas con un péptido llamado timosina β 4 que indujo la reprogramación embrionaria, y causó la movilización de esta población y posterior diferenciación para dar lugar a nuevos miocardiocitos. Tras un IM inducido experimentalmente, se observó que estas células migraban al sitio de la lesión y luego se diferenciaban, sin ninguna evidencia de fusión celular, en miocardiocitos estructural y funcionalmente activos. Estos miocardiocitos mostraron evidencia de formación de uniones intercelulares comunicantes con células adyacentes, canales sincrónicos de calcio y la formación del aparato contráctil operacional. A pesar de que una baja fracción global de estas células están presentes en el sitio de la lesión y de una eficacia general de diferenciación relativamente pobre, las exploraciones con resonancia magnética revelaron mejoras significativas en la fracción de eyección, volúmenes cardíacos y tamaño de la cicatriz, en comparación con los animales del grupo control. El pretratamiento con timosina β 4 fue crucial para estos efectos y puede sugerir una nueva estrategia para promover la repara-

ción del miocardio en los seres humanos.

Los microARNs

Los microARNs (pequeños ARN no codificantes) desempeñan un papel de vital importancia en la diferenciación y la auto-renovación de células madre pluripotentes, así como en la diferenciación de células de linaje cardiovascular. Como resultado, los microARNs han surgido como posibles moduladores de la diferenciación de células madre; específicamente, se ha informado que los miR-1 desempeñan un papel integral en la regulación de la diferenciación de las células progenitoras del músculo cardíaco. Un estudio publicado en 2011¹² dio un paso adelante y evaluó si la sobreexpresión del miR-1 en células madre embrionarias (células ES miR-1) mejoraba la diferenciación de miocitos cardíacos después de un trasplante en el miocardio infartado. En este estudio, los ratones modelo de infarto de miocardio tenían células ES miR-1, células madre embrionarias o medio de cultivo (control) trasplantado en la zona fronteriza del miocardio infartado. La sobreexpresión de miR-1 en las células ES trasplantadas protegió al miocardio receptor de apoptosis inducida por IM, mediante la activación del p-AKT e inhibición de la caspasa-3, fosfatasa y homóloga de la tensina, y la producción de superóxido. Una reducción significativa de la fibrosis intersticial y vascular se cuantificó en las células ES miR-1 en comparación con el control de IM. Por último, los ratones que recibieron células ES miR-1 presentaron una función cardíaca significativamente mejorada en comparación con los respectivos controles. Esto sugeriría que el miR-1 impulsa la diferenciación del miocito cardíaco a partir de células ES trasplantadas e inhibe la apoptosis post-IM; sin embargo, algo importante con respecto a la fibrosis es que no se observó una diferencia estadística significativa entre células ES miR-1 y grupos de células ES, lo que sugiere que se necesitan otros estudios en esta área. Recientemente se ha publicado una revisión¹³ de la evidencia actual del papel de los microARN en las células madre/progenitoras y la reparación cardiovascular.

ACTUALIZACIÓN CLÍNICA DE LA TERAPIA CELULAR EN LA ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

La trayectoria de aplicación desde la observación preclínica hasta el desarrollo del nuevo tratamiento puede llevar muchos años, incluso décadas. Diez años después de la primera aplicación clínica de las células

madre en la enfermedad cardíaca¹⁴, se han abordado muchas preguntas acerca de los tipos de células y su administración, y los investigadores están logrando una mejor comprensión de esta área investigativa y de los desafíos de la investigación de transferencia. Aunque existen muchos tipos de células elegibles para la reparación del miocardio, se ha usado un enfoque pragmático en los ensayos clínicos que han utilizado células mononucleares de médula ósea autólogas (CMN-MO), y algunos de los tipos celulares componentes encontrados [células madre hematopoyéticas, células madre mesenquimales (MSCs, por sus siglas en inglés) y las células endoteliales progenitoras] en los primeros pasos hacia el entorno clínico¹⁵. En los últimos años se han realizado varios ensayos clínicos fase I-II de trasplante de CMN-MO en la enfermedad cardíaca, los cuales han demostrado seguridad y viabilidad, mientras que los informes de eficacia, aunque menos consistentes, constituyen un motivo para futuras investigaciones.

DESARROLLOS RECIENTES EN EL USO DE CMN-MO AUTÓLOGAS

Los últimos 2 años han sido testigo de algunos de los más grandes ensayos que examinan CMN-MO en el contexto de IAM, cuyos informes de resultados a largo plazo confirman seguridad a 3-5 años. Afortunadamente, meta-análisis recientes que examinan estos estudios han confirmado una vez más una pequeña, pero importante "actividad" de la terapia celular en la mejora de diversos parámetros secundarios de la función cardíaca^{16,17}.

El primer ensayo controlado aleatorio de la terapia con células madre en el IAM fue el ensayo BOOST (transferencia de médula ósea para mejorar la regeneración del infarto con elevación del ST), que informó un incremento del 6,7 % en la fracción de eyección global del ventrículo izquierdo (FEVI) en el grupo de tratamiento, en comparación con un aumento del 0,7% en el grupo control a los 6 meses, lo que se atribuyó a la mejora del movimiento sistólico regional de la pared en la zona del infarto¹⁸. Los datos del seguimiento a los 5 años¹⁹ mostraron una disminución de la FEVI y el aumento de los volúmenes del VI en ambos grupos, sin diferencias significativas en la mortalidad o en las variables clínicas fundamentales entre los grupos. Curiosamente, los análisis de subgrupos sugirieron que en el infarto más grave, definido como aquel con mayor afectación transmural, la terapia

celular confiere un beneficio significativo en la FEVI y la dimensión del VI en comparación con el grupo control.

El ensayo Reinfusión de Células Progenitoras Enriquecidas y Remodelación del Infarto en el Infarto Agudo de Miocardio (*REPAIR-AMI*, por sus siglas en inglés) es, hasta la fecha, el mayor ensayo clínico controlado aleatorizado de la terapia con células madre para la reparación cardíaca. El estudio original que incluyó a 204 pacientes con IAM mostró una mejoría significativamente mayor en la FEVI absoluta en los pacientes tratados con CMN-MO en comparación con el grupo control a los 4 meses. Como se ve en BOOST, los pacientes con infartos más grandes obtuvieron el mayor beneficio. Aunque no estaba lo suficientemente preparado para este propósito, éste fue el primer parámetro clínico de valoración (*endpoint*) a gran escala, cuyos datos muestran el beneficio en la mortalidad y la morbilidad conferido por la administración intracoronaria de células madre²⁰. Esto fue confirmado a los 2 años con reducciones significativas de los *endpoints* clínicos combinados y aumentos en el movimiento de la pared del VI en los pacientes que recibieron CMN-MO evaluados mediante resonancia magnética²¹. Los datos de seguimiento a los 5 años, presentados en las Sesiones Científicas de la Asociación Estadounidense del Corazón (*AHA*, por sus siglas en inglés) del 2011²², incluyeron a 100 pacientes en cada grupo de tratamiento. Mientras que sólo había una tendencia hacia una mejora en la mortalidad, se observó una reducción significativa del *endpoint* combinado de muerte, en la recurrencia de infarto de miocardio y en la revascularización, conferida por una única infusión intracoronaria de células.

Los datos de seguimiento a largo plazo de 100 pacientes incluidos en el ensayo Trasplante de Células Madre Autólogas en el Infarto Agudo de Miocardio (*ASTAMI*, por sus siglas en inglés), mostró una mejora significativa en la capacidad de ejercicio en la cohorte tratada a los 3 años, aunque no hubo diferencias significativas en la FEVI entre los grupos de tratamiento y placebo²³. El seguimiento a 5 años para el estudio "BALANCE" (Beneficio Clínico y Resultado a Largo Plazo Después de un Trasplante Intracoronario de Células Autólogas de Médula Ósea en Pacientes con Infarto Agudo de Miocardio), mostró una mejora significativa y sostenida de la función del VI y una reducción de la mortalidad en 62 pacientes tratados, en comparación con 62 pacientes del grupo control. Aunque esto

sugiere un beneficio significativo sobre la mortalidad, se debe señalar que este estudio no fue aleatorizado²⁴. Otro ensayo grande (HEBE), de 200 pacientes, también se ha publicado recientemente²⁵ y no muestra ninguna mejora significativa en la función del VI en pacientes tratados hasta los 4 meses con CMN-MO en comparación con el placebo; sin embargo, los efectos a largo plazo de la terapia celular en este estudio todavía no se han informado.

La mayoría de estos estudios se encuentran en el contexto de la administración de células entre 5-8 días después del IAM. Todavía hay una necesidad de definir el momento óptimo para la transferencia de células en relación con la lesión isquémica. Es concebible que la mejoría en la función del VI y el resultado visto inconsistentemente entre los ensayos pueda depender del momento de la transferencia de células ya que, después del infarto, el miocardio tendrá un medio inflamatorio cambiante. En el reciente estudio LateTIME²⁶ se aborda el momento más tardío de 2-3 semanas post-IAM. Aquí, los autores encontraron que en 87 pacientes aleatorizados a CMN-MO o a control, el tratamiento con CMN-MO en el momento dado no mejoró la FEVI global ni la motilidad regional de la pared a los 6 meses. Aunque lo más probable sea que entre 5-7 días es el tiempo óptimo para la terapia celular post-IAM, no se han investigado todos los puntos temporales. Los ensayos en curso TIME²⁷ y SWISS-AMI²⁸ tienen como objetivo seguir evaluando el momento de la inyección. Hasta ahora, el único momento que no se ha considerado es la fase temprana (<12 h después de la revascularización). El ensayo clínico REGENERATE-AMI (EUDRACT 2007-002144-16), en el que se transfieren CMN-MO aproximadamente 6 horas después del intervencionismo coronario percutáneo (ICP), se encuentra a mitad del reclutamiento y presentará su informe en 2013.

En la actualidad existe la necesidad de definir mejor a los pacientes que se beneficiarán con la terapia celular. Los resultados a los 5 años de seguimiento de los ensayos BOOST y REPAIR-AMI sugieren que si la fracción de eyección se utiliza como *endpoint* secundario, los subgrupos con un gran déficit funcional inicial experimentarán aumentos clínicamente significativos en la FEVI, aunque el efecto general puede ser moderado para todos los participantes. Esto se ve corroborado por el subestudio FINCELL²⁹, en el que 78 pacientes recibieron placebo o CMN-MO post-trombólisis e ICP en el IAM. Aquí se observó una mejoría

significativamente mayor en la función del VI, asociada con las CMN-MO, en los pacientes con FEVI inicial por debajo de la media para el grupo.

A pesar de la heterogeneidad de los resultados de los ensayos descritos, el mayor meta-análisis hasta la fecha, que incluye 1.765 pacientes y 33 ensayos controlados aleatorios, demuestra una mejora modesta pero significativa de la FEVI de 2,87 % en el seguimiento a corto plazo, con una mejora sostenida de la FEVI del 3,75 % después de más de 1 año de seguimiento¹⁶, lo que sugiere que el tratamiento complementario con células madre en el IAM ofrece mejora respecto a la terapia convencional. Estos efectos, si bien modestos, son comparables con los observados en los estudios trascendentales de la angioplastia primaria, los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA) y los betabloqueadores³⁰, y sugieren que se puede alcanzar un beneficio adicional similar con respecto a la mortalidad. La mayoría de los estudios en este campo, hasta la fecha, utilizan la FEVI como un *endpoint* clínico secundario, con poca comprensión de cómo este parámetro se relaciona con el resultado.

Recientemente, se han publicado dos estudios de CMN-MO en el IAM que tratan de explorar *endpoints* secundarios alternativos. El objetivo del estudio “Médula Ósea en el Infarto Agudo de Miocardio (BONAMI, por sus siglas en inglés)”, fue evaluar el efecto sobre la variabilidad del miocardio a los 3 meses, y se reclutaron 101 pacientes con mala función ventricular izquierda post-IAM para recibir CMN-MO o placebo. La funcionabilidad miocárdica mejoró significativamente en el grupo tratado en comparación con el grupo control³¹. En otro ensayo³², la FEVI se evaluó junto a la perfusión miocárdica en una cohorte similar de pacientes hasta 12 meses. Se observó una pequeña mejora en la perfusión miocárdica en el grupo CMN-MO, en comparación con el control. Sin embargo, hubo una incidencia significativamente más baja de incidentes cardíacos adversos importantes combinados en el grupo de tratamiento, destacando de nuevo una relación mal definida entre los posibles marcadores secundarios y las mediciones complejas de los resultados clínicos.

Uno de los avances más importantes hasta la fecha es el paso de la fase II a la fase III en los ensayos clínicos. La mayoría de los ensayos clínicos actuales se han diseñado para evaluar solamente la seguridad y la viabilidad, y no han estado preparados para evaluar la

eficacia de la tecnología, al utilizar marcadores secundarios como la FEVI para evaluar la actividad. Para hacer frente a este problema, el programa de financiación de la Unión Europea recientemente, adjudicó a un consorcio integrado por 17 centros clínicos de Europa, 6 millones de euros para diseñar y llevar a cabo el estudio de resultados definitivos de CMN-MO en el IAM (BAMI; <http://www.bami-fp7.eu>). BAMI involucrará 3000 pacientes con el *endpoint* primario de mortalidad por todas las causas, haciendo de este estudio uno de los avances más interesantes en este campo en varios años. El informe del estudio se presentará en 5 años.

Terapia celular para la enfermedad crónica del VI

El estudio *STAR-heart* es la mayor experiencia que se haya informado de CMN-MO en la insuficiencia cardíaca isquémica, y presentó los datos de sus cinco años de seguimiento en 2010³³. El estudio no aleatorizado reclutó originalmente a 391 pacientes con una FEVI de 35 % o menos, a quienes se les ofreció la administración intracoronaria de CMN-MO autólogas. En total, 191 pacientes recibieron terapia celular y 200 pacientes recibieron solamente el mejor tratamiento médico. A los 5 años de seguimiento, hubo mejorías significativas en la FEVI, la contractilidad, el consumo de oxígeno y la tolerancia al ejercicio en pacientes tratados con CMN-MO, asociado interesantemente con una tasa de mortalidad significativamente menor que el grupo control. Esto requiere confirmación en un estudio aleatorizado doble ciego. El estudio FOCUS-HF³⁴ es un ensayo controlado aleatorizado de 30 pacientes, diseñado para evaluar los efectos de la administración transendocárdica de CMN-MO, en pacientes con insuficiencia cardíaca isquémica crónica sin posibilidad de revascularización posterior. A los 6 meses, aunque no hubo diferencias en la FEVI entre el grupo tratado y el grupo placebo, se constató que la terapia celular mejoró significativamente los síntomas y la calidad de vida; y en el análisis del subgrupo, el consumo de oxígeno en pacientes de 60 años o menos. Otro estudio³⁵ reciente evaluó el efecto de la terapia celular como complemento de la cirugía de revascularización miocárdica en pacientes con insuficiencia cardíaca isquémica sometidos a este procedimiento. A los 6 meses de seguimiento se informó un impresionante aumento de la FEVI y la reducción en las dimensiones del VI en el grupo CMN-MO.

Los datos a largo plazo del primer ensayo contro-

lado aleatorio con CMN-MO en la miocardiopatía dilatada (Células Autólogas de Médula Ósea en la Miocardiopatía Dilatada, ensayo *ABCD*, por sus siglas en inglés), fueron presentados en 2010³⁶. En los 41 pacientes con un seguimiento de 3 años, se produjo una mejoría significativa de la FEVI en el grupo de tratamiento, mayor en los pacientes con clase funcional 3 de la Asociación del Corazón de Nueva York (*NYHA*, por sus siglas en inglés), en comparación con la clase funcional 4 de la *NYHA*, lo que sugiere que la mejoría fue mayor en aquellos pacientes con un miocardio menos dañado. También hubo una mejoría asociada de los síntomas, pero no se demostró beneficio en la mortalidad. Los ensayos con CMN-MO en la miocardiopatía no isquémica están en curso.

La aplicación de otros tipos celulares en el entorno clínico

Otro avance importante en los últimos 2 años ha sido el movimiento hacia la aplicación clínica de poblaciones celulares diferentes y una búsqueda del tipo celular óptimo para la reparación cardíaca con una serie de ensayos realizados por primera vez en humanos.

Las células madre hematopoyéticas circulantes/movilizadas identificadas más comúnmente por los marcadores CD34 y CD133 se han investigado como potenciales poblaciones elegibles para la reparación cardíaca. Estas poblaciones de células pueden ser fraccionadas a partir de CMN-MO o movilizadas en la circulación, utilizando agentes farmacológicos, tales como el factor estimulante de colonia de granulocitos (*G-CSF*, por sus siglas en inglés). Las células CD34 contienen más células determinadas de linaje endotelial y han sido previamente evaluadas en el IAM y en la angina refractaria. Los investigadores de la Terapia Celular Autóloga CD34 en la Isquemia Miocárdica Crónica (*ACT-CMI*, por sus siglas en inglés), han informado recientemente los resultados de un amplio ensayo de fase II que evalúa la terapia celular con la inyección intramiocárdica de dosis baja y alta de CD34 autóloga movilizada periféricamente, contra placebo en 167 pacientes con angina refractaria. Se encontró una mejoría significativa en la frecuencia de la angina y la tolerancia al ejercicio en el grupo con dosis baja en comparación con el placebo a los 6 y 12 meses. También hubo un aumento de la mortalidad en el grupo placebo³⁷. Por el contrario, Chih *et al.* informaron que, a pesar de la movilización de células CD34 y CD34/CD133 con *G-CSF*, no se observó mejoría en la angina o

la perfusión miocárdica en los pacientes con enfermedad isquémica crónica³⁸. Una vez más, esta discrepancia en los resultados de estos estudios, sugiere que se debe considerar cuidadosamente el método de administración empleado y que la administración intramiocárdica puede ser más eficaz en este tipo de pacientes.

Las MSC son capaces de liberar una amplia gama de factores paracrinos cardioprotectores y transdiferenciarse en una serie de tipos celulares que están implicados en la reparación cardíaca y, por lo tanto, se utilizan cada vez más en los ensayos clínicos que han demostrado resultados prometedores. Otra ventaja de las MSC es su facilidad logística de acceso a través de la médula ósea y el tejido adiposo.

Recientemente se informaron los resultados de 6 meses del primer ensayo controlado aleatorizado en humanos, con 14 pacientes que recibieron células madre y regenerativas derivadas del tejido adiposo autólogo (*ADRCs*, por sus siglas en inglés) para el IAM [el ensayo Células madre derivadas de tejido adiposo en el tratamiento de pacientes con infarto con elevación del ST (*APOLLO*)]³⁹. Todos los pacientes recibieron placebo o terapia celular dentro de las 24 h del ICP primario. Estos fueron los primeros pacientes con IM que tenían una FEVI entre 35 % y 50 %. A los 6 meses hubo una mejoría significativa en la formación de la cicatriz miocárdica y en el defecto de perfusión, una reducción casi significativa en el tamaño del infarto y una mejoría en la fracción de eyección calculada con la terapia celular en comparación con el grupo control, y el tratamiento demostró ser seguro. Los datos a los 18 meses fueron presentados en el Simposio Internacional 2011 sobre Terapia de Células Madre e Innovación Cardiovascular, los cuales mostraron beneficios sostenidos. El siguiente paso, un estudio más amplio llamado *ADVANCE*, con 375 pacientes, proporcionará una mayor fuerza estadística. Los resultados de dieciocho meses de un ensayo similar hecho por primera vez en humanos con *ADRCs* para la insuficiencia cardíaca isquémica, *PRECISE*, aunque aún no están publicados, fueron presentados en las Sesiones Científicas de la *AHA* en 2010⁴⁰. Aquí, 27 pacientes fueron aleatorizados para recibir *ADRCs* transendocárdica o placebo. Los resultados a los 6 meses mostraron una reducción significativa en el tamaño del infarto en el grupo de tratamiento en relación con los controles, pero sin diferencia en la FEVI. Hasta los 18 meses, se encontró que la terapia celular era segura, sin diferencia en los resultados adversos entre los dos grupos y que mejoró

significativamente la clase funcional de la NYHA y de la Sociedad Canadiense de Cardiología (CCS, por sus siglas en inglés), los equivalentes metabólicos y el consumo máximo de oxígeno, en el grupo tratado.

Las MSC alogénicas en lugar de las autólogas también han sido recientemente evaluadas como una nueva estrategia terapéutica potencial para permitir una mayor facilidad logística. Las MSC son capaces de eludir la detección inmunológica, lo que significa que estos pacientes no requieren inmunosupresión. El primer estudio aleatorizado controlado en humanos fase I que comparó las MSC alogénicas con placebo, en el marco del primer IAM y disfunción del VI, incluyó a 53 pacientes⁴¹. Algo importante, el estudio demostró que no hubo diferencias respecto a episodios adversos, nuevas hospitalizaciones o arritmias entre los grupos. A los 18 meses, el grupo de tratamiento mostró una mejoría significativa de la FEVI en relación con los controles. Los resultados preliminares de un ensayo aleatorizado y controlado de fase II que evaluó MSC alogénicas en el contexto de la insuficiencia cardíaca isquémica fueron presentados en las Sesiones Científicas de la AHA en 2011²². El estudio consistió en 60 pacientes con 12 meses de seguimiento y confirmó la seguridad de la tecnología. Si bien no hubo diferencia en la FEVI entre los dos grupos, hubo una incidencia significativamente menor de complicaciones cardíacas importantes, mortalidad y síntomas en el grupo tratado, lo cual apoya el concepto de que la FEVI no es un marcador secundario útil para el resultado.

La atractiva oportunidad de explotar las células madre cardíacas, que son capaces de regenerar tejido cardíaco sano, se percibió al descubrir que el corazón adulto contiene su propio depósito de células progenitoras. Existen dos poblaciones principales de células madre cardíacas que se han descrito, la población c-kit+ y las células derivadas de cardioesferas, que son una mezcla natural de subpoblaciones celulares derivadas del corazón que incluyen c-kit+/CD90- y MSCs c-kit-/CD90 cardíacas. Aunque no se sabe si éstas resultarán ventajosas con respecto a otros tipos de células madre, particularmente si actúan de una manera paracrina, ambas poblaciones se han estudiado en el contexto clínico.

El ensayo SCPIO (células madre cardíacas en pacientes con miocardiopatía isquémica) publicado recientemente, es un ensayo fase I realizado primeramente en humanos que evaluó el valor de c-kit+ CSC en la insuficiencia cardíaca isquémica posterior a la

revascularización miocárdica quirúrgica (CABG, por sus siglas en inglés)⁴². Aquí, células c-kit+ autólogas del apéndice auricular se aíslan y expanden en el momento de la CABG y se reinfunden de 3-4 meses después de la cirugía. Es importante destacar que no hubo diferencia en la tasa de episodios adversos entre los grupos de tratamiento y control. A los 8 meses, hubo una mejoría significativa en el tamaño del infarto y la FEVI en los pacientes tratados. El ensayo CADUCEUS (células madre autólogas derivadas de cardioesferas para revertir la disfunción ventricular) evaluó, en un ensayo clínico fase I⁴³, el impacto de la infusión intracoronaria de células autólogas derivadas de cardioesferas, obtenidas por biopsias endomiocárdicas en pacientes de 2-3 meses post-IAM. Aquí, la FEVI mejoró significativamente a los 12 meses en comparación con los controles, y mediante la resonancia magnética cardíaca (RMC) se notó una reducción importante de la masa de la cicatriz en el grupo tratado pero no en el control. No hubo ninguna diferencia en el resultado adverso entre los grupos. Es importante destacar que este es uno de los primeros ensayos de la terapia celular que sugiere que los beneficios observados en relación con la reparación del miocardio se deben a un proceso regenerativo. Los resultados de un ensayo de fase II serán esperados con entusiasmo.

Aunque el objetivo final de la terapia celular es restaurar la función cardíaca y de ese modo mejorar la calidad de vida y la supervivencia, el mecanismo por el cual esto se consigue mediante la terapia celular sigue siendo un tema de debate, en dependencia del tipo de células empleadas. Sin embargo, esta área de investigación ha conducido a una mejor comprensión de cómo trabajar las células *in vitro* para diferenciarlas en un fenotipo que podría mejorar la reparación cardíaca. Los primeros resultados de este enfoque en los seres humanos se han publicado recientemente. En el ensayo C-Cure, los investigadores han realizado la diferenciación de CMN-MO en linajes específicos de células progenitoras cardíacas utilizando proteínas de cardiogénesis antes de la transferencia de células, a través de la vía transendocárdica⁴⁴, a 45 pacientes con insuficiencia cardíaca isquémica. A los 6 meses de seguimiento, se observó una mejoría significativa de la FEVI y la reducción de los volúmenes del VI, así como una mejoría significativa de los síntomas, evidenciada por el test de marcha de 6 min en el grupo tratado comparado con el grupo control. No hubo diferencias significativas respecto a resultados adversos. La segun-

da fase de este ensayo está en curso.

RESUMEN

Las investigaciones en terapia celular ofrecen la perspectiva de un enfoque terapéutico totalmente nuevo en Cardiología. Los últimos 2 años han sido testigos de un movimiento sistemático desde la fase I a la fase II de los ensayos clínicos, utilizando tipos de células establecidos, junto con la aparición de nuevos tipos celulares en ensayos de fase I, que solamente se han hecho viables debido a las investigaciones realizadas con una temprana aplicación en los seres humanos. Para el enfoque pragmático de la terapia celular derivada de la médula ósea, un meta-análisis reciente confirmó una vez más el potencial de beneficio, lo cual se abordará en un estudio de resultados en fase III que también estandarizará la técnica de procesamiento y administración celular. Otros tipos de células tendrán que seguir un camino de investigación similar y, sin duda, los ensayos con células derivadas de la médula ósea fijarán las normas por las que serán juzgadas diferentes tipos de células y técnicas.

Agradecimientos: A *NIHR Cardiovascular Biomedical Research Unit* con sede en *Barts Health NHS Trust*.

Colaboradores: DJ y FC contribuyeron por igual a la redacción de este manuscrito. El concepto y la idea, así como la edición estuvo a cargo de AM.

Conflicto de intereses: Ninguno.

Procedencia y revisión por pares

En Heart: Por encargo, revisado por pares internamente.

En CorSalud: Por invitación de la *ESC Editors' Network* (Red de Editores de la Sociedad Europea de Cardiología). Sin revisión.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Poss KD, Wilson LG, Keating MT. Heart regeneration in zebrafish. *Science* 2002;298:2188-90.
2. Jopling C, Sleep E, Raya M, *et al.* Zebrafish heart regeneration occurs by cardiomyocyte dedifferentiation and proliferation. *Nature* 2010;464:606-9.
3. Kikuchi K, Holdway JE, Werdich AA, *et al.* Primary contribution to zebrafish heart regeneration by gata4(+) cardiomyocytes. *Nature* 2010;464:601-5.
4. Porrello ER, Mahmoud AI, Simpson E, *et al.* Transient regenerative potential of the neonatal mouse heart. *Science* 2011;331:1078-80.
5. Ieda M, Fu JD, Delgado-Olguin P, *et al.* Direct reprogramming of fibroblasts into functional cardiomyocytes by defined factors. *Cell* 2010;142:375-86.
6. Efe JA, Hilcove S, Kim J, *et al.* Conversion of mouse fibroblasts into cardiomyocytes using a direct reprogramming strategy. *Nat Cell Biol* 2011;13:215-22.
7. Oh Y, Wei H, Ma D, *et al.* Clinical applications of patient-specific induced pluripotent stem cells in cardiovascular medicine. *Heart* 2012;98:443-9.
8. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006;126:663-76.
9. Okita K, Nagata N, Yamanaka S. Immunogenicity of induced pluripotent stem cells. *Circ Res* 2011;109:720-1.
10. Vieira JM, Riley PR. Epicardium-derived cells: a new source of regenerative capacity. *Heart* 2011;97:15-19.
11. Smart N, Bollini S, Dube KN, *et al.* De novo cardiomyocytes from within the activated adult heart after injury. *Nature* 2011;474:640-4.
12. Glass C, Singla DK. MicroRNA-1 transfected embryonic stem cells enhance cardiac myocyte differentiation and inhibit apoptosis by modulating the PTEN/Akt pathway in the infarcted heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2011;301:H2038-49.
13. Jakob P, Landmesser U. Role of microRNAs in stem/progenitor cells and cardiovascular repair. *Cardiovasc Res* 2012;93:614-22.
14. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, *et al.* Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 2001;410:701-5.
15. Lovell MJ, Mathur A. Cardiac stem cell therapy: progress from the bench to bedside. *Heart* 2010;96:1531-7.
16. Clifford DM, Fisher SA, Brunskill SJ, *et al.* Stem cell treatment for acute myocardial infarction. *Cochrane Database Syst Rev* 2012;2:CD006536.
17. Martin-Rendon E, Brunskill SJ, Hyde CJ, *et al.* Autologous bone marrow stem cells to treat acute myocardial infarction: a systematic review. *Eur Heart J* 2008;29:1807-18.
18. Wollert KC, Meyer GP, Lotz J, *et al.* Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomised con-

- trolled clinical trial. *Lancet* 2004;364:141-8.
19. Meyer GP, Wollert KC, Lotz J, *et al.* Intracoronary bone marrow cell transfer after myocardial infarction: 5-year follow-up from the randomized-controlled BOOST trial. *Eur Heart J* 2009;30:2978-84.
 20. Schachinger V, Erbs S, Elsasser A, *et al.* Intracoronary bone marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2006;355:1210-21.
 21. Assmus B, Rolf A, Erbs S, *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.
 22. 2011 AHASS. Late-breaking clinical trial/clinical science: special reports abstracts. *Circulation* 2011;124:2365-75.
 23. Beitnes JO, Hopp E, Lunde K, *et al.* Long-term results after intracoronary injection of autologous mononuclear bone marrow cells in acute myocardial infarction: the ASTAMI randomised, controlled study. *Heart* 2009;95:1983-9.
 24. Yousef M, Schannwell CM, Kosterling M, *et al.* The BALANCE Study: clinical benefit and long-term outcome after intracoronary autologous bone marrow cell transplantation in patients with acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2009;53:2262-9.
 25. Hirsch A, Nijveldt R, van der Vleuten PA, *et al.* Intracoronary infusion of mononuclear cells from bone marrow or peripheral blood compared with standard therapy in patients after acute myocardial infarction treated by primary percutaneous coronary intervention: results of the randomized controlled HEBE trial. *Eur Heart J* 2011;32:1736-47.
 26. Traverse JH, Henry TD, Ellis SG, *et al.* Effect of intracoronary delivery of autologous bone marrow mononuclear cells 2 to 3 weeks following acute myocardial infarction on left ventricular function: the LateTIME randomized trial. *JAMA* 2011;306:2110-9.
 27. Traverse JH, Henry TD, Vaughan DE, *et al.* Rationale and design for TIME: a phase II, randomized, double-blind, placebo-controlled pilot trial evaluating the safety and effect of timing of administration of bone marrow mononuclear cells after acute myocardial infarction. *Am Heart J* 2009;158:356-63.
 28. Suarnder D, Schwitter J, Moccetti T, *et al.* Cell-based therapy for myocardial repair in patients with acute myocardial infarction: rationale and study design of the SWISS multicenter Intracoronary Stem cells Study in Acute Myocardial Infarction (SWISS-AMI). *Am Heart J* 2010;160:58-64.
 29. Miettinen JA, Ylitalo K, Hedberg P, *et al.* Determinants of functional recovery after myocardial infarction of patients treated with bone marrow-derived stem cells after thrombolytic therapy. *Heart* 2010;96:362-7.
 30. Reffelmann T, Konemann S, Kloner RA. Promise of blood- and bone marrow-derived stem cell transplantation for functional cardiac repair: putting it in perspective with existing therapy. *J Am Coll Cardiol* 2009;53:305-8.
 31. Roncalli J, Mouquet F, Piot C, *et al.* Intracoronary autologous mononucleated bone marrow cell infusion for acute myocardial infarction: results of the randomized multicenter BONAMI trial. *Eur Heart J* 2011;32:1748-57.
 32. Grajek S, Popiel M, Gil L, *et al.* Influence of bone marrow stem cells on left ventricle perfusion and ejection fraction in patients with acute myocardial infarction of anterior wall: randomized clinical trial: impact of bone marrow stem cell intracoronary infusion on improvement of microcirculation. *Eur Heart J* 2010;31:691-702.
 33. Strauer BE, Yousef M, Schannwell CM. The acute and long-term effects of intracoronary stem cell transplantation in 191 patients with chronic heart failure: the STAR-heart study. *Eur J Heart Fail* 2010;12:721-9.
 34. Perin EC, Silva GV, Henry TD, *et al.* A randomized study of transendocardial injection of autologous bone marrow mononuclear cells and cell function analysis in ischemic heart failure (FOCUS-HF). *Am Heart J* 2011;161:1078-87.e3.
 35. Hu S, Liu S, Zheng Z, *et al.* Isolated coronary artery bypass graft combined with bone marrow mononuclear cells delivered through a graft vessel for patients with previous myocardial infarction and chronic heart failure: a single-center, randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *J Am Coll Cardiol* 2011;57:2409-15.
 36. Seth S, Bhargava B, Narang R, *et al.* The ABCD (Autologous Bone Marrow Cells in Dilated Cardiomyopathy) trial a long-term follow-up study. *J Am Coll Cardiol* 2010;55:1643-4.
 37. Losordo DW, Henry TD, Davidson C, *et al.* Intramyocardial, autologous CD34+ cell therapy for re-

- fractory angina. *Circ Res* 2011;109:428-36.
38. Chih S, Macdonald PS, McCrohon JA, *et al.* Granulocyte colony stimulating factor in chronic angina to stimulate neovascularisation: a placebo controlled crossover trial. *Heart* 2012;98:282-90.
39. Houtgraaf JH, den Dekker WK, van Dalen BM, *et al.* First experience in humans using adipose tissue-derived regenerative cells in the treatment of patients with ST-segment elevation myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2012;59:539-40.
40. Perin EC SPL, Ruiz R, Perez-Cano R, *et al.* Abstract 17966: first in man transendocardial injection of autologous adiPose-derived stem cells in patients with non revascularizable ischemic myocardium (PRECISE). *Circulation* 2010;122: A17966.
41. Hare JM, Traverse JH, Henry TD, *et al.* A randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-escalation study of intravenous adult human mesenchymal stem cells (prochymal) after acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2009;54:2277-86.
42. Bolli R, Chugh AR, D'Amario D, *et al.* Cardiac stem cells in patients with ischaemic cardiomyopathy (SCIPIO): initial results of a randomised phase 1 trial. *Lancet* 2011;378:1847-57.
43. Makkar RR, Smith RR, Cheng K, *et al.* Intracoronary cardiosphere-derived cells for heart regeneration after myocardial infarction (CADUCEUS): a prospective, randomised phase 1 trial. *Lancet* 2012;379: 895-904.
44. Bartunek J, Wijns W, Dolatabadi D, *et al.* C-CURE Multicenter trial: lineage specific bone marrow derived cardiopoietic mesenchymal stem cells for treatment of ischaemic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2011;57:E200.