

CELULAS TRONCALES (*STEM CELLS*) Y REGENERACION CARDIACA

MARIA INES PEREZ MILLAN, ALICIA LORENTI

*Instituto de Ciencias Básicas y Medicina Experimental
Hospital Italiano de Buenos Aires*

Resumen Las células troncales carecen de marcadores de diferenciación, tienen gran capacidad proliferativa, pueden automantener la población, producen progenies de células progenitoras y participan en la regeneración de tejidos. Los tejidos de un individuo tienen capacidad de regeneración, que a veces está ligada a la presencia de células troncales. La medicina regenerativa plantea la terapia celular como una alternativa para el tratamiento de diversas enfermedades, incluyendo las cardíacas (cardiomioplastia celular). Las células a usar pueden provenir de distintas fuentes, entre ellas las células troncales de origen cardíaco o extracardíaco. La médula ósea es una de las fuentes más importantes de células troncales extracardíacas, que podrían contribuir a obtener células cardíacas por diversos mecanismos (transdiferenciación, fusión o transferencia a través de estructuras nanotubulares). En los últimos años, diversas publicaciones refieren la existencia de células troncales nativas cardíacas, caracterizadas por la presencia de distintos marcadores. Se plantea también la alternativa del uso de factores de crecimiento para producir la movilización de células troncales. El individuo adulto posee células con alta potencialidad, surgidas en estadios embrionarios antes o después de la determinación en las capas germinales, y mantenidas hasta la adultez que, bajo condiciones apropiadas de manipulación, permita su utilización en la medicina regenerativa.

Palabras clave: células troncales, regeneración cardíaca

Abstract *Stem cells and cardiac regeneration.* Stem cells are defined by virtue of their functional attributes: absence of tissue specific differentiated markers, capable of proliferation, able to self-maintain the population, able to produce a large number of differentiated, functional progeny, able to regenerate the tissue after injury. Cell therapy is an alternative for the treatment of several diseases, like cardiac diseases (cell cardiomyoplasty). A variety of stem cells could be used for cardiac repair: from cardiac and extracardiac sources. Each cell type has its own profile of advantages, limitations, and practicability issues in specific clinical settings. Differentiation of bone marrow stem cells to cardiomyocyte-like cells have been observed under different culture conditions. The presence of resident cardiac stem cell population capable of differentiation into cardiomyocyte or vascular lineage suggests that these cells could be used for cardiac tissue repair, and represent a great promise for clinical application. Stem cells mobilization by cytokines may also offer a strategy for cardiac regeneration. The use of stem cells (embryonic and adult) may hold the key to replacing cells lost in many devastating diseases. This potential benefit is a major focus for stem cell research.

Key words: Stem cells, cardiac regeneration

Qué son las células troncales (*stem cells*)

La biología de las características y el comportamiento de las células troncales ha acaparado buena parte de la atención del ambiente científico en los últimos años. La información relacionada con las células troncales es todavía controvertida, y la primera controversia surge cuando se define qué es una célula troncal¹. Una de las mayores dificultades es que su definición está basada en sus características funcionales y no en las morfológicas.

A su vez, para probar un atributo funcional es necesario demostrar su existencia, para lo que se requiere la manipulación experimental de las células para el proceso del ensayo, que en sí mismo puede alterar dicha característica. Esto, que parecería un juego de palabras, muestra la necesidad de tener en cuenta que una descripción apropiada de las células exige que el protocolo de manipulación para establecer una determinada característica también deba ser tenido en cuenta a la hora de concluir tal o cual resultado².

Se pueden definir las células troncales como aquellas que tienen las siguientes características:

1. Son células que carecen de marcadores de diferenciación específicos.
2. Tienen la potencialidad de proliferación por tiempos prolongados.

Recibido: 21-XI-2005

Aceptado: 24-V-2006

Dirección postal: Alicia Lorenti, Instituto de Ciencias Básicas y Medicina Experimental, Potosí 4240, 1199, Buenos Aires.
FAX: (54-11) 4958-2200 e-mail: alicia.lorenti@hospitalitaliano.org.ar

3. Tienen la capacidad de automantener la población en número relativamente estable, a través del mecanismo de división asimétrica, por el cual cada célula troncal produce al dividirse dos células hijas: una de ellas conserva las características de célula troncal, y la otra célula adquirirá la determinación hacia un linaje.
4. Producen progenies de células progenitoras, también llamadas transitorias, comprometidas a determinados linajes celulares que, a su vez, son las que darán origen a las células diferenciadas y funcionales de los distintos órganos.
5. Tienen la capacidad de participar en la regeneración de tejidos en condiciones fisiológicas (homeostasis) y/o después de una injuria.

Clasificación de las células troncales

Las células troncales pueden clasificarse según dos criterios: por su origen y por su potencialidad. Según su origen se las clasifica en células troncales embrionarias, embrionarias germinales y adultas. Las células troncales embrionarias son las que se encuentran en la masa celular interna del blastocisto, que en el ser humano es el estadio de 4-6 días de la embriogénesis. Son las más versátiles y tienen la capacidad de dar origen a todos los tipos celulares de las tres láminas germinales del individuo³.

Las células troncales embrionarias germinales, que se encuentran en la cresta gonadal fetal entre las 5 y 10 semanas de gestación, son las que darán origen a las gametas maduras.

Las células troncales adultas son las que se encuentran en los órganos y tejidos del individuo adulto, y son las que darán origen a los diversos tipos celulares especializados del tejido del cual provienen⁴.

Según su potencialidad, las células troncales pueden clasificarse como totipotenciales, pluripotenciales, multipotenciales, oligopotenciales, bipotenciales, monopotenciales. En este orden jerárquico cada estadio celular produce progenies que, por un lado se renuevan a sí mismas, y por el otro producen células que adquieren cada vez más marcadores de diferenciación, al mismo tiempo que gradualmente pierden su potencial proliferativo. Así, las células troncales totipotenciales tienen potencial ilimitado, dando origen a todos los tejidos embrionarios y extraembrionarios, y se las encuentra en el estadio de cigoto. Las células troncales embrionarias son pluripotenciales y capaces de dar origen a los tejidos de las tres láminas germinales: endodermo, mesodermo y ectodermo. Las células troncales adultas varían en su potencialidad, desde multipotenciales hasta monopotenciales⁵.

Sin embargo, algunos autores consideran que la dirección de este flujo de potencialidad (desde totipotencial

hacia monopotencial), que hasta hace poco tiempo se consideraba irreversible, es reversible, puesto que aseguran que algunas células troncales adultas tienen la capacidad de volver a adquirir características de células pluripotenciales, aunque sin llegar a la totipotencialidad⁶. Esto involucra saltos, no sólo de linajes celulares sino también de lámina germinal, y se mencionará más adelante.

Históricamente, los estudios sobre células troncales comenzaron sobre tejidos cuyo recambio fisiológico es permanente, como la piel, la sangre, la médula ósea o el epitelio del intestino⁷. En cambio, en otros tejidos la presencia de células nuevas es muy escasa en condiciones fisiológicas, pero ocurre como respuesta a la demanda de crecimiento o reparación, como es el caso del hígado o del músculo esquelético. En los últimos años se hallaron células troncales en casi todos los órganos del individuo adulto: piel^{8, 9}, hígado^{10, 11}, páncreas¹², sangre y médula ósea¹³, riñón^{14, 15}, intestino⁷, vasos¹⁶, sistema nervioso central^{17, 18}, músculo esquelético¹⁹, corazón²⁰, entre otros.

Regeneración de tejidos

Los tejidos de un individuo adulto tienen cierta capacidad de regeneración después de una injuria, y esta propiedad es característica de cada tejido. Algunos de los mecanismos de regeneración están ligados a las células troncales o directamente producidos por ellas. Es así como, por ejemplo, el hígado tiene dos niveles de regeneración como respuesta a una injuria. Luego de un daño leve o moderado, los hepatocitos maduros son capaces de salir de la quiescencia, reingresar en el ciclo celular y proliferar. Los otros tipos celulares que conforman el tejido hepático adulto, como las células epiteliales ductales biliares y las endoteliales, comienzan también a proliferar, produciendo la regeneración completa del tejido dañado²¹. Este mecanismo no está asociado a las células troncales hepáticas. Distinta es la regeneración que ocurre como respuesta a un daño masivo del hígado. En este caso las células maduras no son suficientes para reparar el daño, por lo cual se produce una activación del compartimiento de células troncales hepáticas, ubicado en el canal de Hering, que proliferan produciendo una población de células conocidas como células ovals que se dividen hasta reparar el daño^{10, 11, 22}.

Otro ejemplo de regeneración distinto al mencionado del hígado, es el del músculo esquelético, donde las células satélite²³, consideradas las células troncales del músculo esquelético, ubicadas entre la lámina basal y la membrana plasmática de las fibras musculares, que son también células quiescentes, reciben un estímulo de proliferación como respuesta a un daño, y desarrollan en miocitos maduros reparando la zona injuriada²⁴.

Estos mecanismos de regeneración del músculo esquelético no son los del tejido cardíaco adulto, los miocitos

cardíacos adultos no tendrían la capacidad de reingresar en el ciclo celular como respuesta a una injuria. Hasta ahora se consideró que el corazón sería un órgano posmitótico: los cardiomiocitos sólo conservarían la capacidad de multiplicarse hasta los tres o cuatro meses de edad posnatal, con lo cual a poco del nacimiento ya existiría un número de cardiomiocitos que no podrían ser reemplazados, con lo cual su cantidad decrecería gradualmente. Sin embargo, existen publicaciones que señalan que existe un equilibrio entre los estímulos para el crecimiento del tamaño de los miocitos y los que llevan a la necrosis y apoptosis²⁵. Los datos experimentales en ratones implican la posibilidad de que exista un recambio fisiológico activo; si no existiese este reemplazo, la pérdida de la masa celular se haría incompatible con la vida de un individuo adulto. Este concepto es una nueva visión sobre la regeneración fisiológica y el envejecimiento cardíaco^{26, 27}.

Distinto enfoque merecen los procesos patológicos del corazón. En el caso de las enfermedades isquémicas se produce en el tejido cardíaco un marcado desequilibrio entre el aporte y la demanda de sangre oxigenada, con insuficiencia de oxígeno (hipoxia, anoxia), disminución de la disponibilidad de nutrientes e inadecuada eliminación de metabolitos, cuyo resultado es la necrosis coagulativa de todos los tipos celulares presentes en el músculo cardíaco de la zona afectada. En la segunda fase comienza el proceso exudativo, con liberación de mediadores de la inflamación. Comienza entonces la etapa del remodelamiento, con la activación de enzimas proteolíticas, las metaloproteinasas, y también la activación de mRNAs de factores de crecimiento y citoquinas, que en su conjunto producen alteraciones en los tipos y características de las proteínas de la matriz extracelular, la división de determinados tipos celulares, básicamente fibroblastos, y como consecuencia de ello la producción de una fibrosis cicatrizal^{28, 29}.

En contraste con el dogma de la ausencia de división celular en los cardiomiocitos adultos, en el año 2001 Beltrami y colaboradores informan haber hallado indicios de mitosis en zonas cercanas a un área infartada³⁰. Sin embargo, el índice mitótico que se menciona en esa publicación (0.08% en zonas adyacentes al infarto y 0.03% en zonas remotas) no parecería ser lo suficientemente alto como para que participe en la regeneración tisular después de un daño cardíaco importante³¹. A pesar de ello, no puede descartarse que el concepto de la incapacidad regenerativa del miocardio pueda ser revisado en el futuro.

Ingeniería de tejidos y medicina regenerativa

La ingeniería de tejidos es una nueva disciplina que se nutre de los conocimientos de la biología, la química, la

medicina, la ciencia de los materiales y otras, y cuyo objetivo es el manejo de células y materiales biocompatibles, para lograr sustitutos que sean capaces de restaurar una función tisular alterada o perdida como consecuencia de una injuria.

En el comienzo, la ingeniería de tejidos debe elegir cuál es el tipo de células que se deben usar. El conocimiento de las señales que median la proliferación celular, la diferenciación, o la adhesión a un sustrato, proporcionan las bases de la regeneración tisular. Existen componentes críticos de dichos procesos, como son las interacciones célula-célula y célula-matriz extracelular. Estas interacciones son llevadas a cabo a través de receptores específicos que responden a eventos de señalización, que guían la regeneración tisular^{32, 33}.

La medicina regenerativa, surgida a partir de la ingeniería de tejidos, plantea la terapia celular como una valiosa alternativa para el tratamiento de diversas enfermedades³⁴⁻³⁸.

El trasplante celular en tejido cardíaco, conocido como cardiomioplastia celular, se ha ensayado para el tratamiento de afecciones cardíacas, y ha sido planteada para enfermedades isquémicas y no isquémicas³⁹. En el primer caso tiene como objetivo repoblar la cicatriz de la necrosis y las zonas circundantes con células potencialmente contráctiles, injertadas en número suficiente como para sustituir a los cardiomiocitos muertos y restaurar la función de estas áreas acinéticas⁴⁰, para mejorar la función ventricular sistólica y diastólica y restaurar la contractilidad.

Una de las cuestiones más importantes está relacionada con el tipo celular más apropiado para la regeneración miocárdica. Las células pueden provenir de distintas fuentes y ser manipuladas de distintas formas⁴¹. El perfeccionamiento de las técnicas de aislamiento y cultivo de células, permite contar con distintos tipos de células: a) células primarias diferenciadas; b) células inmortalizadas; c) células troncales (*stem*).

Las células primarias diferenciadas (a) provienen de fragmentos de tejidos de origen autólogo, homólogo e incluso heterólogo. Las células son disgregadas y usadas frescas o previamente cultivadas y expandidas⁴²⁻⁴⁵.

El uso de líneas celulares inmortalizadas (b), tiene como ventaja la ilimitada disponibilidad de células altamente proliferativas y como gran desventaja que su potencial tumorigénico no puede ser descartado completamente. Las líneas celulares se obtienen a partir de células normales, que han sufrido cambios genéticos por diversos mecanismos, adquiriendo potencial de crecimiento ilimitado⁴⁶.

Por último, las células troncales (c) son células no especializadas, capaces de automantener su población y al mismo tiempo proveer células progenitoras que podrían madurar en células cardíacas adultas funcionales. De los tipos posibles de células troncales, las provenientes

tes de tejidos adultos ofrecen la ventaja de no estar asociadas a problemas éticos difíciles de resolver, como ocurre con las embrionarias.

Plasticidad y transdiferenciación de las células troncales adultas

Un concepto basal de la biología del desarrollo es que, durante la embriogénesis, todas las células son comprometidas hacia linajes específicos, en primer lugar a través de la especificación de la lámina germinal, y posteriormente hacia niveles adicionales de diferenciación y especialización. No hay acuerdo acerca de cuál es el origen de las células troncales adultas. Algunos consideran que las células troncales adultas derivarían de las células troncales embrionarias cuando ya están comprometidas a generar linajes específicos, o antes. En los últimos años, diversas publicaciones han sugerido que las células somáticas adultas no estarían restringidas sólo a producir células específicas del tejido de origen, sino que serían capaces de originar un espectro mucho más amplio de diferenciación, exhibiendo un fenómeno llamado plasticidad⁴⁷.

No hay un acuerdo acerca de la definición de plasticidad. Podría definirse como la capacidad de las células troncales de producir linajes celulares distintos al de ellas mismas, pero de la misma lámina germinal. En cambio, cuando una célula troncal es capaz de producir linajes de células de láminas germinales a las que no pertenece se habla de transdiferenciación⁴⁸. La transdiferenciación sería así un subtipo de plasticidad. Por ejemplo, células sanguíneas y de músculo liso a partir de células troncales neurales adultas^{49,50}, células mesenquimales de médula ósea adulta capaces de diferenciar en células epiteliales hepáticas, pulmonares e intestinales⁵¹, células hemopoyéticas que diferencian en hepatocitos⁵², células de tejido adiposo como fuente de células mesodérmicas y neuronales⁵³.

Las células troncales adultas de médula ósea, cuya potencialidad pareciera indefinida, se han considerado en los últimos tiempos como las candidatas ideales para el tratamiento de una amplia variedad de enfermedades no hematológicas⁵⁴⁻⁵⁶. Son células multipotenciales y tendrían una insospechada capacidad de regenerar distintos tipos de tejidos. Insertas en un microambiente diferente al propio, su plasticidad les permitiría adoptar fenotipos diferentes, transdiferenciando en células características de su nuevo tejido de residencia⁵¹.

Células troncales cardíacas nativas

Hasta hace poco tiempo el dogma aceptado en la biología cardíaca era que el corazón adulto era un órgano terminalmente diferenciado, sin potencial de regenera-

ción ni en condiciones fisiológicas ni patológicas, dado que sus células son terminalmente diferenciadas. Este concepto podría cambiar si existieran evidencias de células troncales residentes en el corazón o de origen extracardíaco capaces de participar en la reparación cardíaca en el individuo adulto. Se mencionan a continuación evidencias de la existencia de estos tipos celulares.

Células troncales cardíacas de origen extracardíaco

Diversos tejidos pueden ser fuentes de células capaces de diferenciarse en células troncales cardíacas. Varias poblaciones de médula ósea y tejido adiposo contendrían subpoblaciones celulares que migrarían al miocardio infartado, se establecerían allí y darían lugar a los distintos tipos celulares cardíacos^{53, 57-64}.

Se considera que las células troncales de médula ósea tienen la capacidad de comportarse como células itinerantes, que responden a señales de inflamación provenientes del corazón infartado, dirigiéndose hacia la zona dañada y diferenciando en los tipos celulares necesarios para la reparación miocárdica. Se estima que algún tipo de injuria o inflamación es el requisito indispensable para que se produzca la migración de las células itinerantes, se establezcan en el sitio de la injuria (*homing*) y finalmente participen en la estructura y función como tejido diferenciado⁶⁵. El microambiente es el estímulo para el anclaje y la diferenciación de las células troncales de los linajes apropiados, dado que provee los quimioattractantes y el espacio para el contacto célula-célula⁶⁶.

En 2001, Orlic y colaboradores⁶⁰ publicaron un trabajo que revolucionó el concepto de tratamiento de las enfermedades cardíacas. Utilizaron una subpoblación de células troncales de médula ósea totalmente indiferenciadas para la regeneración del músculo cardíaco tras un infarto de miocardio, en un modelo animal en ratones transgénicos. Estas células tenían la capacidad de producir tipos celulares de diversos linajes, y fueron caracterizadas como Lin⁻ (células no comprometidas a ningún linaje) y c-kit⁺ (c-kit es el receptor del ligando "stem cell factor"). Al ser implantadas en la zona ventricular periinfarto transdiferenciaron en los tres tipos celulares del corazón: cardiomiocitos, células endoteliales y músculo liso, generando miocardio *de novo*, incluyendo arterias coronarias, arteriolas y capilares. A pocos días del implante, observaron que el 68% de la parte dañada del ventrículo estaba poblada por las células trasplantadas y mejoría de la función contráctil. Concluyeron que la reparación parcial del músculo dañado del corazón se produjo a partir de las células trasplantadas en el miocardio de los animales infartados, gracias a señales presentes en el medio ambiente de la lesión, que promoverían la

migración, proliferación y diferenciación celular dentro del área necrótica de la pared ventricular. Esta subpoblación fue usada también en otros trabajos, y fueron consideradas células troncales cardíacas⁶⁷.

En otro estudio se demostró también la regeneración del músculo cardíaco infartado mediante el implante de células troncales adultas de médula ósea en un modelo en ratón transgénico⁶⁸. En este caso se purificó una subpoblación de células troncales hematopoyéticas caracterizada por los marcadores CD34/bajo, c-kit⁺, Sca-1⁺, siendo estos dos últimos antígenos de superficie relacionados a células troncales, que fueron inyectadas en animales letalmente irradiados antes del trasplante. A las 10 semanas del trasplante se indujo en los animales una injuria cardíaca por oclusión de la arteria coronaria y posterior reperfusión. Los autores demostraron que las células trasplantadas migraron al miocardio sólo en los animales sometidos a isquemia, y allí se diferenciaron en cardiomiocitos y células endoteliales, contribuyendo así a la formación de tejido funcional. Otros autores han mencionado también la regeneración cardíaca mediante una población de células no hemopoyéticas derivadas de la médula ósea⁶⁹.

No existen aún datos sobre la supervivencia a largo plazo de las células trasplantadas, ni está demostrado que las mismas se acoplen mecánica y eléctricamente con las células receptoras y que propaguen adecuadamente el impulso⁴⁴, aun cuando algunos ensayos clínicos realizados en humanos, con implante de estas células, mostrarían un grado de reparación del tejido infartado, a través de una mejoría de la función ventricular y de la vascularización^{45, 70, 71}. Wollert y colaboradores informan una mejoría de la función sistólica posterior a la transferencia intracoronaria de células de médula ósea autóloga en pacientes con infarto agudo de miocardio⁷². Sin embargo, otros ensayos clínicos demuestran la ausencia de efectos beneficiosos del trasplante de células de médula ósea en pacientes similares⁷³.

Otras células que resultan particularmente atractivas por su potencial de diferenciación a células cardíacas son las células troncales embrionarias, que tendrían la capacidad de interactuar electromecánicamente con las células cardíacas del huésped para formar un sincicio funcional. Estas células podrían ser comprometidas parcialmente hacia linajes cardíacos antes del implante, para luego alcanzar la maduración completa *in vivo* bajo la influencia de caminos de señalización parácrinos asociados al huésped⁷⁴. En otros trabajos se menciona también el uso de células troncales embrionarias para el tratamiento de enfermedades cardíacas. Estas células, comprometidas a diferenciación a linajes cardíacos, fueron implantadas en miocardios infartados de ovejas inmunosuprimidas e inmunocompetentes, y diferenciaron en cardiomiocitos maduros, que expresaban conexinas y produjeron un beneficio funcional en el miocardio dañado⁷⁵.

¿Transdiferenciación o fusión?

Poco tiempo después de la publicación del trabajo de Orlic comenzaron a aparecer discrepancias con sus resultados. Dos grupos de trabajo intentaron reproducir esos experimentos con resultados muy diferentes^{76, 77}. Según los autores, la misma subpoblación de células provenientes de médula ósea permaneció sólo pocos días en la zona implantada, y nunca expresaron marcadores específicos de tejido cardíaco. No sólo no fueron encontradas evidencias de regeneración miocárdica, sino que se observó que las células troncales hematopoyéticas adoptaban su primitivo destino hematopoyético aun cuando se implantaban en el corazón.

Los cuestionamientos a la transdiferenciación de células troncales se hicieron aun más profundos cuando algunos autores establecieron que estas células adoptaban características funcionales de otros linajes, no por transdiferenciación sino a través de la adquisición de determinantes específicos de linaje por medio de la fusión celular, que consiste en la formación de genomas poliploides entre células donantes y receptoras⁷⁷⁻⁸².

Sobre la base de resultados de experimentos de recombinación para detectar fusión celular *in vitro*, se demostró que células derivadas de médula ósea se fusionaban espontáneamente con las células nativas del tejido huésped, formándose en todos los casos células multinucleadas⁸¹. Estas células surgidas por fusión son altamente inestables y tendrían un tiempo de vida reducido.

Las controversias no terminaron allí. Luego de que la transdiferenciación fuera refutada aduciendo que lo que verdaderamente ocurría era fusión celular, volvieron a aparecer trabajos demostrando que la transdiferenciación era una verdadera característica de las células troncales, independiente de la fusión celular⁸².

Un problema asociado con el uso de células de médula ósea es el que ellas pueden diferenciarse en tipos celulares no deseados, como fibroblastos, que al ser implantadas en una cicatriz fibrótica, se corre el riesgo de generar una cicatriz dentro de otra cicatriz⁴⁵. Esto, además, contribuiría a una incompleta integración de las células troncales dentro del miocardio, lo cual aumentaría el riesgo de arritmias ventriculares⁸³. Hasta el momento no existen publicaciones que muestren la formación de tumores en humanos, ni diferenciación ectópica, tal como formación de hueso.

La utilización de células de médula ósea no termina sólo con la búsqueda de células musculares cardíacas. Otro tipo de células troncales obtenida de médula ósea e incluso de sangre periférica es la formada por las células CD133⁸⁴⁻⁸⁶, que pueden diferenciarse en células endoteliales maduras y contribuirían a la neovascularización. Están caracterizadas por los marcadores de superficie CD133, CD34 y el receptor de VEGF. Estas células pier-

den gradualmente sus propiedades de células progenitoras y migran a la circulación sistémica, expresando marcadores de células endoteliales maduras, como ser VE-cadherina, óxido nítrico sintasa endotelial y el factor de Von Willebrand⁸⁷, y serían útiles como estrategia para obtener angiogénesis, por su capacidad natural de ser incorporadas en los focos de neovascularización y segregar potentes ligandos angiogénicos y citoquinas^{88, 89}.

Trabajos recientes han sugerido también que existen células endoteliales progenitoras originadas a partir de médula ósea y del endotelio vascular⁹⁰, que circulan por la sangre periférica, incrementando su movilización después de un infarto y produciendo aumento de la neovascularización y mejoría de la función ventricular⁹¹.

Transferencia a través de nanotubos

Se discutieron ya los mecanismos de transdiferenciación y fusión, que hacen que células de un determinado linaje se reprogramen adoptando características de otro tipo celular y se comporten como tales en un nuevo ambiente físico. A esos mecanismos se agrega un nuevo mecanismo basado en la transferencia de material de una célula a otra por nanotubos a través de los cuales se transferiría dicho material⁹². Los nanotubos son estructuras intercelulares que se observan entre pares de células vecinas y también entre redes celulares. Una publicación reciente refiere que cuando se co-cultivaron células progenitoras endoteliales humanas con miocitos cardíacos de rata, se observaron nanotubos con un diámetro de 50 a 800 nm y un largo de 5 a 120 μm . A través de esos nanotubos se producía el transporte e intercambio de proteínas y organelas celulares, como mitocondrias, entre los dos tipos celulares. Estas estructuras fueron transitorias y contribuirían a la adquisición, por parte de una determinada célula, de características fenotípicas de otra⁹³.

Células troncales (stem) cardíacas nativas

En los últimos años surgieron evidencias de que el corazón puede contener una población nativa de células progenitoras con potencial cardiomiogénico. Beltrami y colaboradores aislaron una subpoblación de células Lin⁻ c-kit⁺ a partir de corazones de rata adulta, que tanto *in vitro* como *in vivo* exhibían propiedades de células troncales cardíacas o bien su progenie inmediata⁶⁷. Son células altamente proliferativas y multipotenciales, capaces de autorrenovación, que pueden diferenciarse a cardiomiocitos, células de músculo liso y endoteliales. Si bien estas células no presentaban contracción espontánea en el cultivo, al ser implantadas en el miocardio infartado lograron la regeneración funcional del músculo cardíaco. Dawn y colaboradores informaron que estas mismas células, administradas intracoronariamente, atra-

vesaban la barrera vascular y mejoraban la función ventricular después de un infarto en ratas⁹⁴.

Otros autores⁹⁵ aislaron una subpoblación de células Sca-1⁺ con alta actividad de telomerasa, a partir de corazón de ratón adulto. Inmediatamente después del aislamiento, estas células no expresaban ningún marcador de genes estructurales cardíacos, ni de progenitores endoteliales o hemopoyéticos, pero sufrían diferenciación *in vitro* como respuesta al tratamiento con 5'-azacitidina, un agente demetilante análogo de citosina. Estas células, inyectadas en un miocardio infartado, se alojaban y establecían en él, mostrando marcadores de diferenciación cardíaca y también fusión con células huésped.

Messina y colaboradores obtuvieron células indiferenciadas a partir de aurícula y ventrículo de corazón humano, con características de células troncales cardíacas, que desarrollaron *in vitro* formando agregados celulares en suspensión. Las cardioesferas contenían una mezcla de células troncales, células progenitoras con distintos grados de diferenciación, cardiomiocitos y células vasculares ya diferenciadas, y fueron capaces de producir los principales tipos celulares especializados del corazón, tanto *in vitro* como *in vivo* después de ser implantadas en el miocardio lesionado⁹⁶.

A principios del año 2005 se publicó un trabajo que demostró la existencia de células troncales cardíacas residentes en el corazón, con capacidad de dividirse, automantenerse y diferenciar a células musculares cardíacas adultas, agrupadas en ambas aurículas de corazón pos-natal de rata, ratón y humano. Se identificaron por la expresión del factor de transcripción isl-1. Los autores las consideraron células remanentes de una población de células troncales cardíacas del corazón embrionario y fetal en desarrollo, y su número disminuye con la edad. Representan auténticas células troncales cardíacas endógenas, mostrando una conversión altamente eficiente a fenotipo cardíaco maduro, con expresión estable de marcadores miocíticos⁹⁷.

En el mismo año se hallaron células troncales cardíacas nativas con capacidad de regular la homeostasis fisiológica del órgano y de regeneración después de un infarto. Es un trabajo experimental en perros, y las células fueron caracterizadas como Lin⁻ y Sca-1⁺ o c-kit⁺ o estos dos últimos en conjunto, y carecían de marcadores de células hemopoyéticas, musculares esqueléticas o cardíacas. Los autores plantean que existe en el corazón un compartimiento de células troncales que pueden ser activadas y reclutadas por la acción de factores de crecimiento como HGF o IGF. Después de un infarto, la inyección intramiocárdica de esos factores de crecimiento estimuló a las células troncales residentes cardíacas, produciendo nuevos vasos coronarios y miocitos que expresaban proteínas nucleares y citoplasmáticas específicas de cardiomiocitos. A su vez, esto se tradujo en una mejoría de la capacidad contráctil de la pared. Se-

gún los autores, el uso de factores de crecimiento sería factible como terapéutica de reparación cardíaca por su acción como estimuladores de la movilización de las células troncales cardíacas⁹⁸.

En este sentido, el uso del factor estimulante de colonias granulocíticas (G-CSF) para la movilización de células troncales ha sido ya probado en investigación clínica, en pacientes con infarto. Si bien los autores destacan una recuperación en la fracción de eyección del ventrículo izquierdo en los pacientes tratados, no es posible aún sacar conclusiones definitivas acerca de las ventajas de esta terapéutica⁹⁹.

Es de destacar que todas las células troncales aisladas de corazón mencionadas comparten los marcadores con distintas subpoblaciones de la médula ósea (Lin⁻, ckit⁺, Sca⁺). No así el trabajo de Laugwitz ya mencionado, en el cual las células aisladas fueron identificadas por un marcador que no existe en ningún tipo celular proveniente de médula ósea (Isl-1⁺). Si las células troncales cardíacas son generadas en el miocardio o migran desde la médula ósea después de un daño cardíaco, reponiendo el tejido, es un problema no resuelto²⁰.

Desafíos y promesas de las células troncales

Desde que Prometeo fue castigado por los dioses y su hígado devorado y renovado rápidamente, la humanidad busca la capacidad regenerativa que permita la reconstrucción de órganos dañados por distintas circunstancias. El hígado tiene una capacidad regenerativa incomparable respecto de los otros órganos del ser humano. Qué es lo que determina ese potencial en ese órgano y es tan diferente en otros, como por ejemplo el corazón. La muerte de las células musculares cardíacas, sin la consiguiente generación de nuevas células, es la base de las enfermedades cardíacas, tanto agudas como crónicas.

Las células troncales pueden ser obtenidas a partir de diversos tejidos, aun de aquellos que históricamente fueron considerados absolutamente incapaces de regeneración, como el sistema nervioso o el corazón. El individuo adulto posee células multi y aun pluripotentes probablemente surgidas en estadios embrionarios antes o después de la determinación en las capas germinales, y mantenidas hasta la adultez. Quizás este recurso, que tantos interrogantes plantea todavía, le permitirá al hombre contar con una reserva de células con alta potencialidad que, bajo apropiadas condiciones de manipulación, permita su utilización en la medicina regenerativa, que quizás sea la medicina del futuro.

Bibliografía

- McCulloch EA, Till JE. Perspectives on the properties of stem cells. *Nature Medicine* 2005; 11: 1026-8.
- Loeffler M, Potten CS. Stem cells and cellular pedigree - a conceptual introduction. In: Stem Cells. CS Potten (eds). London: Academic press 1997, p1-27.
- Maltsev VA, Rohwedel J, Hescheler J, Wobus AM. Embryonic stem cells differentiate in vitro into cardiomyocytes representing sinusnodal, atrial and ventricular cell types. *Mech Dev* 1993; 44: 41-50.
- Stem cells: Scientific Progress and future research directions. Department of health and human services. 2001; pp ES1-ES10. En: <http://www.nih.gov/news/stemcell/scirepor.htm>.
- Prosper F, Verfaillie C. Células madre adultas. *An Sist Sanit Navar* 2003; 26: 345-56.
- Zipori D. The stem state: plasticity is essential, whereas self-renewal and hierarchy are optional. *Stem Cells* 2005; 23: 719-26.
- Bach SP, Renehan AG, Potten CS. Stem cells: the intestinal stem cells as a paradigm. *Carcinogenesis* 2000; 21: 469-76.
- Blanpain C, Lowry W, Geoghegan A, Polak L, Fuchs E. Self-renewal, multipotency, and the existence of two cell populations within an epithelial stem cell niche. *Cell* 2004; 118: 635-48.
- Webb A, Li A, Kaur P. Location and phenotype of human adult keratinocyte stem cells of the skin. *Differentiation* 2004; 72: 387-95.
- Faris RA, Konkin T, Halpert G. Liver stem cells: a potential source of hepatocytes for the treatment of human liver disease. *Artificial Organs* 2001; 25: 513-21.
- Lorenti A. Células progenitoras hepáticas. *Medicina (Buenos Aires)* 2001; 61: 614-20.
- Bouwens L, Rooman I. Regulation of pancreatic beta-cell mass. *Physiol Rev.* 2005; 85: 1255-70.
- Weissman IL. Stem cells: units of development, units of regeneration, and units in evolution. *Cell* 2000; 100: 157-68.
- Haller H, de Groot K, Bahlmann F, Elger M, Fliser D. Stem cells and progenitor cells in renal disease. *Kidney International* 2005; 68: 1932-6.
- Kitamura S, Yamasaki Y, Makino H. Establishment of renal stem/progenitor-like cell line from S3 segment of proximal tubules in adult rat kidney. *Kidney International* 2005; 68: 1966.
- Rosenzweig A. Circulating endothelial progenitors—cells as biomarkers. *NEJM* 2005; 353: 1055-7.
- Gage FH, Ray J, Fisher LJ. Isolation, characterization, and use of stem cells from the CNS. *Annu Rev Neurosci* 1995; 18: 159-92.
- Clarke DL, Johansson CB, Wilbertz J, et al. Generalized potential of adult neural stem cells. *Science* 2000; 288: 1660-3.
- Zammit P, Beauchamp J. The skeletal muscle satellite cell: stem cell or son of stem cell. *Differentiation* 2001; 68: 193-204.
- Urbanek K, Torella D, Sheikh F, et al. Myocardial regeneration by activation of multipotent cardiac stem cells in ischemic heart failure. *PNAS* 2005; 102: 8692-7.
- Michalopoulos GK, De Frances MC. Liver regeneration. *Science* 1997; 276: 60-6.
- Fausto. Liver regeneration. *Journal of Hepatology* 2000; 32 (Suppl 1): 19-31.
- Mauro A. Satellite cell of skeletal muscle fibers. *J Biophys Biochem Cytol* 1961;9: 493-7.
- Alameddine HS, Louboutin JP, Dehaupas M, Sebille A, Fardeau M. Functional recovery induced by satellite cell grafts in irreversibly injured muscles. *Cell Transplantation* 1994; 3: 3-14.
- Anversa P, Kajstura J. Ventricular myocytes are not

- terminally differentiated in the adult mammalian heart. *Circ Res*. 1998; 83: 1-14.
26. Anversa P, Rota M, Urbaneck K, et al. Myocardial aging. A stem cell problem. *Basic Res Cardiol*. 2005; 100: 482-93.
 27. Leri A, Kajstura J, Anversa P. Cardiac stem cells and mechanisms of myocardial regeneration. *Physiol Rev*. 2005; 85: 1373-416.
 28. Morgan JP. Cellular physiology of myocyte contraction. In: Heart Failure. Poole-Wilson P, Colucci W, Massie B, Chatterjee K, Coats A (eds). Churchill Livingstone Inc. 1997, p 1-11.
 29. Schoen F. El corazón. En: Patología Estructural y Funcional. SL Robbins, RS Cotran (eds). Nueva Editorial Interamericana. 5° Edición, 1995, pp: 573-89.
 30. Beltrami A, Urbaneck K, Kajstura J, et al. Evidence that human cardiac myocytes divide after myocardial infarction. *NEJM* 2001; 344: 1750-7.
 31. Mathur A, Martin JF. Stem cells and repair of the heart. *The Lancet* 2004; 364: 183-92.
 32. Ross J. Cell-extracellular matrix interactions. En: Frontiers in Tissue Engineering. CW Patrick, A Mikos, L McIntire (eds). Elsevier Science Ltd. UK 1998, p 15-27.
 33. Bock-Marquette I, Saxena A, White M, DiMalo J, Srivastava D. Thymosin β_4 activates integrin-linked kinase and promotes cardiac cell migration, survival and cardiac repair. *Nature* 2004; 432: 466-72.
 34. Kadiyala S, Young RG, Thiede MA, Bruder SP. Culture expanded canine mesenchymal stem cells possess osteochondrogenic potential in vivo and in vitro. *Cell Transplantation* 1997; 6: 125-34.
 35. Strom S, Chowdhury JR, Fox IY. Hepatocyte transplantation for the treatment of human disease. *Seminars in Liver Disease* 1999; 19: 39-48.
 36. Nadal-Ginard B. Inducción de nuevos cardiomiocitos en el corazón adulto: futuro de la regeneración miocárdica como alternativa al trasplante. *Rev Esp Cardiol* 2001; 54: 543-50.
 37. Kubo K, Kuroyanagi Y. Development of a cultured dermal substitute composed of a spongy matrix of hyaluronic acid and atelo-collagen combined with fibroblasts: cryopreservation. *Artificial Organs* 2004; 28: 182-8.
 38. Kim WS, Vacanti JP, Cima L, et al. Cartilage engineered in predetermined shapes employing cell transplantation on synthetic biodegradable polymers. *Plast Reconstr Surg* 1994; 94: 233-40.
 39. Pouly J, Hagege AA, Vilquin JT, et al. Does the functional efficacy of skeletal myoblast transplantation extend to nonischemic cardiomyopathy?. *Circulation* 2004; 110: 1626-31.
 40. Menasché P, Desnos M. Cardiac reparation: fixing the heart with cells, new vessels and genes. *Eur Heart J* 2002; 4: 73-4.
 41. Dimmeler S, Zeiher AM. Wanted! The best cell for cardiac regeneration. *J Am Coll Cardiol*. 2004; 44: 464-6.
 42. Atkins B, Hueman M, Meuchel J, Cottman M, Hutcheson K, Taylor D. Myogenic cell transplantation improves in vivo regional performance in infarcted rabbit myocardium. *J Heart Lung Transplant*. 1999; 18: 1173-80.
 43. Menasché P, Hagege A, Scorsin M, et al. Myoblast transplantation for heart failure. *The Lancet* 2001; 357: 279-80.
 44. Hassink RJ, Brutel de la Rivière A, Mummery CL, Doevendans P. Transplantation of cells for cardiac repair. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41: 711-8.
 45. Chachques J, Acar C, Herreros J, et al. Cellular Cardiomypoplasty: Clinical Application. *Ann Thorac Surg* 2004; 77: 1121-30.
 46. Caviedes R, Liberona J, Hidalgo J, Tascon S, Salas K, Jaimovich E. A human skeletal cell line obtained from an adult donor. *Biochimica et Biophysica Acta* 1992; 1134: 247-55.
 47. Camargo FD, Chambers SM, Goodell MA. Stem cell plasticity: from transdifferentiation to macrophage fusion. *Cell Prolif* 2004; 37: 55-65.
 48. Sell S. Stem cell origin of cancer and differentiation therapy. *Critical Reviews in Oncology/hematology* 2004; 51: 1-28.
 49. Bjornson C, Rietze R, Reynolds B, Magli C, Vescovi A. Turning brain into blood: a hematopoietic fate adopted by adult neural stem cells in vivo. *Science* 1999; 283: 534-7.
 50. Donovan PJ, Gearhart J. The end of the beginning for pluripotent stem cells. *Nature* 2001; 414: 92-7.
 51. Jiang Y, Jahagirdar B, Reinhardt L, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 2002; 418: 41-9.
 52. Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M, et al. Purified Hematopoietic Stem Cells Can Differentiate Into Hepatocytes In Vivo. *Nature Medicine* 2000; 6: 1229-34.
 53. Zuk P, Zhu M, Ashjian P, et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Molecular Biology of the Cell* 2002; 13: 4279-95.
 54. Orlic D, Hill J, Arai A. Stem cells for myocardial regeneration. *Circ Res* 2002; 91: 1092-102.
 55. Orlic D. The strength of plasticity: stem cells for cardiac repair. *Int J Cardiol* 2004; 95 Suppl 1: S16-9.
 56. Zhang Y, Bai XF, Huang CX. Hepatic stem cells: existence and origin. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 201-4.
 57. Bianco P, Riminucci M, Gronthos S, Gehron Robey P. Bone marrow stromal cells: nature, biology, and potential applications. *Stem Cells* 2001; 19: 180-92.
 58. Fukuda K. Development of regenerative cardiomyocytes from mesenchymal stem cells for cardiovascular tissue engineering. *Artificial Organs* 2001; 25: 187-93.
 59. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival. *PNAS* 2001; 98: 10344-49.
 60. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 2001; 410: 701-5.
 61. Zuk P, Zhu M, Mizuno H, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Engineering* 2001; 7: 211-28.
 62. Tomita S. Cell-based therapy to regenerate myocardium: from bench to bedside. *Artificial Organs* 2004; 28: 40-4.
 63. Lu L, Zhang J, Ramires F, Sun Y. Molecular and cellular events at the site of myocardial infarction: from the perspective of rebuilding myocardial tissue. *Biochemical and Biophysical Research Communication* 2004; 320: 907-13.
 64. Rezaei N, Podor T, McManus B. Bone marrow cells in the repair and modulation of heart and blood vessels: emerging opportunities in native and engineered tissue and biomechanical materials. *Artificial Organs* 2004; 28: 142-51.
 65. Rosenthal N. Prometheus's vulture and the stem-cell promise. *NEJM* 2003; 349: 267-74.
 66. Perin E, Geng Y, Willerson J. Adult stem cell therapy in perspective. *Circulation* 2003; 107: 935-8.
 67. Beltrami A, Barlucchi L, Torella D, et al. Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. *Cell* 2003; 114: 763-76.
 68. Jackson K, Majka S, Wang H, et al. Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells. *J Clin Invest* 2001; 107: 1395-402.
 69. Yoon YS, Wecker A, Heyd L, et al. Clonally expanded novel multipotent stem cells from human bone marrow regenerate myocardium after myocardial infarction. *J Clin Invest* 2005; 115: 326-38.

70. Hamano K, Nishida M, Hirata K, et al. Local implantation of autologous bone marrow cells for therapeutic angiogenesis in patients with ischemic heart disease: clinical trial and preliminary results. *Jpn Circ J* 2001; 65: 845-7.
71. Assmus B, Schächinger V, Teupe C, et al. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI). *Circulation* 2002; 106: 3009-17.
72. Wollert KC, Meyer GP, Lotz J, et al. Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomised controlled clinical trial. *The Lancet* 2004; 364: 141-8.
73. Cleland JG, Freemantle N, Coletta AP, Clark AL. Clinical trials update from the American Heart Association: REPAIR-AMI, ASTAMI, JELIS, MEGA, REVIVE-II, SUR-VIVE, and PROACTIVE. *Eur J Heart Fail* 2006; 8: 105-10.
74. Menasche P. The potential of embryonic stem cells to treat heart disease. *Curr Opin Mol Ther* 2005; 7: 293-9.
75. Menard C, Hagege AA, Agbulut O, et al. Transplantation of cardiac-committed mouse embryonic stem cells to infarcted sheep myocardium: a preclinical study. *The Lancet* 2005; 366: 1005-12.
76. Balsam L, Wagers A, Christensen J, Kofidis T, Weissman I, Robbins R. Haematopoietic stem cells adopt mature haematopoietic fates in ischaemic myocardium. *Nature* 2004; 428: 668-73.
77. Murry CE, Soonpaa M, Reinecke H, et al. Haematopoietic stem cells do not transdifferentiate into cardiac myocytes in myocardial infarcts. *Nature* 2004; 428: 664-8.
78. Terada N, Hamazaki T, Oka M, et al. Bone marrow cells adopt the phenotype of other cells by spontaneous cell fusion. *Nature* 2002; 416: 542-5.
79. Ying QL, Nichols J, Evans EP, Smith AG. Changing potency by spontaneous fusion. *Nature* 2002; 416: 545-8.
80. Wang X, Willenbring H, Akkari Y, et al. Cell fusion is the principal source of bone-marrow-derived hepatocytes. *Nature* 2003; 422: 897-901.
81. Alvarez-Dolado M, Pardo R, Garcia-Verdugo J, et al. Fusion of bone-marrow-derived cells with Purkinje neurons, cardiomyocytes and hepatocytes. *Nature* 2003; 425: 968-73.
82. Wurmser AE, Nakashima K, Summers RG, et al. Cell fusion-independent differentiation of neural stem cells to the endothelial lineage. *Nature* 2004; 430: 350-6.
83. Lee M, Lill M, Makkar R. Stem Cell Transplantation in Myocardial Infarction. *Rev Cardiovasc Med* 2004; 5: 82-98.
84. Amrani DL, Port S. Cardiovascular disease: potential impact of stem cell therapy. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2003; 1: 453-61.
85. Stamm C, Westphal B, Kleine HD, et al. Autologous bone-marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration. *The Lancet* 2003; 361: 45-6.
86. Agbulut O, Vandervelde S, Al Attar N, et al. Comparison of human skeletal myoblasts and bone marrow-derived CD133+ progenitors for the repair of infarcted myocardium. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44: 458-63.
87. Hristov M, Weber C. Endothelial progenitor cells: characterization, pathophysiology, and possible clinical relevance. *J Cell Mol Med* 2004; 8: 498-508.
88. Kamihata H, Matsubara H, Nishiue T, Fujiyama S, Tsutsumi Y, Ozono R. Implantation of bone marrow mononuclear cells into ischemic myocardium enhances collateral perfusion and regional function via side supply of angioblasts, angiogenic ligands and cytokines. *Circulation* 2001; 104: 1046-52.
89. Tomita S, Li R, Weisel R, et al. Autologous transplantation of bone marrow cells improves damaged heart function. *Circulation* 1999; 100 (Suppl II): II 247-56.
90. Swynghedauw B. Is adult cardiac myocyte still able to proliferate?. *Med Sci (Paris)* 2004; 20: 710-4.
91. Kim E, Li R, Weisel R, et al. Angiogenesis by endothelial cell transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2001; 122: 963-71.
92. Rustom A, Saffrich R, Markovic I, Walther P, Gerdes H. Nanotubular highways for intercellular organelle transport. *Science* 2004; 303: 1007-10.
93. Koyanagi M, Brandes R, Haendeler J, Zeiher A, Dimmeler S. Cell-to-cell connection of endothelial progenitor cells with cardiac myocytes by nanotubes. *Circ Res* 2005; 96: 1039-41.
94. Dawn B, Stein AB, Urbanek K, et al. Cardiac stem cells delivered intravascularly traverse the vessel barrier, regenerate infarcted myocardium, and improve cardiac function. *PNAS* 2005; 102: 3766-71.
95. Oh H, Bradfute S, Gallardo T, et al. Cardiac progenitor cells from adult myocardium: homing, differentiation, and fusion after infarction. *PNAS* 2003; 100: 12313-18.
96. Messina E, De Angelis L, Frati G, et al. Isolation and expansion of adult cardiac stem cells from human and murine heart. *Circ Res* 2004; 95: 911-21.
97. Laugwitz K, Moretti A, Lam J, et al. Postnatal isl1+ cardioblasts enter fully differentiated cardiomyocyte lineages. *Nature* 2005; 433: 647-53.
98. Linke A, Müller P, Nurzynska D, et al. Stem cells in the dog heart are self-renewing, clonogenic, and multipotent and regenerate infarcted myocardium, improving cardiac function. *PNAS* 2005; 102: 8966-71.
99. Wollert K, Drexler H. Clinical applications of stem cells for the heart. *Circ Res* 2005; 96: 151-63.

- - - -

Hay una dignidad del cuerpo que se va perdiendo con los años.

Julio Llinás

Querida vida. Buenos Aires: Sudamericana, 2005, p 77