



ARTIGO DE REVISÃO

Terapia celular cardíaca com células mesenquimatosas

João Pedro Lopes*, António Fiarresga, Pedro Silva Cunha, Joana Feliciano, Rui Cruz Ferreira

Serviço de Cardiologia, Hospital de Santa Marta, Centro Hospitalar Lisboa Central, Lisboa, Portugal

Recebido a 10 de abril de 2012; aceite a 3 de maio de 2012
Disponível na Internet a 24 de novembro de 2012

PALAVRAS-CHAVE

Células precursoras do mesênquima;
Sistema cardiovascular;
Cardiopatia isquémica;
Insuficiência cardíaca;
Disritmias;
Investigação translacional

KEYWORDS

Mesenchymal stem cells;
Cardiovascular system;
Myocardial ischemia;
Heart failure;
Arrhythmias;
Translational research

Resumo A doença cardiovascular é uma das principais causas de mortalidade e morbilidade em todo o mundo e, apesar de os avanços na terapêutica médica e intervenção percutânea, o prognóstico de doenças como a cardiopatia isquémica e o pós-enfarte do miocárdio continuam a ser consideravelmente inferiores ao desejado. Essa situação justifica a aposta na investigação de novas ferramentas terapêuticas, como é o caso da terapia com células estaminais. O conhecimento mais vasto das células de linhagem hematopoiética levou à sua utilização numa primeira fase, tanto em investigação pré-clínica como clínica. A existência de alguns resultados controversos e de uma melhoria correspondente às expectativas iniciais abriu a caminho a outros tipos celulares com potencial terapêutico, como é o caso das células precursoras do mesênquima. Estas células têm características imunomoduladoras que lhes conferem um racional de utilidade terapêutica em várias áreas da Cardiologia. Neste artigo, os autores efetuam a revisão do estado da arte relativo à utilização de células precursoras do mesênquima, desde a sua investigação pré-clínica até à sua utilização em ensaios clínicos em doentes com cardiopatia isquémica, insuficiência cardíaca de várias etiologias ou disritmias. É ainda perspetivado o futuro da utilização destas células.

© 2012 Sociedade Portuguesa de Cardiologia. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos os direitos reservados.

Mesenchymal stem cell therapy in heart disease

Abstract Cardiovascular disease is among the main causes of mortality and morbidity worldwide. Despite significant advances in medical and interventional therapy, the prognosis of conditions such as ischemic heart disease is still dismal. There is thus a need to investigate new therapeutic tools, one of which is stem cell therapy. Hematopoietic stem cells are the most studied type, and the fact that their biology is relatively well understood has led to their being used in preclinical research and clinical trials. However, the results of some of these studies have been controversial, which has opened the way for studies on other cell types, such as mesenchymal stem cells. These cells have immunomodulatory properties which suggest that they have therapeutic potential in cardiology. In the present article, the authors review the

* Autor para correspondência.

Correio eletrónico: joapedrolopes@sapo.pt (J.P. Lopes).

state of the art regarding mesenchymal stem cells, from basic and translational research to their use in clinical trials on ischemic heart disease, heart failure and arrhythmias, and discuss possible future uses.

© 2012 Sociedade Portuguesa de Cardiologia Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introdução

A doença cardiovascular é uma das principais causas de mortalidade e morbidade em todo o mundo, frequentemente a principal. Apesar de os consideráveis avanços registados nos últimos anos, quer ao nível da terapêutica médica quer da intervenção percutânea, o prognóstico de patologias como a cardiopatia isquémica após enfarte agudo do miocárdio (EAM) continua sombrio para um número significativo de doentes¹, justificando a intensa procura no sentido de descobrir novas ferramentas de aplicação terapêutica.

Uma dessas ferramentas, com reconhecido potencial, são as células estaminais, dada a sua capacidade de diferenciação em células mais maduras, que eventualmente terão a capacidade de regeneração de tecido estrutural e funcionalmente deficiente.

As células estaminais de linhagem hematopoiética foram as primeiras a ser estudadas quer a nível pré-clínico, quer clínico. O conhecimento da sua biologia assenta num longo período de investigação animal e, posteriormente, na sua aplicação prática, sobretudo no campo da Hematologia, em que a sua utilidade clínica se encontra já estabelecida. Numerosos ensaios clínicos foram realizados também na área cardiovascular², mas alguma controvérsia relativa aos resultados desses estudos, acompanhada do facto de mesmo os resultados positivos não se revestirem de um impacto clinicamente tão relevante como inicialmente esperado, levaram os investigadores a considerar outros tipos celulares como possíveis meios terapêuticos.

Pelas suas características intrínsecas, as células precursoras do mesênquima (MPC) são um dos tipos celulares mais promissores, uma vez que o seu forte componente parácrino lhes confere um potencial imunomodulador, com acção anti-inflamatória e antiapoptótica, que se poderão revelar fundamentais para contrariar os mecanismos patológicos envolvidos em várias doenças do sistema cardiovascular, tendo ainda um eventual potencial de transdiferenciação em cardiomiócitos³.

Neste artigo, os autores procedem à revisão do estado da arte no que toca às aplicações translacionais deste tipo celular, desde a sua investigação pré-clínica até à sua utilização em ensaios clínicos em várias áreas da Cardiologia.

Estado da arte

Investigação pré-clínica

A investigação pré-clínica é naturalmente mais extensa do que a clínica, nas várias áreas de utilização das MPC, abrangendo o processo desde a sua colheita até ao seu processamento e aplicação.

A diferenciação *in vitro* das MPC em cardiomiócitos foi pela primeira vez demonstrada em 1999 por Makino et al.⁴. Em 2004, Wang et al.⁵ mostraram, num modelo de coelho com enfarte, o elevado potencial da aplicação de MPC na regeneração miocárdica, com impacto considerável mesmo ao nível da mortalidade (16,7 *versus* 35% no grupo tratado *versus* controlo, $p < 0,05$). Neste e outros modelos animais, foram ainda reconhecidas as vantagens de diferentes tratamentos das células estaminais antes da sua aplicação. Hattan et al.⁶, em 2005, procederam à purificação de cardiomiócitos *in vitro*, a partir de MPC da medula óssea, que foram aplicados na forma diferenciada no coração do rato adulto, tendo demonstrado que, após 3 meses, as células transplantadas tinham sobrevivido, mantendo-se orientadas da mesma forma do que as células do coração adulto.

Existe uma evidência cada vez mais expressiva e consensual sobre os múltiplos efeitos parácrinos das MPC. Mesmo na ausência de substituição celular, estes efeitos podem contribuir para alterações no *remodeling* cardíaco, para a angiogénese e citoproteção, com tradução em benefícios clínicos consideráveis. Dai et al., em 2007⁷, mostraram num modelo de rato que a injeção de um meio contendo factores celulares produzidos pelas MPC era favorável à regeneração miocárdica no pós-enfarte, embora menos marcada do que quando acompanhada da injeção das próprias células. No mesmo ano, Ohnishi et al.⁸ verificaram o importante papel das MPC na inibição da fibrose cardíaca, através do controlo da produção de colagénio pelos fibroblastos cardíacos, e na própria proliferação dos últimos.

O ambiente hostil da zona isquémica criada pelo fenómeno de EAM condiciona a morte precoce de muitas das MPC aplicadas. Alguns estudos mostram que o pré-condicionamento isquémico das células pode ajudar a ultrapassar essa situação. Em 2005, Tang et al.⁹ mostraram *in vivo*, num modelo de rato, que esse tratamento celular prévio melhorava a viabilidade celular no coração isquémico, através de um aumento da sobrevivência das MPC. Este procedimento tem continuado a ser estudado, e ainda recentemente, em Dezembro de 2010, Chacko et al.¹⁰ verificaram uma expressão otimizada das MPC quando cultivadas em normóxia numa primeira fase, seguida de hipóxia durante as 24 h pré-administração.

Em 2006, Amado et al.¹¹ demonstraram a utilidade da ressonância magnética nuclear (RMN) cardíaca para verificar o processo de reparação do miocárdio após terapia com MPC, num estudo em modelo suíno em que se verificou a regeneração de tecido viável e com actividade contráctil numa área previamente fibrosada.

A segurança e viabilidade da administração das células é uma das principais preocupações. Em 2009, Llano et al.¹² mostraram no modelo suíno que a infusão de MPC melhora o fluxo coronário distal quando realizada num bólus

único de 20 mL/min, um avanço relativamente a estudos prévios que mostravam que administrações múltiplas condicionavam a diminuição do fluxo coronário distal. A via de administração também mostra diferentes graus de eficácia, sobretudo ao nível do *homing* imediato, tendo como exemplo o estudo de Hale et al.¹³, no final de 2008, em que, num modelo de rato com enfarte, a administração intracoronária levou a uma retenção de 15% das células no coração, enquanto a via endovenosa não permitiu a retenção de qualquer célula. Já em 2009¹⁴, o mesmo grupo utilizou uma matriz de colagénio para aplicação das MPC, aumentando a retenção de células no tecido lesado, embora sem melhoria significativa da função miocárdica. A busca pela melhor via de administração é contínua e, ainda em abril de 2011, Hamdi et al.¹⁵ mostraram excelentes resultados com a administração de MPC por via epicárdica, em modelo de enfarte de rato.

Vários estudos têm demonstrado um efeito benéfico da transplantação de MPC em modelos animais de doença cardíaca, sobretudo no pós-enfarte, mas também na cardiomiopatia não-ischémica ou em outras patologias do foro cardiovascular. No final de 2009, Umar et al.¹⁶ mostraram que a aplicação de MPC num modelo de rato com hipertensão pulmonar (HTP) teve efeito sobre a fisiopatologia da doença, diminuindo a HTP e, consequentemente, a sobrecarga sobre o ventrículo direito.

Doença coronária

Embora sejam ainda poucos os estudos clínicos concluídos, esta é a área mais estudada até ao momento.

Em 2004, Chen et al. injetaram MPC por via intracoronária 18 dias após EAM em 69 doentes¹⁷. Houve uma melhoria significativa da fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE) nos doentes tratados. Estes doentes mantiveram uma boa evolução e não foram detetadas complicações relacionadas com a utilização das MPC.

Katritsis¹⁸ apresentou em 2005 os resultados de 11 doentes com EAM tratados com MPC autólogas e células progenitoras do endotélio. Nesta população, não houve efeitos adversos relacionados com a terapêutica e observou-se uma melhoria da função ventricular esquerda e uma diminuição da cicatriz miocárdica avaliada por cintigrafia.

Em 2009 Hare et al.¹⁹ mostraram os resultados de um ensaio clínico, aleatorizado e duplamente cego, com injeção intravenosa de MPC alogénicas (Prochymal® Osiris Therapeutics) em 60 doentes com EAM. Os doentes tratados tiveram um menor número de eventos arritmicos. Este mesmo grupo, da *Miller School of Medicine da University of Miami*, tem 2 ensaios a decorrer com MPC na cardiomiopatia isquémica. No PROMETHEUS, doentes com indicação para revascularização miocárdica cirúrgica e FEVE entre 20-50% vão receber por injeção intramiocárdica directa 20 x 10⁶ ou 200 x 10⁶ (grupo dose alta) MPC autólogas. No TAC-HCT, doentes com as mesmas características mas com possibilidade de tratamento percutâneo vão receber as MPC por injeção transendocárdica.

Em 2010, Yang et al.²⁰ publicaram um ensaio com transplantação por via intracoronária de MPC autólogas em 16 doentes com EAM anterior. Nesta população não ocorreram efeitos adversos e houve melhoria da FEVE aos 6 meses.

Também no ano passado, Viswanathan²¹ apresentou os resultados do tratamento de 31 doentes com injeção epicárdica directa no bordo da região de enfarte durante cirurgia cardíaca de revascularização. Novamente, não houve efeitos adversos descritos e ocorreu uma melhoria da perfusão miocárdica nos doentes tratados.

O grupo de Bartunek tem atualmente em curso o *C-CURE trial* em doentes com cardiopatia isquémica crónica, em que são utilizadas células progenitoras cardíacas derivadas de células progenitoras da medula óssea (sujeitas a cultura, expansão e diferenciação num *cocktail* de citocinas). Embora ainda não publicados, foram reportados em abril de 2011, aos 6 meses, resultados preliminares favoráveis, com uma melhoria da FEVE e uma diminuição do volume telessistólico do VE, aguardando-se dados mais concretos deste ensaio.

Entre os vários tipos de células mesenquimatosas existentes, têm suscitado particular interesse as células da linhagem adiposa, em função da sua vasta disponibilidade e de várias experiências pré-clínicas com sucesso. No ensaio clínico APOLLO, foram administradas células de linhagem adiposa em 14 doentes, 24 h após EAM. Embora o objetivo deste ensaio seja a avaliação da segurança e viabilidade deste tipo celular e da técnica, o relatório dos 18 meses de ensaio, comunicado em junho de 2011, mostra uma redução da área de EAM de 11% e uma melhoria da FEVE de 6%.

Insuficiência cardíaca

É conhecida a desregulação dos sistemas Renina-Angiotensina-Aldosterona, neuroendócrino e inflamatório, que ocorre na fisiopatologia da insuficiência cardíaca (IC). A terapêutica farmacológica existente interrompe estes ciclos em diversos níveis, havendo ainda lacunas a preencher para um eficaz tratamento desta patologia. A terapêutica com células estaminais, nomeadamente MPC, com conhecidas propriedades de imunomodulação, tem sentido no tratamento da IC, independentemente da sua etiologia, através da interrupção da cascata de inflamação crónica presente nesta patologia.

Ensaio clínico em humanos que mostrem a sua eficácia no tratamento da IC são poucos, mas apontam para a segurança desta terapêutica.

Em 2006, Wang et al.²², num estudo randomizado, com 24 doentes com cardiomiopatia dilatada não isquémica, submetidos a injeção intracoronária com MPC (n = 12) ou solução salina (grupo controle, 12 doentes) em adição a terapêutica farmacológica *standard*, mostraram que os níveis plasmáticos de BNP diminuíram aos 3 e 6 meses, com melhoria da capacidade funcional avaliada por teste de 6 min de marcha, sem alteração na função ventricular esquerda e sem implicações na sobrevida. Neste estudo, não se registaram complicações *major*, nomeadamente arritmicas, ou efeitos secundários adversos à terapêutica com MPC, apresentando-se como uma terapêutica segura.

Em 2010, Zeinaloo et al.²³ apresentaram um caso clínico com injeção intracoronária de MPC autólogas numa criança com cardiomiopatia dilatada com limitações para transplante cardíaco, com melhoria da classe funcional, qualidade de vida e índices ecocardiográficos de função ventricular esquerda.

Disritmias

Não obstante inúmeros estudos animais, e recentemente humanos, terem demonstrado os benefícios da transplantação de MPC, sobre a hemodinâmica cardíaca, têm sido pouco estudadas as suas consequências arritmicas e electrofisiológicas.

Em 2003 Pak et al.²⁴ demonstraram a existência de desenvolvimento heterogéneo de terminações nervosas simpáticas no miocárdio do porco, após transplantação de MPC, que poderia estar associado a um aumento do risco de disritmias. Contudo, outros investigadores em estudos de experimentação animal, como Amado et al.²⁵, referem, em 2005, que não se observou aumento de morte súbita em porcos, nos quais se efectuou injeção intramiocárdica de MPC, quando comparado com placebo.

Com a implantação de células estaminais no miocárdio, para substituição de tecido lesado, pretende-se que estas se agreguem aos miócitos nativos de forma funcionalmente eficaz, formando-se tecido homogéneo. Como se sabe atualmente, se as células implantadas possuírem electrofisiologia anormal e/ou demonstrarem actividade eléctrica espontânea, podem ser fonte de excitação eléctrica e originar arritmias graves. As células implantadas podem também levar a um aumento na área de bloqueio de condução no tecido miocárdico lesado, mas apenas e só se não se combinarem electricamente com os miócitos sobreviventes.

A eficácia e a ocorrência de arritmias na terapêutica com MPC, depende do número de células, bem como da forma de entrega das mesmas. A via intramiocárdica, tende a causar *clusters* de células incluídas em áreas de tecido não viável, conduzindo a heterogeneidade na condução e, eventualmente, a bloqueio de condução. A via intracoronária parece ser capaz de entregar células de forma mais homogénea, podendo eventualmente conduzir a que as mesmas se agreguem no local anatómico correto.

Ensaio clínico de fase I em que se efectuou transplantação de mioblastos esqueléticos destacaram a importância da avaliação abrangente e sistemática do risco de arritmias, antes dos ensaios em humanos.

Num estudo laboratorial de Chang et al. (2006)²⁶ foi efectuado mapeamento óptico de um modelo *in vitro* de cocultura de MPC transplantadas, tendo sido facilmente induzidas arritmias de reentrada (o equivalente a taquicardia ventricular monomórfica), nas coculturas que possuíam pelo menos 10% de MPC, mas não em culturas contendo 1% de MPC. Estes resultados indicam que as MPC podem ser pró-arritmicas se grandes números de células forem entregues em locais de injeção miocárdica, e sugerem a necessidade de avaliação do risco arritmico em modelos de transplantação de MPC.

Uma outra área da patologia onde a terapêutica com MPC poderá dar frutos são os distúrbios crónicos do ritmo. Neste âmbito, a maioria dos investigadores tem-se focado na hipótese de geração de *pacemakers* biológicos, mas surgem progressivamente maior quantidade de dados na literatura sobre a reparação do nódulo aurículo-ventricular. Ambas as terapêuticas poderiam, em teoria, substituir a actual necessidade de implantação de *pacemakers* electrónicos.

Finalmente, um campo emergente de interesse explora a transplantação de MPC que expressem canais iónicos

específicos com vista à supressão de arritmias focais, constituindo-se, assim, uma estratégia alternativa para a ablação cirúrgica ou mediada por cateter. Uma vez que, neste tipo de aplicação, o número de células a transplantar seria relativamente reduzido, poderá estar próxima a efectiva aplicação clínica.

Direcções futuras

Os resultados dos vários ensaios clínicos já realizados ou em curso fortalecem a ideia, já previamente existente com outros tipos de células estaminais, de que a terapia celular apresenta níveis fiáveis de segurança e viabilidade.

Estabelecida essa ideia, será fundamental acumular evidência dos benefícios da administração deste tipo de células, sendo esse o passo lógico seguinte nesta área. Como exemplo desta evolução, os resultados encorajadores do ensaio APOLLO derivaram na criação do ensaio ADVANCE, atualmente em fase de seleção de doentes, que será um ensaio multicêntrico, com 370 doentes, comparando diferentes doses de MPC de linhagem adiposa com placebo, e em que se tentarão confirmar as conclusões favoráveis do APOLLO.

O pré-tratamento das células injectadas será também um campo de particular enfoque, como mostram os resultados preliminares do *C-CURE* ou outros ensaios em curso. No ensaio MESAM II, doentes com cardiopatia isquémica crónica serão submetidos a injeção intramiocárdica de MPC pré-tratadas com melatonina, após dados pré-clínicos terem mostrado que o pré-tratamento com melatonina aumentava a sobrevivência, actividade parácrina e eficácia terapêutica das MPC em modelo de rato²⁷. Outras formas de pré-tratamento podem passar igualmente, como referido acima, pelo pré-condicionamento isquémico ou por diferentes meios de cultura.

Também a utilização de métodos de modificação genética destas células tem um forte potencial no sentido de as condicionar a sobre-expressar determinados factores que aumentem o seu *homing*, a sua diferenciação em linhagem cardíaca ou a eficácia dos efeitos parácrinos. Neste campo, é fundamental garantir a segurança a curto, médio e longo prazo, da técnica, na medida em que a introdução de alterações genéticas aumenta a necessidade de uma forte vigilância relativa à eventual acumulação de erros no código genético, e sua possível repercussão.

Embora se perspetive um longo caminho de descoberta e esclarecimento, a evidência actual aponta para um papel promissor da terapêutica celular com MPC. Aguardam-se com expectativa os resultados da intensa aposta da actual investigação nesta área do conhecimento.

Responsabilidades éticas

Proteção de pessoas e animais. Os autores declaram que para esta investigação não se realizaram experiências em seres humanos e/ou animais.

Confidencialidade dos dados. Os autores declaram que não aparecem dados de pacientes neste artigo.

Direito à privacidade e consentimento escrito. Os autores declaram que não aparecem dados de pacientes neste artigo.

Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Bibliografia

1. Levy D, Kenchaiah S, Larson MG, et al. Long-term trends in the incidence of and survival with heart failure. *N Engl J Med*. 2002;347:1397–402.
2. Alaiti MA, Ishikawa M, Costa MA. Bone marrow and circulating stem/progenitor cells for regenerative cardiovascular therapy. *Transl Res*. 2010;156:112–29.
3. Pittenger MF, Martin BJ. Mesenchymal stem cells and their potential as cardiac therapeutics. *Circ Res*. 2004;95:9–20.
4. Makino S, Fukuda K, Miyoshi S, et al. Cardiomyocytes can be generated from marrow stromal cells in vitro. *J Clin Invest*. 1999;103:697–705.
5. Wang JA, Li CL, Fan YQ, et al. Allograftic bone marrow-derived mesenchymal stem cells transplanted into heart infarcted model of rabbit to renovate infarcted heart. *J Zhejiang Univ Sci*. 2004;5:1279–85.
6. Hattan N, Kawaguchi H, Ando K, et al. Purified cardiomyocytes from bone marrow mesenchymal stem cells produce stable intracardiac grafts in mice. *Cardiovasc Res*. 2005;65:334–44.
7. Dai W, Hale SL, Kloner RA. Role of a paracrine action of mesenchymal stem cells in the improvement of left ventricular function after coronary artery occlusion in rats. *Regen Med*. 2007;2:63–8.
8. Ohnishi S, Sumiyoshi H, Kitamura S, et al. Mesenchymal stem cells attenuate cardiac fibroblast proliferation and collagen synthesis through paracrine actions. *FEBS Lett*. 2007;581:3961–6.
9. Tang YL, Tang Y, Zhang YC, et al. Improved graft mesenchymal stem cell survival in ischemic heart with a hypoxia-regulated heme oxygenase-1 vector. *J Am Coll Cardiol*. 2005;46:1339–50.
10. Chacko SM, Ahmed S, Selvendiran K, et al. Hypoxic preconditioning induces the expression of pro-survival and proangiogenic markers in mesenchymal stem cells. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2010;299:C1562–70.
11. Amado LC, Schuleri KH, Saliaris AP, et al. Multimodality noninvasive imaging demonstrates in vivo cardiac regeneration after mesenchymal stem cell therapy. *J Am Coll Cardiol*. 2006;48:2116–24.
12. Llano R, Epstein S, Zhou R, et al. Intracoronary delivery of mesenchymal stem cells at high flow rates after myocardial infarction improves distal coronary blood flow and decreases mortality in pigs. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2009;73:251–7.
13. Hale SL, Dai W, Dow JS, et al. Mesenchymal stem cell administration at coronary artery reperfusion in the rat by two delivery routes: a quantitative assessment. *Life Sci*. 2008;83:511–5.
14. Dai W, Hale SL, Kay GL, et al. Delivering stem cells to the heart in a collagen matrix reduces relocation of cells to other organs as assessed by nanoparticle technology. *Regen Med*. 2009;4:387–95.
15. Hamdi H, Planat-Bernard V, Bel A, et al. Epicardial adipose stem cell sheets results in greater post-infarction survival than intramyocardial injections. *Cardiovasc Res*. 2011;91:483–91.
16. Umar S, de Visser YP, Steendijk P, et al. Allogenic stem cell therapy improves right ventricular function by improving lung pathology in rats with pulmonary hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2009;297:H1606–16.
17. Chen SL, Fang WW, Qian J, et al. Improvement of cardiac function after transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cells in patients with acute myocardial infarction. *Chin Med J (Engl)*. 2004;117:1443–8.
18. Katritsis DG, Sotiropoulou PA, Karvouni E, et al. Transcatheter transplantation of autologous mesenchymal stem cells and endothelial progenitors into infarcted human myocardium. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2005;65:321–9.
19. 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.
20. Yang Z, Zhang F, Ma W, et al. A novel approach to transplanting bone marrow stem cells to repair human myocardial infarction: delivery via a noninfarct-related artery. *Cardiovasc Ther*. 2010;28:380–5.
21. Viswanathan C, Davidson Y, Cooper K, et al. Transplantation of autologous bone marrow derived mesenchymal stem cells trans-epicardially in patients undergoing coronary bypass surgery. *Indian Heart J*. 2010;62:43–8.
22. Wang JA, Xie XJ, He H, et al. [A prospective, randomized, controlled trial of autologous mesenchymal stem cells transplantation for dilated cardiomyopathy]. *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi*. 2006;34:107–10.
23. Zeinaloo A, Zanjani KS, Bagheri MM, et al. Intracoronary administration of autologous mesenchymal stem cells in a critically ill patient with dilated cardiomyopathy. *Pediatr Transplant*. 2011;15:E183–6.
24. Pak HN, Qayyum M, Kim DT, et al. Mesenchymal stem cell injection induces cardiac nerve sprouting and increased tenascin expression in a Swine model of myocardial infarction. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2003;14:841–8.
25. Amado LC, Saliaris AP, Schuleri KH, et al. Cardiac repair with intramyocardial injection of allogeneic mesenchymal stem cells after myocardial infarction. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102:11474–9.
26. Chang MG, Tung L, Sekar RB, et al. Proarrhythmic potential of mesenchymal stem cell transplantation revealed in an in vitro coculture model. *Circulation*. 2006;113:1832–41.
27. Mias C, Trouche E, Seguelas MH, et al. Ex vivo pretreatment with melatonin improves survival, proangiogenic/mitogenic activity, and efficiency of mesenchymal stem cells injected into ischemic kidney. *Stem Cells*. 2008;26:1749–57.