

ÉRIKA BRANCO

Uso da via transpericárdica para infusão de células mononucleares de medula óssea em suínos induzidos ao infarto agudo do miocárdio

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor em Ciências

Departamento:

Cirurgia

Área de Concentração:

Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres

Orientadora:

Prof^a. Dr^a. Maria Angelica Miglino

**São Paulo
2007**

RESUMO

BRANCO, E. **Uso da via transpericárdica para infusão de células mononucleares de medula óssea em suínos induzidos ao infarto agudo do miocárdio.** [Use of the transpericardic route for infusion of bone marrow mononuclear cells in acute infarct of the myocardium in induced swines]. 2007. 98 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

As doenças cardiovasculares continuam sendo a primeira causa de morte no Brasil (32%) representando a terceira maior causa de internação hospitalar. Apesar dos avanços terapêuticos das últimas décadas, estudos epidemiológicos consideram o infarto agudo do miocárdio (AMI) uma das maiores causas de morbidade e mortalidade, sendo a maioria, ligados a realização de terapias não adequadas, dos quais 50% das mortes ocorrem nas primeiras 2 horas do ocorrido e 14% morrem antes de receber atendimento médico. O objetivo deste estudo foi de avaliar a técnica de infusão transpericárdica de células mononucleares de medula óssea (CMMO) em suínos. Três suínos fêmeas, pesando 25Kg foram induzidas ao AMI, com auxílio de cateter balão colocado no 1º ramo diagonal da artéria coronária interventricular por 45 minutos, seguido por infusão de 1×10^8 CMMO marcadas com Hoechst® pela via transpericárdica. O grupo controle foi composto por 3 animais, os quais receberam infusão de 1×10^8 CMMO marcadas com Hoechst® através da mesma técnica. Os resultados revelaram distribuição homogênea das CMMO no miocárdio, concentrando-se especialmente na área infartada, enquanto que o grupo controle apresentou distribuição homogênea ao

longo do miocárdio. Nós concluímos que a técnica transpericárdica é viável para infusão de CMMO em processos de isquemia cardíaca.

Palavras-chave: Via transpericárdica. Infarto agudo do miocárdio. Células Mononucleares de Medula Óssea.

ABSTRACT

BRANCO, E. Use of the transpericardic route for infusion of bone marrow mononuclear cells in acute infarct of the myocardium in induced swines. [**Uso da via transpericárdica para infusão de células mononucleares de medula óssea em suínos induzidos ao infarto agudo do miocárdio**]. 2007. 98 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

Cardiovascular illnesses continue to be the first cause of death in Brazil (32%), representing the third major reason of hospital internment. Although the therapeutics advances in the last decades, epidemiologic studies considered the acute myocardium infarct (AMI) to be one of the most causes of morbidity and mortality (30%), most of, related to the institution of non-adequate therapy, thereby 50% of deaths in the early two hours of the event and 14% dying before any medical assistance. Currently therapies include stent angioplasty, thrombolytic medication and aortic-coronary venous grafting; while in experimental area the cellular therapy has been largely investigated being the cells infusion technique investigation the most enthusiastic issue. This study aimed to evaluate the transepocardic infusion technique of bone marrow mononuclear cells (BMMC) in swine. Three female swine, averaging 25 kg, were induced to AMI, with the aid of a balloon catheter displaced on the first interventricular diagonal branch of the coronary artery for 45 minutes, following to the infusion of 1×10^8 BMMC stained with Hoescht[®] by the transepocardic technique. Sham operation was carried out in three animals (Control group), which received infusion of 1×10^8 BMMC stained with Hoescht[®] by the same technique. The results revealed an inhomogeneous

distribution of the BMNC in the myocardium, being more concentrated in the infarcted area, while the control group presented a homogeneous distribution along the myocardium. We concluded the transpericardic technique would be acceptable to the infusion of BMNC in cardiac ischemic processes.

Key word: Transpericardic route. Acute myocardium infarct. Bone marrow mononuclear cells.

1 INTRODUÇÃO

Desde o início do século 21, o transplante de células-tronco tem emergido como uma potente modalidade para o tratamento de doenças cardiovasculares com possível habilidade para induzir neovascularização e formação de tecido (TATEISHI-YUYAMA et al., 2002; HEESCHEN et al., 2004). Muitos avanços no entendimento da biologia das células-tronco tem ocorrido *in vitro* e em modelos animais (ASAHARA et al., 1997; TOMITA et al., 1999).

A terapia celular na reparação das células miocárdicas é vislumbrada como uma das estratégias terapêuticas de maior futuro principalmente em relação ao tratamento da insuficiência cardíaca devido à limitada eficácia de tratamento médico e a escassez de órgãos para transplante. Têm-se demonstrado que variados tipos de células-tronco podem se diferenciar em células miocárdicas e outros tecidos necessários para a regeneração do miocárdio lesado, enquanto que em outros estudos em animais sugerem que o músculo (mioblasto), a medula óssea (células progenitoras mesenquimais, endoteliais ou hematopoiéticas) e até células do próprio coração podem ajudá-lo a melhorar a sua contratilidade *in vivo*. O reparo potencial realizado pelas células implantadas ou de células mobilizadas endogenamente é de extrema importância para doenças do coração, no qual a diminuta capacidade de proliferação celular dos cardiomiócitos contribuírem para a irreversibilidade da falência cardíaca (HIDEMASA, 2003).

Os transplantes de células-tronco tem sido realizados a partir da utilização de 3 vias, consideradas até então as mais comuns, sendo a intracoronariana, Intramiocárdica (transendocárdica / transepicárdica) e via retrógrada, a qual ainda é pouco empregada, apesar de ser uma via segura e de fácil acesso (KALKA et al., 1999; CARMELIET; LUTTUN et al., 2001; FUCHS et al., 2001; AL-KLALDI et al., 2003; KAWAMOTO et al., 2003; TSE et al., 2003, MURAD-NETTO et al., 2004, SAMOTO et al., 2005 , SAMOTO, 2006). A via transpericárdica utilizada por Kornowski et al. (2000), Mannam et al. (2002) e Kolettis et al. (2005) teve como objetivo somente a administração de drogas e fatores de crescimento, e é exatamente por este motivo a que testamos para estudar a possibilidade da sua aplicabilidade na terapia celular.

7 CONCLUSÕES

Com relação à via transpericárdica para infusão de células mononucleares coletadas da medula óssea de suínos, concluímos que:

1. Sugerimos que apenas pessoas habilitadas para o procedimento de punção cardíaca devam acessar a via transpericárdica, evitando com isso problemas de perfuração do coração seguido de óbito.
2. Para o acesso à via transpericárdica, a partir da região mediana pré-umbilical é fundamental que este procedimento seja guiado por algum sistema de imagem, seja ecocardiográfica ou através de fluoroscopia.
3. É dispensável a utilização de equipamentos mais sofisticados, tais como (NOGA) utilizado na via transendocárdica, para a realização do mapeamento das câmaras cardíacas, localização da área infartada, e, conseqüentemente, localização da região de infusão de células, uma vez que pela via transpericárdica, estas são lançadas no espaço pericárdico.
4. Ao contrário das vias de infusão de células-tronco já estudadas, a via transpericárdica revela que uma vez infundidas, as células migram transmuralmente invadindo toda a estratigrafia cardíaca, aumentando o favorecimento do tecido lesado com processos de neovascularização.
5. Animais infartados, e com 24 horas, três e sete dias pós infusão das células mononucleares da medula óssea marcadas, apresentaram distribuição celular diferente no tecido cardíaco, pois quanto menor o tempo pós infusão, menor a quantidade destas células no miocárdio e endocárdio, ao passo que os animais que permaneceram vivos por 21 dias após o transplante de células, estas estavam homoganeamente distribuídas na estratigrafia cardíaca.
6. Tanto os animais infartados quanto aos não infartados apresentaram distribuição celular nas quatro câmaras cardíacas, porém os corações infartados revelaram uma maior deposição celular nas áreas cicatriciais, provavelmente devido ao processo quimiotático.
7. Mediante os resultados encontrados, observou-se que a via transpericárdica pode ser utilizada como método alternativo para infusão de células-tronco em

processos de isquemia cardíaca, porém, ainda assim, não é melhor que a via intracoronariana (mais utilizada), uma vez que o paciente infartado, ao ser atendido no hospital, é cateterizado estabelecendo-se uma via de acesso cardíaco.

REFERÊNCIAS

ABBOTT, D.; GIORDANO, F. J. "Stem cells" and cardiovascular disease. **Journal Nuclear Cardiology**, EUA, v. 10, p. 403-412, Ago. 2003.

ALIOTTA, J. M.; PASSERO, M.; MEHARG, J.; KLINGER, J.; DOONER, M. S.; PIMENTEL, J.; QUESENBERRY, P. J. Stem cell and pulmonary metamorphosis: New concepts in repair and regeneration. **Journal of Cellular Physiology**, v. 204, p. 725-741, Mar. 2005.

AL-KHALDI, A.; AL-SABTI, H.; GALIPEAU, J.; LACHAPELLE, K. Therapeutic angiogenesis using autologous bone marrow stromal cells: improved blood flow in a chronic limb ischemia model. **Annals of Thoracic Surgery**, v. 75, p. 204-209, Ago. 2003.

ANDERSON, D. J.; GAGE, F. H.; WEISSMAN, I. L. Can "stem cells" cross lineage boundaries? **Nature Medicine**, v. 7, p. 393-395, Abr. 2001.

ASAHARA, T.; ISNER, J. M. Endotelial progenitor cells for vascular regeneration. **Journal of Hematotherapy & Stem Cell Research**, v. 11, p. 171-178, Ago. 2002.

ASAHARA, T.; MUROHARA, T.; SULLIVAN, A.; SILVER, M.; VAN DER ZEE, R.; LI, T.; WITZENBICHLER, B.; SCHATTEMAN, G.; ISNER, J. M. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. **Science**, v. 275, p. 964-967, Fev.1997.

ASSMUS, B.; SCHÄCHINGER, V.; TEUPE, C.; BRITTEN, M.; LEHMANN, R.; DÖBERT, N.; GRÜNWARD, F.; HONOLD, J.; ABOLMAALI, N. D.; VOGL, T. J.; HOFMANN, W. K.; MARTIN, H.; DIMMELER, S.; ZEIHNER, A. M. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI). **Circulation**, v. 106, n. 24, p. 3009, Out. 2002.

BARBASH, I. M.; CHOURAQUI, P.; BARON, J.; FEINBERG, M. S.; ETZION, S.; TESSONE, A.; MILLER, L.; GUETTA, E.; ZIPORI, D.; KEDES, L. H.; KLONER, R. A.;

LEOR, J. Systemic delivery of bone marrow-derived mesenchymal "stem cells" to the infarcted myocardium. **Circulation**, v. 108, p. 863-868, Ago. 2003.

BAYS-GENIS, A.; SALIDO, M.; SOLE RISTOL, F.; PUIG, M.; BROSSA, V.; CAMPRECIÓS, M.; COROMINAS, J. M.; MARIÑOSO, M. L.; BARÓ, T.; VELA, M. C.; SERRANO, S.; PADRÓ, J. M.; BAYES DE LUNA, A.; CINCA, J. Host cell-derived cardiomyocytes in sex-mismatch cardiac allografts. **Cardiovascular Research**, n. 56, p. 404-410, Dez. 2002.

BELTRAMI, A. P.; URBANEK, K.; KAJSTURA, J.; SHAO-MIN, Y.; FINATTO, N.; BUSSANI, R.; NADAL-GINARD, B.; SILVESTRI, F.; LERI, A.; BELTRAMI, C. A.; ANVERSA, P. Evidence that human cardiac myocytes device after myocardial infarction. **New England Journal of Medicine**, v. 23, n. 344, p.1750-1757, Jun. 2001.

BOCCHI, E. A.; ISSA, V. S. Transplante celular para o tratamento de pacientes com insuficiência cardíaca. **Revista da Sociedade de Cardiologia de Estado de São Paulo**, n. 13, p. 427-433, Abr. 2003.

BROFMAN, P. R.; CARVALHO, K. A.; GUARITA-SOUZA, L. C.; REBELATTO, C.; HANSEN, P.; SENEGAGLIA, A. C.; MYAGUE, N.; FURUTA, M.; FRANCISCO, J. C.; OLANDOSKI, M. Transplante celular: análise funcional, imunocitoquímica e histopatológica em modelo experimental de miocardiopatia isquêmica utilizando diferentes células. **Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery**, v. 3, n.19, p. 261-266, Set. 2004.

CAPLICE, N. M.; GERSH, B. J. Stem cell to repair the heart: a clinical perspective. **Circulation**, v. 92, n. 1, p. 92-96, Set. 2003.

CARDOSO, F. P.; GONZÁLEZ, J. H.; EZQUERRA, E. A. Utilización de células madre para la regeneración miocárdica en la insuficiencia cardíaca. **Revista española de cardiología**, v. 56, n. 10, p. 935-939, Ago. 2003.

CARMELIET, P.; LUTTUN, A. The emerging role of the bone marrow-derived “stem cells” in (therapeutic) angiogenesis. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, n. 86, p. 289-297, 2001.

CERQUEIRA, M. D.; WEISSMAN, N. J.; DILSIZIAN, V.; JACOBS, A. K.; KAUL, S.; LASKEY, W. K.; PENNELL, D. J.; RUMBERGER, J. A.; RYAN, T.; VERANI, M. S. Standardized Myocardial Segmentation and Nomenclature for Tomographic Imaging of the Heart. **Circulation**, n. 105, p. 539-542, Set. 2002.

CROW, E. S.; WALSHAW, S. O. Colocação e cuidados com cateteres intravenosos. In: _____. **Manual de procedimentos clínicos em cães, gatos e coelhos**. Porto Alegre: Artes Médicas Sul, 2000. p. 47-64.

DEB, A.; WANG, S.; SKELDING, K. A.; MILLER, D.; SIMPER, D.; CAPLICE, N. M. Bone marrow-derived cardiomyocytes are present in adult human heart: A study of gendermismatched bone marrow transplantation patients. **Circulation**, n. 107, p. 1247-1249. Fev. 2003.

DEXTER, T. M.; SPOONCER, E.; VARGA, J.; ALLEN, T. D.; LANOTTE, M. Stromal cells and diffusible factors in the regulation of haemopoietic cell development, 1983. In: KILLMAN, S. V. A. A.; CRONKITE, E. P.; MULLER-BERAT, C. N. **Haemopoietic Stem Cells**, A. Copenhagen: 1983. BenzoSymposium, Munksgaard, p. 303-322.

FUCHS, S.; BAFFOUR, R.; ZHOU, Y. F.; SHOU, M.; PIERRE, A.; TIO, F. O.; WEISSMAN, N. J.; LEON, M. B.; EPSTEIN, S. E.; KORNOWSKI, R. Transendocardial delivery of autologous bone marrow enhances collateral perfusion and regional function in pigs with chronic experimental myocardial ischemia. **Journal of American College of Cardiology**, n. 37, p. 1726-1732, Jan. 2001.

FUKUDA, K. Development of regenerative cardiomyocytes from mesenchymal “stem cells” for cardiovascular tissue engineering. **International journal of Artificial Organs**, n. 25, p.187-193. 2001.

GLASER, R.; LU, M. M.; NARULA, N. EPSTEIN, J. A. Smooth muscle cells, but not myocytes, of host origin in transplant human hearts. **Circulation**, n. 106, p. 17-19, Jun. 2002.

GRAF, T. Differentiation plasticity of hematopoietic cells. **Blood**, n. 99, p. 3089-3101, Maio 2002.

HASSINK, R. J.; BRUTEL DE LA RIVIERE, A.; MUMMERY, C. L.; DOEVENDANS, P. A. Transplantation of Cells for Cardiac Repair. **Journal of American College Cardiology**, v. 41, n. 5, p. 711-717, Nov. 2003a.

HASSINK, R. J.; DOWELL, J. D.; DE LA RIVIÈRE, A.B.; DOEVENDANS, P. A.; FIELD, L. J. Stem cell therapy for ischemic heart disease. **Trends in Molecular Medicine**, v. 9, n. 10, p. 436-441, Out. 2003b.

HAMANO, K.; LI, T. S.; KOBAYASHI, T.; HIRATA, K.; YANO, M.; KOHNO, M.; MATZUZAKI, M. Therapeutic Angiogenesis Induced by Local Autologous Bone Marrow Cell Implantation. **The Annals of Thoracic Surgery**, v. 73, p. 1210-1215, Dez. 2002.

HEESCHEN, C.; LEHMANN, R.; HONOLD, J.; ASSMUS, B.; AICHER, A.; WALTER, D. H.; MARTIN, H.; ZEIHNER, A. M.; DIMMELER, S. Profoundly reduced neovascularization capacity of bone marrow mononuclear cells derived from patients with chronic ischemic heart disease. **Circulation**, n. 109, p. 1615-1622, Jan. 2004.

HERZOG, E. L.; CHAI, L.; KRAUSE, D. S. Plasticity of marrow-derived "stem cells". **Blood**, n. 102, p. 3483-3493, Nov. 2003.

HIDEMASA, O.; BRADFUTE, S. B.; GALLARDO, T. D.; NAKAMURA, T.; GAUSSIN, V.; MISHINA, Y.; POCIUS, J.; MICHAEL, L. H.; BEHRINGER, R. R.; GARRY, D. J.; ENTMAN, M. L.; SCHNEIDER, M. D. Cardiac progenitor cells from adult myocardium: Homing, differentiation, and fusion after infarction. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. v. 100, n. 21, p. 12313-18, Set. 2003.

HOU, D.; YOUSSEF, E. A.; BRINTON, T. J.; ZHANG, P.; ROGERS, P.; PRINCE, E. T.; YEUNG, A. C.; JOHNSTONE, B. H.; YOCK, P. G.; MARCH, K. L. Radiolabeled cell distribution after intramyocardial, intracoronary, and interstitial retrograde coronary venous delivery – Implications for current clinical trials. **Circulation**, v. 112, n. 1, p. 150 -156, Jul. 2005.

JACKSON, K. A.; MAJKA, S. M.; WANG, H.; Pocius, J.; Hartley, C. J.; Majesky, M. W., Entman, M. L.; Michael, L. H.; Hirschi, K. K.; Goodell, M. A. Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult “stem cells”. **Journal of Clinical Invest**, n. 107, p. 1395-1402, Mar. 2001.

KAJSTURA, J.; LERI, A.; FINATO, N.; DI LORETO, C.; BELTRAMI, C. A.; ANVERSA, P. Myocytes proliferation in end-stage cardiac failure in human. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, n. 95, p. 8801-8805, Mai. 1998.

KALKA, C.; ASAHARA, T.; KRONE, W.; ISNER, J. M. Angiogenesis and vasculogenesis. Therapeutic strategies for stimulation of postnatal neovascularization. **Herz**, n. 25, p. 611-622, Jan. 2000.

KAWADA, H.; OGAWA, M. Bone marrow origin of hematopoietic progenitors and “stem cells” in murine muscle. **Blood**, n. 98, p. 2008-2013, Ago. 2001.

KAWAMOTO, A.; TKEBUCHAVA, T.; YAMAGUCHI, J-I.; NISHIMURA, H.; YOON, Y. S.; MILLIKEN, C.; UCHIDA, S.; MASUO, O.; IWAGURO, H.; MA, H.; HANLEY, A.; SILVER, M.; KEARNEY, M.; LOSORDO, D. W.; ISNER, J. M.; ASAHARA, T. Intramyocardial transplantation of autologous endothelial progenitor cells for therapeutic neovascularization of myocardial ischemia. **Circulation**, n. 107, p. 461-468, Set. 2003.

KOC, O.; LAZARUS, H. Mesenchymal “stem cells”: heading into the clinic. **Bone Marrow Transplant**, n. 27, p. 235-239, Mar. 2001.

KOCHER, A.; SCHUSTER, M.; SZABOLCS, M.; TAKUMA, S.; BURKHOFF, D.; WANG, J.; HOMMA, S.; EDWARDS, N. M.; ITESCU, S. Neovascularization of ischemic myocardium by human bone-marrow-derived angioplasty prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function. **Nature Medicine**, n. 7, p. 430-436, Jan. 2001.

KOLETTIS, T. M.; KAZAKOS, N.; KATSOURAS, C. S.; NIOKOU, D.; PAPPA, L.; KOULOURAS, V.; STEFANOPOULOS, P.; SEFERIADIS, C.; MALAMOU-MITSI, V.; MICHALIS, L. K.; MARSELOS, M.; SIDERIS, D. A. Intrapericardial drug delivery: pharmacologic properties and long-term safety in swine. **International Journal of Cardiology**, n. 99, p. 415–421, Jul. 2005.

KORNOWSKI, R.; FUCHS, S.; LEON, M. B.; EPSTEIN, S. E. Delivery strategies to achieve therapeutic myocardial angiogenesis. **Circulation**, n. 101, p. 454-458, Nov. 2000.

KRAUSE, D. S. Plasticity of Marrow-derived Stem Cells. **Gene Therapy Nature**, v. 9, p. 754-758, Apr. 2002.

LAFLAMME, M. A.; MYERSON, D.; SAFFITZ, J. E.; MURRY, C. E. Evidence for cardiomyocytes repopulation by extracardiac progenitors in transplanted human hearts. **Circulation Research**, n. 90, p. 634-640, May. 2002.

LI, R. K.; JIA, Z. Q.; WEISEL, R. D.; MERANTE, F.; MICKLE, D. A. Smooth muscle cell transplantation into myocardial scar tissue improves heart function. **Journal of Molecular Cells of Cardiology**, v. 31, n. 3, p. 513-522, Mar. 1999.

MAKINO, S.; FUKUDA, K.; MIYOSHI, S.; KONISHI, F.; KODAMA, H.; PAN, J.; SANO, M.; TAKAHASHI, T.; HORI, S.; ABE, H.; HATA, J.; UMEZAWA, A.; OGAWA, S. Cardiomyocytes can be generated from marrow stromal cells *in vitro*. **Journal of Clinical Investigation**, n. 103, p. 697-705, Aug. 1999.

MALOUF, N.; COLEMAN, W.; GRISHAM, J.; LININGER, R. A.; MADDEN, V. J.; SPROUL, M.; ANDERSON, P. A. Adult-derived “stem cells” from the liver become

myocytes in the Herat *in vivo*. **American Journal Pathology**, n. 158, p. 1929-1935, Mar. 2001.

MANNAM, A. P.; KALON, K. K., HO.; CULTIP, D. E.; CARROZZA, J. P.; COHEN, D. J.; LORELL, B. H.; LAHAM, R. J. Safety of Subxyphoid Pericardial Access Using a Blunt-Tip Needle. **American Journal of Cardiology**, v. 89, p. 891-893, Abr. 2002.

MENASCHÉ, P.; HAGEGE, A. A. SCORSIN, M.; POUZET, B.; DESNOS, M.; DUBOC, D.; Schwartz, K.; Vilquin, J.; Marolleau, J. Myoblast transplantation for heart failure. **Lancet**, v. 357, p. 279-280, Jan. 2001.

MINKOWSKI, M. Eurocores on the development of a stem cell tool box. **Journal of cellular molecular medicine**, v. 7, n. 3, p. 336-337, Set. 2003.

MULLER, P.; PFEIFFER, P.; KOGLIN, J.; SCHAFERS, H. J.; SEELAND, U.; JANZEN, I.; URBSCHAT, S.; BOHM, M. Cardiomyocytes of noncardiac origin in myocardial biopsies of human transplanted hearts. **Circulation**, n. 106, p. 31-355. Maio, 2002.

MURAD-NETTO, S.; MOURA, R.; ROMEO, L. J. M.; NETO, A. M.; DUARTE, N.; BARRTO, F.; JENSEN, A.; VIÑA, R. F.; VRASLOVIK, F.; OBERDAN, A.; BENETTI, F.; SASLAVSKY, J.; VIÑA, M. F.; AMINO, J. G. Relato de caso: terapia de células-tronco no infarto agudo do miocárdico, através de perfusão coronariana retrógrada. Uma nova técnica. **Arquivos Brasileiro de Cardiologia**, v. 84, n. 4, p. 349-351, Maio, 2004.

NIR, S. G.; DAVID, R.; ZARUBA, M.; FRANZ, W. M.; ITSKOVITZ-ELDOR, J. Human embryonic stem cells for cardiovascular repair. **Cardiovascular Research**, v. 58, n. 2, p. 313-323, Maio, 2003.

ORLIC, D.; KAJSTURA, J.; CHIMENTI, S.; JAKONIUK, I.; ANDERSON, S. M.; LI, B.; PICKEL, J.; MCKAY, R.; NADAL-GINARD, B.; BODINE, D. M.; LERI, A.; ANVERSA P. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. **Nature**, n. 410, p. 701-705, Fev. 2001.

ORLIC, D. The strength of plasticity: stem cells for cardiac repair. **International Journal of Cardiology**, v. 95, p. S16-S19, Jun. 2004. (Supplement 1).

OZBARAN, M.; OMay, S. B.; NALBANTGIL, S.; KULTURSAY, H.; KUMANLIOGLU, K.; NART, D.; PEKTOK, E. Autologous peripheral stem cell transplantation in patients with congestive Heart failure due to ischemic Heart disease. **European Journal of Cardiothoracic Surgery**, n. 25, p. 342-350, Ago. 2004.

PEREIRA, R.; O'HARA, M.; LAPTEV, A.; HALFORD, K. W.; POLLARD, M. D.; CLASS, R.; SIMON, D.; LIVEZEY, K.; PROCKOP, D. J. Marrow stromal cells, a source of progenitor cells for nonhematopoietic tissues in transgenic mice with a phenotype of osteogenesis imperfect. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, n. 95, p. 1142-1147, Fev. 1998.

PERIN, E. C.; DOHMANN, H. F. R.; BOROJEVIC, R.; SILVA, S. A.; SOUSA, A. L.; SILVA, G. V.; MESQUITA, C. T.; BELEM, L.; VAUGHN, W. K.; RANGEL, F. O.; ASSAD, J. A.; CARVALHO, A. C.; BRANCO, R. V.; ROSSI, M. I.; DOHMANN, H. J.; WILLERSON, J. T. Improved exercise capacity and ischemia 6 and 12 months after transendocardial injection of autologous bone marrow mononuclear cells for ischemic cardiomyopathy. **Circulation**, v. 14, n. 110, p. 213-218, Sep. 2004.

PERIN, E. C.; DOHMANN, H. F. R.; BOROJEVIC, R.; SILVA, S. A.; SOUSA, A. L.; MESQUITA, C. T.; ROSSI, M. I.; CARVALHO, A. C.; DUTRA, H. S.; DOHMANN, H. J.; SILVA, G. V.; BELEM, L.; VIVACQUA, R.; RANGEL, F. O.; ESPORCATTE, R.; GENG, Y. J.; VAUGHN, W. K.; ASSAD, J. A.; MESQUITA E. T.; WILLERSON, J. T. Transendocardial, autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic heart failure. **Circulation**, n. 107, p. 2294-302, Abr. 2003.

POULSON, R.; ALISON, M. R.; FORBES, S. J.; WRIGHT, N. A. Adult stem cell plasticity. **Journal of Pathology**, v. 197, p. 441-456, Jul. 2002.

POUZET, B.; GHOSTINES, S.; ALLATAR, N. Long-term functional results of autologous skeletal myoblast transplantation in rats. **Circulation**, n. 104, p. 599, Jan. 2001.

QUAINI, F.; URBANEK, K.; BELTRAMI, A. P.; FINATO, N.; BELTRAMI, C. A.; NADAL-GINARD, B.; KAJSTURA, J.; LERI, A.; ANVERSA, P. Chimerism of the transplanted heart. **The New England Journal of Medicine**, n. 346, p. 5-15, Jan. 2002.

REN, G.; MICHAEL, L. H.; ENTMAN, M. L.; FRANGOGIANNIS, N. G. Morphological characteristics of the microvasculature in healing myocardial infarcts. **Journal of Histochemistry and Cytochemistry**, n. 50, p. 71-79, Jan. 2002.

SAMOTO, V. Y. **Terapia celular cardíaca: vias de infusão de célula mononucleares em cães SRD**. 2006. 105 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

SAMOTO, V. Y.; BRANCO, E. B.; FERREIRA, G. J. B.; CABRAL, R. M.; GREGORES, G. B.; MIGLINO, M. A.; SOUSA, A. L. S.; FOHMANN, H. F.; BOBOJEVIC, R.; TAKIYA, C.; ROSSI, I. D. Mononuclear stem cell infusion by retrograde route in mongrel dogs. Abstract Book. Simpósio Internacional de Terapias Avançadas 2005. In XXX Reunião da Sociedade Brasileira de Biofísica, Rio de Janeiro [Anais **XXX Reunião da Sociedade Brasileira de Biofísica**], SBB, 2005. p. 45.

SARMENTO-LEITE, R.; DOHMANN, H. F. Uso das células-tronco aplicado à cardiologia. **Sociedade de Cardiologia do Rio Grande do Sul**, Ano XIII, nº 03. 2004.

SIMINIAK, T.; KURPISZ, M. Myocardial replacement therapy. **Circulation**, v. 108, n. 10, p. 1167-71. Jul. 2003.

STAMM, C.; WESTPHAL, B.; KLEINE, H. D.; PETZSCH, M.; KITZNER, C.; KLINGE, H.; SCHUMICHEN, C.; NIENABER, C. A.; FREUND, M.; STEINHOFF G. Autologous bone-marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration. **The Lancet**, n. 361, p. 45-456, Nov. 2003.

STRAUER, B. E.; BREHM, M.; ZEUS, T.; GATTERMANN, N.; HERNANDEZ, A.; SORG, R. V.; KÖGLER, G.; WERNET, P. Intracoronary, human autologous stem cell transplantation for myocardial regeneration following myocardial infarction. **Deutsche Medizinische Wochenschrift**, v. 126, n. 34-35, p. 932-938, Set. 2001a.

STRAUER, B. E.; BREHM, M.; ZEUS, T.; KÖSTERING, M. HERNANDEZ, A.; SORG, V. H.; KÖGLER, G.; WERNET, P. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. **Circulation**, v. 106, n. 15, p. 1931, Mar. 2001b.

STRAUER, B. E.; KORNOWISKI, R. Stem Cell Therapy in Perspective. **Circulation**, v. 107, p. 929-934, Dez. 2003.

SUZUKI, K.; BRAND, N. J.; SMOLENSKI, R. T.; JAYAKUMAR, J.; MURTUZA, B.; YACOUB, M. H. Development of a novel method for cell transplantation through the coronary artery. **Circulation**, v. 102, p. 359-364, Out. 2000. (Supplement 3).

SUSSMAN, M. Cardiovascular biology. Hearts and Bones. **Nature**, n. 410, p. 640-641. Jan. 2001.

TATEISHI-YUYAMA, E.; MATSUBARA, H.; MUROHARA, T.; IKEDA, U.; SHINTANI, S.; MASAKI, H.; AMANO, K.; KISHIMOTO, Y.; YOSHIMOTO, K.; AKASHI, H.; SHIMADA, K.; IWASAKA, T.; IMAIZUMI, T. Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischemia by autologous transplantation of bone marrow cells: a pilot study and a randomized controlled trial. **The Lancet**, n. 360, p. 427-435, Jul. 2002.

TIMMERMANS, F.; DE SUTTER, J.; GILLEBERT, T. C. Stem cell for the heart. Are well there yet? **Cardiology**, n. 100, p. 176-185, Nov. 2003.

TOLOSA, E. M. C.; RODRIGUES, C. J.; BEHMER, O. A.; FREITAS-NETO, A. G.
Manual de técnicas para histologia normal e patológica. 2. ed. São Paulo:
Manole, 2003. p. 331.

TOMA, C.; PITTEGER, M. F.; CAHILL, K. S.; BYRNE, B. J.; KESSLER, P. D.
Human mesenchymal "stem cells" differentiate to a cardiomyocyte phenotype in the
adult murine heart. **Circulation**, n.105, p. 93-98, Abr. 2002.

TOMITA, S.; LI, R.; WEISEL. R. D.; MICKLE, D. A.; KIM, E. J.; SAKAI, T.; JIA, Z. Q.
Autologous transplantation of bone marrow cells improves damaged Herat function.
Circulation, n.100, p. 11247-11256, Dez. 1999.

TOMITA, S.; MICKLE, D. A.; WEISEL. R. D.; JIA, Z. Q.; TUMIATI, L. C.; ALLIDINA,
Y.; LIU, P.; LI, R. K. Improved Herat function with myogenesis and angiogenesis after
autologous porcine bone marrow stromal cell transplantation. **Journal of Thorac-
Cardiovascular Surgery**, n. 107, p. 1247-1249, Ago. 2002.

TSE, H. F.; KWONG, Y. L.; LO, G.; HO, C. L.; LAU, C. P. Angiogenesis in ischemic
myocardium by intramyocardial autologous bone marrow mononuclear cell
implantation. **The Lancet**, n. 361, p. 47-49, Jul. 2003.

VULLIET, P. R.; GREEELEY ,S. M.; MACDONALD, K. A.; KITTELSON, M. Intra-
coronary arterial Injection of mesenchymal stromal cells and Microinfaction in Dogs.
The Lancet, v. 363, p. 783-784. Jun. 2004.

WATT, S. M. Stem cell plasticity. **British Journal of Haematology**, v. 122, p. 877-
891, Set. 2003.

WILMUT, I.; SCHINIEKE, A. E.; McWHIR, J.; KIND, A. J.; CAMPBEL, K. H. Viable
offspring derived from fetal and adult mammalian cells. **Nature**, n. 385, p. 810-813,
Nov. 1997.

WOLLERT, K. C.; MEYER, G. P.; LOTZ, J.; RINGES-LICHTENBERG, S.; LIPPOLT,
P.; BREIDENBACH, C.; FICHTNER, S.; KORTE, T.; HORNIG, B.; MESSINGER, D.;

ARSENIEV, L.; HERTENSTEIN, B.; GANSER, A.; DEXLER, H. Intracoronary autologous bone-marrow cells transfer after myocardial infarction: the boost randomised controlled clinical trial. **The Lancet** v. 364, n. 9429, p. 141-148, Abr. 2004

WU, A. H.; PARSONS, L.; EVERY, N. R.; BATES, E. R. Hospital outcomes in patients presenting with congestive heart failure complicating acute myocardial infarction: a report from the Second National Registry of Myocardial Infarction (NRMI-2). **Journal of American College of Cardiology**, n. 40, p. 1389-1394, Maio. 2002.

ZAGO, M. A.; COVAS, D. T. **Células tronco, a nova fronteira de medicina**. Ed. Atheneu, 2006. p. 3-4.