

## Capacidad regenerativa de las células de médula ósea autólogas después de un infarto agudo de miocardio

Francisco Fernández-Avilés y Luis de la Fuente Galán

Instituto de Ciencias del Corazón (ICICOR). Hospital Clínico Universitario. Valladolid. España.

La insuficiencia cardíaca está considerada como la epidemia cardiovascular del siglo XXI. Su mortalidad y su morbilidad son muy elevadas y consumen cada vez más recursos sanitarios. Casi la mitad de los enfermos de insuficiencia cardíaca ha presentado un infarto de miocardio. El tratamiento de regeneración miocárdica con células madre ha surgido a principios de este siglo como una esperanza para el tratamiento de las enfermedades cardiovasculares. Los primeros estudios se han realizado en grupos pequeños de pacientes, pero los resultados indican cierto beneficio. El contexto del infarto agudo de miocardio es el más investigado en este campo. Para la evaluación de los resultados, la resonancia cardíaca se perfila como la herramienta más útil para el seguimiento de estos pacientes. Como toda técnica novedosa, también han surgido problemas de seguridad y, probablemente, en un futuro surgirán nuevas incógnitas, puesto que todavía hoy no conocemos el mecanismo de actuación de las células madre que trasplantamos o movilizamos hacia el corazón.

**Palabras clave:** Células madre. Infarto agudo de miocardio. Remodelado. Transdiferenciación.

### Regenerative Capability of Human Bone Marrow Cells After Myocardial Infarction

Heart failure is considered the new cardiovascular epidemic of XXI century. Mortality and morbidity are very high, consuming more and more health resources. Most of these patients have suffered from a myocardial infarction. Stem cell therapy emerged at the beginning of this century as a new strategy for the treatment of cardiovascular diseases. The initial studies were done in small groups of patients showing benefits. Myocardial infarction is frequently investigated in this field. For the evaluation of these results magnetic resonance appears as a useful tool for the follow-up of these patients. As it usually happens with a new technique, safety problems have arisen and it is possible that in the near future new questions will arise as we still do not know how the progenitor cells we transplant or mobilize into the heart act.

**Key words:** Stem cells. Acute myocardial infarction. Remodeling. Transdifferentiation.

## INTRODUCCIÓN

Los avances en la terapia de reperfusión, incluida la trombólisis y la revascularización, han mejorado radicalmente el pronóstico inicial y a largo plazo del infarto agudo de miocardio (IAM)<sup>1</sup>. Sin embargo, menos del 50% de estos pacientes logra una adecuada reperfusión epicárdica y microvascular antes de que se produzca un daño irreversible en los miocitos de la zona infartada. Una gran proporción de estos pacientes pueden desarrollar insuficiencia cardíaca debido al remo-

delado ventricular, proceso caracterizado por una expansión mecánica de la pared infartada, seguida de una progresiva dilatación y disfunción ventricular<sup>2</sup>. Dado que la principal causa de este proceso es el daño irreversible de los cardiomiocitos y de los componentes microvasculares de la pared infartada<sup>3</sup>, el desarrollo de tratamientos dirigidos a la regeneración de tejido miocárdico necrosado y, probablemente, de la microcirculación, se puede considerar como un auténtico reto para el futuro tratamiento de estos pacientes. El fundamento para este enfoque incluye evidencias recientes que demuestran la extraordinaria capacidad de las células madre adultas para producir células diferenciadas a partir de tejidos no emparentados embriológicamente<sup>4</sup> y convincentes datos que confirman que el corazón tiene una capacidad regenerativa intrínseca<sup>5</sup>. En realidad, se ha demostrado que la existencia de células ma-

Correspondencia: Dr. F. Fernández-Avilés.  
ICICOR. Hospital Clínico Universitario.  
Ramón y Cajal, 3.  
47005 Valladolid. España.  
Correo electrónico: faviles@secardiologia.es

dre cardíacas hace posible la regeneración de miocitos y vasos después de un miocardio envejecido o dañado<sup>6-8</sup> e indica que la repoblación de cardiomiocitos por células madre extracardíacas puede ocurrir en humanos<sup>9,10</sup>. Por lo tanto, la hipótesis de que la capacidad natural de los corazones de los mamíferos para regenerar el miocardio infartado puede ser reforzada por estimulación de células madre endógenas o por la liberación local de células madre extracardíacas ha generado varias investigaciones en animales que proponen que la terapia de células madre podría prevenir el remodelado ventricular postinfarto<sup>7</sup>. En particular, las células procedentes de médula ósea implantadas en el miocardio infartado indujeron miogénesis y angiogénesis, y mejoraron la función cardíaca y la supervivencia en ratones<sup>11-13</sup> y cerdos<sup>14</sup>. Además, recientes estudios clínicos en fase I en un reducido número de pacientes también observaron que el trasplante intracoronario de células madre beneficia la función ventricular en humanos<sup>15-24</sup>. Por contra, recientes experimentos, que muestran una mejora funcional de la función ventricular después de la inyección directa de células madre en la pared infartada, no demuestran una transdiferenciación en cardiomiocitos<sup>22,23</sup>. De forma similar, la capacidad de las células madre extracardíacas para transdiferenciarse en cardiomiocitos en corazones infartados, trasplantados de pacientes no emparejados en sexo, también ha sido cuestionada recientemente<sup>24</sup>. Además, también ha sido cuestionada la seguridad en la fase aguda y a largo plazo del trasplante intracoronario de células madre en humanos<sup>25-29</sup>.

## MECANISMOS DE ACCIÓN DE LAS CÉLULAS MADRE

La capacidad de las células mononucleares de médula ósea de transdiferenciarse en cardiomiocitos es una cuestión fundamental todavía no resuelta. Sin embargo, mientras algunos estudios experimentales<sup>5,11-14</sup> y clínicos<sup>15-23</sup> apoyan esta teoría, otros niegan esta posibilidad<sup>24,25</sup>. Junto con la observación de que las células madre, cardíacas y endógenas pueden dividirse y regenerar el miocardio infartado<sup>5</sup>, otras evidencias muestran que las células madre extracardíacas de origen hematológico pueden anidar en el corazón<sup>9,30-32</sup>. En este sentido, Orlic et al<sup>11</sup> observaron que las células madre hematopoyéticas pueden incrementar la eficiencia de la capacidad de regeneración intrínseca del corazón y mostraron que, en un ratón con infarto agudo de miocardio, tanto la liberación local de células madre de médula ósea como la movilización con factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF)<sup>12</sup> daban lugar a la colonización del tejido infartado por células madre hematopoyéticas que proliferaban, se transdiferenciaban en cardiomiocitos y vasos, y se asociaban con una clara mejoría en términos de tamaño del infarto, mejoría de función ventricular y supervivencia. To-

mita et al<sup>14</sup> reprodujeron resultados similares en un modelo de infarto de miocardio en el cerdo, donde las células de médula ósea de origen estromal formaban islas de tejido cardíaco, inducían angiogénesis, prevenían el remodelado y mejoraban la función contráctil. Finalmente, Mangi et al<sup>13</sup> demostraron que la inyección directa de células madre de médula ósea de origen mesenquimal, genéticamente modificadas para expresar el gen *Akt1*, reparaban el miocardio infartado de la rata, prevenían el remodelado y normalizaban la función cardíaca. En contraste con lo anterior, algunos estudios recientes no han demostrado transdiferenciación de células madre hematopoyéticas en cardiomiocitos después del daño miocárdico. En varones trasplantados que recibían un corazón de mujer y desarrollaban un infarto de miocardio después del trasplante, Höcht-Zeisberg et al<sup>26</sup> encontraron una invasión de células madre extracardíacas que regeneraban células endoteliales, pero que no se transdiferenciaban en cardiomiocitos. En concordancia con estos hallazgos, Murry et al<sup>25</sup> han objetivado recientemente que células madre hematopoyéticas genéticamente modificadas no adquirirían un fenotipo cardíaco después de que fueran trasplantadas en corazones dañados de ratón. De forma muy llamativa, Balsam et al<sup>24</sup> observaron que, después de producir un infarto de miocardio extenso en ratones, células madre de médula ósea, autólogas, adultas e inyectadas en el tejido necrótico adoptaban el fenotipo de células hematopoyéticas adultas, pero no se transformaban en células cardíacas. A pesar de esto, los animales trasplantados con células madre presentaban una mejor función ventricular que los controles.

## FORMAS DE ADMINISTRACIÓN

Las rutas potenciales de liberación de células madre en el corazón son varias: inyección intramiocárdica directa durante la cirugía cardíaca abierta, inyección intramiocárdica con catéteres de forma percutánea guiados por fluoroscopia o con técnicas de cartografía electromecánica, administración intracoronaria de las células, movilización de las células de la médula ósea usando agentes farmacológicos que son capaces de estimular la proliferación de estas células en la propia médula ósea y su posterior liberación al torrente sanguíneo<sup>33</sup>. Otras vías hipotéticas en investigación serían la simple administración intravenosa periférica o de forma directa en el sistema venoso coronario a través del seno coronario. Todas estas vías de administración tienen sus ventajas y sus inconvenientes, pero todavía estamos lejos de saber cuál es la más ventajosa y adecuada. Quizá todas ellas tengan aplicaciones determinadas según la situación clínica del paciente. Por ejemplo, en un paciente con enfermedad severa y difusa de 3 vasos no revascularizables difícilmente podremos usar la vía intracoronaria o el abordaje quirúrgico.

En este caso podrían plantearse los sistemas percutáneos de inyección directa en el endocardio o incluso un acceso retrógrado a través del seno coronario. En un paciente con infarto agudo de miocardio, la vía intracoronaria sería la más adecuada, o bien la movilización de células madre con fármacos. Sin embargo, lejos de buscar una competencia entre las diferentes formas de administración de las células madre, lo más sensato es complementarlas y usar la más adecuada según las características del paciente y la situación clínica que queramos resolver.

Otro tema en plena fase de investigación es cuál es el momento más adecuado para realizar el trasplante de células madre. Esto tiene una gran importancia en los pacientes con infarto agudo de miocardio. Los datos de experimentación animal indican que el mayor beneficio se obtiene después de la fase inflamatoria del infarto agudo de miocardio y antes de comenzar la fase de necrosis<sup>34</sup>. En los humanos se han utilizado ventanas que van de los 4 a los 15 días postinfarto de miocardio.

### SEGUIMIENTO DE LOS PACIENTES QUE RECIBEN TERAPIA CELULAR

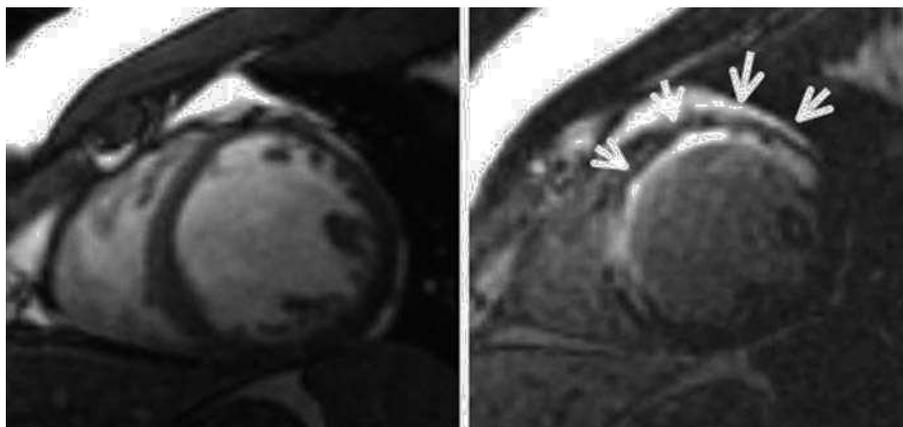
El seguimiento de los pacientes que reciben terapia celular tiene una enorme importancia por 2 motivos: para valorar la seguridad y la eficacia de la técnica. En relación con la seguridad, tiene una gran trascendencia conocer el daño miocárdico secundario a la técnica empleada.

Los siguientes parámetros pueden usarse para valorar la eficacia: función ventricular global y regional, viabilidad, tamaño del infarto, grosor de la pared infartada, reserva contráctil, perfusión y reserva coronaria. Las funciones global y regional pueden calcularse con angiografía, ecocardiografía y resonancia cardíaca. Quizá esta última técnica sea la de elección para seguir a estos pacientes, al tratarse de un procedimiento no invasivo, con una alta resolución temporal y espacial y, además, con una alta reproducibilidad. Además, es

más precisa que la angiografía y la ecocardiografía para valorar el remodelado, porque no realiza asunciones en relación con la geometría ventricular, que es crucial en los ventrículos distorsionados después de un infarto de miocardio. Cuando se está valorando la función regional se debe calcular el *wall motion score index*<sup>35</sup>.

La viabilidad es otro parámetro de gran importancia en estos pacientes. Puede calcularse con ecocardiografía de estrés con dobutamina a dosis bajas, técnicas de medicina nuclear o mediante resonancia cardíaca con realce tardío con gadolinio (fig. 1). Varias investigaciones han demostrado que el grosor de la pared infartada, calculado por resonancia cardíaca o ecocardiograma, se correlaciona bien con la viabilidad. La reserva contráctil se define como la potencialidad del miocardio para incrementar su contractilidad después de la administración de inotrópicos y se puede determinar monitorizando la respuesta del ventrículo con ecocardiografía o resonancia magnética con administración de dobutamina a dosis bajas (desde 5 a 10-20 g/kg/min). La tomografía de emisión de positrones y las técnicas de medicina nuclear permiten una estimación muy precisa de la perfusión miocárdica. La ecocardiografía de estrés con dobutamina quizá no sea la técnica ideal para detectar la viabilidad. La sensibilidad varía del 70 al 85% y la especificidad del 80 al 90%<sup>36</sup>. Sin embargo, estos valores se determinaron antes de que la técnica del segundo armónico estuviese disponible, la cual ha demostrado mejorar sustancialmente la precisión de esta técnica<sup>37</sup>. Además, cuando se compara con el resto de las técnicas de imagen, incluida la tomografía de emisión de positrones, la ecocardiografía de estrés con dobutamina tiene los valores más elevados de valor predictivo positivo y negativo<sup>38</sup>. Por tanto, en ausencia de información directa de la necropsia, la ecocardiografía de estrés con dobutamina es una muy buena herramienta para valorar la viabilidad.

Para demostrar algún beneficio del trasplante de células madre, debe compararse un estudio basal y uno posterior de seguimiento. Este estudio de seguimiento



**Fig. 1.** Ejemplo de resonancia cardíaca con realce tardío con gadolinio. Plano transversal del ventrículo izquierdo. En la imagen de la izquierda se observa una imagen basal. En la imagen de la derecha se observa captación de gadolinio en la cara anterior del ventrículo izquierdo que indica ausencia de viabilidad.

debe realizarse al menos 3 meses después del evento agudo para evitar la presencia del miocardio contundido, que puede dar lugar a resultados confusos.

## SEGURIDAD

En relación con la seguridad a corto y largo plazo de la terapia celular, existe el inconveniente de acelerar estudios clínicos aleatorizados, destinados a valorar la eficacia de este tratamiento en pacientes con infarto reciente<sup>39,40</sup>. En primer lugar, atendiendo a la consideración del elevado efecto deletéreo de la disfunción microvascular persistente en el remodelado postinfarto del ventrículo y en el pronóstico clínico, los potenciales efectos de la infusión intracoronaria en la producción o el agravamiento del fenómeno de no-reflujo por oclusión de embolias microvasculares requiere un análisis cauteloso. Después de la infusión de células de médula ósea mesenquimales en la arteria circunfleja de perros sin infarto, Vulliet et al<sup>27</sup> observaron cambios electrocardiográficos isquémicos severos seguidos de un incremento de los marcadores de daño miocárdico y una evidencia anatómica de áreas de microinfartos con acumulación de las células infundidas. Igualmente, Kang et al<sup>29</sup> han informado recientemente de un incremento ligero de marcadores de daño miocárdico después del trasplante intracoronario de células de médula ósea. Al contrario, al igual que en estudios previos<sup>15,16</sup>, no hemos observado ni daño miocárdico ni disfunción microvascular después de repetidas oclusiones transitorias e infusión lenta y simultánea de células mononucleares de médula ósea en arterias coronarias de áreas infartadas no viables. Secundariamente, aunque la circulación de células madre hematopoyéticas parece contribuir a la integridad funcional y estructural del endotelio vascular<sup>41</sup> y pueden beneficiar la reendotelización después de un daño arterial espontáneo o provocado<sup>42,43</sup>, algunos datos, recientemente publicados, apoyan que la liberación intravascular de células de médula ósea o la movilización de la médula ósea pueden inducir una progresión de lesiones coronarias *de novo* o reestenóticas<sup>28,29,44</sup>. Particularmente, Kang et al<sup>29</sup> han publicado recientemente una inesperada alta tasa de reestenosis intra-*stent* a los 6 meses en pacientes con infarto reciente que recibieron G-CSF para la movilización de la médula ósea durante 4 días, seguido de tratamiento con *stent* de la arteria relacionada con el infarto sola o asociada con infusión intracoronaria de células de médula ósea. Por el contrario, según nuestra experiencia, la infusión intracoronaria de células de médula ósea no produjo más reestenosis ni más progresión de lesiones ateroescleróticas de las esperadas.

## CONCLUSIONES

La terapia de regeneración miocárdica con células madre se ha convertido en una nueva esperanza para

combatir la insuficiencia cardíaca y otras enfermedades cardiovasculares. Todavía nos encontramos en los albores de este nuevo concepto de tratamiento, pero el conocimiento de la existencia de una regeneración natural en el miocardio humano ha abierto nuevas expectativas y nuevas vías de investigación. Todavía es temprano para poder establecer como indicación la terapia con células madre, debido a las muchas incógnitas que quedan por resolver y a los interrogantes suscitados en temas de seguridad de las diferentes técnicas de aplicación. Pero, sin duda, estamos ante uno de los retos más importantes de la investigación cardiovascular en este siglo.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Antman EM, Van de Werf F. Pharmacoinvasive therapy. The future of treatment for ST-elevation myocardial infarction. *Circulation*. 2004;109:2480-6.
2. Pfeffer MA, Braunwald E. Ventricular remodeling after myocardial infarction: experimental observations and clinical implications. *Circulation*. 1990;81:1161-72.
3. Bolognese L, Carrabba N, Parodi G, Santori GM, Buonamici P, Cerisano G, et al. Impact of microvascular dysfunction on left ventricular remodeling and long-term clinical outcome after primary coronary angioplasty for acute myocardial infarction. *Circulation*. 2004;109:1121-6.
4. Tosh D, Slack JMW. How cells change their phenotype. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2002;3:187-94.
5. Beltrami AP, Barlucchi L, Torella D, Baker M, Limana F, Chimenti S, et al. Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. *Cell*. 2003;114:763-76.
6. Beltrami AP, Urbanek K, Kajstura J, Yan SM, Finato N, Bussani R, et al. Evidence that human cardiac myocytes divide after myocardial infarction. *N Engl J Med*. 2001;344:1750-7.
7. Anversa P, Nadal-Ginard B. Myocyte renewal and ventricular remodeling. *Nature*. 2002;415:240-3.
8. Nadal-Ginard B, Kajstura J, Leri A, Anversa P. Myocyte death, growth, and regeneration in cardiac hypertrophy and failure. *Circ Res*. 2003;92:139-50.
9. Quaini F, Urbanek K, Beltrami AP, Finato N, Beltrami CA, Nadal-Ginard B, et al. Chimerism of the transplanted heart. *N Engl J Med*. 2002;346: 5-15.
10. Thiele J, Varus E, Wickenhauser C, Kvasnicka HM, Metz KA, Beelen DW. Regeneration of heart muscle tissue: quantification of chimeric cardiomyocytes and endothelial cells following transplantation. *Histol Histopathol*. 2004;19:201-9.
11. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Jakoniuk I, Anderson SM, Li B, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature*. 2001;410:701-5.
12. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Limana F, Jakoniuk I, Quaini F, et al. Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival. *Proc Natl Acad Sci*. 2001;98: 10344-9.
13. Mangi AA, Noiseux N, Kong K, He H, Rezvani N, Ingwall JS, et al. Mesenchymal stem cells modified with *Akt* prevent remodeling and restore performance of infarcted hearts. *Nat Med*. 2003; 9:1195-201.
14. Tomita S, Mickle DA, Weisel RD, Jia ZQ, Tumiaty LC, Allidina Y, et al. Improved heart function with myogenesis and angiogenesis after autologous porcine bone marrow stromal cell transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2002;123:1132-40.

15. Strauer BE, Brehm M, Zeus T, Köstering M, Hernández A, Sorg RV, et al. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. *Circulation*. 2002;106:1913-8.
16. Assmus B, Schächinger V, Teupe C, Britten M, Lehmann R, Döbert N, et al. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI). *Circulation*. 2002;106:3009-17.
17. Hamano K, Nishida M, Hirata K, Mikamo A, Li TS, Harada M, et al. Local implantation of autologous bone marrow for therapeutic angiogenesis in patients with ischemic heart disease: clinical trial and preliminary results. *Jpn Circ J*. 2001;65:845-7.
18. Stamm C, Westphal B, Kleine HD, Petzsch M, Kittner C, Klinge H, et al. Autologous bone-marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration. *Lancet*. 2003;361:45-6.
19. Tse HF, Kwong YL, Chan JK, Lo G, Ho CL, Lau CP. Angiogenesis in ischaemic myocardium by intramyocardial autologous bone marrow mononuclear cell implantation. *Lancet*. 2003;361: 47-9.
20. Perin EC, Dohmann HF, Borojevic R, Silva SA, Sousa AL, Mesquita CT, et al. Transendocardial, autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic ischemic heart failure. *Circulation*. 2003;107:2294-302.
21. Fuchs S, Satler LF, Kornowski R, Okubagzi P, Weisz G, Baffour R, et al. Catheter-based autologous bone marrow myocardial injection in no-option patients with advanced coronary artery disease. A feasibility study. *J Am Coll Cardiol*. 2003;41:1721-4.
22. Fernández-Avilés F, San Román JA, García-Frade J, Fernández ME, Peñarrubia MJ, De la Fuente L, et al. Experimental and clinical regenerative captibility of human bone marrow cells after myocardial infarction. *Circ Res*. 2004;95:742-8.
23. Wollert KC, Meyer GP, Lotz J, Ringes-Lichtenberg S, Lippolt P, Breidenbach C, et al. Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomised controlled clinical trial. *Lancet*. 2004;364:141-8.
24. Balsam LB, Wagers AJ, Christensen JL, Kofidis T, Weissman IL, Robbins RC. Haematopoietic stem cells adopt mature haematopoietic fates in ischaemic myocardium. *Nature*. 2004;428:668-73.
25. Murry CE, Soonpaa MH, Reinecke H, Nakajima H, Nakajima HO, Rubart M, et al. Haematopoietic stem cells do not transdifferentiate into cardiac myocytes in myocardial Infarcts. *Nature*. 2004;428:664-8.
26. Höcht-Zeisberg E, Kahnert H, Guan K, Wulf G, Hemmerlein B, Schlott T, et al. Cellular repopulation of myocardial infarction in patients with sex-mismatched heart transplantation. *Eur Heart J*. 2004;25:749-58.
27. Vulliet PR, Greeley M, Halloran M, MacDonald A, Kittelson MD. Intra-coronary arterial injection of mesenchymal stromal cells and microinfarction in dogs. *Lancet*. 2004;363:783-4.
28. Silvestre JS, Gojova A, Brun V, Potteaux S, Esposito B, Duriez M, et al. Transplantation of bone marrow-derived mononuclear cells in ischemic apolipoprotein E-knockout mice accelerates atherosclerosis without altering plaque composition. *Circulation*. 2003;108:2839-42.
29. Kang HJ, Kim HS, Zhang SY, Park KW, Cho HJ, Koo BK, et al. Effects of intracoronary infusion of peripheral blood stem-cells mobilized with granulocyte-colony stimulating factor on left ventricular systolic function and restenosis after coronary stenting in myocardial infarction: the MAGIC cell randomized clinical trial. *Lancet*. 2004;363:751-6.
30. Muller P, Pfeiffer P, Koglin J, Schafers HJ, Seeland U, Janzen I, et al. Cardiomyocytes of noncardiac origin in myocardial biopsies of human transplanted hearts. *Circulation*. 2002;106:31-5.
31. Laflamme MA, Myerson D, Saffitz FE, Murry CE. Evidence for cardiomyocyte repopulation by extra-cardiac progenitors in transplanted human hearts. *Circ Res*. 2002;90:634-40.
32. Deb A, Wang S, Skelding KA, Miller D, Simper D, Caplice NM. Bone marrow-derived cardiomyocytes are present in adult human heart. *Circulation*. 2003;107:1247-9.
33. Suárez de Lezo J, Torres A, Herrera I, Pan M, Romero M, Pavlovic D, et al. Efectos de la movilización de células madre mediante el uso de factor estimulante de colonias granulocíticas en pacientes con infarto de miocardio anterior revascularizado percutáneamente. *Rev Esp Cardiol*. 2005;58:253-61.
34. Li RK, Mickle DA, Weisel RD, Rao V, Jia ZQ. Optimal time for cardiomyocyte transplantation to maximize myocardial function after left ventricular injury. *Ann Thorac Surg*. 2001;72:1957-63.
35. Sheehan FH, Bolson EL, Dodge HT, Mathey DG, Schofer J, Woo HW. Advantages and applications of the centerline chord method for characterizing regional ventricular function. *Circulation*. 1986;74:293-305.
36. Underwood SR, Bax JJ, Vom Dahl J, Henein MY, Van Rossum AC, Schwarz ER, et al. Imaging techniques for the assessment of myocardial hibernation. Report of a study group of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J*. 2004;25:815-36.
37. Sozzi FB, Poldermans D, Bax JJ, Elhendy A, Vourvouri EC, Valkema R, et al. Improved identification of viable myocardium using second harmonic imaging during dobutamine stress echocardiography. *Heart*. 2001;86:672-8.
38. Bax JJ, Poldermans D, Elhendy A, Boersma E, Rahimtoola SH. Sensitivity, specificity and predictive accuracies of various non-invasive techniques for detecting hibernating myocardium. *Curr Probl Cardiol*. 2001;26:144-88.
39. Chien KR. Lost in translation. *Nature*. 2004;428:607-8.
40. Matsubara H. Risk to the coronary arteries of intracoronary stem cell infusion and G-CSF cytokine therapy. *Lancet*. 2004;363:746-7.
41. Hill JM, Zalos G, Halcox JPJ, Schenke VH, Waclawiw MA, Quyyumi AA, et al. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk. *N Engl J Med*. 2003;348: 593-600.
42. Gulati R, Jevremovic D, Peterson TE, Witt TA, Kleppe LS, Mueske CS, et al. Autologous culture-modified mononuclear cells confer vascular protection after arterial injury. *Circulation*. 2003;108:1520-6.
43. Cho HJ, Kim HS, Lee MM, Kim DH, Yang HJ, Hur J, et al. Mobilized endothelial progenitor cells by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor accelerate reendothelialization and reduce vascular inflammation after intravascular radiation. *Circulation*. 2003;108:2918-25.
44. Hu Y, Davison F, Zhang Z, Xu Q. Endothelial replacement and angiogenesis in arteriosclerotic lesions of allografts are contributed by circulating progenitor cells. *Circulation*. 2003;108:3122-7.