



CARDIOLOGÍA DEL ADULTO - PRESENTACIÓN DE CASOS

Trasplante de células progenitoras derivadas de médula ósea por vía intracoronaria, movilizadas con factor de crecimiento granulocito-macrófago

Juan M. Senior, MD.^(1,2); Oscar Velázquez, MD.⁽²⁾; Francisco Cuéllar, MD.,^(1,2); Margarita Velásquez, MD.⁽¹⁾; Luis F. García, MD., MSc.⁽¹⁾; Juan A. Delgado, MD. MSc. ⁽²⁾; Guillermo Blanco, MD.⁽²⁾

Medellín, Colombia

INTRODUCCIÓN: estudios en animales demuestran la capacidad de las células progenitoras derivadas de la médula ósea de diferenciarse en cardiomiocitos, células endoteliales y de músculo liso, con lo cual se logra regenerar tejido miocárdico y revascularizarlo. Estudios clínicos en humanos demuestran la factibilidad y seguridad de la utilización de las células madre para recuperar la función ventricular en pacientes con infarto agudo de miocardio. Se reporta la primera experiencia en Colombia con este tipo de terapia.

METODOLOGÍA: este es el reporte del seguimiento a dos meses, de los pacientes con infarto agudo de miocardio de cara anterior a quienes se les realizó trasplante de células progenitoras derivadas de la médula ósea, movilizadas con factor de crecimiento estimulante de colonias de granulocito-macrófago, posterior a la revascularización percutánea con angioplastia e implantación de *stent*.

RESULTADOS: se incluyeron tres pacientes con infarto de cara anterior, necrosis extensa demostrada por ausencia de viabilidad miocárdica por medicina nuclear y fracción de eyección menor del 40%. Se demostró mejoría de la fracción de eyección y disminución del volumen ventricular sistólico en la ecocardiografía de control. La capacidad de ejercicio aumentó en forma significativa y se evidenció por incremento en las pruebas de los seis minutos, el tiempo de ejercicio y el número de MET alcanzados. No hubo cambios en el defecto de perfusión en épocas tempranas, ni se presentaron complicaciones relacionadas con el trasplante celular o la utilización del factor estimulante de colonias de granulocito-macrófago.

CONCLUSIONES: esta es la primera experiencia en Colombia con el trasplante de células progenitoras derivadas de la médula ósea por vía intracoronaria para regeneración miocárdica. Se observó recuperación de la función ventricular izquierda y mejoría en la capacidad de ejercicio sin efectos secundarios o complicaciones relacionadas con la terapia.

PALABRAS CLAVE: infarto de miocardio, células madre, intracoronario, angiogénesis, médula ósea.

INTRODUCTION: studies in animals have demonstrated the ability of bone marrow stem cells to differentiate in cardiomyocytes, endothelial cells and smooth muscle cells. By these means it is possible to regenerate myocardial tissue as well as to induce its revascularization. Clinical studies in humans show the feasibility and safety in the use of stem cells for recovering ventricular function in patients with acute myocardial infarct. We report the first experience in Colombia with this type of therapy.

(1) Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

(2) Hospital Universitario San Vicente de Paul, Medellín, Colombia.

METHODOLOGY: this is a report of a two months follow-up study in patients with anterior wall myocardial acute infarction to whom we performed an intracoronary transplant of bone marrow stem cells mobilized with granulocyte-macrophage colony growth stimulating factor, after percutaneous revascularization with angioplastia and Stent implantation.

RESULTS: three patients with acute anterior wall myocardial infarction, extensive myocardial necrosis documented by absence of myocardial viability in nuclear medicine studies and an ejection fraction of less than 40% were included. Control echocardiography showed improvement in the ejection fraction and decrease of systolic ventricular volume. Exercise capacity increased in a significant way, evidenced by an increase in the six minutes test, the exercise time and the number of Mets achieved. There were no changes in the perfusion defects in early stages, and no complications related to the cellular transplant or to the utilization of granulocyte-macrophage colony growth stimulating factor.

CONCLUSIONS: this is the first experience in Colombia with bone marrow stem cells intracoronary transplant for myocardial regeneration. Recovery of left ventricular function, improvement in exercise capability without adverse effects or therapy related complications.

KEY WORDS: myocardial infarction, stem cells, intracoronary, angiogenesis, bone marrow.

(Rev. Col. Cardiol. 2004; 11: 213-218)

Introducción

La prevalencia de enfermedad coronaria y falla cardíaca en países en desarrollo, se ha incrementado dramáticamente en la última década quizás debido al efecto de urbanización, al cambio en el estilo de vida, a la prevalencia y severidad de los factores de riesgo mayores, a la manifestación en edades más tempranas y al rápido crecimiento de la población con la consecuente inversión de la pirámide poblacional (1, 2).

Tradicionalmente, se ha considerado que los cardiomiocitos sólo se reproducen durante el desarrollo embrionario y fetal, lo que explica que luego de cualquier noxa se pierda cierto número de ellos y se produzca una cicatriz que no contribuye a la sístole ventricular. Se han explorado algunas posibilidades para repoblar el tejido miocárdico dañado con células que ayuden a la contracción con el fin de mejorar la función ventricular y la perfusión del territorio afectado. Estudios en modelos animales demuestran la capacidad de las células progenitoras derivadas de la médula ósea de diferenciarse en cardiomiocitos, células endoteliales y células del músculo liso vascular, con lo cual se logra regenerar tejido miocárdico y revascularizar el territorio afectado (3-6). Diversos estudios clínicos en humanos demuestran la factibilidad y seguridad de la utilización de células progenitoras derivadas de médula ósea para regeneración de cardiomiocitos y revascularización coronaria (7-11).

El objetivo de este informe es mostrar los resultados de la revascularización percutánea coronaria en infarto agudo del miocardio, asociada al trasplante de células progenitoras derivadas de médula ósea (TCPDMO).

Pacientes y métodos

Este es un reporte del seguimiento de 3 casos de pacientes con infarto agudo de miocardio de cara anterior, atendidos en la Unidad Cardiovascular y de Trasplantes del Hospital Universitario San Vicente de Paul, a quienes se les realizó revascularización percutánea con angioplastia e implantación de *stent* y TCPDMO por vía intracoronaria.

Se incluyeron pacientes con enfermedad cardíaca isquémica aguda con reperfusión primaria con angioplastia e implantación de *stent*, entre 16 a 75 años de edad, con fracción de eyección igual o menor del 40%, a quienes se les demostró, por medio de una prueba de viabilidad con talio reposo-redistribución-reinyección, una zona extensa de miocardio necrótico. Se excluyeron pacientes con historia de neoplasias u otra comorbilidad que impactara la expectativa de vida, disritmias ventriculares severas (taquicardia ventricular sostenida), aneurisma o trombo ventricular izquierdo, inestabilidad hemodinámica en el momento del procedimiento quirúrgico, fibrilación atrial o alguna condición que a nuestro juicio pusiera al paciente en un riesgo injustificado.

Se obtuvo historia clínica completa y paraclínicos de base como: hemoleucograma y sedimentación, PCR, BUN, creatinina, ionograma, CK MB, troponina I, LDH, ácido úrico, perfil lipídico y glicemia, electrocardiograma de doce derivaciones, angiografía coronaria, ecocardiograma M, 2D, doppler color, viabilidad e isquemia miocárdica con talio reposo-redistribución-reinyección y monitoreo Holter. Los pacientes se monitorizaron en la unidad de cuidado intensivo cardiovascular por 24 a 48 horas en promedio, y a las 24 horas se tomaron controles de hemoleucograma y sedimentación, PCR, BUN, creatinina, CKMB, troponina I, electrocardiograma y ecocardiograma. Luego del alta se reevaluaron a los dos, seis y doce meses postprocedimiento, haciendo una evaluación clínica completa, hemoleucograma y sedimentación, PCR, BUN, creatinina, troponina I, CPK MB, química sanguínea, ecocardiograma, electrocardiograma, viabilidad miocárdica e isquemia por medicina nuclear y monitoreo Holter.

Las células progenitoras derivadas de la médula ósea se obtienen por la estimulación del paciente (autólogas) con factor estimulante de colonias granulocito macrófago, cinco días previos a su implantación. El día del procedimiento se llevó al paciente a la sala de cirugía y bajo anestesia local se extrajeron 50 mL de médula ósea por aspiración en la cresta ilíaca; las células mononucleares se aislaron por gradiente de densidad en *Ficoll-Paque Plus* en el laboratorio de inmunología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Antioquia, conteo de las CD34, CD4, CD8, CD20, CD 19, CD14 y CD 56 por citometría de flujo y cultivos para hongos y bacterias (12).

La implantación de las células se realizó en el laboratorio de hemodinamia. Luego de efectuar la angiografía coronaria en forma convencional se localizó el sitio de implantación del *stent* y se realizó un inflado para ocluir completamente el vaso y así evitar el reflujo de la suspensión; luego se inyectaron 2-3 mL 3 a 5 veces, permitiendo la perfusión coronaria entre cada inyección y la migración de las células al sitio deseado. Al finalizar el procedimiento se colocaron 100-200 mcg de nitroglicerina intracoronaria y se realizó angiografía para demostrar la permeabilidad del vaso, con lo cual se dio por terminado el procedimiento.

Resultados

Caso 1

Paciente de 50 años, de género masculino, con infarto agudo del miocardio con elevación del segmen-

to ST de cara anterior, Killip III, en quien se realizó revascularización percutánea con angioplastia e implantación de *stent* en el tercio proximal de la arteria descendente anterior a las 12 horas de evolución. A pesar de la reperfusión el paciente presentó disfunción ventricular izquierda severa y un área de necrosis extensa determinada por medicina nuclear (Foto 1). La evolución postrasplante fue satisfactoria y sin evidencia de complicaciones, y fue dado de alta con tratamiento convencional. En el seguimiento se observó mejoría de su capacidad funcional sin evidencia de isquemia o generación de arritmias en reposo o con el ejercicio en el programa de rehabilitación y en forma objetiva con el monitoreo Holter y la perfusión miocárdica pasados dos meses. Con la técnica empleada por medicina nuclear no se demostró disminución del tamaño del defecto en etapa temprana.

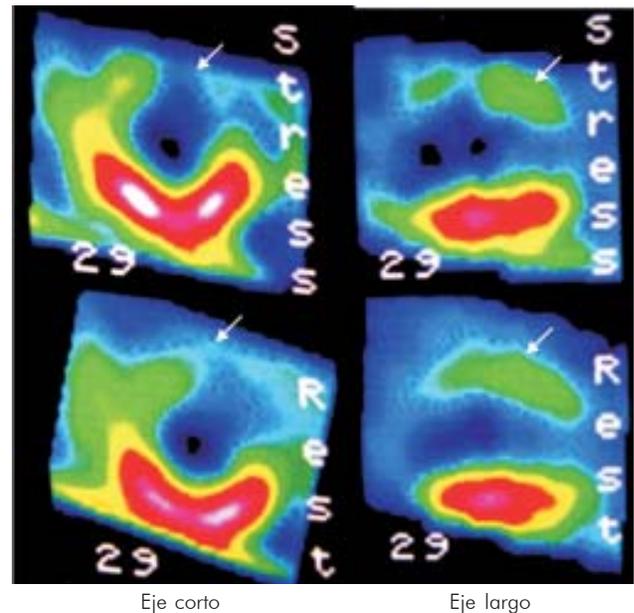


Foto 1. Medicina nuclear pre-trasplante de células progenitoras derivadas de médula ósea. La medicina nuclear muestra un área extensa de necrosis en la cara anterior (flecha).

Caso 2

Paciente de 23 años, de género masculino, con infarto agudo del miocardio con elevación del segmento ST de cara anterior, Killip III, a quien se le realizó revascularización percutánea con angioplastia e implantación de *stent* recubierto (Paclitaxel®) a las dos horas de evolución. En su evolución postinfarto se demostró disfunción ventricular izquierda severa a pesar de la reperfusión temprana (Foto 2). La evolución clínica intrahospitalaria postrasplante fue adecuada, sin em-

bargo antes del alta se demostró, por ecocardiografía, la formación de aneurisma apical y trombo intraventricular, por lo cual se anticoaguló con warfarina sódica (Coumadin®) y se continuó con clopidogrel. No hubo evidencia de arritmias o isquemia a los dos meses.

Caso 3

Paciente de 52 años, de género masculino, con infarto agudo del miocardio con elevación del segmento ST de cara anterior, Killip IV, a quien se le realizó revascularización percutánea con angioplastia e implantación de *stent* en la arteria descendente anterior proximal, fenómeno de «no reflujo», consiguiéndose flujo TIMI 2 al final del procedimiento; requirió asistencia con balón de contrapulsación intraaórtico y soporte inotrópico. Recibió tratamiento convencional incluyendo anticoagulación con heparina de bajo peso molecular (enoxaparina), ácido acetilsalicílico y clopidogrel; presentó oclusión subaguda del *stent* por lo cual se le realizó nueva intervención percutánea (Foto 3). La evolución postrasplante fue satisfactoria sin evidencia de arritmias o isquemia en el programa de rehabilitación.

Durante la evolución de estos pacientes y luego de determinar la extensión de la necrosis miocárdica, se decidió, en reunión médico-quirúrgica, la realización

del TCPDMO por vía intracoronaria dentro de treinta días postinfarto. Los resultados se resumen en las tablas 1, 2 y 3.

Discusión

Esta es la primera experiencia reportada en Colombia con el TCPDMO por vía intracoronaria y su seguimiento a dos meses postrasplante. Nuestros resultados concuerdan con estudios previos que demuestran que el trasplante de células progenitoras derivadas de la médula ósea tiene un efecto benéfico sobre la remodelación ventricular en el infarto agudo de miocardio. El infarto de miocardio es de naturaleza irreversible; la función sistólica y el metabolismo disminuyen luego de pocos latidos en los cuales hubo una dramática y súbita disminución de la perfusión miocárdica (13). La injuria irreversible del cardiomiocito comienza 15 a 20 minutos luego de la oclusión arterial coronaria, siendo el subendocardio la zona más vulnerable dados sus altos requerimientos metabólicos (14). El tamaño del infarto depende de la duración y la severidad del defecto de perfusión, pero también es modulado por la presencia de circulación colateral, medicamentos y preconditionamiento isquémico (15, 16). Luego del daño se produce un proceso de cicatrización y remodelación que lleva a dilatación ventricular y reducción de la función sistólica

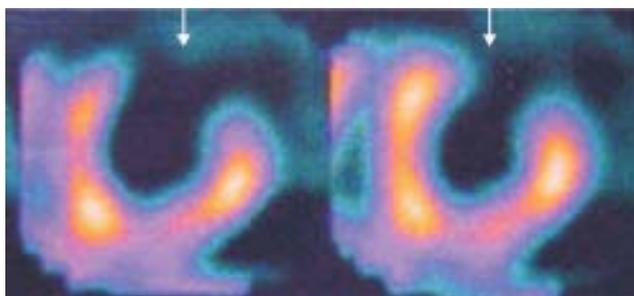


Foto 2. Medicina nuclear pre-trasplante de células progenitoras derivadas de médula ósea. La medicina nuclear muestra un área extensa de necrosis en la cara anterior (flecha).

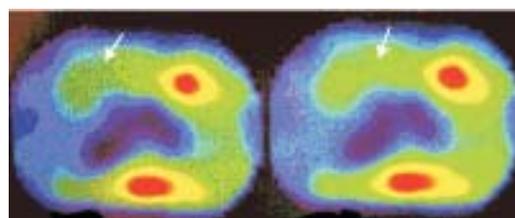


Foto 3. Medicina Nuclear pre-trasplante de células progenitoras derivadas de médula ósea. La medicina nuclear demuestra un área extensa de necrosis en la cara anterior (flecha).

Tabla 1
CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y PARACLÍNICAS POSTRASPLANTE

	Edad	Género	Arteria	Citometría		GB	LDH	PCR	Troponina I
				Total	CD3				
Paciente 1	52	M	DA	853 x 10 ⁶	19.7 x 10 ⁶	41.400	1056	1.2	3
Paciente 2	23	M	DA	806 x 10 ⁶	16.8 x 10 ⁶	108.800	1456	2.8	1.5
Paciente 3	53	M	DA	726 x 10 ⁶	24.7 x 10 ⁶	50.500	1431	4.8	0.5

Edad en años, género M = masculino, arteria DA = descendente anterior, citometría total y CD34+ = número de células valor absoluto, glóbulos blancos (GB) = células por mililitro, deshidrogenasa láctica (LDH) = PCR = mg/L, troponina I = ng/dL.

en semanas a meses después del evento inicial (17). Nuestros resultados corroboran que el trasplante autólogo de células madre por vía intracoronaria en el período inmediato postinfarto, puede llegar a reparar el tejido miocárdico infartado, lo que se traduce en una dramática mejoría en la fracción de expulsión, disminución en el volumen sistólico y mejoría en el índice de contractilidad (Tabla 2).

Tabla 2
CAMBIOS EN LA REMODELACIÓN VENTRICULAR
POSTRASPLANTE

	Inicial			2 meses		
	FE	VSFVI	Tamaño defecto	FE	VSFVI	Tamaño del defecto
Paciente 1	36	80	Grande	43	60	Sin cambio
Paciente 2	26	116	Grande	40	103	Sin cambio
Paciente 3	40	65	Grande	—	—	—

Fracción de eyección (FE) = %, volumen sistólico final del ventrículo izquierdo (VSFVI) = mL.

Tabla 3
CAMBIOS EN LA CAPACIDAD FUNCIONAL POSTRASPLANTE

	Inicial			2 meses		
	MET	T. ejercicio	6 min	MET	T. ejercicio	6 min
Paciente 1	4	15	420	14	40	540
Paciente 2	4	20	216	17	40	537
Paciente 3	5	15	414	12	30	727

Tiempo de ejercicio en minutos; test de los seis minutos en metros.

Las células progenitoras son definidas como aquellas con capacidad de autorregeneración y que pueden diferenciarse en múltiples líneas celulares (18). Mientras que las células progenitoras embrionarias son derivadas de embriones de mamíferos en la etapa de blastocisto y tienen gran habilidad para generar cualquier tipo de célula del organismo, las células progenitoras adultas son parte de tejidos específicos del organismo postnatal en los cuales éstas pueden diferenciarse (19). Este tipo de células tiene algún grado de desarrollo de plasticidad, lo que les permite diferenciarse en líneas celulares de diversos tejidos y capas germinales (20). Ciertos tejidos poseen un número escaso de este tipo de células y probablemente es lo que explica su imposibilidad de regeneración en el proceso de cicatrización; además, no está claro por qué se pierde la posibilidad de reclutamiento y proliferación de células de otros tejidos capaces de restaurar la forma y función original de dichos órganos (21). Es posible que la disminución en la perfusión coronaria secundaria a la lesión aterosclerótica, evite que un número significativo de células progenitoras circulantes alcance el tejido miocárdico lesionado y

pueda «anidar» dicha zona para su regeneración; si se tiene en cuenta que el flujo sanguíneo coronario normal es aproximadamente de 80 mL/min/100 g de tejido ventricular, alrededor de 160 mL de sangre pasarán por minuto, asumiendo una masa ventricular izquierda normal de 200 g (22). También se debe tener en cuenta que las células progenitoras liberadas en el torrente circulatorio pueden quedar atrapadas en tejidos diferentes al miocardio, especialmente en los pulmones (23), y que factores específicos del microambiente necesarios para inducir su diferenciación estén ausentes (24, 25); por esta razón se utilizan desde el punto de vista terapéutico por la implantación directa intracoronaria, como en el presente informe, o por inyección endocárdica o epicárdica en la fase aguda del proceso.

Aunque las células embrionarias son pluripotentes, su utilización en estudios clínicos no es posible por razones éticas; la plasticidad y pluripotencia de las células de la médula ósea descubre la posibilidad de la existencia de una célula progenitora universal que recorre todo el organismo y puede alojarse donde sea necesaria para la regeneración tisular (21). El tejido miocárdico necrótico libera cierto tipo de sustancias quimiotácticas -quimoquinas- capaces de reclutar células progenitoras al sitio del daño para el proceso de regeneración y neovascularización (3). La mejoría lograda con el procedimiento no puede explicarse completamente por la generación de nuevos cardiomiocitos, como está demostrado en algunos estudios experimentales, sino en el cambio en la perfusión miocárdica por la revascularización percutánea de la arteria epicárdica mayor y angiogénesis, aunque no se pudieron demostrar cambios en el tamaño del defecto en etapas tempranas.

Estudios descritos anteriormente demuestran la capacidad de las células derivadas de la médula ósea de diferenciarse en cardiomiocitos, células endoteliales y células del músculo liso vascular (3, 5, 6), demostrándose en humanos la factibilidad y seguridad para regeneración de cardiomiocitos y revascularización (7-11). Strauer y colaboradores (7) trasplantaron células progenitoras de médula ósea por vía intracoronaria en pacientes con infarto agudo de miocardio, comparando con un grupo control. Después de tres meses de seguimiento demostraron mejoría significativa en la perfusión miocárdica de la zona afectada, aumento en la contractilidad y disminución en el tamaño del infarto. Resultados similares obtuvo el grupo de Assmus y colaboradores en el estudio TOPCARE-AMI, sin una diferencia importante al comparar la utilización de células progenitoras circulantes vs. de

médula ósea (8). En pacientes con falla cardíaca de origen isquémico establecido, Perin y colaboradores demostraron que la implantación de células progenitoras de médula ósea por vía trasendocárdica guiada por mapeo electromecánico, mejora la función ventricular global y reduce el volumen de fin de sístole a los cuatro meses de seguimiento (9); lo anterior, aunado a la experiencia de nuestro grupo, confirma la seguridad de la utilización de las células madre y la estimulación previa con factor estimulante de colonias granulocito-macrófago, sin que éstos empeoren el proceso inflamatorio agudo postinfarto o aumenten la probabilidad de reinfarto no fatal o muerte. El estudio MAGIC publicado en *Lancet* (26) refrenda estos resultados con la advertencia de un posible incremento en la incidencia de reestenosis; a este respecto cabe señalar si es preferible tener una arteria completamente libre de lesión u obstrucción al flujo sanguíneo, irrigando una gran zona de miocardio necrótico o una gran zona de tejido miocárdico viable, funcionalmente activo, con la posibilidad de una mayor probabilidad de reestenosis. Si bien se deben resaltar los resultados obtenidos en la capacidad funcional evidenciada por mejorías dramáticas en el tiempo de ejercicio, la prueba de los seis minutos y los MET logrados, lo que impacta favorablemente es la calidad de vida y el reintegro a la vida familiar, social y laboral de estos tres pacientes (Tabla 3).

En conclusión, el trasplante de células madre derivadas de la médula ósea por vía intracoronaria en el infarto agudo del miocardio, altera el proceso de remodelación ventricular en forma favorable, es seguro y sus resultados son reproducibles.

Bibliografía

- Senior JM. Prevención secundaria en enfermedad coronaria. En: Actualización en medicina interna 2002. Tobon LI ed. Editorial Universidad de Antioquia Febrero 2002. p. 31-42.
- Yusuf S, Reddy S, Ounpuu S, Anand S. Global burden of cardiovascular diseases. Part I: general considerations, the epidemiologic transition, risk factors, and impact of urbanization. *Circulation* 2001; 104: 2746-2753.
- Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 10344-9.
- Rafii S, Lyden D. Therapeutic stem and progenitor cell transplantation for organ vascularization and regeneration. *Nature Medicine* 2003; 9: 702-712.
- Orlic D, Kajstura J, Chimenti S et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 2001; 410: 701-705.
- Yeh E, Zhang S, Wu H, et al. Transdifferentiation of human peripheral blood CD34+ -enriched cell population into cardiomyocytes, endothelial cells, and smooth muscle cells in vivo. *Circulation* 2003; 108: 2070-2073.
- Strauer B, Brehm M, Zeus T et al. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. *Circulation* 2002; 106: 1913-1918.
- Assmus B, Schachinger V, Teupe C, et al. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI). *Circulation* 2002; 106: 3009-3017.
- Perin E. Transendocardial, autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic ischemic heart failure. *Circulation* 2003; 107: 2294-2302.
- Stamm C, Westphal B, Kleine HD, et al. Autologous bone marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration. *Lancet* 2003; 361: 45-46.
- Tse HF, Kwong YL, Chan J, et al. Angiogenesis in ischaemic myocardium by intramyocardial autologous bone marrow mononuclear cell implantation. *Lancet* 2003; 361: 47-49.
- Cuéllar-Ambrosi F, Karduss UA, Gómez WR, Mondragón AMC, Velásquez LM, Calle FS. Hematological reconstitution following high dose and supralethal chemo-radiotherapy using store non-cryopreserved autologous hematopoietic Stem Cells Transplantation Proceedings. 2003; In press.
- Arai AE, Pantely GA, Thoma WJ, Anselone CG, Bristow JD. Energy metabolism and contractile function after 15 beats of moderate myocardial ischemia. *Circ Res* 1992; 70: 1137-1145.
- Orlic D, Hill J, Arai A. Stem cells for myocardial regeneration. *Circ Res* 2002; 91: 1092-1102.
- Reimer KA, Lowe JE, Rasmussen MM, Jennings RB. The wavefront phenomenon of ischemic cell death, 1: myocardial infarct size vs duration of coronary occlusion in dogs. *Circulation* 1997; 56: 786-794.
- Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986; 74: 1124-1136.
- Pfeffer MA. Left ventricular remodeling after acute myocardial infarction. *Annu Rev Med* 1995; 46: 455-466.
- Weissman IL. Stem cells: units of development, units of regeneration, and units in evolution. *Cell* 2000; 100: 157-168.
- Korbling M, Estrov Z. Adult stem cells for tissue repair - A new therapeutic concept? *N Engl J Med* 2003; 349: 570-582.
- Kuehnle I, Goodell MA. The therapeutic potential of stem cells from adults. *BMJ* 2002; 325: 372-376.
- Rosenthal N. Prometheus vulture and the stem-cell promise. *N Engl J Med* 2003; 349: 267-274.
- Gregg DE, Fisher LC. Blood supply to the heart. In: Handbook of physiology. Vol 2 Washington DC: American Physiological Society; 1963. p. 1517-1584.
- Barbash MI, Chouraqui P, Baron J, et al. Systemic delivery of bone marrow-derived mesenchymal stem cells to the infarcted myocardium. *Circulation* 2003; 108: 863-868.
- Takahashi T, Lord B, Schulze C et al. Ascorbic acid enhances differentiation of embryonic stem cells into cardiac myocytes. *Circulation* 2003; 107: 1912-1916.
- Ventura C, Maioli M. Opioid peptide gene expression primes cardiogenesis in embryonal pluripotent stem cells. *Circ Res* 2000; 87: 189-194.
- Kang HJ, Kim HS, Zhang SY et al. Effects of intracoronary infusion of peripheral blood stem-cells with granulocyte-colony stimulating factor on left ventricular systolic function and reestenosis after coronary stenting in myocardial infarction: the MAGIC cell randomized clinical trial. *Lancet* 2004 - <http://image.thelancet.com/extras/04art1325web.pdf>