

L'ACADEMIE ROUMAINE

Institut de Biologie et Pathologie Cellulaire

“Nicolae Simionescu”, Bucarest

THESE DE DOCTORAT

**Facteurs modulateurs du potentiel
thérapeutique des cellules progénitrices
endothéliales dans la néovascularisation du tissu
ischémique**

Directeur de doctorat

Acad. Maya Simionescu

Doctorant

Gabriela Grigorescu

2013

CONTENU

INTRODUCTION

PARTIE I. ETAT ACTUEL DES CONNAISSANCES

Chapitre I.1. Les maladies cardiovasculaires et la nécessité de régénération vasculaire

Chapitre I.2. La structure des vaisseaux sanguins

Chapitre I.3. Les mécanismes physiologiques de la néovascularisation

- A. La vasculogénèse
- B. L'angiogénèse
 - i/ L'angiogénèse par bourgeonnement
 - ii/ L'angiogénèse par intussusceptie ou segmentation
- C. L'arteriogénèse

Chapitre I.4. Les modèles expérimentaux utilisés pour l'étude des vaisseaux sanguins

Chapitre I.5. Les facteurs impliqués dans la formation des vaisseaux sanguins

- A. Le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF)
- B. Les angiopoïétines
- C. Le facteur de croissance des fibroblastes (FGF)
- D. Le facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGF)
- E. Les chimiokines de type CXCL
- F. Les facteurs anti-angiogéniques

Chapitre I.6. Les stratégies visant à induire la régénération vasculaire

- A. Les cellules souches impliquées dans la régénération vasculaire
 - i/ Caractéristiques générales des cellules souches
 - ii/ Les cellules progénitrices endothéliales (EPC)
 - iii/ Les cellules souches mésenchymateuses (CSM)
- B. Des études expérimentales et cliniques sur la régénération vasculaire

PARTE II-a. CONTRIBUTIONS ORIGINALES

Chapitre II.1. Les cellules souches / progénitrices humaines - une source de cellules endothéliales pour rétablir l'irrigation sanguine du territoire ischémié

- A. Introduction et objectifs
- B. Isolement des EPC précoces à partir du sang périphérique

- i/ Matériel et méthodes
- ii/ Résultats
- C. Isolement des EPC tardives à partir du sang du cordon ombilical
 - i/ Matériel et méthodes
 - ii/ Résultats
- D. Le potentiel endothélial des cellules mésenchymateuses isolées à partir de la gelée de Wharton
 - i/ Matériel et méthodes
 - ii/ Résultats
- E. Le potentiel endothélial des cellules stromales médullaires
 - i/ Matériel et méthodes
 - ii/ Résultats
- F. Discussion et conclusions

Chapitre II.2. La potentialisation des effets des EPC tardives par les facteurs solubles sécrétés par les EPC précoces

- A. Introduction et objectifs
- B. Matériel et méthodes
- C. Résultats et discussion
 - i/ Analyse immunophénotypique des EPC précoces et tardives
 - ii/ L'effet cumulatif des EPC tardives et des facteurs solubles sécrétés par les EPC précoces sur la néovascularisation dans le modèle d'implant Matrigel in vivo
 - iii/ L'effet cumulatif des EPC tardives et des facteurs solubles sécrétés par les EPC précoces sur la néovascularisation dans le modèle d'ischémie fémorale
- D. Conclusions

Chapitre II.3. La sécrétion de VEGF n'est pas indispensable pour l'effet angiogénique des EPC précoces

- A. Introduction et objectifs
- B. Matériel et méthodes
- C. Résultats et discussion
 - i/ Résistance des EPC à l'hypoxie
 - ii/ Les propriétés paracrines des EPC précoces en conditions normales et hypoxique
 - iii/ Les facteurs sécrétés par les EPC précoces en conditions normales et hypoxique
 - iv/ Contribution du VEGF aux propriétés paracrines angiogéniques des EPC précoces

D. Conclusions

Chapitre II.4. L'effet paracrine des facteurs sécrétés par les cellules souches et progénitrices dans la stimulation de l'angiogenèse

A. Introduction et objectifs

B. Matériel et méthodes

C. Résultats

i/ Résistance des MSC à l'hypoxie

ii/ Évaluation comparative des facteurs angiogéniques sécrétés par les MSC en normoxie et conditions hypoxiques

iii/ L'effet protecteur des facteurs sécrétés par les MSC normales et hypoxiques sur les myocytes cardiaques

iv/ Les propriétés chimioattractives des facteurs sécrétés par les MSC en normoxie et hypoxie

v/ L'effet de facteurs sécrétés par le MSC dans des conditions normales et hypoxique sur l'adhésion et la prolifération des cellules endothéliales matures

vi/ Les effets opposés des EPC et MSC sur l'adhésion des cellules endothéliales matures

vii/ L'analyse de l'expression des gènes des cellules endothéliales incubées simultanément en présence des facteurs sécrétés par les MSC et EPC précoces

D. Discussion et conclusions

Chapitre II.5. Double propriété des EPC précoces de relâcher et capturer SDF-1: un mécanisme possible pour la néovascularisation

A. Introduction et objectifs

B. Matériel et méthodes

C. Résultats et discussion

i/ Caractérisation des EPC précoces

ii/ Analyse comparative de l'expression de SDF-1 dans les EPC précoces et les cellules endothéliales matures

iii/ Analyse comparative de l'expression de SDF-1 dans les EPC précoces et les leucocytes mononucléaires

iv/ Modulation de l'expression SDF-1 par les médiateurs inflammatoires

D. Conclusions

Chapitre II.6. Double rôle de l'axe SDF-1/CXCR4 dans l'infarctus du myocarde identifié chez les souris transgéniques déficientes en CXCR4

A. Introduction et objectifs

B. Matériel et méthodes

C. Résultats

i/ Caractérisation de l'infarctus du myocarde chez les souris transgéniques déficientes en CXCR4

ii/ L'analyse de la fonction cardiaque post-infarctus chez les souris transgéniques déficientes en CXCR4

iii/ L'effet négatif de CXCR4 provenant des cellules de la moelle osseuse sur la fonction cardiaque post-infarctus

iv/ Le rôle bénéfique de CXCR4 pour la mobilisation et de la fonction des EPC précoces

v/ L'évaluation de l'apoptose dans les infarctus du myocarde chez les souris transgéniques déficientes en CXCR4

vi/ Particularités ultrastructurales du myocarde chez les souris transgéniques déficientes en CXCR4

vii/ Propriétés cardioprotectrices de la phosphatidylsérine isolée du myocarde des souris déficientes en CXCR4

D. Discussion et conclusions

CONCLUSIONS GENERALES

RÉFÉRENCES

DIFFUSION DES RÉSULTATS OBTENUS DANS LA THÈSE

FINANCEMENT DE LA RECHERCHE

MOTS-CLÉS

Néovascularisation
Maladies cardiovasculaires
Infarctus du myocarde
Ischémie
Hypoxie
Angiogenèse
Cellules endothéliales
Cellules souches
Cellules progénitrices endothéliales
Cellules souches mésenchymateuses
Paracrine
VEGF
SDF-1
Chimiotaxie
Cardioprotection

RÉSUMÉ

Dans le contexte actuel dans lequel les maladies cardiovasculaires sont la première cause de mortalité, l'élucidation des mécanismes qui sous-tendent le processus de formation de nouveaux vaisseaux sanguins chez l'adulte (néovascularisation), préoccupe fortement la communauté scientifique. Bien que de nombreuses études expérimentales et des essais cliniques visant les cellules souches / progénitrices pour induire l'angiogenèse et la myogenèse ont montré des résultats encourageants (Gersh et al, 2009, Heil et Schaper, 2004; Lipinski et al, 2007, Mitsos et al.. 2012), les mécanismes par lesquels les différentes populations de cellules souches / progénitrices aident à améliorer la fonction cardiaque post-AVC sont encore mal connues (Gersh et al., 2009). Une meilleure compréhension de ces mécanismes pourrait accroître l'efficacité des thérapies cellulaires. Également, compte tenu de l'environnement ischémique dans lequel les cellules souches arrivent après la

transplantation au niveau de l'infarctus du myocarde, il est primordial de comprendre les propriétés paracrines des cellules souches dans des conditions hypoxiques. Cela permettrait de concevoir des stratégies thérapeutiques adaptées à chaque patient, afin de surmonter les obstacles éventuels causés par les caractéristiques pathologiques. L'optimisation de la stratégie pourrait être faite par le choix des populations cellulaires les plus appropriées ou des combinaisons des populations ou en utilisant uniquement des facteurs sécrétés par eux-mêmes, mais aussi par le choix de la voie d'administration et du moment de la transplantation par rapport à un accident vasculaire aigu. En outre, les cellules à injecter peuvent être préconditionnées par la stimulation avec diverses cytokines ou un bloc ou sur-expression du récepteur (Herrmann et al. 2011, Richardson et al., 2013).

Dans ce contexte, cette thèse met en évidence les populations de cellules souches / progénitrices qui présentent un potentiel angio-/vasculogène et aussi certains des mécanismes par lesquels ils contribuent à la néovascularisation des tissus ischémiques. En outre, en visant principalement l'amélioration de la fonction du myocarde après un infarctus, on a suivi non seulement l'effet bénéfique de ces types de cellules sur la néovascularisation, mais aussi la protection des myocytes cardiaques exposés à un stress hypoxique. Aussi, par l'intermédiaire des études effectuées, on a examiné également la contribution des divers facteurs paracrines au potentiel thérapeutique des cellules souches / progénitrices et aussi le changement d'expression et des propriétés paracrines dans un milieu hypoxique. Dans la dernière partie, la contribution de l'axe SDF-1/CXCR4 au rôle paracrine des cellules progénitrices et la fonction de CXCR4 dans le remodelage cardiaque après un infarctus du myocarde ont été évaluées.

La thèse, qui couvre 233 pages, est divisée en deux parties comprenant 143 figures (dont 105 se trouvent dans la deuxième partie), 7 tables (dans la seconde partie) et 290 citations.

Dans la première partie, -L'état actuel des connaissances-, organisée en 6 chapitres, l'auteur a présenté d'abord les options thérapeutiques disponibles, soulignant ainsi la nécessité de développer de nouvelles stratégies thérapeutiques (Chapitre I.1.). Ensuite, après une brève description de la structure des vaisseaux sanguins (Chapitre I.2.), on a fait une incursion dans les mécanismes physiologiques de la néovascularisation (Chapitre I.3.), en définissant les termes vasculo-, angio- et arteriogenèse. Les étapes de l'angiogenèse (réorganisation de la membrane basale, de la matrice extracellulaire et du cytosquelette lors de la migration des

cellules endothéliales, la maturation et la stabilisation du vaisseau) sont décrites en détail. Le quatrième chapitre (Chapitre I.4.) présente plusieurs modèles sur lesquels peut être étudiée expérimentalement la formation de vaisseaux, et dans l'avant-dernier chapitre (Chapitre I.5.), les principaux facteurs qui modulent la néovascularisation sont présentés. Le dernier chapitre (Chapitre I.6) est consacré à la description des différentes stratégies qui peuvent être utilisées pour l'induction de la néovascularisation, en passant d'abord en revue les principaux types de cellules souches et leurs propriétés générales et ensuite en détaillant les caractéristiques des deux types de cellules impliquées dans la néovascularisation : des cellules progénitrices endothéliales (EPC) et les cellules souches mésenchymateuses (CSM). Enfin, l'auteur a synthétisé l'état actuel des études expérimentales et cliniques, en décrivant leur succès et leurs limites.

Dans la deuxième partie de la thèse, -Les contributions originales-, les études ont été organisées en six chapitres. Les premières études ont été axées sur l'identification du potentiel endothélial de certaines populations de cellules souches / progénitrices (**Chapitre II.1.**). Les résultats ont montré que les deux types d'EPC décrits dans la littérature (précoces et tardives), aussi que des CSM, peuvent être obtenus à partir de quelques sources tissulaires comme le sang périphérique, le sang du cordon ombilical, la gelée de Wharton et la moelle osseuse. Le potentiel endothélial des CSM est réduit, mais le phénotype sécrétoire a toujours suggéré de suivre leurs propriétés paracrines afin de stimuler la néovascularisation.

De nombreuses études appuient la contribution des EPC précoces et tardives au processus de néovascularisation par des mécanismes distincts: les premières ayant un rôle paracrine, tandis que les EPC tardives, ayant un potentiel de prolifération élevé, ont la possibilité de s'intégrer dans les vaisseaux en formation (Asahara et al, 1997;. Hur et al. 2004 Sieveking et al., 2008). Il est également reconnu que la formation de nouveaux vaisseaux peut être modulée en utilisant une combinaison de facteurs angiogéniques. Le processus peut être amplifié lorsque ces facteurs sont administrés de manière séquentielle (Freeman et Cohen 2009, Hao et al., 2007). D'autre part, une étude qui a examiné l'effet de la co-administration des EPC précoces et tardives sur la néovascularisation en utilisant un modèle in vivo d'ischémie fémorale, a montré que les deux types de cellules ont un effet synergique (Yoon et al., 2005). Ces données soulèvent la question si l'effet bénéfique obtenu dépend de facteurs libérés par les EPC précoces, en raison d'une réponse dynamique de ces cellules aux conditions rencontrées in vivo. Pour répondre à cette question, en utilisant deux

modèles *in vivo*, nous avons cherché si les facteurs sécrétés *in vitro* au début par les EPC précoces peuvent améliorer la néovascularisation induite par les EPC tardives (**Chapitre II.2.**).

Les résultats montrent qu'en présence de facteurs sécrétés par les EPC précoces *in vitro*, les EPC tardives incluses dans un morceau de Matrigel et transplantées de manière sous-cutanée chez la souris peuvent être organisées dans les structures vasculaires qui ont la capacité de fusionner avec le réseau vasculaire de l'organisme hôte. Également, la transplantation des EPC tardives dans le muscle ischémique en présence des facteurs sécrétés par les EPC précoces augmente significativement la perfusion tissulaire; un effet qui n'est pas obtenu à un niveau similaire lorsque les EPC tardives ou les facteurs sécrétés par les EPC précoces sont administrés séparément. Ainsi, nous pouvons conclure que les facteurs libérés *in vitro* par les EPC précoces sont capables de stimuler de manière significative la formation de nouveaux vaisseaux par les EPC tardives, et l'administration des EPC précoces n'est pas nécessaire pour obtenir cet effet positif.

L'identification des facteurs appartenant au milieu conditionné responsables de l'effet bénéfique permettra la formulation d'un composé thérapeutique qui peut être produit à grande échelle et qui peut être administré à un site ischémique, conjointement avec des EPC tardives, afin d'améliorer la perfusion tissulaire. Ainsi, à partir des résultats des études *in vivo*, nous avons cherché une description plus détaillée des facteurs paracrines responsables de l'effet bénéfique des EPC précoces (**Chapitre II.3.**). Nous avons aussi étudié l'influence de l'hypoxie sur les propriétés de sécrétion des EPC précoces et la capacité angiogénique et cardioprotectrice des facteurs libérés par les EPC précoces en conditions de normoxie et d'hypoxie. Le profil des cytokines des EPC précoces montre qu'ils sécrètent de nombreux facteurs pro-angiogéniques (VEGF, SDF-1, PlGF, Ang2, ET-1, IL-8, MCP-1, MMP10) et anti-angiogéniques (TIMP-1, CXCL4), ce qui suggère la contribution des EPC précoces à la maintenance de l'équilibre angiogénique qui pourrait empêcher l'angiogenèse pathologique. Nous avons également montré que, bien que l'hypoxie module le profil de sécrétion des EPC précoces, en augmentant la sécrétion globale des facteurs de croissance impliqués dans l'angiogenèse, y compris VEGF, ces changements n'influencent pas de manière significative l'effet angiogénique du milieu conditionné. Ainsi, on peut remarquer que les facteurs libérés par les EPC précoces, dans conditions normales aussi que dans les conditions de privation d'oxygène, sont capables d'induire la migration et la prolifération

des CE, l'organisation des EC en cordons et de protéger les myocytes cardiaques de l'apoptose induite par l'hypoxie. On a également étudié la contribution du VEGF aux propriétés angiogéniques des EPC précoces. Les résultats ont montré que la présence de VEGF dans le milieu conditionné des EPC précoces n'est pas essentielle pour la migration de des CE ou pour la formation des cordons des CE sur Matrigel.

Ensuite, on a étudié les propriétés paracrines des MSC, en suivant leur capacité à induire l'adhésion et la prolifération des CE et de protéger les myocytes cardiaques de l'apoptose induite par l'hypoxie (**Chapitre II.4.**). Également, le potentiel des MSC a été comparé à celui des EPC précoces et a été évalué dans des conditions hypoxiques. Les résultats ont montré que les facteurs sécrétés par les MSC stimulent le chimiotactisme et l'adhésion des CE, mais ils ne sont pas capables d'induire la prolifération des CE; en outre, ils ont des effets bénéfiques sur les cellules musculaires cardiaques ischémiques. L'activité sécrétoire des MSC est légèrement modifiée à la suite de l'exposition à l'hypoxie, mais apparemment ces changements n'affectent pas les effets paracrines. Les effets induits par les EPC précoces in vitro sont complémentaires à ceux induits par les MSC, en stimulant la prolifération, mais pas l'adhésion des CE. Ces deux effets peuvent être induits simultanément en combinant les milieux conditionnés, ce qui suggère que les facteurs libérés par chacun des deux types de cellules ne sont pas suffisants pour compléter l'angiogenèse. Ceci suggère que la combinaison de ces deux populations cellulaires ou des facteurs sécrétés par eux-mêmes, permettrait d'induire l'angiogenèse avec succès.

Le processus de neovasculo-genèse dépend de l'activité des différentes cytokines tels que le VEGF, bFGF, les angiopoïétines et SDF-1 (-Wingerter Parsons et al., 2000 Visconti et al., 2002). Les mécanismes par lesquels ils orchestrent la néovascularisation sont encore contestés. On sait qu'au niveau d'un milieu ischémique, un gradient de SDF-1 est formé, ce qui provoque la mobilisation de cellules de moelle osseuse exprimant du CXCR4. En plus, l'interaction récepteur-ligand déclenche des cascades de signalisation impliquées dans la survie, la croissance et la prolifération cellulaires (Ganju et al. 1998 Petit et al. 2007, Roland et al., 2003). Dans ce contexte, nous avons investigué le profil d'expression du SDF-1 des EPC précoces et nous avons examiné si le rôle paracrine de ces cellules dans la néovasculo-genèse est médié par SDF-1 (**Chapitre II.5.**).

De plus, étant donné que l'interaction SDF-1/CXCR4 est exploitée de plus en plus dans l'utilisation de la thérapie cellulaire après un IM (Zhang et al., 2007), nous avons étudié la fonction de CXCR4 dans le remodelage cardiaque après IM chez les souris génétiquement modifiées IM (CXCR4^{+/-}), afin d'identifier les éventuels effets néfastes des composés pharmacologiques (**Chapitre II.6**). Les résultats ont montré que les EPC précoces sécrètent des quantités accrues de SDF-1 et sont capables de lier SDF-1 à leur surface, créant ainsi un gradient local qui attire des cellules souches / progénitrices CXCR4⁺ au potentiel angio-/vasculogène en circulation. D'autre part, les études in vivo sur les souris transgéniques ont montré que CXCR4 a un effet à double tranchant sur le remodelage cardiaque après un infarctus du myocarde. Ainsi, d'une part, les souris CXCR4^{+/-} ont présenté après IM des cicatrices plus petites et plus stables, associées avec une réponse monocytique plutôt régénératrice et une meilleure adaptation des myocytes cardiaques au stress hypoxique. D'autre part, la fonction des EPC précoces a été affectée, ce qui a résulté dans la réduction de la néovascularisation du myocarde et du rétablissement du débit coronaire, qui sont ensemble responsables de l'absence d'amélioration de la fonction ventriculaire. Ainsi, en extrapolant ces résultats, l'inhibition du CXCR4 dans le système humain doit être faite avec prudence.

En conclusion, les données contenues dans cette thèse démontrent que:

- Les EPC précoces et tardives peuvent être obtenues à partir du sang périphérique et du sang du cordon ombilical
- Le potentiel endothélial des cellules souches / progénitrices mésenchymateuses est limité, mais ce type de cellule peut être exploité pour stimuler la néovascularisation à l'aide de leurs propriétés paracrines
- Les facteurs libérés in vitro par les EPC précoces sont capables de stimuler de manière significative la formation de nouveaux vaisseaux par les EPC tardives ; ainsi, la transplantation des EPC précoces n'est pas nécessaire pour obtenir cet effet.
- Les EPC précoces maintiennent leurs propriétés paracrines en conditions hypoxiques et VEGF n'est pas essentiel pour leur effet angiogénique.
- Les facteurs paracrines sécrétés par CSM soutiennent certains des processus impliqués dans l'angiogenèse (soutiennent le chimiotactisme et l'adhésion des CE, mais pas la

prolifération) et ont des effets bénéfiques sur les myocytes cardiaques ischémiques ; ces propriétés sont maintenues lorsque les MSC sont soumis à l'hypoxie.

- Les effets induits in vitro des EPC précoces sont complémentaires à ceux induits par CSM ; ainsi ils stimulent la prolifération, mais pas l'adhésion des CE. Ces deux effets peuvent être induits simultanément en combinant les deux milieux conditionnés (obtenus à partir de la EPC et CSM). La combinaison de ces deux populations cellulaires ou des facteurs sécrétés par eux, pourrait être une stratégie efficace pour induire l'angiogenèse thérapeutique.

- Les EPC précoces sécrètent des quantités accrues de SDF-1 et sont capables de lier SDF-1 sur leur surface, créant ainsi un gradient local qui peut attirer du trafic de cellules souches / progénitrices CXCR4⁺ au potentiel angio-/vasculogène vers un site ischémique.

- CXCR4 présente un effet à double tranchant sur le remodelage myocardique après un IM ; son expression faible cause la formation des cicatrices plus petites et plus stables, mais affecte la néovascularisation cardiaque et la récupération de la fonction ventriculaire.

Les points de repère fondés sur des résultats originaux obtenus pendant le stage doctoral permettent l'élaboration des stratégies qui conduiront à l'optimisation du traitement de vascularisation d'un territoire ischémique. Ces données précliniques seront renforcées dans le futur par des essais cliniques.

Références

1. Asahara, T., Murohara, T., Sullivan, A., Silver, M., van der Zee, R., Li, T., Witzenbichler, B., Schatteman, G., and Isner, J.M. (1997). Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science* 275, 964-967.
2. Freeman, I., and Cohen, S. (2009). The influence of the sequential delivery of angiogenic factors from affinity-binding alginate scaffolds on vascularization. *Biomaterials* 30, 2122-2131.
3. Ganju, R.K., Brubaker, S.A., Meyer, J., Dutt, P., Yang, Y., Qin, S., Newman, W., and Groopman, J.E. (1998). The alpha-chemokine, stromal cell-derived factor-1alpha, binds to the transmembrane G-protein-coupled CXCR-4 receptor and activates multiple signal transduction pathways. *The Journal of Biological Chemistry* 273, 23169-23175.
4. Gersh, B.J., Simari, R.D., Behfar, A., Terzic, C.M., and Terzic, A. (2009). Cardiac cell repair therapy: a clinical perspective. *Mayo Clinic proceedings Mayo Clinic* 84, 876-892.
5. Hao, X., Silva, E.A., Mansson-Broberg, A., Grinnemo, K.H., Siddiqui, A.J., Dellgren, G., Wardell, E., Brodin, L.A., Mooney, D.J., and Sylven, C. (2007). Angiogenic effects

- of sequential release of VEGF-A165 and PDGF-BB with alginate hydrogels after myocardial infarction. *Cardiovascular Research* 75, 178-185.
6. Heil, M., and Schaper, W. (2004). Influence of mechanical, cellular, and molecular factors on collateral artery growth (arteriogenesis). *Circulation Research* 95, 449-458.
 7. Herrmann, J.L., Abarbanell, A.M., Weil, B.R., Manukyan, M.C., Poynter, J.A., Brewster, B.J., Wang, Y., and Meldrum, D.R. (2011). Optimizing stem cell function for the treatment of ischemic heart disease. *The Journal of Surgical Research* 166, 138-145.
 8. Hur, J., Yoon, C.H., Kim, H.S., Choi, J.H., Kang, H.J., Hwang, K.K., Oh, B.H., Lee, M.M., and Park, Y.B. (2004). Characterization of two types of endothelial progenitor cells and their different contributions to neovasculogenesis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 24, 288-293.
 9. Lipinski, M.J., Biondi-Zoccai, G.G., Abbate, A., Khianey, R., Sheiban, I., Bartunek, J., Vanderheyden, M., Kim, H.S., Kang, H.J., Strauer, B.E., *et al.* (2007). Impact of intracoronary cell therapy on left ventricular function in the setting of acute myocardial infarction: a collaborative systematic review and meta-analysis of controlled clinical trials. *J Am Coll Cardiol* 50, 1761-1767.
 10. Mitsos, S., Katsanos, K., Koletsis, E., Kagadis, G.C., Anastasiou, N., Diamantopoulos, A., Karnabatidis, D., and Dougenis, D. (2012). Therapeutic angiogenesis for myocardial ischemia revisited: basic biological concepts and focus on latest clinical trials. *Angiogenesis* 15, 1-22.
 11. Parsons-Wingerter, P., Elliott, K.E., Clark, J.I., and Farr, A.G. (2000). Fibroblast growth factor-2 selectively stimulates angiogenesis of small vessels in arterial tree. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 20, 1250-1256.
 12. Petit, I., Jin, D., and Rafii, S. (2007). The SDF-1-CXCR4 signaling pathway: a molecular hub modulating neo-angiogenesis. *Trends in Immunology* 28, 299-307.
 13. Richardson, J.D., Nelson, A.J., Zannettino, A.C., Gronthos, S., Worthley, S.G., and Psaltis, P.J. (2013). Optimization of the cardiovascular therapeutic properties of mesenchymal stromal/stem cells-taking the next step. *Stem Cell Reviews* 9, 281-302.
 14. Roland, J., Murphy, B.J., Ahr, B., Robert-Hebmann, V., Delauzun, V., Nye, K.E., Devaux, C., and Biard-Piechaczyk, M. (2003). Role of the intracellular domains of CXCR4 in SDF-1-mediated signaling. *Blood* 101, 399-406.
 15. Sieveking, D.P., Buckle, A., Celermajer, D.S., and Ng, M.K. (2008). Strikingly different angiogenic properties of endothelial progenitor cell subpopulations: insights from a novel human angiogenesis assay. *J Am Coll Cardiol* 51, 660-668.
 16. Visconti, R.P., Richardson, C.D., and Sato, T.N. (2002). Orchestration of angiogenesis and arteriovenous contribution by angiopoietins and vascular endothelial growth factor (VEGF). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99, 8219-8224.
 17. Zhang, M., Mal, N., Kiedrowski, M., Chacko, M., Askari, A.T., Popovic, Z.B., Koc, O.N., and Penn, M.S. (2007). SDF-1 expression by mesenchymal stem cells results in trophic support of cardiac myocytes after myocardial infarction. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 21, 3197-3207.