

**ACADEMIA ROMÂNĂ**  
**INSTITUTUL DE BIOLOGIE ȘI PATOLOGIE CELULARĂ**  
**”NICOLAE SIMIONESCU”**

**TEZA DE DOCTORAT**

***FACTORI MODULATORI AI POTENȚIALULUI TERAPEUTIC***  
***AL CELULELOR ENDOTELIALE PROGENITOARE ÎN***  
***NEOVASCULARIZAREA ȚESUTULUI ISCHEMIC***

**Conducător științific:**  
**Acad. MAYA SIMIONESCU**

**Doctorand:**  
**GABRIELA GRIGORESCU**

**BUCUREȘTI**  
**2013**

# ***CUPRINSUL TEZEI DE DOCTORAT***

## **INTRODUCERE**

### **PARTEA I. STADIUL ACTUAL AL CUNOȘTINȚELOR**

#### **Capitolul I.1. Bolile cardiovasculare și necesitatea regenerării vasculare**

#### **Capitolul I.2. Structura vaselor de sânge**

#### **Capitolul I.3. Mecanismele fiziologice ale neovascularizării.**

A. Vasculogeneza

B. Angiogeneza

i/ Angiogeneza prin înmugurire

ii/ Angiogeneza prin intususcepțiune sau segmentare

C. Arteriogeneza

#### **Capitolul I.4. Modele experimentale pentru studiul formării vaselor de sânge**

#### **Capitolul I.5. Factorii implicați în formarea vaselor de sânge**

A. Factorul de creștere a endoteliului vascular (VEGF)

B. Angiopoietinele

C. Factorul de creștere a fibroblaștilor (FGF)

D. Factorul de creștere derivat din plachete (PDGF)

E. Chemokinele de tip CXC

F. Factorii anti-angiogeni

#### **Capitolul I.6. Strategii de inducere a regenerării vasculare**

A. Celulele stem în regenerarea vasculară

i/ Caracteristici generale ale celulelor stem

ii/ Celulele endoteliale progenitoare (EPC)

iii/ Celulele stem mezenchimale (MSC)

B. Studii experimentale și clinice asupra regenerării vasculare

### **PARTEA a II-a. CONTRIBUȚII ORIGINALE**

#### **Capitolul II.1. Celulele stem/progenitoare umane - sursă de celule endoteliale pentru refacerea perfuziei sanguine a unui teritoriu ischemic**

A. Introducere și obiective

B. Obținerea EPC timpurii din sânge periferic

- i/ Materiale și metode
- ii/ Rezultate
- C. Obținerea EPC târzii din sânge din cordonul ombilical
  - i/ Materiale și metode
  - ii/ Rezultate
- D. Potențialul endotelial al celulelor mezenchimale izolate din gelatina Wharton
  - i/ Materiale și metode
  - ii/ Rezultate
- E. Potențialul endotelial al celulelor stromale medulare
  - i/ Materiale și metode
  - ii/ Rezultate
- F. Discuții și concluzii

**Capitolul II.2. Potențarea efectelor EPC târzii de către factorii solubili secretați de EPC timpurii**

- A. Introducere și obiective
- B. Materiale și metode
- C. Rezultate și discuții
  - i/ Analiza imunofenotipică a EPC timpurii și târzii
  - ii/ Efectul cumulat al EPC târzii cu factorii solubili secretați de EPC timpurii asupra neovascularizării pe model de implant de matrigel *in vivo*
  - iii/ Efectul cumulat al EPC târzii cu factorii solubili secretați de EPC timpurii asupra neovascularizării pe model de ischemie femurală
- D. Concluzii

**Capitolul II.3. Secreția VEGF nu este esențială pentru efectul angiogen al EPC timpurii**

- A. Introducere și obiective
- B. Materiale și metode
- C. Rezultate și discuții
  - i/ Rezistența EPC timpurii la hipoxie
  - ii/ Proprietățile paracrine ale EPC timpurii în condiții normale și hipoxice
  - iii/ Factorii secretați de EPC timpurii în condiții normale și hipoxice
  - iv/ Contribuția VEGF la proprietățile paracrine angiogene ale EPC timpurii
- D. Concluzii

## **Capitolul II.4. Efectul paracrin al factorilor secretați de celulele stem și progenitoare în stimularea angiogenezei**

A. Introducere și obiective

B. Materiale și metode

C. Rezultate

i/ Rezistența MSC la hipoxie

ii/ Evaluarea comparativă a factorilor angiogeni secretați de MSC în condiții normoxice și hipoxice

iii/ Efectul protector al factorilor secretați de MSC normale și hipoxice asupra miocitelor cardiace

iv/ Proprietățile chemoattractante ale factorilor secretați de MSC normoxice și hipoxice

v/ Efectul factorilor secretați de MSC în condiții normale și hipoxice asupra aderării și proliferării celulelor endoteliale mature

vi/ Efectele opuse ale EPC și MSC asupra aderării și proliferării celulelor endoteliale mature

vii/ Analiza expresiei genice a celulelor endoteliale incubate simultan în prezența factorilor secretați de MSC și EPC timpurii

D. Discuții și concluzii

## **Capitolul II.5. Dubla proprietate a EPC timpurii de a secreta și capta SDF-1: un posibil mecanism pentru neovascularizare**

A. Introducere și obiective

B. Materiale și metode

C. Rezultate și discuții

i/ Caracterizarea EPC timpurii

ii/ Analiza comparativă a expresiei SDF-1 în EPC timpurii și celulele endoteliale mature

iii/ Analiza comparativă a expresiei SDF-1 în EPC timpurii și leucocitele mononucleate

iv/ Modularea expresiei SDF-1 de către mediatorii inflamației

D. Concluzii

## **Capitolul II.6. Rolul dual al axei SDF-1/CXCR4 în infarctul de miocard identificat în șoarecii transgenici deficienți în CXCR4**

A. Introducere și obiective

B. Materiale și metode

### C. Rezultate

- i/ Caracterizarea infarctului de miocard la șoarecii transgenici deficienți în CXCR4
- ii/ Analiza funcției cardiace post-infarct la șoarecii transgenici deficienți în CXCR4
- iii/ Efectul negativ al CXCR4 de la nivelul celulelor medulare asupra funcției cardiace post-infarct
- iv/ Rolul benefic al CXCR4 în mobilizarea și funcționalitatea EPC timpurii
- v/ Evaluarea apoptozei în miocardul infarctizat la șoarecii transgenici deficienți în CXCR4
- vi/ Particularitățile ultrastructurale ale miocardului la șoarecii transgenici deficienți în CXCR4
- vii/ Proprietățile cardioprotectoare ale fosfatidil-serinei izolate din miocardul șoarecilor deficienți la CXCR4

### D. Discuții și concluzii

## **CONCLUZII GENERALE**

## **BIBLIOGRAFIE**

## **DISEMINAREA REZULTATELOR OBTINUTE ÎN CADRUL**

## **TEZEI DE DOCTORAT**

## **FINANȚAREA CERCETĂRILOR**

## ***CUVINTE CHEIE***

Neovascularizare  
Boli cardio-vasculare  
Infarct de miocard  
Ischemie  
Hipoxie  
Angiogeneza  
Celule endoteliale  
Celule stem  
Celule endoteliale progenitoare  
Celule stem mezenchimale  
Paracrin  
VEGF  
SDF-1  
Chemotaxie  
Cardioprotectie.

## ***REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT***

În contextul actual în care bolile cardiovasculare reprezintă principala cauză de mortalitate, elucidarea mecanismelor care stau la baza procesului de formare de noi vase de sânge la adult (neovascularizare), preocupă intens comunitatea științifică. Deși numeroase studii experimentale și trialuri clinice care urmăresc utilizarea celulelor stem/progenitoare pentru inducerea angiogenezei și a miogenezei au indicat rezultate încurajatoare ([Gersh et al., 2009](#); [Heil and Schaper, 2004](#); [Lipinski et al., 2007](#); [Mitsos et al., 2012](#)), mecanismele prin care populațiile individuale de celule stem/progenitoare contribuie la îmbunătățirea funcției cardiace post-infarct sunt încă incomplet înțelese ([Gersh et al., 2009](#)). O mai bună înțelegere a acestora ar putea crește eficiența terapiilor celulare. De asemenea, având în vedere mediul ischemic în care celulele stem ajung după transplantarea în miocardul infarctizat, la fel de importantă este și înțelegerea proprietăților paracrine ale celulelor stem în condiții hipoxice.

Aceasta ar permite imaginarea unor strategii terapeutice adaptate fiecărui pacient, care să depășească posibilele impedimente determinate de particularitățile patologice. Optimizarea strategiei s-ar putea face prin alegerea celei mai potrivite populații celulare sau a unor combinații de populații sau prin utilizarea doar a factorilor secretați de acestea, cât și prin alegerea căii de administrare și a momentului în raport cu producerea accidentului vascular acut. De asemenea, celulele ce vor fi injectate pot fi preconditionate prin stimularea cu diverse citokine sau prin blocarea ori supraexprimarea unor receptori (Herrmann et al., 2011; Richardson et al., 2013).

În acest context, lucrarea de față evidențiază populațiile de celule stem/progenitoare care prezintă potențial angio-/vasculogen și câteva dintre mecanismele prin care ele contribuie la neovascularizarea țesuturilor ischemice. Mai departe, ținând în primul rând îmbunătățirea funcției miocardului infarctizat, sunt urmărite nu doar efectele benefice ale acestor tipuri celulare asupra neovascularizării, dar și asupra protecției oferite miocitelor cardiace expuse la stresul hipoxic. De asemenea, studiile investighează care este contribuția diverșilor factori paracrini la potențialul terapeutic al celulelor stem/progenitoare și dacă hipoxia modifică expresia acestora sau proprietățile paracrine ale celulelor. În ultima parte este evaluată contribuția axei SDF-1/CXCR4 la rolul paracrin al celulelor progenitoare și funcția CXCR4 în remodelarea cardiacă după infarctul de miocard (IM).

Teza este structurată în două părți cuprinzând 143 figuri, dintre care 105 figuri în partea a doua, 7 tabele (în partea a doua), 290 de referințe bibliografice și se extinde pe parcursul a 233 pagini.

În prima parte, Stadiul actual al cunoștințelor, organizată în 6 capitole, sunt prezentate mai întâi posibilitățile terapeutice existente, fiind evidențiată necesitatea dezvoltării unor noi strategii terapeutice (**Capitolul I.1.**). Apoi, după o scurtă descriere a structurii vaselor de sânge (**Capitolul I.2.**), se face o incursiune în mecanismele fiziologice ale neovascularizării (**Capitolul I.3.**), fiind inițial definiți termenii de vasculo-, angio- și arteriogenează. Etapele procesului de angiogenează (reorganizarea membranei bazale, a matricei extracelulare, a citoscheletului în timpul migrării celulelor endoteliale (CE), maturarea și stabilizarea vasului) sunt descrise în detaliu. În cel de-al patrulea capitol (**Capitolul I.4.**), sunt descrise câteva modele pe care poate fi studiată experimental formarea vaselor, iar în penultimul capitol (**Capitolul I.5.**) sunt prezentați factorii cheie care modulează neovascularizarea. Ultimul

capitol (**Capitolul I.6.**) este dedicat descrierii diverselor strategii prin care poate fi indusă neovascularizarea, fiind întâi trecute în revistă principalele tipuri de celule stem și proprietățile lor generale, fiind apoi detaliate caracteristicile a două tipuri de celule cu rol în neovascularizare: celulele endoteliale progenitoare (EPC) și celulele stem mezenchimale (MSC). În final este sintetizată situația actuală a studiilor experimentale și clinice, fiind descrise succesele și limitările acestora.

În a doua parte a lucrării, cea de Contribuții originale, studiile au fost organizate în șase capitole. Studiile inițiale s-au concentrat pe identificarea potențialului endotelial al unor populații de celule stem/progenitoare (**Capitolul II.1.**). Rezultatele arată că din sursele tisulare, adulte și fetale, utilizate (sânge periferic, sânge din cordonul ombilical, gelatina Wharton și măduva osoasă) pot fi obținute cele 2 tipuri de EPC descrise în literatură (timpurii și târzii) și celule stem/progenitoare de tip mezenchimal. Potențialul endotelial al acestora din urmă este redus, însă fenotipul secretor a sugerat urmărirea în continuare a proprietăților paracrine ale acestora, în scopul stimulării neovascularizării.

Numeroase studii susțin contribuția EPC timpurii și târzii la neovascularizare prin mecanisme separate, cele timpurii având rol paracrin, în timp ce EPC târzii, cu potențial proliferativ crescut, având capacitatea de a se încorpora în vasele în formare ([Asahara et al., 1997](#); [Hur et al., 2004](#); [Sieveking et al., 2008](#)). De asemenea, este recunoscut faptul că formarea de noi vase poate fi modulată prin utilizarea unor combinații de factori angiogenici, procesul putând fi amplificat atunci când acești factori sunt administrați / eliberați secvențial ([Freeman and Cohen, 2009](#); [Hao et al., 2007](#)). Pe de altă parte, un studiu care a analizat efectul administrării concomitente a EPC timpurii cu cele târzii asupra neovascularizării, pe un model *in vivo* de ischemie femurală, a arătat că cele două tipuri celulare au efect sinergic ([Yoon et al., 2005](#)). Toate aceste date nasc întrebarea dacă efectul benefic obținut este dependent de factorii eliberați de EPC timpurii, ca urmare a unui răspuns dinamic al acestor celule la condițiile întâlnite *in vivo*. Pentru a răspunde la această întrebare, utilizând două modele *in vivo*, am urmărit dacă factorii secretați *in vitro* de EPC timpurii pot îmbunătăți neovascularizarea indusă de EPC târzii (**Capitolul II.2.**). Rezultatele obținute arată că, în prezența factorilor secretați de EPC timpurii *in vitro*, EPC târzii incluse într-un fragment de Matrigel, transplantat subcutanat la șoarece, se pot organiza în structuri vasculare ce fuzionează cu rețeaua vasculară a organismului gazdă. De asemenea, transplantarea EPC târzii, în prezența factorilor secretați de EPC timpurii, în



mușchiul ischemic, crește semnificativ perfuzia tisulară, efect care nu este obținut la un nivel similar și atunci când EPC târzii sau factorii secretați de EPC timpurii sunt administrați separat. Astfel, se poate concluziona că factorii eliberați *in vitro* de către EPC timpurii sunt capabili să stimuleze semnificativ formarea de noi vase de către EPC târzii, nefiind necesară administrarea EPC timpurii pentru obținerea acestui efect.

Identificarea factorilor din mediul condiționat, responsabili de efectul benefic, va permite formularea unui compus terapeutic care să poată fi produs la scară largă și să poată fi administrat, la un situs ischemic, împreună cu EPC târzii, în scopul îmbunătățirii perfuziei tisulare. Astfel, pornind de la rezultatele studiilor *in vivo*, am urmărit în continuare descrierea factorilor paracrini responsabili pentru efectul benefic al EPC timpurii (**Capitolul II.3.**). De asemenea, am urmărit și influența hipoxiei asupra proprietăților secretorii ale EPC timpurii și a capacității angiogene și cardioprotectoare a factorilor eliberați de EPC timpurii în condiții normoxice și hipoxice. Prin realizarea profilului citokinic al EPC timpurii se poate spune că acestea secretă numeroși factori pro-angiogeni (VEGF, SDF-1, PlGF, Ang2, ET-1, IL-8, MCP-1, MMP10), dar și factori anti-angiogeni (TIMP-1, CXCL4), EPC timpurii putând astfel contribui la menținerea unei balanțe angiogene, care ar putea preveni angiogeneza patologică. Am arătat de asemenea că, deși hipoxia modulează profilul secretor al EPC timpurii, putându-se remarca, în ansamblu, creșterea secreției factorilor implicați în angiogeneză, inclusiv a VEGF, aceste modificări nu influențează semnificativ efectul angiogen al mediului condiționat. Astfel, se remarcă faptul că factorii eliberați de EPC timpurii, atât în condiții normale, cât și în condițiile deprivării de oxigen, induc proliferarea și migrarea CE, organizarea CE în cordoane și protejează miocitele cardiace de apoptoza indusă de hipoxie. A fost investigată, de asemenea, contribuția VEGF la proprietățile paracrine angiogene ale EPC timpurii. Rezultatele au arătat că prezența VEGF în mediul condiționat de la EPC timpurii nu este esențială pentru migrarea CE sau pentru formarea cordoanelor de CE pe Matrigel.

În continuare, au fost investigate proprietățile paracrine ale celulelor stem mezenchimale (MSC), urmărind capacitatea lor de a induce aderarea și proliferarea CE și de a proteja miocitele cardiace de apoptoza indusă de hipoxie (**Capitolul II.4.**). De asemenea, potențialul acestora a fost comparat cu cel al EPC timpurii și a fost evaluat și în condiții hipoxice. Rezultatele au arătat că factorii secretați de MSC stimulează chemotaxia și aderarea CE, dar nu sunt capabili să inducă proliferarea CE; de asemenea, au efecte

benefice asupra miocitelor cardiace ischemice. Activitatea secretorie a MSC este ușor modificată ca urmare a expunerii la hipoxie, dar aceste modificări nu influențează în mod evident efectele lor paracrine. Efectele induse de EPC timpurii *in vitro* sunt complementare celor induse de MSC, stimulând proliferarea, dar nu și aderarea CE. Ambele efecte pot fi induse simultan prin combinarea celor două medii condiționate, ceea ce arată că factorii eliberați de fiecare dintre cele 2 tipuri celulare nu sunt suficienți pentru a desăvârși angiogeneza. Aceasta sugerează că prin combinarea acestor două populații celulare sau a factorilor secretați de ele, angiogeneza ar putea fi indusă cu succes.

Procesul de neovasculogeneză este dependent de activitatea a diverse citokine, precum VEGF, bFGF, angiopoietinele și SDF-1 (Parsons-Wingerter et al., 2000; Visconti et al., 2002). Mecanismele prin care acestea orchestrează neovascularizarea sunt încă disputate. Se cunoaște faptul că la un situs ischemic se formează un gradient de SDF-1 care determină mobilizarea din măduvă a celulelor care exprimă CXCR4 și faptul că interacțiunea ligandului cu receptorul declanșează cascade de semnalizare implicate în creșterea, proliferarea și supraviețuirea celulară (Ganju et al., 1998; Petit et al., 2007; Roland et al., 2003). În acest context am urmărit în continuare profilul expresiei SDF-1 al EPC timpurii și am investigat dacă rolul paracrin al acestor celule la neovasculogeneză este mediat prin SDF-1 (**Capitolul II.5.**). De asemenea, având în vedere că interacțiunea SDF-1/CXCR4 este exploatată din ce în ce mai mult în vederea terapiei cu celule stem după IM (Zhang et al., 2007), ne-am propus să studiem funcția CXCR4 în remodelarea cardiacă după IM la șoareci modificați genetic (CXCR4<sup>+/-</sup>), în scopul identificării unor eventuale efecte nedorite pe care le pot avea compușii farmacologici (**Capitolul II.6.**). Rezultatele obținute au arătat că EPC timpurii secretă cantități crescute de SDF-1 și sunt capabile să lege SDF-1 de suprafața lor, creând astfel un gradient local care poate atrage din circulație celule stem/progenitoare CXCR4<sup>+</sup> cu potențial angio-/vasculogen. Pe de altă parte, studiile *in vivo* pe șoarecii transgenici demonstrează că CXCR4 prezintă un efect de sabie cu două tăișuri asupra remodelării miocardului după IM. Astfel, pe de-o parte, șoarecii CXCR4<sup>+/-</sup> au prezentat după IM cicatrici mai mici și mai stabile, aceasta asociindu-se cu un răspuns monocitar mai degrabă regenerator și o mai bună adaptare a miocitelor cardiace la stresul hipoxic. Pe de altă parte, acest lucru a fost balansat prin afectarea funcției EPC timpurii, reducerea neovascularizării miocardului și diminuarea refacerii fluxului coronarian, acestea fiind împreună responsabile pentru lipsa de îmbunătățire a funcției ventriculare. Astfel,

extrapolarea acestor rezultate pentru inhibarea CXCR4 în sistem uman trebuie să se facă cu precauție.

În concluzie, datele cuprinse în aceasta teza demonstrează că:

- EPC timpurii și târzii pot fi obținute din sânge periferic și din sânge din cordon ombilical
- Potențialul endotelial al celulelor stem/progenitoare de tip mezenchimal este limitat, însă acest tip celular poate fi exploatat în scopul stimulării neovascularizării pe baza proprietăților paracrine
- Factorii eliberați *in vitro* de către EPC timpurii sunt capabili să stimuleze semnificativ formarea de noi vase de către EPC târzii, nefiind necesară transplantarea EPC timpurii pentru obținerea acestui efect.
- EPC timpurii își mențin proprietățile paracrine în hipoxie și VEGF nu este esențial pentru efectul angiogen al acestora.
- Factorii paracrini secretați de MSC suportă o parte dintre procesele implicate în angiogeneză (susțin chemotaxia și aderarea CE, dar nu și proliferarea) și au efecte benefice asupra miocitelor cardiace ischemice; aceste proprietăți se mențin și atunci când MSC sunt supuse hipoxiei.
- Efectele induse de EPC timpurii *in vitro* sunt complementare celor induse de MSC, stimulând proliferarea, dar nu și aderarea CE. Ambele efecte pot fi induse simultan prin combinarea celor două medii condiționate (obținute de la EPC și MSC). Astfel, combinarea acestor două populații celulare sau a factorilor secretați de ele, ar putea constitui o strategie terapeutică de succes pentru inducerea angiogenezei.
- EPC timpurii secretă cantități crescute de SDF-1 și sunt capabile să lege SDF-1 de suprafața lor, creând astfel un gradient local care poate atrage din circulație, la un situs ischemic, celule stem/progenitoare CXCR4<sup>+</sup> cu potențial angio-/vasculogen.
- CXCR4 prezintă un efect de sabie cu două tăișuri asupra remodelării miocardului după IM, expresia lui scăzută determinând formarea unei cicatrice mai mici și mai stabile, dar afectând neovascularizarea miocardului și refacerea funcției ventriculare.

Reperete stabilite pe baza rezultatelor originale obtinute pe parcursul stagiului doctoral permit imaginarea unor strategii care sa optimizeze terapiile de vascularizare a unui teritoriu ischemic. Aceste date de natura preclinica urmeaza a fi intarite in viitor de studii clinice.

### **Bibliografie**

1. Asahara, T., Murohara, T., Sullivan, A., Silver, M., van der Zee, R., Li, T., Witzgenbichler, 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 neovascuogenesis. *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., Delaunay, 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.