

Terapia celular associada à revascularização transmiocárdica laser como proposta no tratamento da angina refratária

Cell therapy plus transmyocardial laser revascularization: a proposed alternative procedure for refractory angina

Luís Alberto Oliveira DALLAN¹, Luís Henrique GOWDAK², Luiz Augusto Ferreira LISBOA³, Isolmar SCHETTERT⁴, José Eduardo KRIEGER⁵, Luiz Antonio Machado CESAR⁶, Sérgio Almeida de OLIVEIRA⁷, Noedir Antonio Groppo STOLF⁸

RBCCV 44205-949

Resumo

Objetivo: É descrita uma proposição cirúrgica para o tratamento de pacientes com doença arterial coronária (DAC) terminal, não mais passíveis de revascularização miocárdica convencional. Constitui-se na revascularização transmiocárdica com raios laser (RTML), associada ao emprego de células progenitoras hematopoiéticas autólogas (CPH).

Métodos: Nove pacientes (oito homens), 65±5 anos, com as características supracitadas foram submetidos ao procedimento combinado. Além da avaliação clínica, o protocolo incluiu o estudo da perfusão miocárdica através

da ressonância cardíaca (RMC) sob estresse farmacológico, antes e seis meses após a intervenção cirúrgica. Procedeu-se à RTML através de minitoracotomia esquerda e utilização de laser de CO₂, com média de 11±3 tiros por paciente. As CPH foram obtidas por punção medular, seguindo-se sua injeção direta (1,9±0,3x10⁸ células/paciente) em múltiplas áreas do miocárdio isquêmico.

Resultados: Não ocorreram óbitos ou complicações imediatas decorrentes dos procedimentos. Um paciente faleceu no segundo ano de pós-operatório, de causa não cardíaca (choque séptico). O seguimento clínico pós-operatório desses pacientes revelou redução significativa

1. Professor Livre-Docente do Departamento de Cardiopneumologia da FMUSP, Diretor do Serviço de Coronariopatia da Divisão Cirúrgica do InCor HCFMUSP.
2. Doutor em Cardiologia pela FMUSP; Médico Assistente da Divisão Clínica do InCor HCFMUSP.
3. Doutor em Cirurgia Torácica e Cardiovascular pela FMUSP, Médico Assistente da Divisão Cirúrgica do InCor HCFMUSP.
4. Doutor em Medicina pela FMUSP; Médico Assistente da Divisão Clínica do InCor HCFMUSP.
5. Professor Livre-Docente do Departamento de Clínica Médica da FMUSP; Diretor do Serviço de Genética e Cardiologia Molecular da Divisão Clínica do InCor HCFMUSP.
6. Professor Associado da FMUSP; Diretor da Área Clínica de Coronariopatia do InCor HCFMUSP.
7. Professor Emérito da FMUSP; Médico da Divisão Cirúrgica do InCor HCFMUSP.
8. Professor Titular de Cirurgia Cardiovascular da FMUSP; Diretor Geral da Divisão Cirúrgica do InCor HCFMUSP.

Trabalho realizado no Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (InCor HCFMUSP), São Paulo, SP, Brasil.

Endereço para correspondência:

Luís Alberto O. Dallan. R. Inhabú, 917, ap. 191 - Moema - São Paulo - SP - Brasil - CEP 04520-013. Tel. 55 - 11 - 99317167.

E-mail: dcidallan@incor.usp.br

Artigo recebido em 19 de setembro de 2007

Artigo aprovado 7 de fevereiro de 2008

da classe funcional de angina de $3,7\pm 0,2$ para $1,3\pm 0,2$ ($p<0,0001$). Também se verificou redução estatística do índice isquêmico do ventrículo esquerdo (VE) avaliado pela RMC de $1,64\pm 0,10$ para $0,88\pm 0,09$ ($p=0,01$).

Conclusão: A associação da terapia celular com a RTML demonstrou-se segura nessa experiência inicial. Caso confirmado esse sinergismo em estudos mais abrangentes, com melhora da angina e redução documentada da isquemia miocárdica, passamos a contar com uma nova possibilidade de tratamento alternativo para esse grave grupo de pacientes.

Descritores: Angina pectoris. Isquemia miocárdica. Células-tronco. Revascularização miocárdica. Cirurgia a laser. Coronariopatia.

Abstract

Objective: We tested the hypothesis that TMLR combined with intramyocardial injection of BMC is safe, and may help increase the functional capacity of patient with refractory angina.

Methods: Nine patients (eight men), 65 ± 5 years old, with refractory angina for multivessel disease and previous myocardial revascularization procedures (CABG/PCI), not candidates for another procedure due to the extension of the disease were enrolled. TMLR (11 ± 3 laser drills) was performed via a limited thoracotomy using a CO₂ Heart

Laser System. BMC were obtained immediately prior to surgery, and the lymphomonocytic fraction separated by density gradient centrifugation. During surgery, 5mL containing approximately $1.9\pm 0.3\times 10^8$ BMC were delivered by multiple injections in the ischemic myocardium. Before (B) and 6 months (6M) after the procedure, patient underwent clinical evaluation and myocardial perfusion assessment by cardiac magnetic resonance imaging (MRI) during pharmacological stress with dipyridamole.

Results: No major complications or deaths occurred during the procedure. One patient died after 2 years (non cardiac cause). There was a reduction in the ischemic score as assessed by MRI from 1.64 ± 0.10 (B) to 0.88 ± 0.09 (6M) ($P=0.01$). Clinically, there was a reduction in functional class of angina from 3.7 ± 0.2 (B) to 1.3 ± 0.2 (6M) ($P<0.0001$).

Conclusions: In this initial experience, the combined strategy of TMLR plus cell therapy appeared to be safe, and may have synergistically acted to reduce myocardial ischemia, with clinically relevant improvement in functional capacity. Provided these data are confirmed in a larger, randomized, controlled trial with longer follow-up, this strategy could be used as a novel therapeutic option for treating pt with refractory angina.

Descriptors: Angina pectoris. Myocardial ischemia. Stem cells. Laser surgery. Myocardial revascularization. Coronary disease.

INTRODUÇÃO

A revascularização transmiocárdica a laser (RTML) constitui opção terapêutica para pacientes com coronariopatia isquêmica em estágio terminal, devido à extensão da doença aterosclerótica [1]. Esses pacientes não são mais passíveis de revascularização miocárdica convencional ou por intervenção percutânea. Vários estudos têm procurado estabelecer os mecanismos de ação do laser, sendo que uma das principais causas da melhora na perfusão miocárdica desses pacientes vem sendo atribuída à ação de citocinas angiogênicas, decorrentes do processo inflamatório desencadeado pelo laser [2,3].

Recentemente, a terapia celular emergiu como estratégia terapêutica para reparação tecidual em medicina cardiovascular [4,5]. Em modelos de experimentação animal, demonstrou-se que células derivadas da medula óssea possuem capacidade de se diferenciar em células contráteis ou vasos sanguíneos em tecidos isquêmicos [6,7]. Após a documentação em laboratório do potencial terapêutico dessas células, ensaios clínicos para doença arterial coronária (DAC) foram iniciados [8,9]. Compilações dos ensaios clínicos disponíveis até o momento apontam para a segurança do procedimento e eficácia estatisticamente significativa, embora de relevância clínica marginal [10,11].

Diante do potencial angiogênico dessas duas modalidades terapêuticas, postulou-se que uma vez combinada a RTML à terapia celular, efeito sinérgico poderia ser obtido com conseqüente otimização do ganho de perfusão tecidual em pacientes portadores de angina refratária. De fato, experiência anterior deste grupo mostrou a exequibilidade da associação de ambas as técnicas em pacientes portador de angina refratária, com conseqüente aumento da perfusão miocárdica e melhora da classe funcional de angina [12].

O objetivo deste trabalho é verificar se a RTML em associação com a terapia celular é factível, segura e se o efeito angiogênico sinérgico dessas duas terapias pode trazer benefícios a esses pacientes tanto no alívio da angina, como na redução da isquemia miocárdica.

MÉTODOS

População de estudo

Entre agosto de 2004 e dezembro de 2006, foram operados em nosso serviço nove pacientes (oito do sexo masculino), com idade média de 65 ± 5 anos, portadores de DAC e angina refratária, mesmo sob terapia medicamentosa otimizada. Os critérios de inclusão estabelecidos foram: idade entre 18 e 75 anos de idade; angina refratária a

despeito de terapia clínica maximamente tolerada; isquemia miocárdica objetivamente documentada por métodos não invasivos; coronariografia com padrão obstrutivo multiarterial. Três pacientes apresentavam angina classe III, seis, classe IV e todos haviam sido previamente revascularizados, não sendo candidatos à reintervenção pelo grau difuso da coronariopatia. Esse estudo prospectivo, não randomizado, aberto e de fase clínica I, foi aprovado pelo Comitê de Ética Institucional, assim como todos os pacientes que concordaram em participar do estudo assinaram o termo de consentimento informado.

Procedimento cirúrgico

Procedeu-se à RMTL através de minitoracotomia anterior esquerda e utilização de laser de CO₂ (PLC Medical Systems, Milford, MA), com média de 11±3 tiros por paciente, distribuídos nas paredes anterior, lateral e inferior do coração (Figura 1A). As células progenitoras hematopoiéticas autólogas (CPH) foram obtidas por punção de medula óssea realizada no mesmo procedimento cirúrgico, logo após a indução anestésica.

Foram aspirados da crista ilíaca posterior cerca de 100mL de líquido medular e sua fração linfomononuclear foi isolada por gradiente de densidade pelo sistema Ficoll-Paque Plus (Amersham Biosciences, Piscataway, NJ). Dessa maneira, as células isoladas foram ressuspensas em solução fisiológica para um volume final de 5-mL contendo $1,9 \pm 0,3 \times 10^8$ CPH (CD34+=1,8±0,3%). A injeção no miocárdio foi realizada diretamente em suas diversas áreas isquêmicas ao redor dos canais recém-criados pelo laser (Figura 1B). Em seguida, procedeu-se à conclusão do ato cirúrgico de maneira habitual e os pacientes foram encaminhados para a Unidade de Recuperação Cardíaca.

Estudo de perfusão miocárdica pela ressonância cardíaca

Além da avaliação clínica, os pacientes foram submetidos a estudo padronizado de perfusão miocárdica por ressonância cardíaca (RMC) (1.5T scanner - Signa CV/i, GE Medical Systems, Waukesha, WI) com estresse farmacológico no pré-operatório e após seis meses, como descrito anteriormente [12,13].

Análise estatística

As variáveis contínuas são apresentadas como média ± desvio padrão. Usou-se o teste *t* de Student bicaudal para comparações entre os momentos pré e pós-procedimento. O nível de significância estatística foi definido para um valor de $p < 0,05$. Os cálculos estatísticos foram feitos usando-se o software SPSS 13.0 for Windows (SPSS Inc., Chicago, IL).

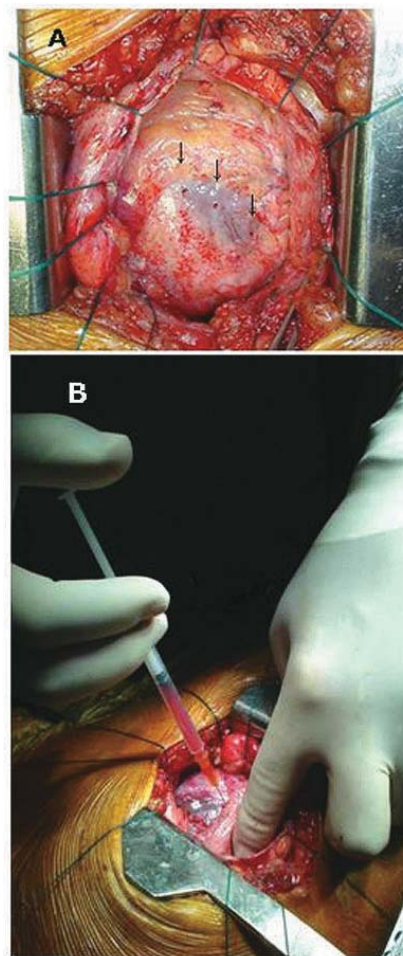


Fig. 1 - A - Canais criados pelos disparos de laser na parede anterior do VE (setas). B - Injeção intramiocárdica de CPH combinada à RMTL

RESULTADOS

Evolução clínica

Não ocorreram óbitos ou complicações imediatas decorrentes do procedimento. Foi observado um óbito após 2 anos do procedimento, decorrente de choque séptico (origem não cardíaca). O seguimento clínico pós-operatório desses pacientes revelou redução significativa da classe funcional de angina de $3,7 \pm 0,2$ (pré-operatório) para $1,3 \pm 0,2$ (seis meses de pós-operatório), $p < 0,0001$, com todos os pacientes melhorando, pelo menos, duas classes funcionais para angina em seis meses de seguimento (Figura 2). Dos oito pacientes sobreviventes, cinco estão em classe I e três em classe II. Houve, também, diminuição no uso de medicamentos, especialmente dos nitratos de curta ação.

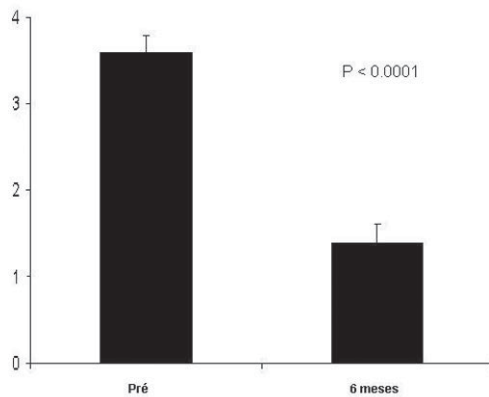


Fig. 2 - Classe funcional de angina (CCS) pré e seis meses após o procedimento. Observamos redução significativa da classe funcional de angina de $3,7 \pm 0,2$ (pré-operatório) para $1,3 \pm 0,2$ (seis meses de pós-operatório), $p < 0,0001$

Estudo de perfusão miocárdica

Em adição à observação clínica, todos os pacientes realizaram a RMC pós-operatória para avaliar e documentar a perfusão miocárdica seis meses após o procedimento. A RMC realizada nos nove pacientes mostrou redução significativa do índice isquêmico do ventrículo esquerdo, caindo de $1,64 \pm 0,10$ (pré-operatório) para $0,88 \pm 0,09$ (seis meses de pós-operatório), $p = 0,01$ (Figura 3). Não houve alteração significativa na fração de ejeção do ventrículo esquerdo que foi de $0,54 \pm 0,09$ para $0,59 \pm 0,07$, $p = 0,41$.

A Figura 4 ilustra o tipo de imagem obtida pela RMC durante estudo de perfusão miocárdica sob estresse farmacológico.

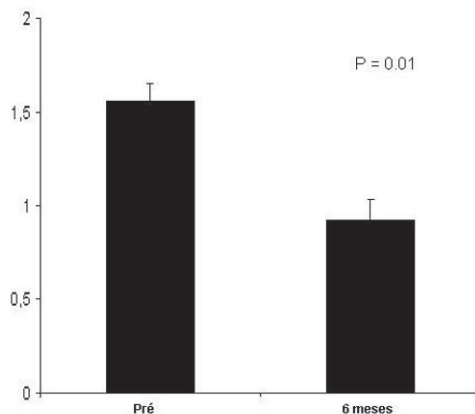


Fig. 3 - Escore isquêmico de VE determinado pela RMC pré e seis meses após o procedimento. Observamos redução significativa do índice isquêmico do ventrículo esquerdo, caindo de $1,64 \pm 0,10$ (pré-operatório) para $0,88 \pm 0,09$ (6 meses de pós-operatório), $p = 0,01$

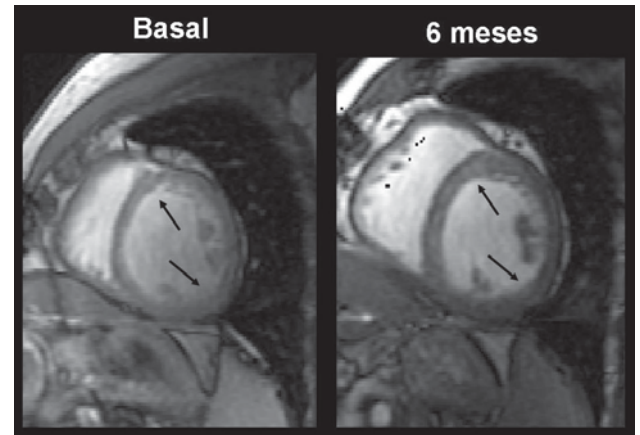


Fig. 4 - Imagens obtidas pela RMC do eixo curto de VE. As setas indicam segmentos miocárdicos com evidente aumento de contratilidade. Nota-se o aumento do espessamento parietal sistólico após o procedimento, comparativamente ao basal

DISCUSSÃO

A discussão deste artigo envolve diretamente os prováveis mecanismos de ação da RTML e da terapia celular sobre o miocárdio isquêmico e sua possível interação terapêutica. Estudos randomizados com o emprego da RTML têm demonstrado os efeitos benéficos desse procedimento na redução do escore de angina em pacientes com DAC grave e difusa [14-16]. Entretanto, o verdadeiro mecanismo de ação do método permanece indefinido. A intenção inicial de se obter, à semelhança do coração dos répteis, perfusão miocárdica através de canais que trariam sangue arterial diretamente do VE para a espessura do miocárdio, não se concretizou [17].

Entre os possíveis mecanismos de ação da RTML inclui-se um eventual efeito placebo, que, por sua vez, dificilmente permaneceria por vários anos após o procedimento. A denervação cardíaca pelos raios laser seria uma outra possibilidade. A presença de receptores ventriculares e de fibras aferentes simpáticas, que conduzem os estímulos dolorosos cardíacos ao cérebro, corroboraria essa hipótese. Entretanto, esse evento tende a ser temporário, pois existem evidências de reinervação após seis meses [18,19].

Outra hipótese decorreria da destruição do miocárdio isquêmico. Resta saber se a extensão dos disparos de laser sobre a superfície miocárdica justifica essa possibilidade.

Existem cálculos que estimam essa destruição. Tomemos como exemplo o uso do holmium; YAG laser, reconhecidamente mais abrasivo do que o laser de CO_2 . Estimando-se a realização de 40 disparos (atualmente esse

número é bem menor), a espessura média da parede do VE (10 mm) e o conhecimento da área de lesão de cada disparo desse laser (4,5mm²) [20] pode-se inferir que o volume total do tecido miocárdio destruído gira em torno de 1,8mm³. Considerando-se a densidade tecidual, isso corresponde a apenas 2 gramas de músculo. Caso o laser utilizado fosse o de CO₂, o volume de miocárdio destruído seria metade dessa cifra. Se admitirmos que o índice médio de massa de VE corresponde a 76±13g/m² da massa corpórea nos homens e 66±11g/m² nas mulheres [21], verificamos que a massa muscular tratável é de 80 a 113g nos homens e de 62,5 a 88g nas mulheres (lembrando ainda que um terço dessa massa corresponde ao septo interventricular, local fora do acesso do laser). O volume de miocárdio, portanto, destruído pela terapia RTML, dependendo do sexo e da massa corpórea do paciente, corresponderia de 1,7% a 3,2% do total de músculo tratável, quantidade irrisória para explicar o alívio da angina.

Recentemente, foi proposto um novo mecanismo para a ação da RTML. A hipótese baseia-se na redistribuição de áreas de estresse da parede de VE pela produção de cicatrizes fibrosas transmiocárdicas pelo laser, que penetrariam pelas várias camadas musculares que circundam a cavidade ventricular esquerda [22]. As fibras musculares mais superficiais estão dispostas em posição oblíqua, enquanto as da camada média são circunferenciais e as internas têm arranjo longitudinal [23].

Corações com isquemia difusa e função contrátil preservada seriam portadores de múltiplas áreas microscópicas de hipocinesia indetectáveis. Isso geraria outras áreas compensatórias de hipercinesia [24]. Exatamente nessas áreas hipercinéticas haveria o aumento na demanda por oxigênio e o acúmulo de resíduos metabólicos. Por também se tratar de local com fluxo sanguíneo e oxigenação limitados, esse mecanismo compensatório induziria a angina. As fibroses transmiocárdicas diminuiriam as tensões decorrentes da contração simultânea de fibras musculares distribuídas nas diferentes direções citadas. O estresse da parede do VE seria, portanto, dividido por todas as camadas desde o endocárdio até o epicárdio por verdadeiros “minitendões”, cuja sustentação redistribuiria a tensão interfascicular e reduziria a demanda por oxigênio.

Os efeitos da RTML na redução da angina têm sido atribuídos à angiogênese, embora não haja evidência de que a mesma se caracterize como atuação específica do laser [25,26]. É incontestável o aumento na densidade vascular nas áreas imediatamente próximas aos canais resultantes dos disparos do laser [17]. Contudo, calcula-se que, na realização de 40 canais pela RTML, apenas 17,4% a 31,5% do tecido miocárdico tratável estão microscopicamente habilitados a desenvolver neovascularização (dependendo do sexo e da superfície corpórea do paciente) [22].

Entretanto, ainda se questiona o fato desta

neovascularização não se expandir para além dos territórios contíguos [27,28]. Diversos estudos indicam a melhora na perfusão do miocárdio após a RTML, especialmente aqueles realizados por meio da cintilografia com tálcio [16,29]. Para a questão de como ocorreria essa nova vascularização em territórios já fibrosados, após infarto do miocárdio, locais reconhecidamente com pouca oferta de oxigênio [18].

A terapia celular tem como objetivo recompor a perda da célula cardíaca adulta, recolonizando a região de fibrose com novas células contráteis e/ou promovendo angiogênese [30]. Para tanto, a presença da isquemia sustentada é fator fundamental para o sucesso terapêutico. As células progenitoras adultas multipotentes são similares às células-tronco embriogênicas, pois mantêm o potencial de diferenciação e de clonagem em diversas linhagens, além da capacidade de se proliferar extensivamente [31]. São vantajosas, pois possuem menos problemas imunológicos e éticos, além de poderem ter uso imediato em terapia celular. Embora existam em vários tecidos (como, por exmplo, medula óssea, sangue e fígado), são encontradas em menor quantidade no indivíduo adulto [32]. O típico exemplo das células-tronco adultas são as células progenitoras hematopoéticas, que são reconhecidas como um sistema organizado hierarquicamente com células-tronco de auto-renovação e multipotentes, capazes de gerar todos os tipos de células do sistema imune e sangue.

Apesar dos intensos estudos visando a decifrar o esquema molecular da troca de linhagens dentro do sistema hematopoético, o mecanismo que determina a transição no destino das células-tronco adultas ainda não está esclarecido. Estudos sugerem que as células-tronco do adulto, incluindo as células progenitoras hematopoéticas, mantêm um grau indiferenciado de “desenvolvimento plástico”, o que permite sua diferenciação de acordo com a linhagem de células, tecidos ou órgãos, que estão ao seu redor ou junto a elas [33-35]. Entretanto, atualmente questiona-se esse clássico conceito de diferenciação restrita das células-tronco em linhagens específicas do próprio órgão.

O objetivo deste estudo indica claramente a possibilidade de serem vislumbrados indícios dos mecanismos que possam trazer melhora à perfusão e, conseqüentemente, à sintomatologia dessa gama seleta de pacientes coronariopatas. Embora ainda controversa, a tentativa de transdiferenciação de células progenitoras autólogas endoteliais, transplantadas em meio ao miocárdio isquêmico para neovascularização terapêutica [36], a ação de citocinas e de fatores de crescimento aplicados localmente após RTML ou associados à injeção de células [37], ou ambos, podem ter agido sinergicamente, possibilitando a angiogênese e subseqüente melhora funcional, demonstrando a importância do microambiente para a obtenção do efeito terapêutico desejado via terapia celular [38].

Essa possibilidade de sinergismo nos procedimentos

de terapia celular e RTML nos ocorreu num primeiro paciente de nossa série. Tratava-se de paciente de 74 anos, portador de angina refratária. Em seu tratamento, foram utilizadas células autólogas de medula óssea, combinadas com RTML. A RMC de base revelava extensas áreas de isquemia miocárdica, associadas ao mau desempenho contrátil do VE. Foram realizados 11 disparos de laser de CO₂ e injeção miocárdica de 5 mL de suspensão contendo 21,5X10⁶ células de medula óssea por mL. Decorridos seis meses do procedimento, outra RMC mostrou completa resolução dos defeitos de perfusão e melhora acentuada da função contrátil do VE [12].

A extensão desse estudo mostrou a exequibilidade da combinação de duas diferentes estratégias (RTML associada à terapia celular) em pacientes coronariopatas altamente sintomáticos, não responsivos ao tratamento médico otimizado, nos quais já haviam sido esgotados todos os recursos terapêuticos existentes. Como em toda nova proposição, devemos incentivar que maiores investigações busquem corroborar ou não os pontos aqui destacados. Novas linhas de pesquisa devem ser desenvolvidas, visando a estabelecer de maneira definitiva a segurança, a eficácia e os potenciais efeitos, negativos ou positivos, inerentes ao procedimento.

CONCLUSÃO

Nesse estudo inicial (fase I), a associação da RTML com a aplicação intramiocárdica de células-tronco mostrou-se factível e segura, e o sinergismo dessas duas terapêuticas pode ter contribuído para a redução da isquemia miocárdica e para a melhora da angina nesse grupo de pacientes.

Sendo confirmado esse sinergismo em estudos mais abrangentes, com maior número de pacientes, em estudo duplo-cego, randomizado e controlado por placebo, poderemos dispor de um método alternativo para o tratamento desse grave segmento de pacientes, altamente limitados pela angina refratária e para os quais, atualmente, não restam alternativas terapêuticas disponíveis.

REFERÊNCIAS

1. Frazier OH, March RJ, Horvath KA. Transmyocardial revascularization with a carbon dioxide laser in patients with end-stage coronary artery disease. *N Engl J Med*. 1999;341(14):1021-8.
2. Bridges CR. Angiogenesis in myocardial laser "revascularization". *Herz*. 2000;25(6):579-88.
3. Fuchs S, Baffour R, Vodovotz Y, Shou M, Stabile E, Tio FO, et al. Laser myocardial revascularization modulates expression of angiogenic, neuronal, and inflammatory cytokines in a porcine model of chronic myocardial ischemia. *J Card Surg*. 2002;17(5):413-24.
4. Cannon RO 3rd, Dunbar CE. BM-derived cell therapies for cardiovascular disease. *Cytotherapy*. 2007;9(4):305-15.
5. Renault MA, Losordo DW. Therapeutic myocardial angiogenesis. *Microvasc Res*. 2007;74(2-3):159-71.
6. 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 U S A*. 2001;98(18):10344-9.
7. Yang ZJ, Ma DC, Wang W, Xu SL, Zhang YQ, Chen B, et al. Neovascularization and cardiomyocytes regeneration in acute myocardial infarction after bone marrow stromal cell transplantation: comparison of infarct-relative and noninfarct-relative arterial approaches in swine. *Clin Chim Acta*. 2007;381(2):114-8.
8. Losordo DW, Schatz RA, White CJ, Udelson JE, Veereshwarayya V, Durgin M, et al. Intramyocardial transplantation of autologous CD34+ stem cells for intractable angina: a phase I/IIa double-blind, randomized controlled trial. *Circulation*. 2007;115(25):3165-72.
9. Briguori C, Reimers B, Sarais C, Napodano M, Pascotto P, Azzarello G, et al. Direct intramyocardial percutaneous delivery of autologous bone marrow in patients with refractory myocardial angina. *Am Heart J*. 2006;151(3):674-80.
10. Lipinski MJ, Biondi-Zoccai GG, Abbate A, Khianey R, Sheiban I, Bartunek J, et al. 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*. 2007;50(18):1761-7.
11. Abdel-Latif A, Bolli R, Tleyjeh IM, Montori VM, Perin EC, Hornung CA, et al. Adult bone marrow-derived cells for cardiac repair: a systematic review and meta-analysis. *Arch Intern Med*. 2007;167(10):989-97.
12. Gowdak LH, Schettert IT, Rochitte CE, Lisboa LA, Dallan LA, César LA, et al. Cell therapy plus transmyocardial laser revascularization for refractory angina. *Ann Thorac Surg*. 2005;80(2):712-4.
13. Pennell DJ, Sechtem UP, Higgins CB, Manning WJ, Pohost GM, Rademakers FE, et al. Clinical indications for cardiovascular magnetic resonance (CMR): Consensus Panel report. *Eur Heart J*. 2004;25(21):1940-65.
14. Horvath KA. Results of prospective randomized controlled trials of transmyocardial laser revascularization. *Heart Surg Forum*. 2002;5(1):33-9.

15. Allen KB, Dowling RD, Fudge TL, Schoettle GP, Selinger SL, Gangahar DM, et al. Comparison of transmyocardial revascularization with medical therapy in patients with refractory angina. *N Engl J Med*. 1999;341(14):1029-36.
16. Allen KB, Dowling RD, Schuch DR, Pfeffer TA, Marra S, Lefrak EA, et al. Adjunctive transmyocardial revascularization: five-year follow-up of a prospective, randomized trial. *Ann Thorac Surg*. 2004;78(2):458-65.
17. Dallan LA, Lisboa LA, Abreu-Filho CAC, Cabral RH, Platania F, Dallah LAP, et al. Análise direcional do fluxo sanguíneo miocárdico após revascularização transmiocárdica com laser de CO₂; estudo através da ressonância magnética com imagens de gradiente ultra-rápido. *Rev Bras Cir Cardiovasc*. 2002;17(2):1-7.
18. Sun Y, Kiani MF, Postlethwaite AE, Weber KT. Infarct scar as living tissue. *Basic Res Cardiol*. 2002;97(5):343-7.
19. Minisi AJ, Topaz O, Quinn MS, Mohanty LB. Cardiac nociceptive reflexes after transmyocardial laser revascularization: implications for the neural hypothesis of angina relief. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2001;122(4):712-9.
20. Fisher PE, Kohmoto T, DeRosa CM, Spotnitz HM, Smith CR, Burkhoff D. Histologic analysis of transmyocardial channels: comparison of CO₂ and holmium:YAG lasers. *Ann Thorac Surg*. 1997;64(2):466-72.
21. Echo by web: left ventricular geometry. Disponível em: http://www.echobyweb.com/htm_level3_outofstructure/formulas&calculations/lv_geometry_eng.htm. Acesso em: 28/01/2008.
22. Cardarelli M. A proposed alternative mechanism of action for transmyocardial revascularization prefaced by a review of the accepted explanations. *Tex Heart Inst J*. 2006;33(4):424-6.
23. Anderson RH, Becker AE, Allwork SP. Cardiac anatomy: an integrated text and colour atlas. London:Gower Medical;1980. p.5.2-5.26.
24. Braunwald E. Heart disease: a textbook of cardiovascular medicine. Philadelphia:WB Saunders;1980. p.429-78.
25. Bridges CR. Myocardial laser revascularization: the controversy and the data. *Ann Thorac Surg*. 2000;69(2):655-62.
26. Bridges CR. Angiogenesis in myocardial laser "revascularization". *Herz*. 2000;25(6):579-88.
27. Kohmoto T, DeRosa CM, Yamamoto N, Fisher PE, Failey P, Smith CR, et al. Evidence of vascular growth associated with laser treatment of normal canine myocardium. *Ann Thorac Surg*. 1998;65(5):1360-7.
28. Mueller XM, Tevæearai HT, Genton CY, Chaubert P, von Segesser LK. Are there vascular density gradients along myocardial laser channels? *Ann Thorac Surg*. 1999;68(1):125-9.
29. Lange RA, Hillis LD. Transmyocardial laser revascularization. *N Engl J Med*. 1999;341(14):1075-6.
30. Dallah LAD, Lisboa LA, Oliveira AS. Possibilidade do transplante celular na miocardiopatia terminal. In: Buffolo E, ed. Insuficiência cardíaca: uma visão mecanicista. São Paulo:Atheneu;2005. p.105-27.
31. Lisboa LAF, Dallah LAO, Oliveira SA. Implante miocárdico de células-tronco na miocardiopatia isquêmica. In: Oliveira SA, Lisboa LAF, Dallah LAO, eds. Cirurgia cardiovascular (Série Colégio Brasileiro de Cirurgiões). vol 3. São Paulo:Atheneu;2005. p.75-82.
32. Korbiling M, Estrov Z. Adult stem cells for tissue repair: a new therapeutic concept? *N Engl J Med*. 2003;349(6):570-82.
33. Blau HM, Brazelton TR, Weimann JM. The evolving concept of a stem cell: entity or function? *Cell*. 2001;105(7):829-41.
34. Quesenberry PJ, Colvin GA, Lambert JF. The chiaroscuro stem cell: a unified stem cell theory. *Blood*. 2002;100(13):4266-71.
35. Graf T. Differentiation plasticity of hematopoietic cells. *Blood*. 2002;99(9):3089-101.
36. Kawamoto A, Tkebuchava T, Yamaguchi J, Nishimura H, Yoon YS, Milliken C, et al. Intramyocardial transplantation of autologous endothelial progenitor cells for therapeutic neovascularization of myocardial ischemia. *Circulation* 2003;107(3):461-8.
37. Liu Y, Guo J, Zhang P, Zhang S, Chen P, Ma K. Bone marrow mononuclear cell transplantation into heart elevates the expression of angiogenic factors. *Microvasc Res*. 2004;68(3):156-60.
38. Oliveira SA, Gowdak LH, Buckberg G, Krieger JE; RESTORE Group. Cell biology, MRI and geometry: insight into a microscopic/macrosopic marriage. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2006;29(Suppl 1):S259-65.