

## Regeneração Cardíaca com Fatores de Crescimento: Avanços e Desafios

### Cardiac Regeneration using Growth Factors: Advances and Challenges

Juliana de Souza Rebouças<sup>1</sup>, Nereide Stela Santos-Magalhães<sup>1</sup>, Fabio Rocha Formiga<sup>2,3</sup>

Laboratório de Imunopatologia Keizo-Asami<sup>1</sup> – Universidade Federal de Pernambuco (UFPE); Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada<sup>2</sup> – Universidade de Pernambuco (UPE), Recife, PE; Curso de Pós-Graduação em Patologia (UFBA/FIOCRUZ)<sup>3</sup> – Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Salvador, BA – Brasil

### Resumo

O infarto do miocárdio representa a manifestação mais significativa da cardiopatia isquêmica e está associado a elevada morbimortalidade. Novas estratégias vêm sendo investigadas com o intuito de regenerar o miocárdio lesionado, incluindo a terapia gênica, a terapia celular e a utilização de fatores de crescimento. A terapia com fatores de crescimento despertou interesse em medicina cardiovascular, devido aos mecanismos de regeneração induzidos por essas biomoléculas, incluindo angiogênese, remodelamento da matriz extracelular, proliferação de cardiomiócitos e recrutamento de células-tronco, dentre outros. Em conjunto, tais mecanismos promovem a reparação do miocárdio e a melhora da função cardíaca. Esta revisão pretende abordar o papel estratégico da terapia, com fatores de crescimento, para a regeneração cardíaca, considerando seu caráter inovador e multifatorial sobre o reparo do miocárdio após dano isquêmico. Diferentes questões serão discutidas, destacando-se os mecanismos de regeneração como recurso terapêutico potencial mediado por fatores de crescimento e os desafios para tornar essas proteínas terapeuticamente viáveis no âmbito da cardiologia e da medicina regenerativa.

### Introdução

As doenças cardiovasculares (DCV) são a primeira causa de morte entre homens e mulheres no mundo, entre todos os grupos raciais e étnicos.<sup>1</sup> Nos Estados Unidos, essas enfermidades são responsáveis por aproximadamente 57% de todas as mortes no país.<sup>2</sup> Na Europa, as DCV causam 4.3 milhões de mortes a cada ano, o que representa quase metade (48%) de todas as mortes nesse continente.<sup>3</sup> As DCV também são as principais causas de morte no Brasil, com uma taxa de mortalidade específica para doenças isquêmicas do coração de 53,8 óbitos para cada 100.000 habitantes.<sup>4</sup>

No grupo das DCV, a doença arterial coronariana (DAC) e a doença arterial obstrutiva periférica (DAOP) são importantes

causas de morbidade e mortalidade, exigindo procedimento de *bypass* cirúrgico ou angioplastia em milhares de pacientes. Por outro lado, o infarto do miocárdio (IM) representa a manifestação mais significativa da cardiopatia isquêmica e também está associado a elevada morbimortalidade. A isquemia é responsável pelo dano ao músculo cardíaco, incluindo a perda de cardiomiócitos. Esse processo produz um remodelamento negativo do coração causando a substituição do tecido cardíaco com função contrátil normal por um tecido cicatrizado não funcional. O miocárdio, então, produz um mecanismo compensatório hipertrófico contra a cicatrização induzida pela isquemia. Entretanto, a hipertrofia pode tornar o coração susceptível ao aparecimento de arritmias, fibrilação ventricular e ataque cardíaco fulminante.<sup>5,6</sup> Apesar de os procedimentos avançados de revascularização (angioplastia, cateterismo, *bypass*) terem contribuído para uma redução marcante na mortalidade por DCV, um número significativo de pacientes não são candidatos a esses procedimentos ou alcançam revascularização incompleta com tais intervenções. Consequentemente, muitos desses pacientes apresentam sintomas persistentes de isquemia cardíaca, apesar dos cuidados médicos intensivos. Eles devem sofrer de doença aterosclerótica severa difusa, a qual não pode ser tratada com cirurgia ou angioplastia. A doença vascular obstrutiva sintomática resulta em claudicação, isquemia periférica, angina e insuficiência cardíaca congestiva, limitando de maneira significativa a qualidade de vida de tais pacientes.

O tratamento do IM inclui o uso de fármacos (antiplaquetários, anticoagulantes orais, nitratos, bloqueadores  $\beta$ -adrenérgicos e inibidores da ECA entre outros), procedimentos de reperfusão e de revascularização cirúrgica e, nos casos mais complexos, o transplante de coração. Na última década, houve uma crescente investigação sobre novas estratégias para regenerar o miocárdio lesionado, incluindo a terapia gênica,<sup>7,8</sup> a terapia celular<sup>9,10</sup> e a utilização de fatores de crescimento.<sup>11</sup> Essa última estratégia também tem sido investigada para a indução de angiogênese terapêutica na doença arterial periférica.<sup>12</sup>

O uso de fatores de crescimento despertou interesse em medicina cardiovascular devido às ações diretas dos fatores sobre diversas funções celulares como adesão, proliferação e migração, entre outras. Diante da oclusão do fluxo arterial coronariano, a indução de angiogênese por fatores de crescimento representa um importante mecanismo de reparo e proteção do miocárdio sob condições de hipóxia, resultando na formação de novos vasos.<sup>13</sup> Consequentemente, produz-se um aumento da perfusão tecidual gerando, em última instância, uma melhora na função cardíaca.

Por outro lado, o potencial regenerativo dos fatores de crescimento ganhou notória importância no âmbito da

### Palavras-chave

Infarto do Miocárdio; Isquemia Miocárdica; Remodelação Vascular; Peptídeos e Proteínas de Sinalização Intercelular; Terapia Baseada em Transplante de Células e Tecidos.

#### Correspondência: Fabio Rocha Formiga •

Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ).  
Rua Waldemar Falcão, 121, Candeal. CEP 40296710, Salvador, BA – Brasil.  
E-mail: fabio.formiga@bahia.fiocruz.br  
Artigo recebido em 31/10/15; revisado em 18/03/16; aceito em 23/03/16.

DOI: 10.5935/abc.20160097

terapia celular. Estudos comprovaram que os benefícios observados após a aplicação de células tronco na área infartada se devem mais ao efeito parácrino dos fatores de crescimento secretados pelas células implantadas do que pela ação direta das células no tecido infartado.<sup>9,14-16</sup> Esses fatores apresentam o potencial de induzir distintos mecanismos de regeneração: remodelamento positivo da matriz extracelular, proliferação de cardiomiócitos adultos, recrutamento/homing de células tronco cardíacas, efeito antiapoptótico e/ou angiogênico.<sup>11,17</sup> Em conjunto, esses mecanismos podem reduzir a inflamação, a fibrose e a perfusão inadequada do miocárdio isquêmico, promovendo reparação tecidual e melhora na função cardíaca.<sup>9</sup>

Apesar dos mecanismos de regeneração tecidual induzidos por fatores de crescimento, o potencial terapêutico dessas proteínas é limitado pela sua curta meia-vida biológica, baixa estabilidade em plasma e pouca especificidade aos órgãos-alvo. De fato, Hwang e Kloner administraram um coquetel de fatores de crescimento em ratos por via intraperitoneal e não observaram benefícios na função cardíaca, redução do tamanho do infarto ou aumento da vascularização.<sup>18</sup>

Dessa forma, a utilização clínica dos fatores de crescimento depende de novas tecnologias de formulação capazes de aumentar sua meia-vida, manter sua bioatividade e controlar sua liberação local nos tecidos-alvo. Nesse contexto, sistemas micro e nanoestruturados têm sido utilizados como plataformas de liberação de moléculas bioativas,<sup>19,20</sup> sendo uma estratégia de formulação promissora para o uso terapêutico de fatores de crescimento no âmbito na regeneração cardíaca.<sup>11</sup>

Esta revisão pretende abordar o papel estratégico da terapia com fatores de crescimento para a regeneração cardíaca, considerando seu caráter inovador e multifatorial sobre o reparo cardíaco após um dano isquêmico.

### Mecanismos de regeneração cardíaca

A capacidade inata de autorregeneração do coração humano é insuficiente para compensar a perda de músculo cardíaco após um dano isquêmico.<sup>9</sup> Diferentemente do que acontece com o músculo esquelético, no qual as células satélites e mioblastos formam novos miócitos em poucos dias após a lesão, cardiomiócitos da zona limítrofe do infarto raramente se dividem após o evento isquêmico.<sup>21</sup> Em uma lesão provocada por infarto, o coração perde aproximadamente 50 g de músculo, o que pode resultar na morte de 2 bilhões de cardiomiócitos.<sup>22,23</sup> Essa agressão ao miocárdio dispara e modula alterações reparadoras no tecido, incluindo dilatação, hipertrofia e formação de cicatriz de colágeno.<sup>24</sup> Com relação à renovação celular, os mecanismos de reparo endógeno são insuficientes para induzir renovação significativa da massa muscular perdida após o dano isquêmico.

A proliferação de cardiomiócitos exerce um papel fundamental na regeneração cardíaca de alguns vertebrados, mas a capacidade proliferativa dessas células é limitada no coração adulto de mamíferos.<sup>21</sup> Outro potencial mecanismo de renovação celular é a mobilização de progenitores da medula óssea para a área isquêmica e sua diferenciação

em cardiomiócitos funcionais.<sup>9</sup> Contudo, a mobilização e o *homing* desses progenitores também são insuficientes para induzir regeneração significativa. O miocárdio também alberga uma população de células-tronco cardíacas residentes (CSCs) com o potencial para diferenciar-se em cardiomiócitos.<sup>25,26</sup> As CSCs parecem ser responsáveis pelo *turnover* basal dos cardiomiócitos, mas tal renovação ocorre, provavelmente, em taxas muito reduzidas na ausência de lesão.<sup>27</sup>

A eficácia desses mecanismos endógenos de reparo tecidual é limitada pelo microambiente hostil do miocárdio infartado, caracterizado por isquemia, inflamação, fibrose e angiogênese inadequada. Esse microambiente deve evitar, por exemplo, a ativação de CSCs. Por outro lado, a inflamação excessiva também evita a mobilização e o *homing* de progenitores. A formação de tecido fibrótico é necessária para evitar a ruptura muscular após o infarto, mas o alto nível de fibrose representa uma importante barreira física para a regeneração celular do miocárdio.<sup>9</sup> Portanto, a mitigação desse ambiente hostil deve contribuir para o reparo cardíaco, principalmente a redução da inflamação, apoptose e fibrose locais bem como o aumento da vascularização nas áreas infartadas e peri-infartadas.

### Fatores de crescimento indutores de mecanismos regenerativos

Angiogênese se refere ao crescimento de vasos sanguíneos a partir de um leito vascular pré-existente. Do ponto de vista clínico, o objetivo é estimular o crescimento de novos vasos em pacientes sob condições caracterizadas por baixa perfusão sanguínea, como as doenças isquêmicas do coração e doenças vasculares periféricas.<sup>28</sup>

Nesse último aspecto, a identificação de fatores de crescimento indutores do processo angiogênico estimulou o interesse pela utilização dessas proteínas para induzir angiogênese terapêutica.<sup>11</sup> No caso do infarto do miocárdio, a terapia angiogênica com fatores de crescimento pode salvar o tecido isquêmico nos estágios iniciais do infarto, suprimindo o tecido com novos vasos. Esse processo é essencial para prevenir a insuficiência cardíaca, mantendo o controle da hipertrofia e contratilidade dos cardiomiócitos.<sup>29</sup> De fato, a angiogênese é o principal mecanismo reparador induzido por fatores de crescimento e tem sido o mecanismo mais investigado em estudos experimentais e ensaios clínicos para reparar o miocárdio lesionado. A maioria desses estudos dedicou seus esforços ao potencial angiogênico e regenerativo das isoformas do fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF)<sup>30-33</sup> e do fator de crescimento de fibroblastos (FGFs).<sup>31,34-36</sup>

A mitigação do dano isquêmico no tecido cardíaco pode ser induzida por fatores antiapoptóticos, os quais exercem efeitos potencialmente cardioprotetores. O fator de crescimento de hepatócito (HGF) foi inicialmente identificado como um mitógeno de hepatócitos, mas com ações quimiotática e antiapoptótica em diferentes tipos celulares.<sup>37</sup> Em ratos submetidos à isquemia e reperfusão, a administração intravenosa de HGF reduziu a apoptose em cardiomiócitos e o tamanho do infarto.<sup>38</sup> Outros fatores

antiapoptóticos com potencial terapêutico na regeneração cardíaca incluem o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF-BB)<sup>39</sup> e a proteína timosina  $\beta$ 4,<sup>40</sup> IL-11,<sup>41</sup> IL-33,<sup>42</sup> dentre outros.

Mecanismos endógenos mediados por progenitores e células-tronco incluem a mobilização e o *homing* de progenitores da medula óssea bem como a ativação das CSCs. Essas células podem diferenciar-se em novos cardiomiócitos após o dano isquêmico, mas são numericamente reduzidas ou insuficientemente ativadas para produzir regeneração muscular significativa. Algumas proteínas apresentam o potencial de mobilizar os progenitores da medula óssea para a área da lesão cardíaca ou de ativar as CSCs. Essas propriedades podem ser exploradas terapêuticamente como mecanismos de regeneração ativados por fatores de crescimento ou proteínas recombinantes, como o fator estimulante de colônias de granulócitos (G-CSF),<sup>43</sup> HGF,<sup>44</sup> o fator derivado de células estromais-1 (SDF-1),<sup>45</sup> dentre outros.

O paradigma do coração como um órgão completamente diferenciado foi contestado a partir da identificação de mitógenos capazes de induzir cardiomiócitos adultos a entrar em ciclo celular.<sup>46,47</sup> Tal processo abre a possibilidade para estimular um novo mecanismo de regeneração no coração infartado, levando à formação de uma população de novos cardiomiócitos capazes de substituir a massa celular perdida em função do dano isquêmico. Três fatores extracelulares foram identificados por sua capacidade de ativar receptores envolvidos na proliferação de cardiomiócitos: o fator de crescimento de fibroblastos ácido (FGF-1),<sup>48</sup> neuroregulina-1 (NRG-1)<sup>47</sup> e periostina.<sup>49</sup> O tratamento de ratos infartados com FGF-1 associado a um inibidor da proteína quinase ativadora mitogênica (MAPK) p38 resultou em aumento da mitose de cardiomiócitos e melhora na função cardíaca dos animais.<sup>50</sup> Estudos demonstraram a melhora da função cardíaca em camundongos infartados tratados com injeções diárias de

NRG-1.<sup>47,51</sup> A Tabela 1 resume os mecanismos de regeneração cardíaca induzidos por fatores de crescimento.

### Desafios na formulação de fatores de crescimento

Nas últimas duas décadas, a intensa pesquisa sobre os mecanismos de regeneração cardíaca tem resultado em consideráveis avanços na descoberta de alvos terapêuticos relacionados a diversos fatores de crescimento. Essas proteínas têm sido avaliadas em estudos experimentais e ensaios clínicos, os quais demonstraram a segurança e a eficácia potencial desses fatores frente a doenças isquêmicas do coração, particularmente o infarto do miocárdio.<sup>11,56</sup> Contudo, um importante desafio para o estabelecimento da terapia proteica em tais enfermidades é o desenvolvimento de tecnologias de formulação capazes de garantir os mecanismos reparadores dessas biomoléculas e torná-las clinicamente viáveis.

Aspectos relacionados à dose, via de administração, estabilidade proteica e biocompatibilidade devem ser considerados. A capacidade das formulações de incorporar múltiplos fatores também representa um aspecto crítico, considerando o caráter multifatorial dos mecanismos envolvidos no reparo do miocárdio após isquemia. Em conjunto, esses aspectos foram previamente revisados e devem guiar o desenvolvimento racional das formulações de fatores de crescimento direcionadas à terapia proteica e/ou celular visando à regeneração cardíaca.<sup>11</sup>

Sistemas de liberação controlada micro/nanoestruturados apresentam diversas vantagens sobre formulações convencionais que disponibilizam fármacos ou biomoléculas na sua forma livre, geralmente em um veículo aquoso para administração intravenosa. Ao permitir um perfil farmacocinético mais adequado aos efeitos do composto ativo, as micro/nanoformulações facilitam a adesão do paciente ao tratamento, fornecem proteção ao ativo contra degradação enzimática, permitem o direcionamento (*targeting*) específico a um órgão ou estrutura alvo e a liberação local e controlada

**Tabela 1 – Principais fatores de crescimento indutores de mecanismos de regeneração cardíaca**

Fator	Mecanismos	Referência
VEGF	Angiogênese	30-33
FGF	Angiogênese	31,34-36
HGF	Antiapoptose Quimiotaxia sobre CSCs	37,38,44
SDF-1	Mobilização e homing de células-tronco hematopoiéticas	45
IGF-1	Viabilidade e diferenciação de células-tronco e progenitores	52
PDGF	Antiapoptose	39
G-CSF	Antiapoptose Mobilização e homing de células-tronco hematopoiéticas	43
Intermedina	Angiogênese	53
Angiopietina	Angiogênese, remodelamento e estabilização vascular	54
Periostina	Proliferação de cardiomiócitos	49
Neuroregulina-1	Proliferação de cardiomiócitos	47
Eritropietina	Antiapoptose	55

VEGF: Fator de Crescimento do Endotélio Vascular; FGF: fator de crescimento de fibroblasto; HGF: fator de crescimento de hepatócito; SDF-1: fator derivado de células estromais-1; IGF-1: Fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1; PDGF: fator de crescimento derivado de plaquetas; G-CSF: fator estimulante de colônias de granulócitos.

da molécula de interesse. Sistemas poliméricos (hidrogéis, scaffolds, micro/nanopartículas)<sup>11,57,58</sup> e lipídicos (lipossomas, nanopartículas lipídicas sólidas)<sup>59,60</sup> têm sido utilizados como plataformas de liberação cardíaca de fatores de crescimento, os quais podem ser obtidos a partir de biomateriais naturais (colágeno/gelatina, fibrina, ácido hialurônico, alginato, quitosana, etc.) e sintéticos (poliésteres, polímeros de aminoácidos, derivados de poliácridamida e outros).<sup>11</sup>

Poliésteres como o poli (ácido láctico-co-ácido glicólico, PLGA) e a policaprolactona (PCL) são polímeros aprovados para uso em sistemas de liberação de fármacos devido ao seu baixo potencial imunogênico e adequado perfil de biodegradação. Estudos prévios demonstraram a biocompatibilidade de micropartículas de PLGA com o tecido cardíaco e a eficácia dessas partículas como sistemas de liberação do Fator de Crescimento do Endotélio Vascular (VEGF) no tratamento experimental do infarto do miocárdio.<sup>58,61</sup> Recentemente, foi demonstrada a eficácia dessas micropartículas como sistemas de liberação cardíaca de FGF-1 e NRG-1, garantindo os efeitos regenerativos desses fatores em um modelo experimental de infarto em ratos.<sup>62</sup>

### Perspectivas

As perspectivas futuras para a utilização de fatores cardiogenerativos estão relacionadas ao advento de novas tecnologias de formulação associadas a materiais inteligentes, biocompatíveis e não-invasivos. Tais avanços devem funcionar como estruturas multifuncionais que combinem funções terapêuticas e de diagnóstico em um único complexo

micro/nanoestruturado. Além disso, permitirão o *targeting* a um alvo específico guiado por ligante na superfície da micro/nanoestrutura. O potencial translacional dessas tecnologias é previsível, considerando a diversidade de mecanismos potenciais de regeneração induzidos por fatores de crescimento, os quais deverão ser explorados com maior interesse clínico tanto como terapia proteica quanto como adjuvante na terapia com células-tronco para a regeneração cardíaca.

### Contribuição dos autores

Concepção e desenho da pesquisa e Revisão crítica do manuscrito quanto ao conteúdo intelectual importante: Rebouças JS, Santos-Magalhães NS, Formiga FR; Obtenção de dados: Rebouças JS; Análise e interpretação dos dados e Redação do manuscrito: Rebouças JS, Formiga FR; Obtenção de financiamento: Santos-Magalhães NS, Formiga FR.

### Potencial conflito de interesse

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

### Fontes de financiamento

O presente estudo foi parcialmente financiado pelo CNPq (461865/2014-9).

### Vinculação acadêmica

Não há vinculação deste estudo a programas de pós-graduação.

### Referências

- Mathers CD, Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS Med.* 2006;3(11):e442.
- Rosamond W, Flegal K, Furue K, Greenlund K, Haase V, Ho M, et al. Heart disease and stroke statistics-2008 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation.* 2008;117(4):e25-146.
- British Heart Foundation. European Cardiovascular Disease Statistics 2008. [Accessed in 2015 Nov 12]. Available from: [https://www.bhf.org.uk/publications/statistics/european\\_cardiovascular\\_disease\\_statistics\\_2008](https://www.bhf.org.uk/publications/statistics/european_cardiovascular_disease_statistics_2008).
- Ministério da Saúde Datasus 2011. Sistema de informações de mortalidade. [Acesso em 2015 Dez 13]. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?ldb2012/c08.def>.
- Jugdutt BI. Ischemia/infarction. *Heart Fail Clin.* 2012;8(1):43-51.
- Zornoff LA, Paiva SA, Duarte DR, Spadaro J. Ventricular remodeling after myocardial infarction: concepts and clinical implications. *Arq Bras Cardiol.* 2009;92(2):150-6.
- Gaffney MM, Hynes SO, Barry F, O'Brien T. Cardiovascular gene therapy: current status and therapeutic potential. *Br J Pharmacol.* 2007;152(2):175-88.
- Scimia MC, Gumpert AM, Koch WJ. Cardiovascular gene therapy for myocardial infarction. *Expert Opin Biol Ther.* 2014;14(2):183-95.
- Segers VF, Lee RT. Stem-cell therapy for cardiac disease. *Nature.* 2008;451(7181):937-42.
- Souza CF, Napoli P, Han SW, Lima VC, Carvalho AC. Células-tronco mesenquimais: células ideais para a regeneração cardíaca? *Rev Bras Cardiol Invasiva [on-line].* 2010;18(3):344-53.
- Formiga FR, Tamayo E, Simon-Yarza T, Pelacho B, Prosper F, Blanco-Prieto MJ. Angiogenic therapy for cardiac repair based on protein delivery systems. *Heart Fail Rev.* 2012;17(3):449-73.
- Annex BH. Therapeutic angiogenesis for critical limb ischaemia. *Nat Rev Cardiol.* 2013;10(7):387-96.
- Lee SH, Wolf PL, Escudero R, Deutsch R, Jamieson SW, Thistlethwaite PA. Early expression of angiogenesis factors in acute myocardial ischemia and infarction. *N Engl J Med.* 2000;342(9):626-33.
- Gnecchi M, Zhang Z, Ni A, Dzau VJ. Paracrine mechanisms in adult stem cell signaling and therapy. *Circ Res.* 2008;103(11):1204-19.
- Feng Y, Wang Y, Cao N, Yang H. Progenitor/stem cell transplantation for repair of myocardial infarction: Hype or hope? *Ann Palliat Med.* 2012;1(1):65-77.
- Mirotsoy M, Jayawardena TM, Schmeckpeper J, Gnecchi M, Dzau VJ. Paracrine mechanisms of stem cell reparative and regenerative actions in the heart. *J Mol Cell Cardiol.* 2011;50(2):280-9.
- Patel AN, Silva F, Winters AA. Stem cell therapy for heart failure. *Heart Fail Clin.* 2015;11(2):275-86.
- Hwang H, Kloner RA. The combined administration of multiple soluble factors in the repair of chronically infarcted rat myocardium. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2011;57(3):282-6.
- Vilos C, Velasquez LA. Therapeutic strategies based on polymeric microparticles. *J Biomed Biotechnol.* 2012;2012:672760.
- Mundargi RC, Babu VR, Rangaswamy V, Patel P, Aminabhavi TM. Nano/micro technologies for delivering macromolecular therapeutics using poly(D,L-lactide-co-glycolide) and its derivatives. *J Control Release.* 2008;125(3):193-209.

21. Ahuja P, Sdek P, MacLellan WR. Cardiac myocyte cell cycle control in development, disease, and regeneration. *Physiol Rev*. 2007;87(2):521-44.
22. Gepstein L. Derivation and potential applications of human embryonic stem cells. *Circ Res* 2002;91(10):866-76.
23. Venugopal JR, Prabhakaran MP, Mukherjee S, Ravichandran R, Dan K, Ramakrishna S. Biomaterial strategies for alleviation of myocardial infarction. *J R Soc Interface*. 2012;9(66):1-19.
24. Sutton MG, Sharpe N. Left ventricular remodeling after myocardial infarction: pathophysiology and therapy. *Circulation*. 2000;101(25):2981-8.
25. Beltrami AP, Barlucchi L, Torella D, Baker M, Limana F, Chimenti S, et al. Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. *Cell*. 2003;114(6):763-76.
26. Mayfield AE, Tilokee EL, Davis DR. Resident cardiac stem cells and their role in stem cell therapies for myocardial repair. *Can J Cardiol*. 2014;30(11):1288-98.
27. Hsieh PC, Segers VF, Davis ME, MacGillivray C, Gannon J, Molkenin JD, et al. Evidence from a genetic fate-mapping study that stem cells refresh adult mammalian cardiomyocytes after injury. *Nat Med*. 2007;13(8):970-4.
28. Ng YS, D'Amore PA. Therapeutic angiogenesis for cardiovascular disease. *Curr Control Trials Cardiovasc Med*. 2001;2(6):278-85.
29. Cochain C, Channon KM, Silvestre JS. Angiogenesis in the infarcted myocardium. *Antioxid Redox Signal*. 2013;18(9):1100-13.
30. Taimeh Z, Loughran J, Birks EJ, Bolli R. Vascular endothelial growth factor in heart failure. *Nat Rev Cardiol*. 2013;10(9):519-30.
31. Atluri P, Woo YJ. Pro-angiogenic cytokines as cardiovascular therapeutics: assessing the potential. *BioDrugs*. 2008;22(4):209-22.
32. Testa U, Pannitteri G, Condorelli GL. Vascular endothelial growth factors in cardiovascular medicine. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)*. 2008;9(12):1190-221.
33. Henry TD, Annex BH, McKendall GR, Azrin MA, Lopez JJ, Giordano FJ, et al; VIVA Investigators. The VIVA trial: Vascular endothelial growth factor in Ischemia for Vascular Angiogenesis. *Circulation*. 2003;107(10):1359-65.
34. Zhang J, Li Y. Therapeutic uses of FGFs. *Semin Cell Dev Biol*. 2015 Sept 11 [Epub ahead of print].
35. Unger EF, Goncalves L, Epstein SE, Chew EY, Trapnell CB, Cannon RO 3<sup>rd</sup>, et al. Effects of a single intracoronary injection of basic fibroblast growth factor in stable angina pectoris. *Am J Cardiol*. 2000;85(12):1414-9.
36. Simons M, Annex BH, Laham RJ, Kleiman N, Henry T, Dauerman H, et al. Pharmacological treatment of coronary artery disease with recombinant fibroblast growth factor-2: double-blind, randomized, controlled clinical trial. *Circulation*. 2002;105(7):788-93.
37. Boros P, Miller CM. Hepatocyte growth factor: a multifunctional cytokine. *Lancet*. 1995;345(8945):293-5.
38. Nakamura T, Mizuno S, Matsumoto K, Sawa Y, Matsuda H. Myocardial protection from ischemia/reperfusion injury by endogenous and exogenous HGF. *J Clin Invest*. 2000;106(12):1511-9.
39. Hsieh PC, Davis ME, Gannon J, MacGillivray C, Lee RT. Controlled delivery of PDGF-BB for myocardial protection using injectable self-assembling peptide nanofibers. *J Clin Invest*. 2006;116(1):237-48.
40. Bock-Marquette I, Saxena A, White MD, Dimaio JM, Srivastava D. Thymosin beta4 activates integrin-linked kinase and promotes cardiac cell migration, survival and cardiac repair. *Nature*. 2004;432(7016):466-72.
41. Obana M, Maeda M, Takeda K, Hayama A, Mohri T, Yamashita T, et al. Therapeutic activation of signal transducer and activator of transcription 3 by interleukin-11 ameliorates cardiac fibrosis after myocardial infarction. *Circulation*. 2010;121(5):684-91.
42. Seki K, Sanada S, Kudinova AY, Steinhilber ML, Handa V, Gannon J, et al. Interleukin-33 prevents apoptosis and improves survival after experimental myocardial infarction through ST2 signaling. *Circ Heart Fail*. 2009;2(6):684-91.
43. Huber BC, Beetz NL, Laskowski A, Ziegler T, Grabmaier U, Kupatt C, et al. Attenuation of cardiac hypertrophy by G-CSF is associated with enhanced migration of bone marrow-derived cells. *J Cell Mol Med* 2015;19(5):1033-41.
44. Madonna R, Cevik C, Nasser M, De Caterina R. Hepatocyte growth factor: molecular biomarker and player in cardioprotection and cardiovascular regeneration. *Thromb Haemost*. 2012;107(4):656-61.
45. Shao S, Cai W, Sheng J, Yin L. Role of SDF-1 and Wnt signaling pathway in the myocardial fibrosis of hypertensive rats. *Am J Transl Res*. 2015;7(8):1345-56.
46. Bergmann O, Bhardwaj RD, Bernard S, Zdunek S, Barnabe-Heider F, Walsh S, et al. Evidence for cardiomyocyte renewal in humans. *Science*. 2009;324(5923):98-102.
47. Bersell K, Arab S, Haring B, Kuhn B. Neuregulin1/ErbB4 signaling induces cardiomyocyte proliferation and repair of heart injury. *Cell*. 2009;138(2):257-70.
48. Engel FB, Schebesta M, Duong MT, Lu G, Ren S, Madwed JB, et al. p38 MAP kinase inhibition enables proliferation of adult mammalian cardiomyocytes. *Genes Dev*. 2005;19(10):1175-87.
49. Kuhn B, Del Monte F, Hajjar RJ, Chang YS, Lebecke D, Arab S, et al. Periostin induces proliferation of differentiated cardiomyocytes and promotes cardiac repair. *Nat Med*. 2007;13(8):962-9.
50. Engel FB, Hsieh PC, Lee RT, Keating MT. FGF1/p38 MAP kinase inhibitor therapy induces cardiomyocyte mitosis, reduces scarring, and rescues function after myocardial infarction. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006;103(42):15546-51.
51. Liu X, Gu X, Li Z, Li H, Chang J, et al. Neuregulin-1/erbB-activation improves cardiac function and survival in models of ischemic, dilated, and viral cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 2006;48(7):1438-47.
52. Dai W, Kloner RA. Cardioprotection of insulin-like growth factor-1 during reperfusion therapy: what is the underlying mechanism or mechanisms? *Circ Cardiovasc Interv*. 2011;4(4):311-3.
53. Holmes D, Campbell M, Harbinson M, Bell D. Protective effects of intermedin on cardiovascular, pulmonary and renal diseases: comparison with adrenomedullin and CGRP. *Curr Protein Pept Sci*. 2013;14(4):294-329.
54. Chong AY, Caine GJ, Lip GY. Angiotensin II as mediators of angiogenesis: a role in congestive heart failure. *Eur J Clin Invest*. 2004;34(1):9-13.
55. Calvillo L, Latini R, Kajstura J, Leri A, Anversa P, Ghezzi P, et al. Recombinant human erythropoietin protects the myocardium from ischemia-reperfusion injury and promotes beneficial remodeling. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003;100(8):4802-6.
56. Simón-Yarza T, Formiga F, Tamayo E, Pelacho B, Prosper F, Blanco-Prieto M. Vascular endothelial growth factor-delivery systems for cardiac repair: an overview. *Theranostics*. 2012;2(6):541-52.
57. Rocha Formiga F, Ansorena E, Estella-Hermoso de Mendoza A, Imbuluzqueta E, González D, Blanco-Prieto MJ. Nanosistemas a base de poliésteres. In: Vila Jato JL. (ed). *Nanotecnología farmacéutica*. Madrid: Real Academia Nacional de Farmacia; 2009. p. 41-101.
58. Formiga FR, Pelacho B, Garbayo E, Abizanda G, Gavira JJ, Simón-Yarza T, et al. Sustained release of VEGF through PLGA microparticles improves vasculogenesis and tissue remodeling in an acute myocardial ischemia-reperfusion model. *J Control Release*. 2010;147(1):30-7.
59. Scott RC, Rosano JM, Ivanov Z, Wang B, Chong PL, Issekutz AC, et al. Targeting VEGF-encapsulated immunoliposomes to MI heart improves vascularity and cardiac function. *FASEB J*. 2009;23(10):3361-7.
60. Zhang S, Uludağ H. Nanoparticulate systems for growth factor delivery. *Pharm Res*. 2009;26(7):1561-80.
61. Formiga F, Garbayo E, Diaz-Herraez P, Abizanda G, Simón-Yarza T, Tamayo E, et al. Biodegradation and heart retention of polymeric microparticles in a rat model of myocardial ischemia. *Eur J Pharm Biopharm*. 2013;85(3):665-72.
62. Formiga FR, Pelacho B, Garbayo E, Imbuluzqueta I, Diaz-Herraez P, Abizanda G, et al. Controlled delivery of fibroblast growth factor-1 and neuregulin-1 from biodegradable microparticles promotes cardiac repair in a rat myocardial infarction model through activation of endogenous regeneration. *J Control Release*. 2014;173:132-9.