PROFESOR HADYANTO LIM

REVOLUSI SEL PUNCA
Kedokteran Kardiovaskuler
Volume 1

PT. SOFMEDIA

PROFESOR HADYANTO LIM

**Revolusi Sel Punca
Kedokteran Kardiovaskuler**

PT. SOFMEDIA

PT. SOFMEDIA

Hak Cipta dilindungi undang-undang. Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh isi buku ini dalam bentuk apapun, baik secara elektronik maupun mekanik, termasuk memfotokopi, merekam, atau dengan menggunakan sistem penyimpanan lainnya, tanpa izin tertulis dari penerbit.

UNDANG-UNDANG NOMOR 19 TAHUN 2002 TENTANG HAK CIPTA
1. Barang siapa dengan sengaja dan tanpa hak menggunakan atau memperbanyak suatu ciptaan atau memberi izin untuk itu, dipidana dengan pidana penjara paling lama 7 (tujuh) tahun dan/atau denda paling banyak Rp 5.000.000.000,00 (lima milyar rupiah).
2. Barang siapa dengan sengaja menyiarkan, memamerkan, mengedarkan, atau menjual kepada umum suatu ciptaan atau barang hasil pelanggaran Hak Cipta atau Hak Terkait sebagaimana dimaksud pada ayat (1), dipidana dengan pidana penjara paling lama 5 (lima) tahun dan/atau denda paling banyak Rp 500.000.000,00 (lima ratus juta rupiah).

SM. MD. 99.17.2010

Prof. Dr. dr. Hadyanto Lim, M.Kes, Sp.FK, FESC, FIBA
Revolusi Sel Punca Kedokteran Kardiovaskuler

Diterbitkan & dicetak oleh P.T. SOFMEDIA - Jakarta
E-mail: sofmedia@hotmail.com

Copyright: 2010 oleh PT. Sofmedia

ISBN: 978-979-18634-4-5

DIPERSEMBAHKAN UNTUK

Sophia Hadyanto, S.H.

Vina Hadyanto, Steven Hadyanto, Richard Hadyanto

KATA PENGANTAR

Buku ini ditulis untuk menyampaikan perkembangan penelitian sel punca (stem cell) yang amat pesat dalam satu dasawarsa terakhir ini. Revolusi sel punca dalam kedokteran kardiovaskuler diyakini akan mengubah secara dramatis penanganan penyakit jantung, khususnya infark miokard dan gagal jantung. Buku ini ditulis dalam 2 volume. Volume I khusus menguraikan revolusi pergeseran paradigma baru yang memberikan arah dalam penelitian sel punca kedokteran kardiovaskuler, melalui pemahaman biologi sel punca. Selanjutnya volume II lebih ditekankan pada pemaparan hasil penelitian eksperimental pada hewan coba dan pada pasien yang mendapat penyakit kardiovaskuler.

Penemuan paradigma baru mengenai sel punca dihasilkan jantung (cardiac progenitor cells) pada saat terjadi injuri jantung, telah mengubah dogma (konsep yang diyakini) 83 tahun yang lalu, bahwa jantung adalah organ pasca mitotik, tidak dapat beregenerasi, menjadi sebuah magnet penelitian yang dapat mengubah pola konsep dasar biomolekuler jantung dan metode penanganannya.

Sejumlah sitokin dan kemokin dihasilkan di jantung turut berperan menarik sel-sel punca sumsum tulang ke jantung untuk mengadakan reparasi dan regenerasi, agar dapat mempertahankan suatu keseimbangan dalam jantung (homeostasis jantung), saat terjadi sumbatan total pembuluh darah koronaria yang mensuplai otot jantung. Sehingga pasien dapat bertahan hidup (survive) setelah mengalami serangan jantung.

Jika sel punca yang dikerahkan tidak memadai untuk proses reparasi dan regenerasi sel jantung, maka sel otot jantung akan rusak dalam kurun 15-20 menit akibat nekrosis dan apoptosis yang luas dan pasien tidak tertolong. Untuk itu, penyelamatan otot jantung baik melalui pengobatan farmakologik maupun tindakan reperfusi telah memberikan harapan dan kualitas hidup yang lebih baik. Namun, tindakan ini juga tidak dapat menggantikan sel otot jantung yang mati, malah meningkatkan insiden gagal jantung. Karena itu, pemberian sel punca memberikan harapan baru untuk “mengototkan” jantung, sekaligus meningkatkan fungsi jantung, yang pada gilirannya diharapkan mengurangi angka morbiditas dan mortalitas, melalui pencegahan terjadinya gagal jantung.

Perdebatan dunia kedokteran khususnya kedokteran kardiovaskuler telah menciptakan kontroversi terapi sel punca. Penggunaan sel punca embrio menimbulkan pertentangan dari segi etika, karena mengorbankan sel yang akan mengubah jati diri sebagai seorang manusia jika dibiarkan tetap hidup di dalam rahim! Maka harapan bertumpuk pada penggunaan sel punca dewasa (adult stem cell), dan sel punca yang diinduksi menyerupai sel punca embrio, dikenal sebagai induced pluripotent stem (iPS) cells.

Pemahaman biologi sel punca, telah meletakkan dasar bagi perkembangan dunia pengobatan kardiovaskuler. Karena itu, buku ini ditujukan bagi semua insan kesehatan baik mahasiswa kedokteran, kesehatan, dokter, peneliti, maupun para ilmuwan, dan diharapkan dapat menambah khazanah keilmuan bagi seluruh komunitas ilmiah.

Hadyanto Lim

DAFTAR ISI

1. Revolusi Penelitian Sel Punca pada Penyakit Kardiovaskuler.....	1
2. Jantung Sebagai Organ Mampu Beregenerasi	13
3. Plastisitas Sel Punca	28
4. Mobilisasi dan Homing Sel Punca	50
5. Niche Sel Punca (Stem Cell Niche)	59
6. Mekanisme Perbaikan dan Regenerasi Jantung	71
7. Sel Progenitor Endotel dan Regenerasi Kardiovaskuler	82
8. Sel Punca Sumsum Tulang dan Regenerasi Miokard	112
9. Induced Pluripotent Stem Cell dan Penyakit Kardiovaskuler	122
Indeks.....	128

REVOLUSI PENELITIAN SEL PUNCA PADA PENYAKIT KARDIOVASKULER

- **PENDAHULUAN**
- **DAYA TAHAN IMPLANT SINTETIK**
- **TEROBOSAN BARU REKAYASA JARINGAN**
- **INFARK MIOKARD DAN KONSEKUENSI PENYAKIT JANTUNG KORONER**
- **BIOLOGI SEL PUNCA KARDIOVASKULER**
- **DAFTAR PUSTAKA**

PENDAHULUAN

Data statistik dari Centers for Disease Control and Prevention's National Center for Health Statistics (CDC/NCHS) yang diperbaharui tahun 2006 menunjukkan bahwa 40% kematian di Amerika Serikat disebabkan oleh penyakit kardiovaskuler, termasuk penyakit jantung koroner, stroke dan hipertensi. Diperkirakan tahun 2003 terdapat 71,3 juta penduduk di negara ini mendapat penyakit kardiovaskuler.¹ Penyakit jantung koroner merupakan kontribusi utama penyebab kematian baik di Amerika maupun di beberapa negara maju.² Di Amerika Serikat, dilaporkan bahwa terdapat kurang lebih 1(satu) juta orang mendapat infark miokard setiap tahun, dengan angka kematian berkisar 25% dalam waktu 3 (tiga) tahun.³ Saat ini 7,1 juta pasien berhasil diselamatkan dari infark miokard dan 4,9 juta orang hidup dengan gagal jantung kronik (CHF).¹ Meskipun dengan kemajuan pengobatan dan teknologi medis dalam penanganan gagal jantung, insiden, hospitalisasi, dan angka mortalitas terus meningkat.⁴

Kini kondisi ini juga terjadi di negara berkembang, termasuk Indonesia.⁵ Transisi epidemiologi⁶ ini tidak hanya terjadi antara kategori penyakit yang berbeda, misalnya, kematian akibat diare dan malnutrisi pada masa kanak-kanak menjadi penyakit kronik dewasa, tetapi juga pada kategori penyakit yang spesifik, misalnya, penyakit jantung rematik pada usia muda menjadi penyakit jantung koroner pada usia pertengahan atau kalsifikasi katup, degenerasi, dan gagal jantung pada usia lanjut.⁵

Laporan WHO tahun 1999 memperkirakan bahwa antara tahun 1990 dan 2020, terjadi peningkatan angka kematian penyakit jantung iskemik (120% pada wanita dan 137% pada laki-laki di negara sedang berkembang dan prevalensi ini lebih besar daripada negara maju (masing-masing 29% dan 48%)⁷, sementara data epidemiologi gagal jantung pada negara maju semakin meningkat.⁸ Antara 1-2% populasi dewasa mendapat gagal jantung, dan 6-10% terjadi pada usia > 65 tahun.^{9,10} Risiko mendapat gagal jantung selama hidup seseorang diperkirakan sebesar 20% pada usia 40 tahun.^{11,12} Survei pada komunitas menunjukkan bahwa kematian akibat gagal jantung pada tahun pertama setelah ditegakkan diagnosis sebesar 30-40% dan 60-70% dalam 5 tahun, sebagian disebabkan semakin buruknya gagal jantung atau kematian mendadak (karena aritmia ventrikel).^{13,14}

Dalam perkembangan transisi epidemiologi penyakit yang terjadi di berbagai belahan dunia, maka saat ini Indonesia menempati tahap perkembangan kedua. Pada tahap ini, frekuensi penyakit infeksi menurun sejalan dengan perbaikan nutrisi, namun penyakit jantung koroner, penyakit jantung hipertensif, dan stroke meningkat.⁵ Status kesehatan

dan pergeseran pola penyakit ini berhubungan dengan kemajuan ekonomi dan tingkat sosial.⁵ Kondisi ini menciptakan suatu tantangan baru dalam penatalaksanaan penyakit, terutama penyakit kardiovaskuler, baik terhadap pengeluaran biaya pengobatan dan harapan hidup.⁴ Karena itu, perubahan usia harapan hidup secara global (dari 46 tahun pada tahun 1950 menjadi 66 tahun pada tahun 1998),⁵ demografi penduduk, pola hidup dan pola penyakit akan menimbulkan tantangan penanganan medis, khususnya pada abad ke 21.

DAYA TAHAN IMPLANT SINTETIK

Salah satu tujuan ilmu kedokteran adalah mengatasi gangguan organ dan hilangnya jaringan tubuh. Pemahaman fungsi organ yang lebih baik dapat menciptakan implant sintetis untuk mengobati penyakit. Kemajuan penggunaan antiseptik, antibiotik dan higiene yang lebih baik, telah berkontribusi terhadap meningkatnya usia harapan hidup manusia, dan hal ini juga menyebabkan kebutuhan akan jaringan pengganti bertambah besar.¹⁵

Penggunaan implant sintetis mempunyai pengaruh sangat besar terhadap peningkatan kualitas hidup. Kualitas hidup berjuta-juta pasien meningkat karena penggunaan prostesis sendi, stent kardiovaskuler dan katup jantung buatan. Namun, dengan meningkatnya usia harapan hidup, daya tahan implant artifisial semakin berkurang. Implant tidak lagi berintegrasi dengan jaringan pengguna karena cenderung mengalami hilangnya fungsi; daya tahan paling lama 15 (lima belas) tahun.^{15, 16} Sementara implant dari materi biologik secara mekanik dapat bertahan lama namun biokompatibilitas tidak memuaskan, terutama respon inflamasi yang mempercepat proses hilangnya fungsi.¹⁷ Karena itu, sejumlah inovasi dalam merancang alat kedokteran terus berkembang.¹⁸ Modifikasi untuk memperbaiki biokompatibilitas dapat mengganggu karakteristik rekayasa implant. Karena itu, meskipun implant yang diciptakan lebih kokoh, sifat mekanik menjadi suboptimal, sehingga daya tahan implant lebih singkat.¹⁵

Kegagalan implant sintetis dalam menggantikan jaringan yang rusak dan berpenyakit adalah ketidakmampuannya beradaptasi terhadap lingkungan mikro (*microenvironment*) jaringan lokal. Karena itu, langkah selanjutnya adalah mengembangkan implant klinis yang lebih biologis dengan materi bioaktif yang memberikan sinyal biologik yang sesuai dan dapat memberikan respon regeneratif pada bagian yang rusak secara *in vivo* atau digunakan untuk menumbuhkan jaringan secara *in vitro* pada waktu

implantasi. Untuk mencapai tujuan ini, materi yang digunakan harus memiliki sifat meningkatkan adhesi sel dan mengurangi respon inflamasi. Kombinasi materi dengan sel akan mempunyai fungsi biologik yang baik, yaitu mempunyai kemampuan respon terhadap perubahan lingkungan, dan daya tahan lebih baik. Dalam hal ini, sel punca (*stem cell*) merupakan bagian daripada materi yang diperlukan.

TEROBOSAN BARU REKAYASA JARINGAN

Hasil penelitian yang dimuat di jurnal The Lancet, Desember 2008, merupakan inovasi baru perpaduan penggunaan implant dengan sel punca pada seorang pasien wanita Spanyol yang menderita bronkomalacia tahap lanjut (*end-stage bronchomalacia*) pada bronkus cabang utama kiri karena trakeitis pasca tuberkulosis. *Graft* trakea donor yang telah dihilangkan selnya digantikan sel epitel dan sel punca mesenkim resipien, dan dikultur sebelum ditransplantasikan untuk menggantikan bronkus utama kiri. Hasil menunjukkan bahwa jalan nafas kembali normal setelah ditransplantasikan jalan nafas mekanik hasil rekayasa jaringan dari perpaduan sel punca autologus (pasien sendiri) dengan biomateri, dan menormalkan kembali fungsi jalan nafas tanpa risiko rejeksi (Gambar 1).¹⁹ Pasien tidak memerlukan obat immunosupresif karena tidak terbentuk MHC (*major-histocompatibility complex*) antigen. Inovasi yang spektakuler ini akan mengubah metode operasi menggunakan sel punca tanpa menimbulkan rejeksi, karena selama ini operasi yang menggunakan *allograft* (jaringan atau organ pasien lain) atau *xenograft* (dari hewan) selalu menghendaki pasien mengkonsumsi obat immunosupresan seumur hidup.

Inovasi ini tercatat sebagai yang pertama dalam sejarah transplantasi jaringan. Prosedur operasi ini akan menjadi hal yang umum dilakukan dalam 20 (dua puluh) tahun mendatang, kata Prof. Martin Birchall,²⁰ seorang ahli bedah otolaringologi, dari Universitas Bristol, UK, yang mempelopori operasi ini bersama tim ahli dari Departemen Bedah Toraks, Rumah Sakit Barcelona, Spanyol. Pada akhirnya, penelitian sel punca, yang sangat menjanjikan, dari hasil penelitian di laboratorium, telah memberikan kemajuan klinis yang amat memuaskan. Saya yakin betul tidak lama lagi kemajuan ini akan merambat ke seluruh bidang ilmu kedokteran, termasuk kedokteran kardiovaskuler, yang paling banyak melakukan riset sel punca.

Penemuan di bidang ophtalmologi adalah transplantasi kornea dengan sel punca limbus. Ketika saya mengikuti the 16th International Society of Cellular Therapy, di Philadelphia, Amerika Serikat, Mei 2010, dalam salah satu topik dibicarakan mengenai rekayasa jaringan (*tissue engineering*) untuk transplantasi kornea. Pasien dengan kerusakan kornea yang menyebabkan buta total atau parsial dapat melihat kembali dengan transplantasi sel punca yang diambil dari bagian limbus kornea sendiri (*autologus*), dikultur dan ditanamkan kembali ke dalam bagian kornea. Hasil rekayasa jaringan kornea dapat menggantikan bagian jaringan kornea yang telah rusak dan tumbuh menjadi kornea baru. Pasien dapat melihat dan menikmati kembali dunia yang indah !

A

B

C

D

Gambar 1. CT volume-rendering CT (A and C), dan bronkoskopi (B and D) hasil rekonstruksi sebelum (A and B) dan sebulan kemudian (C and D) penyatuan sel trakea rekayasa jaringan untuk menggantikan bronkus utama.
Dikutip dari Macchiarini P. et al. Clinical transplantation of a tissue-engineered airway. Lancet 2008; 372: 2023–30.

Rama et al., dari Unit Oftalmologi San Raffaele Scientific Institute, di Milan, Itali, baru-baru ini melaporkan di *New England Journal of Medicine*, Juli 2010, atas keberhasilan penyembuhan dengan pergantian epitel kornea secara permanen mencapai 76,6% dari 112 pasien dengan kerusakan kornea akibat luka bakar oleh zat kimiawi, dan telah gagal menjalani operasi kornea (*keratoplasty*) berulang (Gambar 2).²¹ Keberhasilan ini terjadi dengan menggunakan sumber sel dari hasil kultur sel punca limbus yang mengandung lebih dari 3(tiga)% dari jumlah total sel klonogenik yang ditransplantasikan, yaitu p63-*bright cell* (Gambar 3A).²¹ Penggunaan sel

ini ternyata memberikan keberhasilan transplantasi sebanyak 78% pasien (Gambar 3B).²¹ Keluhan rasa terbakar, nyeri dan fotofobia selama ini hilang pada semua pasien dengan pemulihan tajam penglihatan 0,6-1,0.

Ternyata Tuhan telah memperlengkapi organ tubuh manusia dengan sejumlah sel punca yang siap untuk menggantikan dan memperbaiki bagian organ yang telah rusak. Hanya dengan kecerdasan dan kesungguhan upaya kita yang telah diciptakanNya untuk menemukan bagian sel punca yang tersimpan, agar menjadi obat paling efektif untuk memulihkan namaNya.

Gambar 2. Regenerasi epitelium kornea dan fungsi ketajaman penglihatan pulih kembali. Panel kiri dengan kerusakan kornea pada tiga pasien sebelum transplantasi sel punca, dengan tajam penglihatan <0.1 , berarti hanya dapat melihat gerakan tangan dan menghitung jari. Panel kanan, sesudah terapi dengan sel punca. Tampak kornea dengan epitel yang normal dengan tajam penglihatan mencapai 0,3-0,9. Hal ini menunjukkan penglihatan pasien telah dikoreksi setelah dilakukan transplantasi sel punca ke dalam kornea.

Dikutip dari Rama P, Matuska S, Paganoni G, Spinelli A, De Luca M, Pellegrini G. Limbal stem-cell therapy and long-term corneal regeneration. *New Engl J Med*, 2010: 363:147-155.

Gambar 3. Hubungan antara hasil klinis dengan persentase kultur p63 - *bright cell* di dalam sel punca limbus. Dikutip dari Rama P, Matuska S, Paganoni G, Spinelli A, De Luca M, Pellegrini G. Limbal stem-cell therapy and long-term corneal regeneration. *New Engl J Med*, 2010: 363:147-155.

INFARK MIOKARD DAN KONSEKUENSI PENYAKIT JANTUNG KORONER

Secara alamiah, infark miokard merupakan suatu injuri terhadap otot miokard yang bersifat ireversibel.²² Konsekuensinya adalah kematian kardiomyosit (sel otot jantung) yang dapat mencapai 25% (1 miliar kardiomyosit) dari seluruh kardiomyosit (4 miliar sel) dengan berkurangnya fungsi sistolik dan metabolisme regional sehingga perfusi miokard berkurang secara mendadak, dan kondisi ini mendasari terjadinya gagal jantung sistolik.^{23, 24} Disamping itu, juga dapat terjadi gangguan relaksasi diastolik, yang menimbulkan gagal jantung diastolik.²⁵ Injuri kardiomyosit ireversibel mulai terjadi setelah oklusi arteri koronaria dalam waktu 15-20 menit.²⁶ Bagian miokardium subendotel membutuhkan metabolisme yang tinggi sehingga peka terhadap kondisi iskemia.²⁷ Luasnya infark bergantung pada durasi dan keparahan defek perfusi.²⁸ Namun, luasnya infark juga dimodulasi oleh sejumlah faktor termasuk suplai darah kolateral, pengobatan, dan *ischemic preconditioning*.²⁹ Selain gangguan kontraksi dan

fibrosis pada *myocardial scar*, progresivitas remodeling ventrikel dari miokardium noniskemik dapat mengurangi fungsi jantung dalam beberapa minggu sampai bulan setelah terjadi infark.³⁰

Berbagai pengobatan yang dilakukan dapat memperbaiki prognosis pasien dengan infark miokard akut.³¹ Walaupun angioplasti dan pengobatan trombolitik dapat mengurangi penyebab infark, waktu mulai terjadi oklusi sampai reperfusi menentukan derajat injuri miokard yang ireversibel.³² Tidak ada pengobatan atau tindakan medik yang menunjukkan efikasi dalam menggantikan jaringan parut miokard (*myocardial scar*) dengan jaringan kontraktile. Karena itu, diperlukan terapi baru untuk meregenerasikan kardiomyosit.³³

Upaya untuk memperbaiki infark miokard akut dengan metode memperbaiki atau menggantikan kardiomyosit telah memberikan hasil menjanjikan. Hasil yang paling menggembirakan telah diperoleh dari transplantasi dan mobilisasi sel sumsum tulang ke

area infark.³³ Revolusi yang sangat luar biasa dalam kedokteran kardiovaskuler ini telah memungkinkan proses *repair* terhadap kardiomyosit yang telah rusak melalui pemberian sel punca, yang menghasilkan sel miosit dan pembuluh darah koronaria yang baru.³⁴

BIOLOGI SEL PUNCA KARDIOVASKULER

Dari pengamatan dan pengobatan terhadap beratus ribu korban sipil dan militer di Jepang terhadap pemaparan radiasi pada sistem hematopoietik ketika dua bom atom dijatuhkan di Hiroshima dan Nagasaki pada Agustus 1945 yang mengakibatkan berakhirnya perang dunia ke II, terdapat beberapa laporan yang mengkonfirmasi adanya pembentukan sel punca yang bertanggungjawab terhadap kontinuitas sirkulasi sel darah.³⁵ Observasi ini juga mengkonfirmasi adanya sel punca di dalam darah.

Konsep tradisional menyatakan bahwa jantung adalah sebuah organ pasca mitotik yang telah mengalami diferensiasi terminal, yaitu tidak dapat lagi mengadakan pembelahan sel sejak dilahirkan,³⁶ yang juga berarti bahwa jumlah sel jantung tidak berubah atau berkurang hingga kematian seseorang.³⁷ Dogma ini sangat dipengaruhi oleh laporan studi yang dipublikasikan tahun 1925 oleh Karsner et al.³⁸ Hal ini sangat berbeda dengan kemampuan regenerasi yang dimiliki jaringan hati. Argumentasi yang mendukung dogma ini adalah bahwa tidak tampak

regenerasi jaringan yang signifikan ketika terjadi kerusakan jaringan jantung akibat infark miokard dan respon kerusakan jantung yang terjadi berupa hipertrofi (besar sel miosit jantung bertambah), bukan hiperplasia (jumlah sel otot jantung bertambah). Dengan menggunakan metode pencitraan (*imaging*) yang canggih (mikroskop konfokal), Anversa et al. melaporkan bahwa sel miosit mampu mengadakan regenerasi pada manusia dan hewan yang mengalami infark,^{37, 39, 40, 41, 42} muatan tekanan berlebihan,⁴³ dan gagal jantung (Gambar 4).^{38, 45, 46}

Dogma lama juga bersifat kontradiktif terhadap perkembangan penuaan dan kematian sel (apoptosis), juga perlambatan penggantian sel pada jantung.³⁷ Tanpa proses pembelahan sel miosit akibat kematian sel (apoptosis) pada proses penuaan baik pada manusia dan hewan, maka seluruh bagian organ jantung akan kehilangan fungsinya dalam beberapa dekade kehidupan saja.³⁷ Proses ini lebih meningkat lagi dalam keadaan sakit. Dengan pengecatan deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end-labeling (TUNEL),⁴⁷ terbukti bahwa apoptosis berlangsung pada gagal jantung terutama karena kardiomiopati dilatasi idiopatik dan kardiomiopati iskemik.^{48, 49, 50, 51, 52} Karena itu, ketidakseimbangan antara pertumbuhan dan kematian sel merupakan penentu utama dekompensasi jantung yang mengarah pada gagal jantung kongestif dan kematian.³⁷

Gambar 4. Proliferasi miosit pada manusia. Miosit dalam keadaan membelah dan masih kecil (*alpha-sarcomeric actin*, merah) dengan kromosom metafase (tanda panah) terdapat pada miokardium ventrikel kiri pada seorang pasien dengan kardiomiopati iskemik kronik. Nuklei dan kromosom metafase diberi label dengan propidium iodide (biru). Batas antar sel dengan laminin (hijau).

Dikutip dari Anversa P, et al. *Cardiac regeneration*. J. Am. Coll. Cardiol. 2006;47;1769-1776.