- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 216.73.216.77 Wed, 02 Jul 2025, 00:30:47

La terapia con le cellule staminali per la rigenerazione del miocardio: meccanismi d'azione e attuali applicazioni cliniche

Marco Centola[1,2], Karl H. Schuleri[1], Albert C. Lardo[1], Joshua M. Hare[3]

[1]Division of Cardiology, Department of Medicine, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, MD, USA,
[2]Divisione di Cardiologia, Fondazione IRCCS, Ospedale Maggiore Policlinico Mangiagalli e Regina Elena, Milano,
[3]Division of Cardiology, Interdisciplinary Stem Cell Institute, Leonard M. Miller School of Medicine, Miami, FL, USA

Key words:
Cell transplantation; Heart failure; Myocardial infarction; Stem cells.

Ischemic heart disease is a major public health problem in the industrialized and developing world. Despite advances in myocardial reperfusion strategies and novel pharmacological approaches, therapies directed towards the deleterious consequences of acute and chronic myocardial ischemic damage remain limited. In recent years the biological dogma of the heart as a "postmitotic organ" has been challenged. Myocyte replication and myocardial regeneration have been documented in the human heart after myocardial infarction and in chronic ischemic heart failure. In addition, experimental animal studies and clinical trials suggest that the transfer of stem and progenitor cells into the myocardium has a favorable impact on tissue perfusion and contractile performance. Neovascularization and myocyte formation have been described. Differentiation of administered stem cells, cell fusion and release of paracrine signals by injected stem cells are currently discussed as underlying mechanisms. Recently, the mobilization of endogenous cardiac stem cells is debated as a potential target of cardiac repair.

This intriguing new knowledge generated by basic and clinical scientists will lay the foundation for novel therapeutic strategies in the near future and change clinical practice in cardiology.

In this commentary, we briefly review the characterization of the variety of stem cell populations used for cardiac repair, discuss the potential mechanisms of cardiac regenerative therapy, and evaluate the current clinical applications of this innovative approach to treat ischemic heart disease.

(G Ital Cardiol 2008; 9 (4): 234-250)

© 2008 AIM Publishing Srl

Ricevuto il 20 aprile 2007; nuova stesura il 12 luglio 2007; accettato il 28 agosto 2007.

Per la corrispondenza:

Dr. Marco Centola

Division of Cardiology
Department of Medicine
Johns Hopkins University
School of Medicine
Baltimore, MD 21205
U.S.A.
E-mail:
mcentol1@jhmi.edu

Introduzione

La cardiopatia ischemica rappresenta la principale causa di morte nei paesi industrializzati e colpisce un numero sempre crescente di persone: in Italia 150 000 persone ogni anno sono colpite da infarto miocardico acuto (IMA) e la prevalenza di cittadini affetti da invalidità cardiovascolare è pari al 4.4 per mille[1,2]. Negli Stati Uniti, 7.1 milioni di persone sono affette da cardiopatia ischemica e 4.9 milioni di pazienti sono affetti da insufficienza cardiaca postinfartuale, la cui mortalità supera il 50% 5 anni dopo la diagnosi iniziale[3].

Le terapie convenzionali per il trattamento di tale patologia sono dirette a ridurre le conseguenze delle alterazioni morfofunzionali che si susseguono dalla fase acuta alla fase tardiva dell'IMA e che terminano con il processo di rimodellamento ventricolare postinfartuale. Quest'ultimo è caratterizzato dalla sostituzione del tessuto miocardico necrotico con tessuto fibroso, cicatriziale e non contrattile[4].

L'incidenza, l'ospedalizzazione e la mortalità dell'insufficienza cardiaca postinfartuale continuano ad aumentare, nonostante i recenti progressi della terapia medica, l'introduzione di nuove strategie interventistiche, l'ottimizzazione delle terapie farmacologiche esistenti e l'incremento dei presidi igienico-dietetici di prevenzione[5]. Recentemente, particolare attenzione è stata rivolta alla terapia con cellule staminali per il trattamento dell'IMA e dell'insufficienza cardiaca postinfartuale[6]. Gli obiettivi di questa nuova strategia terapeutica consistono: a) nel rigenerare tessuto miocardico contrattile, costituito da cardiomiociti funzionanti e vitali, elettromeccanicamente integrati con le cellule circostanti e in grado di rispondere adeguatamente a stimoli fisiologici; b) nel promuovere la formazione di nuovi vasi (neoangiogenesi), in grado di migliorare la perfusione tissutale delle zone ischemiche e di incrementare la funzione contrattile cardiaca.

La possibilità di poter utilizzare le cellule staminali per la terapia della cardiopa-

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 216.73.216.77 Wed, 02 Jul 2025, 00:30:47

tia ischemica postinfartuale ha stimolato l'immaginazione della comunità medico-scientifica.

"*Veritas filia temporis*" disse Aulo Gelio[7], parlando ad una platea scettica. L'antica saggezza latina e il suo ricco patrimonio di espressioni sono sempre in grado di comunicare suggerimenti applicabili alla realtà attuale: il "tempo", la ricerca avanzata e lo sviluppo di nuove tecniche di laboratorio sono in grado di modificare le nostre conoscenze riguardanti il trattamento della cardiopatia ischemica. Fino a pochi anni fa, infatti, l'idea di poter rigenerare miocardio vitale e funzionante in pazienti affetti da IMA o scompenso cardiaco postinfartuale rappresentava un'ipotesi non realizzabile.

Le evidenze sperimentali, in modelli animali, suggeriscono che le cellule staminali, trapiantate nel cuore infartuato, sono in grado di differenziarsi in cellule endoteliali e in cardiomiociti (processo chiamato cardiomioplasticità o cardiomiogenesi cellulare), esercitando un effetto favorevole sulla perfusione tissutale e sulla contrattilità cardiaca[8]. Diversi autori hanno dimostrato che alcune citochine e fattori di crescita mobilizzano le cellule staminali provenienti dal midollo osseo (BMSC). Tali cellule colonizzano il tessuto miocardico ischemico ("homing" cardiaco), proliferano e si differenziano in cardiomiociti, cellule endoteliali e fibroblasti[9]. Inoltre, studi pubblicati negli ultimi anni hanno evidenziato foci di rigenerazione spontanea di cardiomiociti nel cuore umano e non[10]. Il miocardio, pertanto, non è più ritenuto organo postmitotico incapace di rigenerare cellule parenchimali.

Tali scoperte hanno suscitato notevoli controversie nella comunità scientifica. In particolare, argomenti molto dibattuti risultano: l'identificazione della popolazione di cellule staminali più utile nel processo di rigenerazione e riparazione del tessuto miocardico ischemico, la validità e l'efficacia delle differenti modalità di somministrazione di tali cellule, e la valutazione dei meccanismi attraverso cui le cellule staminali siano in grado di esercitare un effetto favorevole sul miocardio infartuato.

Nel presente lavoro ci proponiamo di: a) esaminare i differenti tipi di popolazioni cellulari in fase di studio; b) approfondire i meccanismi responsabili degli effetti favorevoli del trapianto di cellule staminali; c) valutare i recenti studi di applicazione clinica della terapia cellulare cardiaca.

Le cellule staminali

Le cellule con illimitata capacità proliferativa durante tutta la vita dell'individuo sono chiamate staminali (dal latino *stamen, staminis,* che significa "tronco", "filo"). Le cellule staminali si dividono asimmetricamente e danno origine a due cellule figlie, diverse tra loro: la prima mantiene le caratteristiche di staminalità ed è uguale alla cellula madre, l'altra, invece, è diversa (anche se può dividersi numerose volte, non può farlo indefinitamente) ed è precursore di una progenie cellulare destinata a differenziarsi e a dar vita a tessuti e organi. Le cellule staminali sono clonogeniche (capaci di produrre esatti duplicati), autorinnovanti (capaci di dividersi indefinitamente) e potenti (capaci di differenziarsi in multiple linee cellulari). Tali cellule possono essere distinte in base alla "potenza" di differenziamento in totipotenti, pluripotenti, multipotenti e unipotenti[11] (Figura 1).

Le cellule staminali degli stadi iniziali di sviluppo embriogenico sono chiamate cellule staminali totipotenti o onnipotenti e possono dare origine ad ogni tipo di cellula: cellule del trofoblasto e cellule dei tre strati germinali (endoderma, mesoderma ed ectoderma), necessarie per il completo sviluppo dell'embrione. Ciò implica che da una cellula totipotente si può sviluppare un organismo vivente completo[12].

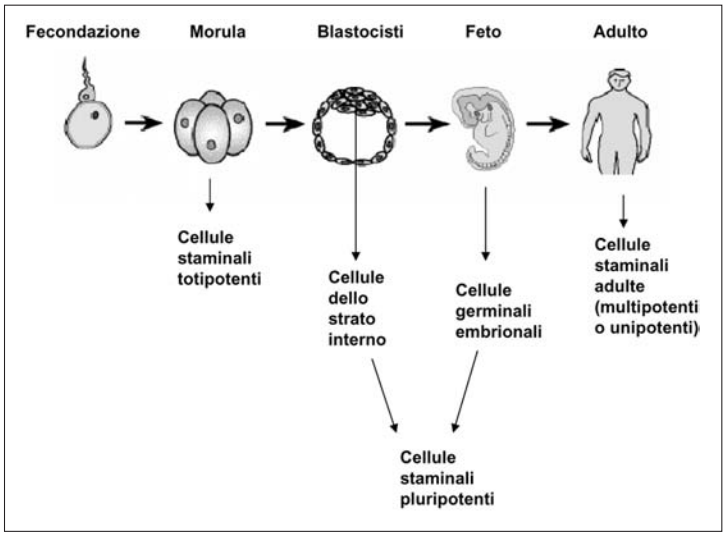

Figura 1. *L'origine delle cellule staminali totipotenti, pluripotenti, multipotenti e unipotenti.*

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 216.73.216.77 Wed, 02 Jul 2025, 00:30:47

Le cellule staminali capaci di generare i tre strati germinali (endoderma, mesoderma ed ectoderma), ma non il trofoblasto, sono considerate pluripotenti. Nei mammiferi tali cellule sono presenti nel nodo embrionale della blastocisti, nell'embrione, nel feto e in minima parte nell'individuo adulto[13]. Le cellule staminali embrionali derivano dalla massa cellulare interna della blastocisti nella sua fase iniziale (prima dell'impianto sulla superficie uterina) e sono prodotte circa 5 giorni dopo la fertilizzazione[14].

Le cellule staminali che danno origine ad un singolo strato germinale sono considerate multipotenti. Le cellule staminali multipotenti si formano nel feto e nello stadio precoce di vita postnatale quando è già definita l'espressione genica delle singole cellule[15]. Le cellule staminali adulte, somatiche o progenitrici, considerate multipotenti, sono presenti nel midollo osseo, sangue, fegato, muscolo, epidermide e cervello dell'individuo adulto. A differenza delle cellule staminali embrionali, l'origine delle cellule staminali adulte in tessuti e organi di organismi già completamente sviluppati non è ancora nota. Si pensa che risiedano in un'area specifica di ciascun tessuto dove rimangono quiescenti (non differenziate) per molti anni finché vengono attivate da una malattia o in seguito a qualche danno subito[16]. Alcuni ricercatori ritengono che possano essere utili al normale "turnover" di cellule tessuto-specifiche, ma che, quando il tessuto (od organo), in cui esse risiedono, subisce un danno, non siano in grado di fornire un numero sufficiente di cellule per ripararlo completamente. Recentemente, è stato ipotizzato che le BMSC siano capaci di mobilizzarsi e di dirigersi verso l'organo o tessuto danneggiato e favorire il processo rigenerativo[17].

Le cellule staminali unipotenti, invece, possono dar luogo ad un unico tipo di cellula. Dopo un numero molto limitato di divisioni cellulari, tali cellule iniziano a differenziarsi e a dare origine a cellule tessuto-specifiche.

Le cellule staminali embrionali

La caratteristica principale delle cellule isolate dalla blastocisti, le cosiddette cellule staminali embrionali, è l'elevata potenzialità di differenziarsi in qualsiasi tipo cellulare[18,19]. *In vitro* le cellule staminali embrionali sono capaci di differenziarsi in neuroni, muscolo liscio, muscolo scheletrico e cardiomiociti. Il differenziamento in cardiomiociti avviene attraverso tre stadi: il precoce, l'intermedio e il tardivo. Nello stadio precoce, sono prodotte cellule con attività contrattile *(pacemaker-like cells)*; nello stadio intermedio si sviluppano cellule atriali, ventricolari e cellule del sistema di conduzione; durante lo stadio terminale, sono ben distinguibili miofibrille con bande A, I e Z e dischi intercalati che contengono desmosomi e *gap junctions*[20].

Recentemente alcuni autori hanno dimostrato che i cardiomiociti, derivanti dalle cellule staminali embrionali, sono capaci di integrarsi nel miocardio e incrementare la funzione cardiaca in modelli animali di IMA[21]. Dati molto interessanti provengono da studi con cellule staminali embrionali umane. Tali cellule si possono differenziare *in vitro* in cardiomiociti aventi proprietà elettrofisiologiche, strutturali e contrattili identiche a quelle dei cardiomiociti adulti[22]. Laflamme et al.[23] hanno dimostrato *in vivo* la differenziazione delle cellule staminali embrionali umane in cardiomiociti e cellule endoteliali, capaci di integrarsi elettromeccanicamente nel tessuto miocardico ospite, come evidenziato in altri studi recenti[24]. Alcuni autori[25] hanno sollevato perplessità sull'utilizzo di cellule staminali embrionali: le potenziali reazioni di rigetto, la difficoltà di ottenere popolazioni cellulari pure, gli aspetti etici dell'impiego di embrioni umani e la tumorigenicità di questo tipo di cellule, capaci di formare teratomi cellulari a causa dell'elevata capacità proliferativa. Ad ogni modo, i recenti lavori di Menard et al.[26] e Hodgson et al.[27] non solo hanno dimostrato *in vivo* l'elevata cardiomioplasticità delle cellule staminali embrionali (capaci di aumentare la funzione contrattile cardiaca in modelli animali di IMA), ma hanno anche evidenziato l'assenza di reazioni di rigetto e di formazioni neoplastiche, in condizioni di xenotrapianto. Tale fenomeno potrebbe essere legato al debole potenziale immunogenico delle cellule staminali embrionali (che esprimono moderate quantità di complesso maggiore di istocompatibilità [MHC] di classe I e nessun recettore MHC di classe II) e alla presenza di stimoli differenziativi cardiaco-specifici provenienti dal tessuto ospite.

I mioblasti scheletrici

I mioblasti scheletrici, o cellule satelliti, rappresentano un'importante fonte di cellule per la terapia rigenerativa del miocardio soprattutto per le loro caratteristiche biologiche e l'assenza di problemi etici e immunologici[28]. Normalmente risiedono al di sotto della lamina basale delle fibre muscolari scheletriche mature, dove rimangono in uno stadio quiescente fino a quando non vengono reclutate per riparare un danno subito dal tessuto muscolare.

La percentuale di cellule satelliti nel muscolo scheletrico dell'individuo adulto è bassa (3-4%), ma, recentemente, Suzuki et al.[29] hanno dimostrato, sia nel ratto che nell'uomo, la possibilità di isolare ed espandere questo tipo di cellule. I mioblasti scheletrici, infatti, sono stati le prime cellule staminali ad essere studiate approfonditamente in modelli sperimentali di cardiopatia ischemica a causa della loro origine autologa, dell'alta capacità proliferativa, del differenziamento in cellule muscolari e della relativa resistenza all'ischemia[30]. Quest'ultima caratteristica è particolarmente importante dato che la cicatrice postinfartuale, sito di iniezione delle cellule, è un ambiente altamente ipossico.

Studi sui ratti hanno dimostrato che i mioblasti scheletrici iniettati nell'area infartuale, sono in grado di ripopolare il tessuto miocardico pericicatriziale, au-

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 216.73.216.77 Wed, 02 Jul 2025, 00:30:47

mentando lo spessore della parete ventricolare e incrementando la contrattilità miocardica[31].

I meccanismi attraverso cui le cellule satelliti possano esplicare un'azione benefica non sono noti. Recentemente, Reinecke et al.[32] hanno evidenziato una ridotta espressione *in vivo* di due proteine, coinvolte nel processo di integrazione elettromeccanica (N-caderina e connessina 43), da parte dei cardiomiociti derivanti da mioblasti scheletrici trapiantati. Pertanto, il contributo all'incremento della contrattilità cardiaca potrebbe non essere correlato ad un processo di integrazione elettromeccanica di tali cellule con il miocardio circostante. In uno studio condotto da Tambara et al.[33], le dimensioni dell'area infartuale e del ventricolo sinistro sono risultate significativamente ridotte nei ratti infartuati, sottoposti all'iniezione di mioblasti scheletrici nella zona perinecrotica. Questo suggerisce che l'effetto favorevole dei miobasti scheletrici potrebbe essere dovuto alle loro proprietà elastiche, capaci di limitare l'espansione della cicatrice infartuale e il processo di rimodellamento ventricolare postinfartuale.

Una seconda ipotesi è rappresentata, invece, dalla capacità di queste cellule di incrementare direttamente la funzione sistolica cardiaca. Dati molto interessanti a tale proposito provengono dal confronto tra cardiomiociti fetali e mioblasti scheletrici[34]. Entrambi sono in grado di migliorare la funzione contrattile cardiaca nei ratti sottoposti ad infarto del miocardio, ma i cardiomiociti fetali, a differenza delle cellule satelliti, esprimono la connessina 43 e diventano funzionalmente integrati nel miocardio. Ciò implica che diversi meccanismi (l'effetto positivo sullo "stretching" di parete e/o il passaggio di correnti elettriche transmembrana, per esempio) potrebbero spiegare gli effetti favorevoli del trapianto di mioblasti scheletrici nel tessuto miocardico infartuato.

Altri autori[35], inoltre, hanno ipotizzato che le cellule derivanti dai mioblasti scheletrici possano esercitare un effetto paracrino sui cardiomiociti circostanti, attraverso il fattore di crescita epatocitario o il fattore di crescita insulinico di tipo I. Tali fattori, infatti, potrebbero esercitare un'azione antifibrotica sul tessuto perinfartuale e/o reclutare cellule staminali, capaci di riparare il danno miocardico.

Le cellule staminali del midollo osseo

Il midollo osseo è composto da vari tipi di cellule che posseggono specifiche funzioni e determinati fenotipi. Le BMSC possono essere trapiantate come midollo osseo non frazionato (o *in toto*) o come sottopopolazioni di cellule staminali derivanti da esso.

Recentemente, molti ricercatori hanno focalizzato la loro attenzione sulla possibilità di utilizzare il midollo osseo come potenziale fonte di cellule staminali multipotenti, capaci di rigenerare cardiomiociti, se iniettate nell'area perinecrotica del miocardio infartuato[36]. Di particolare interesse è la facile accessibilità del midollo osseo (estrazione dalla cresta iliaca per aspirazione), l'origine autologa e la capacità delle cellule che lo compongono di differenziarsi in cardiomiociti e cellule endoteliali.

Nel 2001, Jackson et al.[37] trapiantarono in topi il midollo osseo marcato con una proteina fluorescente (*green fluorescent protein*, GFT). Successivamente, provocarono l'infarto del miocardio sul cuore degli animali trapiantati, e dopo 4 settimane dimostrarono che BMSC GFP-positive contribuivano alla formazione di cardiomiociti e cellule endoteliali nella zona perinecrotica. Ciò suggerisce che le BMSC posseggono un meccanismo intrinseco di riparazione del danno miocardico, che, però, non è sufficiente a rigenerare ampie zone di necrosi.

Molti studi sono stati condotti iniettando il midollo osseo *in toto* nella cicatrice postinfartuale e nella zona perinfartuale, ma non hanno dimostrato nessun miglioramento del profilo emodinamico e della funzione cardiaca regionale e globale[38]. Questi risultati potrebbero essere spiegati dalla scarsa quantità (per unità di volume) di cellule multipotenti contenute nel midollo osseo *in toto* e capaci di transdifferenziarsi in cardiomiociti e cellule endoteliali. Per tale motivo, alcuni ricercatori hanno purificato dal midollo osseo *in toto* sottopopolazioni di cellule multipotenti, attraverso l'individuazione di specifici antigeni di superficie. Orlic et al.[39] hanno utilizzato le cellule staminali ematopoietiche, sulla cui membrana sono assenti i marker ematici (lin-) e presenti i recettori del fattore delle cellule staminali (SCF) (c-kit+). Queste cellule, prelevate dal midollo osseo dei topi maschi e marcate con GFP, sono state, poi, iniettate nella zona perinfartuale del cuore infartuato di topi di sesso femminile. Nove giorni dopo il trapianto delle cellule staminali ematopoietiche, i ricercatori hanno dimostrato: a) la crescita di nuovi cardiomiociti (GFP-positivi e cromosoma Y-positivi) nella zona perinfartuale del cuore dei topi trattati; b) un incremento della frazione di eiezione e un miglioramento dei parametri emodinamici del ventricolo sinistro nel gruppo trattato rispetto al gruppo placebo. Le cellule differenziate non esprimevano il marcatore di staminalità c-kit, rappresentando, quindi, cellule mature. Il 36% delle cellule marcate con GFP, inoltre, esprimevano la proteina BrdU (segno di attivazione mitotica dei nuovi cardiomiociti) e il 19% risultava positivo per Ki-67, un marcatore dell'attivazione del ciclo cellulare. Le cellule staminali iniettate erano capaci di generare cardiomiociti e in misura minore cellule endoteliali e cellule muscolari lisce.

Il midollo osseo rappresenta una fonte di progenitori di cellule endoteliali che possono essere mobilizzati in circolo e colonizzare il tessuto miocardico ("homing"). L'iniezione di SCF o di "granulocyte-colony stimulating factor" (G-CSF) è in grado di mobilizzare dal midollo osseo le cellule staminali ematopoietiche, le quali sono capaci di rigenerare cellule endoteliali e cardiomiociti e di migliorare la funzione cardiaca del miocardio infartuato[17].

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 216.73.216.77 Wed, 02 Jul 2025, 00:30:47

Tuttavia, lo studio di Murry et al.[40] ha riportato dati contrastanti: le cellule staminali ematopoietiche non si differenziano in cardiomiociti se iniettate nell'area perinfartuale. Balsam et al.[41], inoltre, hanno dimostrato che le cellule staminali ematopoietiche iniettate nel miocardio ischemico adottano caratteristiche fenotipiche e funzionali ematopoietiche, prevenendo, comunque, la dilatazione e disfunzione ventricolare sinistra postinfartuale. Malgrado le controversie relative al transdifferenziamento delle BMSC in cardiomiociti, i dati pubblicati da parte di numerosi gruppi di ricerca depongono per una reale efficacia di alcune sottopopolazioni del midollo osseo *in toto* nel prevenire il processo di rimodellamento ventricolare postinfartuale.

I progenitori delle cellule endoteliali

I progenitori delle cellule endoteliali hanno caratteristiche fenotipiche e funzionali simili a quelle degli angioblasti fetali, sono presenti nel midollo osseo dell'individuo adulto, ma possono essere isolati anche dal sangue derivante dal cordone ombelicale e dal sangue periferico. Queste cellule, note come cellule progenitrici endoteliali (EPC), esprimono marcatori di superficie tipici delle cellule endoteliali mature, ma anche proteine caratteristiche delle cellule non differenziate, come il CD133[42].

È stato dimostrato che l'espressione dei marcatori di superficie CD34, CD133 e VEGFR-2 identifica una popolazione di EPC immature, mentre l'assenza rispettivamente di CD133 e VEGFR-2 caratterizza cellule endoteliali mature e cellule ematopoietiche immature[42].

Le EPC possono essere mobilizzate dal midollo osseo e sono in grado di raggiungere le aree ischemiche, dove si differenziano in cellule endoteliali[43]. Nel cuore infartuato, dopo iniezione intravenosa, le EPC sono in grado di raggiungere l'area ischemica e aumentare il numero di capillari nella zona infartuale e perinfartuale, inducendo il processo di neoangiogenesi e neovasculogenesi[44]. Kocher et al.[45] hanno, altresì, dimostrato una significativa riduzione della deposizione di collagene e del processo di apoptosi dei cardiomiociti nella zona perinecrotica e un miglioramento della funzione cardiaca, suggerendo che la neovascolarizzazione indotta da queste cellule possa prevenire l'apoptosi, il rimodellamento ventricolare e indurre la rigenerazione dei cardiomiociti.

La possibilità di usare le EPC per la terapia cellulare cardiaca nell'uomo è stata suggerita da alcuni studi eseguiti su cuori trapiantati, nei quali le EPC dell'ospite migrano e sono in grado, sebbene in percentuali ridotte, di differenziarsi in cardiomiociti e cellule endoteliali[46].

Le cellule staminali del sangue del cordone ombelicale

Le cellule staminali del sangue del cordone ombelicale contengono cellule staminali ematopoietiche e precursori mesenchimali. Kogler et al.[47] hanno descritto una popolazione di cellule derivanti dal cordone ombelicale umano: le cellule staminali del cordone ombelicale umano. Queste cellule sono simili ai fibroblasti, non esprimono c-kit, CD34 e CD45 e sono capaci di differenziarsi, sia *in vivo* che *in vitro*, in molti tessuti e cellule, inclusi i cardiomiociti[47]. Recentemente, Ma et al.[48] hanno dimostrato che l'iniezione di cellule staminali del cordone ombelicale umano, 1 giorno dopo l'induzione dell'infarto miocardico in topi di laboratorio, determina la riduzione dell'area infartuale e l'aumento della neovascolarizzazione ad opera di cellule endoteliali sia di origine umana che murina.

Le cellule staminali mesenchimali

Le cellule staminali derivanti dallo stroma del midollo osseo (MSC) possono differenziarsi in ogni tessuto di origine mesenchimale (muscolo, osso, tendini, legamenti e tessuto adiposo). Il midollo osseo *in toto* contiene le MSC multipotenti che derivano dal mesoderma somatico e sono coinvolte nel processo di riparazione di vari tessuti mesenchimali. Queste cellule, capaci di aderire rapidamente in coltura, sono negative per CD40, CD34, CD45 e CD14, marcatori caratteristici delle cellule ematiche[49]. Le MSC sono dotate di immunoprivilegio, in quanto sulla superficie cellulare sono assenti le proteine MHC-II e B-7, capaci di attivare la risposta immuno-mediata dai linfociti T[50]. Tali cellule sono dotate di elevata capacità differenziativa (plasticità): se coltivate con il fattore di crescita vascolare endoteliale (VEGF), si differenziano in cellule endoteliali[51,52]; se sottoposte al trattamento prolungato con 5-azacitidina (un inibitore della metilazione del DNA) formano cellule connesse da dischi intercalari e con attività contrattile sincrona[53]. Le cellule cardiomiogeniche esprimono fattori di trascrizione tipici delle fasi precoci dello sviluppo cardiaco (peptide natriuretico atriale, catena-α pesante della miosina, α-actina sarcomerica), nonché recettori muscarinici e adrenergici funzionati sulla membrana cellulare[54]. In ratti sottoposti ad IMA, le MSC a) sono in grado di raggiungere l'area infartuale, se iniettate per via endovenosa; b) sono riscontrabili nell'area infartuale e perinfartuale, 4 settimane dopo la loro somministrazione, e c) determinano l'incremento della funzione contrattile cardiaca e del numero dei capillari negli animali trattati rispetto al gruppo di controllo[55].

Amado et al.[56], inoltre, hanno dimostrato che l'iniezione intramiocardica (attraverso catetere) di MSC allogeniche determina rigenerazione di cardiomiociti, riduzione dell'area infartuale e miglioramento della funzione contrattile regionale e globale, in maiali sottoposti ad IMA. È interessante notare che in tale studio le MSC allogeniche non hanno prodotto evidenze di rigetto. Evidenze sperimentali su animali, infatti, suggeriscono che l'iniezione di MSC allogeniche non genera rigetto e non necessita immunosoppressione del ricevente[57]. La possibilità di utilizzare MSC allogeniche rispetto alle cellule autologhe riveste particolare impor-

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 216.73.216.77 Wed, 02 Jul 2025, 00:30:47

tanza dato che le prime sarebbero più facilmente disponibili, avrebbero un maggior rapporto costo/efficacia, e fornirebbero maggiori quantità rispetto alla terapia cellulare autologa[58].

Recentemente il nostro gruppo di ricerca ha dimostrato che l'iniezione intramiocardica di MSC allogeniche, effettuata 3 giorni dopo l'induzione dell'infarto del miocardio, stimola la rigenerazione di tessuto miocardico vitale. Il tessuto rigenerato aumenta la funzione sistolica regionale e globale. I nuovi cardiomiociti si localizzano prevalentemente nello strato subendocardico dell'area ischemica, riducendo notevolmente le dimensioni della cicatrice infartuale[59]. Le più recenti modalità di imaging (tomografia computerizzata e risonanza magnetica) costituiscono un approccio non invasivo e accurato in grado di valutare l'efficacia della terapia cellulare cardiaca attraverso MSC (Figura 2).

Le cellule staminali cardiache

Recenti studi hanno dimostrato che il cuore possiede un potenziale rigenerativo endogeno[60]. Fino a pochi anni fa, l'ipertrofia cellulare cardiaca rappresentava l'unico meccanismo di risposta dei cardiomiociti nel processo di rimodellamento ventricolare postinfartuale[4]. Verosimilmente, le cellule staminali cardiache (CSC) mediano i meccanismi di riparazione endogena di danni miocardici di piccola entità e sono utili al normale "turnover" dei cardiomiociti adulti. Nel 2003 Beltrami et al.[61] hanno dimostrato la presenza di cellule c-kit+ nel cuore adulto di ratto. Tali cellule sono multipotenti e clonogeniche *in vitro* e in grado di differenziarsi in cardiomiociti e cellule endoteliali. Nel 2004, Messina et al.[62] hanno identificato le cardiosfere, gruppi di CSC di forma sferica, capaci di crescere in coltura, quando i cardiomiociti adulti sono prelevati dal cuore umano o di topo. Tali cellule sono clonogeniche e capaci di transdifferenziarsi *in vitro* in cardiomiociti e cellule endoteliali anche in seguito all'insulto ischemico. Il recente studio di Smith et al.[63] ha dimostrato che il cuore umano contiene cellule staminali adulte capaci di generare cardiomiociti e cellule endoteliali *in vitro* e *in vivo*. In tale studio, le cellule staminali adulte sono state isolate da piccole biopsie miocardiche effettuate su pazienti affetti da miocardite, cardiomiopatia ipertrofica, restrittiva o dilatativa, e da campioni bioptici eseguiti su pazienti sottoposti al trapianto cardiaco. Tali cellule esprimono le proteine e le caratteristiche biofisiche tipiche dei cardiomiociti adulti *in vitro* e, se iniettate nell'area perinfartuale del cuore di topo, migrano nella zona infartuale, si differenziano in cardiomiociti e contribuiscono al miglioramento della funzione contrattile globale cardiaca.

I precedenti studi rivestono particolare importanza, in quanto mostrano un meccanismo di riparazione intrinseco del miocardio adulto. Le CSC o endogene rappresentano un bersaglio terapeutico, che, se opportunamente stimolato, potrebbe indurre la riparazione endogena dell'area infartuata. Il difetto o la perdita di funzionalità delle CSC residenti nel miocardio potrebbero avere un ruolo importante nel processo di rimodellamento ventricolare postinfartuale. Urbanek et al.[64] hanno dimostrato che queste cellule aumentano nel cuore adulto dopo IMA, ma che il loro numero decade nella fase cronica e che le restanti CSC manifestano un minore potenziale rigenerativo. Mouquet et al.[65], inoltre, hanno evidenziato la presenza di CSC nel midollo osseo. Quest'ultimo potrebbe rappresentare un "reservoir" di CSC. La diminuzione della quantità di tali cellule nel midollo osseo nel corso dell'età potrebbe contribuire a spiegare la ridotta capacità rigenerativa del miocardio in soggetti anziani affetti da cardiopatia ischemica postinfartuale[66].

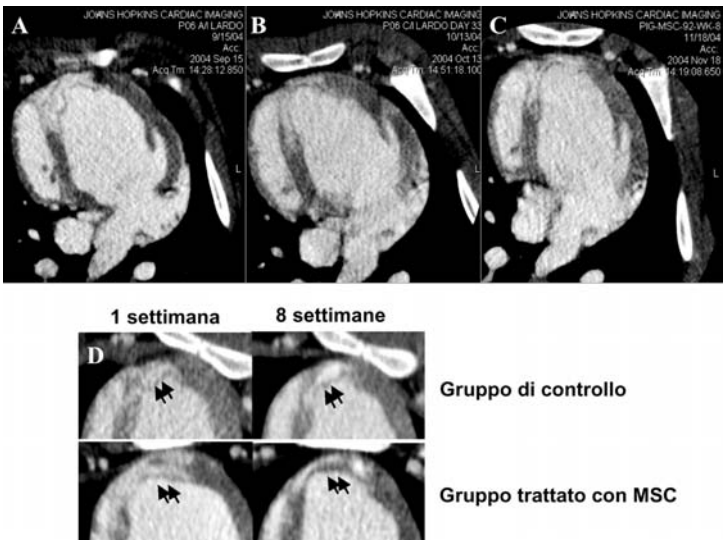

Figura 2. *Tomografia computerizzata eseguita sullo stesso animale (maiale) 5 giorni* (A)*, 4 settimane* (B) *e 8 settimane* (C) *dopo l'iniezione di cellule staminali mesenchimali (MSC). Dopo 8 settimane* (D)*, è evidente la riduzione dell'area infartuale e l'aumento dello spessore dello strato subendocardico negli animali trattati rispetto al gruppo di controllo. Da Amado et al.[59], con il permesso di American College of Cardiology Foundation.*

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 216.73.216.77 Wed, 02 Jul 2025, 00:30:47

Molte controversie riguardanti il ruolo delle CSC sono attualmente in atto. Di particolare importanza è determinare quale sia l'origine di queste cellule presenti nel cuore adulto e quale sia il loro compito nella normale omeostasi cardiaca o in risposta ad un danno miocardico.

Modalità di somministrazione delle cellule staminali

La più efficace modalità di somministrazione delle cellule staminali, dopo IMA, non è nota. Le tecniche di somministrazione e trapianto, in fase di sperimentazione, sono le seguenti:

• iniezione transepicardica (intramiocardica diretta attraverso l'epicardio) dopo toracotomia. Tale modalità è stata utilizzata durante interventi di bypass aortocoronarico in molti studi clinici[67]. La diretta visualizzazione del miocardio e della cicatrice infartuale permette l'iniezione di cellule staminali o di mioblasti scheletrici nella zona necrotica o nell'area circostante la necrosi. Quest'ultima rappresenta un importante bersaglio terapeutico, in quanto sede di fenomeni apoptotici e di processi rigenerativi dei cardiomiociti[68]. L'approccio invasivo dell'iniezione transepicardica impedisce un utilizzo rapido e diffuso di tale metodica. Inoltre, in studi clinici in atto, l'efficacia del trapianto di cellule staminali risulta difficilmente valutabile, in quanto è stato eseguito contemporaneamente l'intervento di bypass aortocoronarico;

• iniezione transendocardica (intramiocardica diretta attraverso cateteri endoventricolari). I cateteri sono dotati di un piccolo ago in punta, attraverso il quale le cellule possono essere direttamente iniettate nell'endocardio della parete ventricolare. La tomografia computerizzata ad emissione di fotone singolo (SPECT) o il mappaggio elettromeccanico sono stati utilizzati per individuare il miocardio vitale, ischemico e necrotico[69,70]. Tale procedura potrebbe essere molto utile nei pazienti con cardiopatia ischemica cronica, in cui l'occlusione dei rami coronarici e la scarsa quantità di segnali di "homing" cellulare, rilasciati dal tessuto cicatriziale, impediscono l'utilizzo di altre strategie di somministrazione (l'iniezione intracoronarica) o di reclutamento di cellule staminali (mobilizzazione dal midollo osseo mediante citochine)[71]. Poco è noto sul rischio di perforazione, versamento pericardico e tamponamento dopo iniezione transendocardica;

• iniezione intramiocardica attraverso le vene coronariche. Questa procedura rappresenta una nuova modalità di somministrazione e ha permesso l'iniezione di cellule staminali direttamente nel miocardio infartuato e nella zona perinfartuale[72]. Un catetere dotato di guida ad ultrasuoni e di un piccolo ago in punta è stato usato per l'iniezione intramiocardica di BMSC attraverso le vene coronariche: nel modello animale di cardiopatia ischemica, Thompson et al.[73] hanno effettuato iniezioni intramiocardiche nella parete anteriore, laterale, settale, apicale e inferiore del ventricolo sinistro, facendo avanzare il catetere nella vena coronarica interventricolare anteriore. Nessuna complicanza è stata riportata in questo studio. Lo stesso approccio è stato utilizzato in un trial clinico pilota per iniettare i mioblasti scheletrici nel miocardio infartuato di pazienti affetti da cardiopatia ischemica cronica[74];

• iniezione intracoronarica. La somministrazione di cellule staminali attraverso tale metodica permette il rilascio di un'elevata concentrazione di cellule nella zona ischemica. BMSC, EPC e MSC sono state iniettate attraverso iniezione intracoronarica in pazienti con IMA e cardiopatia ischemica cronica[75-77]. In molti trial clinici[78-84], è stata utilizzata la tecnica "stop-flow": il catetere con palloncino "over-the-wire" è stato introdotto nell'arteria responsabile dell'infarto, e, durante cicli di gonfiaggio/sgonfiaggio del palloncino, della durata di pochi secondi, le cellule sono state rilasciate nei vasi irroranti l'area circostante la necrosi. L'iniezione mediante tecnica "stop-flow" aumenta il flusso di cellule staminali nella microcircolazione della zona perinfartuale e non aumenta il rischio di ristenosi[85];

• iniezione endovenosa sistemica. L'utilizzo di tale metodica, non invasiva, trova il razionale nella dimostrazione che il miocardio infartuato rilascia citochine e fattori di crescita in grado di richiamare nell'area ischemica cellule staminali circolanti nel sangue periferico e/o provenienti dal midollo osseo. In molti modelli sperimentali di IMA, è stato dimostrato che l'iniezione endovenosa, sistemica, di EPC o MSC determina un incremento della frazione di eiezione[86,87]. Diverse popolazioni di cellule staminali (EPC, MSC e cellule staminali del miocardio positive per l'antigene Sca-1) sono in grado di raggiungere e colonizzare il tessuto miocardico ischemico[88,89]. Dati recenti, comunque, dimostrano che elevate quantità di MSC iniettate per via endovenosa, dopo IMA, rimangono intrappolate nei polmoni e in altri organi[90]. Ciò, in parte, limita l'applicazione clinica di questa strategia terapeutica, sebbene molti studi clinici siano già stati effettuati e altri siano attualmente in corso[49];

• trapianto intramiocardico di "bio-scaffolds", strutture bio-compatibili, in cui iniettare le cellule staminali[91]. Nonostante ci siano poche evidenze sperimentali a riguardo, particolare interesse è stato rivolto all'utilizzo di tali "micro-impianti", che costituiscono uno spazio tridimensionale, ricco di fattori di crescita e molecole di adesione, capace di stimolare la differenziazione e maturazione cellulare[92]. Se impiantati nel tessuto danneggiato, inoltre, forniscono un supporto meccanico in grado di promuovere la crescita cellulare e di rigenerare tessuti con appropriata struttura e funzione.

L'incremento del reclutamento e della mobilizzazione di cellule staminali verso il cuore, attraverso citochine e fattori di crescita, deve essere considerata una tecnica di potenziamento di fenomeni fisiopatologici, che caratterizzano la fase acuta dell'infarto miocardi-

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 216.73.216.77 Wed, 02 Jul 2025, 00:30:47

co[93]. Yeh et al.[94] hanno dimostrato che il danno ipossico-ischemico, che segue l'IMA, è in grado di reclutare e richiamare cellule staminali CD34+ presenti nel sangue periferico. Lo studio di Shintani et al.[95], inoltre, ha dimostrato, nell'uomo, che le EPC e le cellule mononucleari CD34+ sono mobilizzate nel sangue periferico dopo IMA e che tali cellule contribuiscono al processo di neovascolarizzazione nel miocardio ischemico. Le esperienze di Orlic et al.[17] e di altri autori suggeriscono che la somministrazione endovenosa di SCF e/o G-CSF, in animali sottoposti ad IMA, stimola la mobilizzazione di cellule staminali verso il miocardio e favorisce il processo di miogenesi e angiogenesi nell'area infartuale, migliorando la funzione cardiaca contrattile globale. Alcuni studi clinici, eseguiti per valutare gli effetti della somministrazione di G-CSF in pazienti con IMA, non hanno dimostrato risultati promettenti[96,97].

Meccanismi di riparazione del danno miocardico

Le ipotesi attraverso le quali le cellule staminali siano capaci di migliorare la funzione contrattile globale del cuore in seguito ad ischemia sono argomento di dibattito nella comunità scientifica. Sono stati proposti differenti meccanismi, che potrebbero operare isolatamente od in associazione (Figura 3):

• transdifferenziamento diretto delle cellule staminali iniettate in cardiomiociti, cellule endoteliali e cellule muscolari lisce;

• fusione cellulare tra le cellule staminali iniettate ed i cardiomiociti;

• induzione del processo di vasculogenesi e angiogenesi, in grado di fornire adeguato supporto di ossigeno e sangue al miocardio ischemico, per limitare l'apoptosi e aumentare la sopravvivenza dei restanti cardiomiociti;

• modificazione delle proprietà meccaniche della cicatrice infartuale e, quindi, prevenzione del processo di rimodellamento ventricolare;

• modulazione della risposta infiammatoria postischemica e, quindi, riduzione del danno cellulare da essa indotto;

• incremento dei segnali paracrini da parte delle cellule staminali iniettate, in grado di mobilizzare e attrarre verso la zona ischemica elevate quantità di BMSC;

• stimolazione della proliferazione delle cellule staminali endogene e del loro transdifferenziamento in cardiomiociti;

L'elenco proposto non è sicuramente esaustivo, in quanto molte potrebbero essere le interazioni tra cardiomiociti adulti, cellule staminali iniettate (esogene), CSC (endogene) e alcune popolazioni di cellule staminali mobilizzate dal midollo osseo[98,99].

Alcuni autori sostengono l'esistenza di fenomeni di differenziazione/transdifferenziazione delle cellule staminali adulte in cardiomiociti e cellule endoteliali[10,17]. Recenti studi hanno approfondito il processo di differenziazione delle cellule staminali dalle fasi precoci di commissionamento fino alla fase di piena maturità dei miociti cardiaci[100,101]. Le cellule staminali embrionali sono in grado di differenziarsi *in vivo* e *in vitro* in cardiomiociti[23,24], mentre persistono dubbi sull'acquisizione delle proprietà elettrofisiologiche e meccaniche cardio-specifiche da parte di alcune popolazioni di cellule staminali adulte[40,41]. Le MSC adulte, per esempio, se sottoposte al trattamento con 5-azacitidina, sono in grado di produrre la connessina 43 (indice di accoppiamento elettromeccanico)[102] e di differenziarsi *in vitro* in cardiomiociti[103], ma alcuni studi *in vivo* non hanno dimostrato un completo differenziamento di tali cellu-

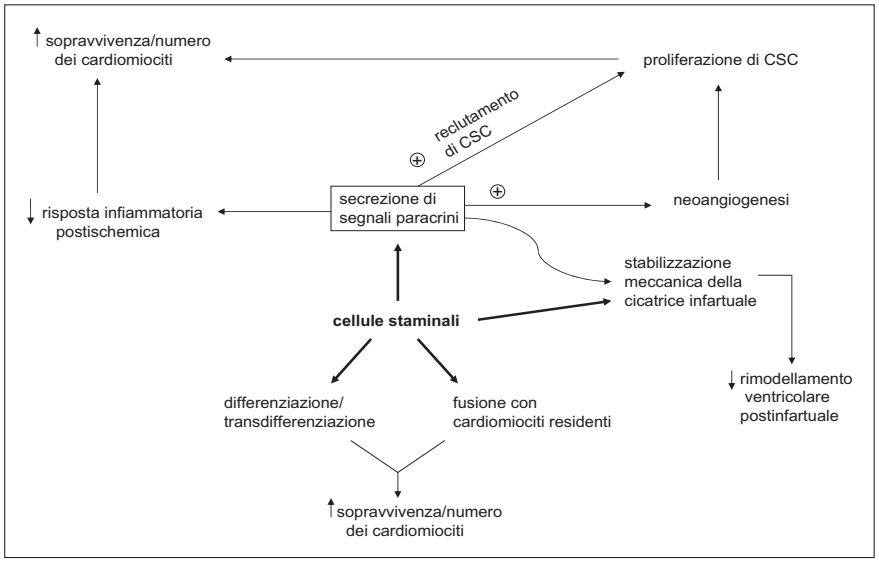

Figura 3. *Meccanismi di riparazione del danno cardiaco postischemico, ipotizzati per spiegare l'effetto favorevole della terapia con le cellule staminali. CSC = cellule staminali cardiache.*

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 216.73.216.77 Wed, 02 Jul 2025, 00:30:47

le[56,104]. Kawamoto et al.[105] hanno studiato *in vivo* il potenziale rigenerativo delle cellule staminali CD34+, capaci di differenziarsi in cardiomiociti e cellule endoteliali. Recentemente, Smith et al.[63] hanno isolato le cellule staminali adulte da campioni bioptici cardiaci umani. In coltura, tali cellule danno origine alle cardiosfere, che adottano le caratteristiche fenotipiche e funzionali tipiche dei cardiomiociti adulti. Inoltre, tali cellule, se iniettate nella zona perinfartuale del cuore di topo, si differenziano in cardiomiociti e rigenerano tessuto contrattile vitale nell'area infartuale.

Un'ipotesi avanzata prevede la possibilità che si verifichi una fusione cellulare tra i cardiomiociti (e/o cellule endoteliali endogene) e cellule staminali iniettate[106]. Teoricamente la possibilità di utilizzare il citoplasma e il materiale genetico delle cellule fuse consentirebbe alle cellule danneggiate di preservare la loro integrità funzionale e strutturale. Alcuni autori, pertanto, hanno proposto tale meccanismo per spiegare l'aumento della contrattilità cardiaca nel modello animale di cardiopatia ischemica postinfartuale: lo scambio di materiale genetico tra cellule progenitrici/staminali impiantate e cardiomiociti residenti potrebbe essere alla base della trasformazione cellulare e della rigenerazione di tessuto miocardico vitale[107]. In realtà, stabilire se il fenomeno di fusione possa essere interpretato come transdifferenziamento cellulare risulta estremamente difficile in considerazione della bassa percentuale di cellule tetraploidi riscontrate nella zona perinfartuale in seguito al trapianto cellulare[108,109].

Altri autori hanno preso in considerazione la possibilità che le cellule staminali iniettate possano stimolare la formazione di nuove strutture vascolari nel tessuto miocardico ischemico. La neovasculogenesi e la neoangiogenesi potrebbero limitare il processo di apoptosi dei cardiomiociti e aumentare la loro sopravvivenza e proliferazione[110]. Schuster et al.[111] hanno iniettato in ratti, sottoposti ad IMA, EPC e angioblasti prelevati dal midollo osseo umano. Due settimane dopo l'induzione dell'IMA hanno dimostrato: a) l'incremento dose-dipendente della neovascolarizzazione (con presenza di capillari di dimensioni maggiori); b) aumento dei fenomeni di proliferazione dei cardiomiociti endogeni e riduzione del processo di morte cellulare programmata; c) miglioramento della funzione contrattile globale del ventricolo sinistro.

Gli effetti immunomodulatori di alcune popolazioni di cellule staminali iniettate potrebbero esercitare un'azione favorevole sulla risposta infiammatoria che caratterizza la fase acuta dell'infarto del miocardio[112]. L'incremento della compliance ventricolare sinistra e della funzione contrattile cardiaca, dopo iniezione di MSC, potrebbe essere dovuto alla riduzione della risposta infiammatoria postischemica e del danno cellulare da essa indotto[113]. Tale azione potrebbe anche modificare la composizione della cicatrice postinfartuale ed esercitare un'azione favorevole sul processo di rimodellamento ventricolare postischemico. Xu et al.[114] hanno dimostrato che le MSC influenzano la composizione della matrice extracellulare della zona infartuata, alterando l'espressione della metalloproteinasi-1 e dell'inibitore tissutale delle metalloproteinasi. Tali evidenze suggeriscono che le MSC potrebbero regolare il processo di formazione del collagene e modificare le proprietà meccaniche della cicatrice infartuale, rendendola meno suscettibile all'allungamento passivo. Gli effetti sul collagene e la rigenerazione di cardiomiociti potrebbero essere entrambi responsabili dell'azione favorevole delle MSC sul tessuto miocardico ischemico[115].

Altre evidenze sperimentali indicano la possibilità che il tessuto miocardico infartuato sia in grado di rilasciare mediatori capaci di mobilizzare verso il cuore BMSC, promuovendone il differenziamento in cardiomiociti e cellule endoteliali[17]. Il danno ipossico, conseguente l'occlusione del flusso coronarico, stimola il rilascio di citochine e induce l'espressione di molecole di adesione[93]. L'espressione dello "stromal cell-derived factor-1" (SDF-1) e del suo recettore CXCR4 è necessaria per attivare il processo di "homing" cardiaco delle BMSC: dopo IMA, l'espressione di SDF-1 da parte dei cardiomiociti è aumentata e rimane elevata per molti giorni[116,117]. In seguito ad IMA, la liberazione di citochine (interleuchina-1α, fattore di necrosi tumorale-α, interleuchina-6, SCF, G-CSF, ed altre), esercita un'azione di richiamo nei confronti di BMSC, promuove il loro differenziamento in cardiomiociti e cellule endoteliali[118], e favorisce l'espressione normalmente silente di geni embrionali legati allo sviluppo cardiaco[119]. L'attivazione di alcuni enzimi cellulari, che regolano il ciclo cellulare e controllano la replicazione e la proliferazione cellulare, potrebbe svolgere un ruolo molto importante nel processo di rigenerazione dei cardiomiociti. Negli anni '90 si scoprì che l'enzima serina/treonina chinasi Akt, un componente della via di segnalazione della fosfatidilinositolo 3-chinasi, favoriva la sopravvivenza delle cellule tumorali, attraverso proprietà antiapoptotiche[120]. Evidenze crescenti suggeriscono che Akt svolga un ruolo protettivo nei confronti del miocardio (in quanto attivato da molteplici stimoli cardioprotettivi in condizioni fisiologiche) e che la sua attivazione influenza l'espansione e la proliferazione delle CSC[121]. Mangi et al.[122] hanno dimostrato che MSC geneticamente modificate (in modo da esprimere maggiormente la proteina Akt) sono 17 volte più resistenti all'ambiente ipossico del miocardio ischemico rispetto alle normali MSC e che, quando iniettate nella zona perinfartuale, inibiscono la deposizione di collagene e migliorano la contrattilità cardiaca.

Alcune popolazioni di cellule staminali, attraverso segnali paracrini, stimolano il processo di neoangiogenesi e potrebbero favorire la transdifferenziazione delle CSC endogene[123]. Le cellule staminali producono elevate quantità di fattori di crescita e citochine (VEGF, "basic fibroblast growth factor", "placental growth factor" e "monocyte chemoattractant protein-1), coinvolte nel processo di vasculogenesi e angiogenesi[118] e in gra-

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 216.73.216.77 Wed, 02 Jul 2025, 00:30:47

do di stimolare il differenziamento delle CSC[124]. Gnecchi et al. [125] hanno ipotizzato che le citochine prodotte dalle cellule staminali iniettate possano contribuire ad aumentare il numero di nicchie di CSC, stimolando la capacità riparativa endogena del miocardio. La liberazione da parte di cellule staminali iniettate di SCF-1, "leukemia inhibitory factor", SDF-1, "macrophage-colony stimulating factor", G-CSF, "granulocyte-macrophage colony stimulating factor" e di interleuchine 1, 6, 7, 8, 11, 14 e 15 potrebbe avere un ruolo importante nell'attivazione e proliferazione delle CSC, evidenziate in studi recenti[126-128].

L'applicazione clinica delle cellule staminali

Nel primo studio clinico, Menasche et al.[67] iniettarono mioblasti scheletrici nella regione infartuata di 10 pazienti sottoposti ad intervento di bypass aortocoronarico, dimostrando, dopo alcuni anni di follow-up, un incremento della frazione di eiezione e della contrattilità regionale del ventricolo sinistro nel gruppo trattato rispetto al gruppo placebo.

Da allora molti studi clinici sono stati eseguiti per valutare l'efficacia della terapia con cellule staminali in pazienti affetti da IMA o scompenso cardiaco postinfartuale, ma la maggior parte sono studi di piccole dimensioni, non randomizzati e/o senza gruppi di controllo[58]. Sebbene siano stati utilizzati differenti popolazioni di cellule staminali e diversi metodi di somministrazione, la terapia rigenerativa con cellule staminali sembra essere sicura e realizzabile. Inoltre, i risultati degli studi fino ad ora condotti dimostrano l'efficacia del trattamento con cellule staminali e incoraggianti scoperte. Questi trial, pertanto, rappresentano le basi di numerosi e ampi studi clinici, attualmente in corso.

Nel 2000, la National Library of Medicine ha istituito per conto dei National Institutes of Health un registro di tutti i trial clinici sul sito internet www.clinicaltrials.gov e l'International Committee of Medical Journal Editors richiede la registrazione del trial come prerequisito per la pubblicazione. Sul sito è presente un numero elevato di studi clinici sul ruolo della terapia cellulare nei pazienti affetti da cardiopatia ischemica, ma la maggior parte dei trial riportati sono studi clinici di fase I (adatti a raccogliere dati su dosaggio, tempi d'azione e sicurezza, ma non efficacia, di una terapia sperimentale). Pochi risultano i trial di fase II (studiati per fornire informazioni più dettagliate sulla sicurezza del trattamento e per valutarne l'efficacia), mentre non sono ancora stati raccolti dati su vasta scala e da un numero elevato di pazienti per confrontare la terapia cellulare con lo standard di cura in corso (studi clinici di fase III). In genere i trial di fase III sono randomizzati e richiedono una selezione di pazienti secondo variabili di sesso, età e razza. Per questi trial, il numero di pazienti compresi varia dalle centinaia alle migliaia e occorrono molti anni per giungere alla conclusione dello studio.

Terapia cellulare nei pazienti affetti da infarto miocardico acuto

Negli ultimi 3 anni la terapia cellulare cardiaca attraverso la somministrazione di cellule mononucleate di midollo osseo (BMMNC) è stata approfonditamente studiata per applicazioni sui pazienti affetti da IMA. Nei primi trial clinici fu utilizzata l'iniezione intracoronarica di BMMNC in pazienti postinfartuati, in quanto le evidenze sperimentali sull'animale avevano dimostrato che le BMSC erano in grado di raggiungere l'area ischemica e di differenziarsi in cardiomiociti e cellule endoteliali[45]. Strauer et al.[77], infatti, aspirarono BMMNC dal midollo osseo di 10 pazienti e lo reinfusero nel ramo coronarico responsabile dell'IMA, 7 giorni dopo l'evento acuto. Dimostrarono un significativo miglioramento della frazione di eiezione e della perfusione miocardica nel gruppo trattato rispetto al gruppo di controllo.

Il trial Transplantation of Progenitor Cells and Regeneration Enhancement in Acute Myocardial Infarction (TOPCARE-AMI)[79] randomizzò 59 pazienti, i quali ricevettero l'infusione intracoronarica di BMMNC (n = 29) o di cellule progenitrici derivate dal sangue periferico (n = 30). I ricercatori iniettarono le cellule nella coronaria responsabile dell'infarto, 4 giorni dopo l'evento acuto, e dimostrarono, 1 anno dopo l'iniezione, un aumento della frazione di eiezione dal 51 al 58% ($p < 0.001$) e un incremento della motilità regionale nella zona infartuata. Di particolare interesse fu l'assenza di differenza statisticamente significativa tra il gruppo trattato con BMMNC e quello trattato con cellule progenitrici derivate dal sangue periferico.

Nel trial Bone Marrow Transfer to Enhance ST-Elevation Infarct Regeneration (BOOST), invece, Wollert et al.[81], dopo aver eseguito l'angioplastica primaria, randomizzarono 60 pazienti, che ricevettero iniezione intracoronarica di BMMNC (n = 30) o terapia medica standard (n = 30). Dimostrarono, dopo 6 mesi, un miglioramento della frazione di eiezione nel gruppo trattato (del 6.7% rispetto allo 0.7% nel gruppo di controllo, $p = 0.0026$). Dopo 18 mesi, la frazione di eiezione aumentava nel gruppo di controllo e non vi era differenza statisticamente significativa tra i due gruppi ($p = 0.27$). I risultati di questo studio dimostrano che la singola somministrazione intracoronarica di BMMNC non determina un incremento persistente della frazione di eiezione dopo IMA nel gruppo trattato rispetto al gruppo di controllo. Tuttavia, durante i 18 mesi di follow-up, il miglioramento della frazione di eiezione fu significativamente maggiore nei pazienti trattati con BMMNC ($p = 0.001$). Ciò suggerisce la possibilità che l'effetto favorevole della terapia cellulare sia transitorio e che la terapia con cellule staminali possa essere in grado di accelerare il miglioramento della funzione contrattile cardiaca postinfartuale che si ottiene con la terapia medica standard.

Recentemente, Janssens et al.[83] hanno dimostrato che l'iniezione intracoronarica di BMMNC non sia in

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 216.73.216.77 Wed, 02 Jul 2025, 00:30:47

grado di migliorare la frazione di eiezione in pazienti affetti da IMA. In questo studio, randomizzato, in doppio cieco, sono stati randomizzati 67 pazienti: 1 giorno dopo la procedura di angioplastica, 34 pazienti hanno ricevuto l'iniezione intracoronarica di placebo e 33 pazienti di BMMNC. Dopo 4 mesi di follow-up, non è stata riscontrata nessuna differenza statisticamente significativa tra i due gruppi per quanto riguardava la frazione di eiezione (p = 0.36), sebbene ci fosse una riduzione significativa delle dimensioni della cicatrice infartuale e un incremento della funzione contrattile regionale del ventricolo sinistro.

Nel trial Reinfusion of Enriched Progenitor Cells and Infarct Remodeling in Acute Myocardial Infarction (REPAIR-AMI), Schachinger et al.[84] hanno randomizzato 204 pazienti affetti da IMA, sottoposti all'iniezione intracoronarica di BMMNC (n = 101) o di placebo (n = 103), 3-7 giorni dopo la procedura di angioplastica primaria. Dopo 4 mesi di follow-up, lo studio ha dimostrato un significativo incremento della frazione di eiezione (valutata attraverso l'esame angiografico) nei pazienti trattati rispetto al gruppo placebo (5.5 vs 3.0%, p = 0.01). Il trial Autologous Stem Cell Transplantation in Acute Myocardial Infarction (ASTAMI)[82], invece, non ha dimostrato nessun incremento, statisticamente significativo, della funzione contrattile globale del ventricolo sinistro nei pazienti trattati con BMMNC rispetto al gruppo di controllo. In questo studio, Lunde et al.[82] hanno arruolato 100 pazienti (50 nel gruppo trattato e 50 nel gruppo di controllo) e hanno valutato la frazione di eiezione attraverso tre differenti modalità di imaging cardiaco: ecocardiografia, risonanza magnetica e SPECT. Nessuna differenza significativamente significativa è stata riscontrata tra i due gruppi per quel che riguarda la frazione di eiezione, il volume telediastolico ventricolare sinistro e le dimensioni dell'area infartuale.

L'efficacia delle MSC è stata validata in pochi studi clinici. Chen et al.[76] randomizzarono 69 pazienti per l'iniezione intracoronarica di MSC autologhe (n = 34) o placebo (n = 35) dopo IMA. Dopo 6 mesi di follow-up, lo studio dimostrò un miglioramento della funzione contrattile regionale e globale e una significativa riduzione delle dimensioni del difetto di perfusione, suggerendo che le MSC siano in grado di rigenerare cardiomiociti funzionanti e vitali e ridurre il processo di rimodellamento postinfartuale.

Gli studi pubblicati riguardanti la mobilizzazione di cellule staminali mediante la somministrazione di G-CSF nei pazienti con IMA hanno dimostrato risultati contrastanti[96,97,129-134]. Il trial FIRSTLINE-AMI[130] ha dimostrato un significativo miglioramento della funzione ventricolare sinistra, mentre i successivi studi REVIVAL-2[132], STEMMI[133] e G-CSF-STEMI[134] non hanno confermato la sicurezza e l'efficacia di tale approccio: nessun miglioramento della funzione contrattile globale ed incremento del numero di restenosi nel follow-up. Tale fenomeno potrebbe essere legato all'aumento di cellule infiammatorie circolanti, che, mobilizzate insieme alle cellule staminali, sarebbero in grado di destabilizzare le placche aterosclerotiche coronariche e aggravare la malattia ateromasica presente[135]. Dati interessanti, invece, provengono dagli studi sulla mobilizzazione dal midollo osseo di EPC dopo somministrazione di statine: gli inibitori dell'enzima 3-idrossi-3-metilglutaril-coenzima A reduttasi sarebbero in grado di aumentare il numero di EPC circolanti e la loro capacità differenziativa in animali da esperimento e nell'uomo[136,137].

Terapia cellulare nei pazienti affetti da scompenso cardiaco

Pochi risultano gli studi condotti su pazienti affetti da cardiopatia ischemica cronica postinfartuale[138]. Risulta inverosimile che il miocardio di tali pazienti possa rilasciare fattori in grado di richiamare cellule staminali nell'area infartuale. Pertanto, un approccio alternativo all'infusione intracoronarica di cellule staminali è rappresentato dall'iniezione intramiocardica di cellule nella zona dove esse possano svolgere un effetto. L'iniezione diretta nel miocardio, inoltre, è preferita in pazienti con cardiopatia ischemica cronica in cui l'occlusione al flusso nei rami coronarici impedirebbe il passaggio di cellule staminali nel miocardio.

Perin et al.[69] hanno arruolato, in uno studio prospettico e non randomizzato, 21 pazienti con cardiopatia ischemica cronica, di cui 14 furono sottoposti all'iniezione intramiocardica di BMMNC. Tutti i pazienti furono sottoposti a prelievi del sangue, allo studio ecocardiografico, al test ergometrico, alla SPECT e al mappaggio elettromeccanico durante il follow-up di 4 mesi. Lo studio ha dimostrato un significativo incremento della funzione contrattile globale del ventricolo sinistro e una riduzione dei difetti reversibili di perfusione nel gruppo trattato rispetto al gruppo di controllo (p = 0.003). Inoltre, il mappaggio elettromeccanico ha evidenziato un significativo miglioramento della funzione contrattile nell'area iniettata (p <0.0005).

Molti trial clinici, di piccole dimensioni, hanno valutato la sicurezza e l'efficacia della somministrazione di mioblasti scheletrici in pazienti affetti da scompenso cardiaco[139]. Tali studi suggeriscono la possibilità di prelevare (attraverso biopsia muscolare) ed espandere in coltura i mioblasti scheletrici in 2-3 settimane. Alcune controversie sono state sollevate sull'utilizzo di queste cellule, che, se trapiantate nel miocardio, rappresentano un substrato aritmogenico. Nel primo studio clinico, infatti, 4 dei 10 pazienti a cui furono trapiantati mioblasti scheletrici durante intervento di bypass aortocoronarico, svilupparono tachicardia ventricolare sostenuta, che rese indispensabile l'impianto di un defibrillatore cardiaco automatico[67]. I dati relativi al follow-up (52 mesi) dei pazienti trapiantati, recentemente pubblicati da Hagege et al.[140], dimostrano un miglioramento delle condizioni cliniche (classe NYHA), un incremento della frazione di eiezione e una diminuzione delle ospedalizzazioni per scompenso cardiaco.

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 216.73.216.77 Wed, 02 Jul 2025, 00:30:47

Nel trial Transplantation of Progenitor Cells and Regeneration Enhancement in Patients with Chronic Ischemic Heart Disease (TOPCARE-CHD), Assmus et al.[78] hanno valutato gli effetti della somministrazione di BMMNC e di cellule progenitrici derivate dal sangue periferico in pazienti affetti da scompenso cardiaco postinfartuale. In tale studio sono stati randomizzati 75 pazienti (28 nel gruppo BMMNC, 24 nel gruppo cellule progenitrici derivate dal sangue periferico e 23 nel gruppo di controllo) che avevano avuto un IMA nei 3 mesi precedenti. Tutti i pazienti sono stati sottoposti allo studio angiografico del ventricolo sinistro, all'ecostress con dobutamina, alla tomografia ad emissione di positroni e alla risonanza magnetica cardiaca. Dopo 3 mesi di follow-up, è stato dimostrato un significativo aumento della frazione di eiezione nei pazienti trattati con BMSC (+2.9 punti percentuali) rispetto a quelli trattati con cellule progenitrici derivate dal sangue periferico (-0.4 punti percentuali, $p = 0.003$) e ai pazienti che non avevano nessuna infusione di cellule staminali (-1.2 punti percentuali, $p < 0.001$).

Discussione

Alla luce dei dati di letteratura, la cardiopatia ischemica rappresenterebbe il bersaglio terapeutico preferenziale della terapia cellulare. Recenti studi confermano che le citochine ed i fattori di crescita, responsabili del fenomeno di "homing" cardiaco delle cellule staminali, sono maggiormente espressi nei pazienti affetti da cardiopatia ischemica rispetto ai pazienti con altre cardiopatie[141]. Pertanto, i candidati ideali per le sperimentazioni future potrebbero essere rappresentati da pazienti affetti da cardiopatia ischemica postinfartuale, gravati da elevata morbilità e mortalità (scompenso cardiaco cronico e ischemia miocardica senza possibilità di rivascolarizzazione, per esempio), nonostante le attuali strategie terapeutiche[58].

Negli ultimi anni l'impiego delle cellule staminali per generare tessuto miocardico vitale e/o vasi sanguigni nel cuore dei pazienti affetti da IMA o scompenso cardiaco postinfartuale ha sollevato molti interrogativi[142]. Molti risultano i dubbi e le incertezze emersi dagli studi sperimentali e dai pochi trial clinici pubblicati in letteratura[143]. Riassumendo:

• il primo interrogativo è relativo al più efficace tipo di popolazione di cellule staminali e alla dose ottimale per la terapia cellulare cardiaca. Diverse popolazioni di cellule staminali sono state utilizzate sul modello animale di IMA e scompenso cardiaco postinfartuale, dimostrando sicurezza, applicabilità clinica ed efficacia[73-85]. Dati molto interessanti provengono dagli studi clinici che hanno utilizzato BMSC e MSC[144]. Tuttavia, la dimostrazione che il cuore è un organo non "statico", ma capace di rigenerare le proprie cellule parenchimali apre nuove e affascinanti prospettive. Le CSC potrebbero rappresentare un bersaglio terapeutico importante: attraverso metodi poco invasivi è possibile prelevarle dal cuore dei pazienti, farle crescere *in vitro* e ottenere in poco tempo milioni di cellule, che, se trapiantate, potrebbero indurre la riparazione dell'area infartuata e aumentare la funzione contrattile cardiaca[63,145]. Il trapianto autologo di CSC, inoltre, ridurrebbe il rischio di potenziali reazioni di rigetto. Le future applicazioni cliniche delle CSC chiariranno il loro ruolo nella terapia rigenerativa miocardica.

Allo stato attuale più di 500 pazienti, arruolati in studi clinici, sono stati sottoposti alla somministrazione di differenti concentrazioni di cellule staminali: la terapia cellulare cardiaca si è dimostrata sicura e realizzabile[58]. Protocolli di ricerca sperimentale *ad hoc* e studi multicentrici con numerosità adeguata dovranno identificare la dose più efficace per la rigenerazione del tessuto miocardico ischemico;

• il secondo punto sottolinea l'incertezza sulla più efficace modalità di somministrazione delle cellule staminali e sul "timing" di tale procedura. L'iniezione intracoronarica sembra essere la modalità di somministrazione più sicura e attuabile, ma ulteriori evidenze sono necessarie per confrontare le tecniche di trapianto in fase di sperimentazione[146]. In molti studi clinici, la terapia cellulare è stata somministrata dopo la procedura di angioplastica (1-7 giorni dopo IMA) o dopo il bypass aortocoronarico, ma mancano dati omogenei necessari per comprendere quale sia il miglior "timing" di somministrazione delle cellule staminali in acuto o nei pazienti con insufficienza cardiaca[147];

• numerosi sono i dubbi relativi ai meccanismi responsabili degli effetti positivi della terapia cellulare cardiaca[39-43]. Molti studi su animali hanno dimostrato la rigenerazione del tessuto miocardico e/o la formazione di nuove strutture vascolari, dopo iniezione di cellule staminali nel tessuto miocardico ischemico[19-21,31-34,45-48,54-57]. I trial clinici non solo dovranno chiarire l'efficacia di questa innovativa ipotesi di trattamento, ma anche i possibili meccanismi fisiopatologici. A tal proposito, le nuove tecniche di imaging cardiaco (risonanza magnetica nucleare, SPECT, tomografia ad emissione di positroni e tomografia computerizzata) potranno fornire importanti informazioni sulla perfusione miocardica e sul metabolismo cardiaco, sulla presenza di tessuto miocardico vitale perinfartuale e sulla funzione cardiaca regionale e globale[148-150]. La biopsia cardiaca e la valutazione *post-mortem* nei pazienti sottoposti alla terapia cellulare saranno estremamente importanti per valutare l'attecchimento e la differenziazione delle cellule trapiantate;

• un altro interrogativo riguarda l'interpretazione dei pochi studi clinici presenti in letteratura. La maggior parte dei lavori comprendono piccole popolazioni di pazienti e sono caratterizzati da criteri di arruolamento e da parametri di valutazione di efficacia della terapia differenti nelle varie casistiche[151]. Ampi trial clinici prospettici, randomizzati, in doppio cieco e controllati dovrebbero essere pianificati per fornire informazioni

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 216.73.216.77 Wed, 02 Jul 2025, 00:30:47

riguardanti importanti endpoint clinici come l'ospedalizzazione, l'incidenza di reinfarto e la sopravvivenza dopo iniezione di cellule staminali;
• alcune incertezze sono relative al processo di prelievo e purificazione del prodotto di terapia cellulare (PTC). Tale processo può influire sugli effetti biologici, pertanto le condizioni di "good manufacturing practice" (GMP) (assenza di contaminazione dei PTC, registrazione e monitoraggio dei materiali utilizzati e la presenza di personale qualificato e istruito nei laboratori) rivestono particolare importanza. La Comunità Europea, infatti, ha stabilito che i prodotti utilizzati per la terapia genica e per la terapia cellulare, basati su cellule umane e xenogeniche, devono essere considerati come farmaci e, di conseguenza, prodotti seguendo quelle che vengono definite le buone pratiche di produzione[152]. Per poter programmare sperimentazioni cliniche con cellule staminali è pertanto necessario disporre di un laboratorio, di strumentazioni e di procedure tali da poter soddisfare le norme GMP della farmacopea ufficiale. Inoltre, le verifiche ispettive presso le officine di produzione di medicinali sono condotte al fine di accertare che la produzione dei medicinali sia compiuta secondo criteri tecnici e metodologici tali da garantire la qualità del prodotto fabbricato. Le collaborazioni con le Autorità regolatorie internazionali che comprendono le agenzie degli altri stati membri dell'Unione Europea, l'Agenzia Europea dei Medicinali, e soprattutto l'Organizzazione Mondiale della Sanità e la Pharmaceutical Inspections Convention, rivestono particolare importanza ai fini della futura pianificazione di studi clinici di terapia cellulare;
• perplessità sono state sollevate sulle normative che regolano l'iter di approvazione di sperimentazioni cliniche riguardanti l'utilizzo della terapia cellulare. La maggior parte degli studi clinici è stata condotta in Europa. Negli Stati Uniti, invece, la Food and Drug Administration sembra essere molto rigorosa nel selezionare gli studi clinici di sperimentazione cellulare[153]. Le leggi italiane prevedono un percorso complicato: la presenza di dati in modelli preclinici, l'approvazione delle procedure di produzione del PTC da parte di una Cell Factory (autorizzata dall'Agenzia Italiana del Farmaco), la validazione delle procedure in condizioni di GMP, la sottomissione e approvazione del progetto da parte dell'Istituto Superiore di Sanità e del Comitato Etico, la tracciabilità dei dati e la presenza di un registro di tutti i pazienti arruolati nei protocolli[154]. Le procedure previste dall'iter di approvazione sono sicuramente nell'interesse del paziente, ma i costi elevati, i tempi di approvazione dei protocolli e la complessità delle normative riducono l'esecuzione degli studi clinici.

Conclusioni e prospettive future

Negli ultimi anni la terapia cellulare ha suscitato l'interesse dei ricercatori di base e dei clinici, ed i risultati dei pochi trial fino ad ora condotti la propongono come innovativa ipotesi di trattamento per i pazienti cardiopatici. Le attuali ricerche cliniche utilizzano la terapia cellulare nei pazienti affetti da cardiopatia ischemica postinfartuale, in considerazione dell'evidenza di "upregulation" di citochine e fattori di crescita, capaci di facilitare il fenomeno di "homing" cardiaco di cellule staminali. La ricerca di base e gli studi di applicazione clinica sull'uomo dovrebbero procedere parallelamente per comprendere meglio i meccanismi responsabili degli effetti favorevoli della terapia cellulare cardiaca sul tessuto miocardico ischemico. La maggior parte degli studi clinici condotti è stata effettuata utilizzando BMSC non selezionate, ma la recente scoperta delle CSC, isolate da biopsie miocardiche effettuate su pazienti cardiopatici, suggerisce la loro potenziale applicazione in future sperimentazioni cliniche. Ad ogni modo, i futuri trial dovranno concentrare la loro attenzione su popolazioni di pazienti ad elevato rischio (scompenso cardiaco cronico con severa compromissione della funzione contrattile globale, scompenso cardiaco postischemico con coronaropatia diffusa non trattabile con le tecniche convenzionali, scompenso cardiaco grave in attesa di trapianto) con l'obiettivo di arruolarne un numero elevato per confermare la sicurezza e l'efficacia di questa nuova strategia terapeutica. Pertanto, le istituzioni e le Società Scientifiche dovrebbero coordinare studi più numerosi di ricerca sperimentale, impegnarsi nel finanziamento di ampi studi clinici multicentrici randomizzati e favorire valutazioni e confronti in merito alle legislazioni che regolano questo tipo di ricerca.

Riassunto

La cardiopatia ischemica rappresenta un rilevante problema sanitario nel mondo industrializzato e sviluppato. Nonostante le innovazioni nelle strategie di riperfusione miocardica ed i nuovi trattamenti farmacologici, le terapie dirette a ridurre le conseguenze deleterie del danno miocardico ischemico acuto e cronico restano ancora limitate. Recentemente, il dogma biologico del cuore come organo postmitotico è stato modificato. La replicazione dei cardiomiociti e la rigenerazione miocardica spontanea sono state dimostrate nel cuore umano dopo infarto miocardico acuto e scompenso cardiaco postinfartuale. Inoltre, studi clinici e sperimentali suggeriscono che il trapianto di cellule staminali e di cellule progenitrici nel miocardio ha effetti favorevoli sulla perfusione tissutale e sulla contrattilità cardiaca. La neovascolarizzazione e la formazione di nuovi cardiomiociti sono state documentate in tali studi. Differenti meccanismi sono stati proposti per spiegare l'effetto favorevole del trapianto di cellule staminali, e sono argomento di dibattito nella comunità scientifica: a) il differenziamento delle cellule staminali somministrate, b) la fusione cellulare, e c) il rilascio di segnali paracrini da parte delle cellule staminali iniettate. Recentemente, la mobilizzazione delle cellule staminali cardiache è stata considerata un potenziale bersaglio nel processo di riparazione del danno miocardico.

Questi interessanti risultati, prodotti dalla ricerca di base e dai clinici, costituiscono la base di innovative strategie terapeutiche nel futuro che cambieranno la pratica clinica in cardiologia.

Nel presente lavoro prendiamo in considerazione le caratteristiche delle popolazioni di cellule staminali in uso per la ripa-

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 216.73.216.77 Wed, 02 Jul 2025, 00:30:47

razione del miocardio infartuato, discutiamo i potenziali meccanismi della terapia rigenerativa miocardica e valutiamo le applicazioni cliniche di questo nuovo metodo di trattamento della cardiopatia ischemica.

Parole chiave: Cellule staminali; Infarto miocardico; Scompenso cardiaco; Trapianto cellulare.

Bibliografia

1. Conti S, Farchi G, Capocaccia R, et al. La mortalità in Italia nell'anno 1998. Rapporti ISTISAN 02/31 2002: 1-185.
2. Le condizioni di salute della popolazione. Indagine multiscopo sulle famiglie. Anni 1999-2000. Roma: ISTAT, 2001: 169.
3. American Heart Association. Heart and stroke statistics: 2005 update. http://www.americanheart.org/downloadable/heart/1105390918119HDSStats2005Update.pdf.
4. Braunwald E, Pfeffer MA. Ventricular enlargement and remodeling following acute myocardial infarction: mechanism and management. Am J Cardiol 1991; 68: 1D-6D.
5. Registro Nazionale degli Eventi Coronarici e Cerebrovascolari. Ital Heart J 2004; 5 (Suppl 3): 22S-37S.
6. Taylor DA. Cell-based myocardial repair: how should we proceed? Int J Cardiol 2004; 95 (Suppl 1): S8-S12.
7. Aulo Gelio. Notti Attiche 16.13.4: 159.
8. Wang JS, Shum-Tim D, Galipeau J, Chedrawy E, Eliopoulos N, Chiu RC. Marrow stromal cells for cellular cardiomyoplasty: feasibility and potential clinical advantages. J Thorac Cardiovasc Surg 2000; 120: 999-1005.
9. Bodine DM, Seidel NE, Gale MS, et al. Efficient retrovirus transduction of mouse pluripotent hematopoietic stem cells mobilized into the peripheral blood by treatment with granulocyte colony-stimulating factor and stem cell factor. Blood 1994; 84: 1482-91.
10. Leri A, Kajastura J, Anversa P. Cardiac stem cells and mechanisms of myocardial regeneration. Physiol Rev 2005; 85: 1373-416.
11. Gepstein L. Derivation and potential application of human embryonic stem cells. Circ Res 2002; 91: 866-76.
12. Council for Responsible Genetics. Genewatch. http://www.gene-watch.org
13. Doetschmann TC, Eistetter H, Katz M, et al. The in vitro development of blastocyst-derived embryonic stem cell lines: formation of visceral yolk sac, blood islands and myocardium. J Embryol Exp Morphol 1995; 87: 27-45.
14. Wobus AM. Potential of embryonic stem cells. Mol Aspects Med 2001; 22: 149-64.
15. Prockop DJ. Marrow stromal cells as stem cells for nonhematopoietic tissue. Science 1997; 276: 71-4.
16. Fujii T, Yau TM, Weisel RD, et al. Cell transplantation to prevent heart failure: a comparison of cells types. Ann Thorac Surg 2003; 76: 2062-70.
17. Orlic D, Kajastura K, Chimenti S, et al. Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival. Proc Natl Acad Sci USA 2001; 98: 10344-9.
18. Strubing C, Ahnert-Hilger G, Shan J, et al. Differentiation of pluripotent embryonic stem cells into the neuronal lineage in vitro gives rise to mature inhibitory and excitatory neurons. Mech Dev 1995; 53: 275-87.
19. Hescheler J, Fleischmann BK, Lentini S, et al. Embryonic stem cells: a model to study structural and functional properties in cardiomyogenesis. Cardiovasc Res 1997; 36: 149-62.
20. Kehat I, Gepstein A, Spira A, et al. High-resolution electrophysiological assessment of human embryonic stem cell-derived cardiomyocytes: a novel in vitro model for the study of conduction. Circ Res 2002; 91: 659-61.
21. Min JY, Yang Y, Converso KL, et al. Transplantation of embryonic stem cells improves cardiac function in post infarcted rats. J Appl Physiol 2002; 92: 288-96.
22. Klug MG, Soonpaa MH, Koh GY, et al. Genetically selected cardiomyocytes from differentiating embryonic stem cells from stable intracardiac grafts. J Clin Invest 1996; 98: 216-24.
23. Laflamme MA, Gold J, Xu C, et al. Formation oh human myocardium in the rat heart from human embryonic stem cells. Am J Pathol 2005; 167: 663-71.
24. Xue T, Cho HC, Akar FG, et al. Functional integration of electrically active cardiac derivatives from genetically engineered human embryonic stem cells with quiescent recipient ventricular cardiomyocytes: insights into the development of cell-based pacemakers. Circulation 2005; 111: 11-20.
25. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. Science 1998; 282: 1145-47.
26. Menard C, Hagege AA, Agbulut O, at al. Transplantation of cardiac-committed mouse embryonic stem cells to infarcted sheep myocardium: a preclinical study. Lancet 2005; 366: 1005-12.
27. Hodgson DM, Behfar A, Zingman LV, et al. Stable benefit of embryonic stem cell therapy in myocardial infarction. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2004; 287: H471-H479.
28. Campion D. The muscle satellite cell: a review. Int Rev Cytol 1984; 87: 225-51.
29. Suzuki K, Brand NJ, Smolenski RT, et al. Development of a novel method for cell transplantation through the coronary artery. Circulation 2000; 102 (Suppl 3): III359-III364.
30. Kessler PD, Byrne BJ. Myoblast cell grafting into heart muscle: cellular biology and potential applications. Annu Rev Physiol 1999; 61: 219-42.
31. Taylor DA, Atkins BZ, Hungspreugs P, et al. Regenerating functional myocardium: improved performance after skeletal myoblast transplantation. Nat Med 1998; 4: 929-33.
32. Reinecke H, MacDonald GH, Hauschka SD, et al. Electromechanical coupling between skeletal and cardiac muscle. Implications for infarct repair. J Cell Biol 2000; 149: 731-40.
33. Tambara K, Sakakibara Y, Sakaguchi G, et al. Transplanted skeletal myoblasts can fully replace the infarcted myocardium when they survive in the host in large numbers. Circulation 2003; 108 (Suppl 1): II259-II263.
34. Scorsin M, Hagege A, Vilquin JT, et al. Comparison of the effects of fetal cardiomyocyte and skeletal myoblast transplantation on post infarction left ventricular function. J Thorac Cardiovasc Surg 2000; 119: 1169-75.
35. Murry CE, Wiseman RW, Schwartz SM, et al. Skeletal myoblast for myocardial regeneration. J Clin Invest 1996; 98: 2512-23.
36. Stamm C, Westphal B, Kleine HD, et al. Autologous bone marrow stem cell transplantation for myocardial regeneration. Lancet 2003; 361: 45-6.
37. Jackson KA, Majka SM, Wang H, et al. Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells. J Clin Invest 2001; 107: 1395-402.
38. Bel A, Messas E, Agbulut O, et al. Transplantation of autologous fresh bone marrow into infarcted myocardium: a word of caution. Circulation 2003; 108 (Suppl 1): II247-II252.
39. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Transplanted adult bone marrow cells repair myocardial infarcts in mice. Ann NY Acad Sci 2001; 938: 221-30.
40. Murry CE, Soonpaa MH, Reinecke H, et al. Haematopoietic stem cells do not transdifferentiate into cardiac myocytes in myocardial infarcts. Nature 2004; 428: 664-8.

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 216.73.216.77 Wed, 02 Jul 2025, 00:30:47

41. Balsam LB, Wagers AJ, Christensen JL, et al. Haematopoietic stem cells adopt mature hematopoietic fates in ischemic myocardium. Nature 2004; 428: 668-73.
42. Yin AH, Miraglia S, Zanjani ED, et al. AC133, a novel marker for human hematopoietic stem and progenitor cells. Blood 1997; 90: 5002-12.
43. Oh H, Bradfute SB, Gallardo TD, et al. Cardiac progenitor cells from adult myocardium: homing, differentiation, and fusion after infarction. Proc Natl Acad Sci USA 2003; 100: 12313-8.
44. Schuster MD, Kocher AA, Seki T, et al. Myocardial neovascularization by bone marrow angioblasts results in cardiomyocyte regeneration. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2004; 287: H525-H532.
45. Kocher AA, Schuster MD, Szabolcs MJ, et al. Neovascularization of ischemic myocardium by human bone marrow derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function. Nat Med 2001; 7: 430-6.
46. Laflamme MA, Myerson D, Saffitz JE, et al. Evidence for cardiomyocyte repopulation by extracardiac progenitors in transplanted human hearts. Circ Res 2002; 90: 634-40.
47. Kogler G, Sensken S, Airey JA, et al. A new human somatic stem cell from placental cord blood with intrinsic pluripotent differentiation potential. J Exp Med 2004; 200: 123-35.
48. Ma N, Stamm C, Kaminski A, et al. Human cord blood cells induce angiogenesis following myocardial infarction in NOD/scid-mice. Cardiovasc Res 2005; 66: 45-54.
49. Zimmet J, Hare JM. Emerging role of bone marrow derived mesenchymal stem cells in myocardial regenerative therapy. Basic Res Cardiol 2005; 100: 471-81.
50. Majumdar MK, Keane-Moore M, Buyaner D, et al. Characterization and functionality of cell surface molecules on human mesenchymal stem cells. J Biomed Sci 2003; 10: 228-41.
51. Pittenger MF, Martin BJ. Mesenchymal stem cells and their potential as cardiac therapeutics. Circ Res 2004; 95: 9-20.
52. MacKenzie TC, Flake AW. Human mesenchymal stem cells: insights from a surrogate in vivo assay system. Cells Tissues Organs 2002; 171: 90-5.
53. Wakitani S, Saito T, Caplan AI. Myogenic cells derived from rat bone marrow mesenchymal stem cells exposed to 5-azacytidine. Muscle Nerve 1995; 18: 1417-26.
54. Hakuno D, Fukuda K, Makino S, et al. Bone marrow-derived regenerated cardiomyocytes (CMG cells) express functional adrenergic and muscarinic receptors. Circulation 2002; 105: 380-6.
55. Davani S, Marandin A, Mersin N, et al. Mesenchymal progenitors cells differentiate into an endothelial phenotype, enhance vascular density and improve heart function in a rat cellular cardiomyoplasty model. Circulation 2003; 108 (Suppl 1): II253-II258.
56. Amado LC, Saliaris AP, Schuleri KH, et al. Cardiac repair with intramyocardial injection of allogenic mesenchymal stem cells after myocardial infarction. Proc Natl Acad Sci USA 2005; 102: 11474-9.
57. Toma C, Pittenger MF, Cahill KS, et al. Human mesenchymal stem cells differentiate to a cardiomyocyte phenotype in the adult murine heart. Circulation 2002; 105: 93-8.
58. Boyle AJ, Schulman SP, Hare JM. Is stem cell therapy ready for patients? Circulation 2006; 114: 339-52.
59. Amado LC, Schuleri KH, Saliaris AP, et al. Multi-modality non-invasive imaging demonstrates in-vivo cardiac regeneration following mesenchymal stem cell therapy. J Am Coll Cardiol 2006; 48: 2116-24.
60. Anversa P, Kajstura J. Ventricular myocytes are not terminally differentiated in the adult mammalian heart. Circ Res 1998; 83: 1-14.
61. Beltrami AP, Barlucchi L, Torella D, et al. Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. Cell 2003; 114: 763-76.
62. Messina E, De Angelis L, Frati G, et al. Isolation and expansion of adult cardiac stem cells from human and murine heart. Circ Res 2004; 95: 911-21.
63. Smith RR, Barile L, Cho HC, et al. Regenerative potential of cardiosphere-derived cells expanded from percutaneous endomyocardial biopsy specimens. Circulation 2007; 115: 896-908.
64. Urbanek K, Torella D, Sheikh F, et al. Myocardial regeneration by activation of multipotent cardiac stem cells in ischemic heart failure. Proc Natl Acad Sci USA 2005; 102: 8692-7.
65. Mouquet F, Pfister O, Jain M, et al. Restoration of cardiac progenitor cells after myocardial infarction by self proliferation and selective homing of bone marrow-derived stem cells. Circ Res 2005; 97: 1090-2.
66. Anversa P, Rota M, Urbanek K, et al. Myocardial aging - a stem cell problem. Basic Res Cardiol 2005; 100: 482-93.
67. Menasche P, Hagege AA, Vilquin JT, et al. Autologous skeletal myoblast transplantation for severe postinfarction left ventricular dysfunction. J Am Coll Cardiol 2003; 41: 1078-83.
68. Beltrami AP, Urbanek K, Kajstura J, et al. Evidence that human cardiac myocytes divide after myocardial infarction. N Engl J Med 2001; 344: 1750-7.
69. Perin EC, Dohmann HF, Borojevic R, et al. Transendocardial, autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic ischemic heart failure. Circulation 2003; 107: 2294-302.
70. Fuchs S, Satler LF, Kornowski R, et al. Catheter-based autologous bone marrow myocardial injection in no-option patients with advanced coronary artery disease: a feasibility study. J Am Coll Cardiol 2003; 41: 1721-4.
71. Wollert KC, Drexler H. Clinical applications of stem cells for the heart. Circ Res 2005; 96: 151-63.
72. Thompson CA, Reddy VK, Srinivasan A, et al. Left ventricular functional recovery with percutaneous, transvascular direct myocardial delivery of bone marrow-derived cells. J Heart Lung Transplant 2005; 24: 1385-92.
73. Thompson CA, Nasseri BA, Makower J, et al. Percutaneous transvenous cellular cardiomyoplasty. A novel nonsurgical approach for myocardial cell transplantation. J Am Coll Cardiol 2003; 41: 1964-71.
74. Siminiak T, Fiszer D, Jerzykowska O, et al. Percutaneous trans-coronary-venous transplantation of autologous skeletal myoblasts in the treatment of post-infarction myocardial contractility impairment: the POZNAN trial. Eur Heart J 2005; 26: 1188-95.
75. Assmus B, Schachinger V, Teupe C, et al. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI). Circulation 2002; 106: 3009-17.
76. Chen SI, Fang WW, Ye F, et al. Effect on left ventricular function of intracoronary transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cell in patients with acute myocardial infarction. Am J Cardiol 2004; 94: 92-5.
77. Strauer BE, Brehm M, Zeus T, et al. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. Circulation 2002; 106: 1913-8.
78. Assmus B, Honold J, Schachinger V, et al. Transcoronary transplantation of progenitor cells after myocardial infarction. N Engl J Med 2006; 355: 1222-32.
79. Schachinger V, Assmus B, Britten B, et al. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction: final one year results of TOPCARE-AMI trial. J Am Coll Cardiol 2004; 44: 1690-9.

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 216.73.216.77 Wed, 02 Jul 2025, 00:30:47

80. Fernandez-Aviles F, San Roman JA, Garcia-Frade J, et al. Experimental and clinical regenerative capability of human bone marrow cells after myocardial infarction. Circ Res 2004; 95: 742-8.
81. Wollert KC, Meyer GP, Lotz J, et al. Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomised controlled clinical trial. Lancet 2004; 364: 141-8.
82. Lunde K, Solheim S, Aakhus S, et al. Intracoronary injection of mononuclear bone marrow cells in acute myocardial infarction. N Engl J Med 2006; 355: 1199-209.
83. Janssens S, Dubois C, Bogaert J, et al. Autologous bone marrow-derived stem-cell transfer in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: double-blind, randomised controlled trial. Lancet 2006; 367: 113-21.
84. Schachinger V, Erbs S, Elsasser A, et al. Improved clinical outcome after intracoronary administration of bone-marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction: final 1-year results of the REPAIR-AMI trial. Eur Heart J 2006; 27: 2775-83.
85. Assmus B, Walter DH, Lehmann R, et al. Intracoronary infusion of progenitor cells is not associated with aggravated restenosis development or atherosclerotic disease progression in patients with acute myocardial infarction. Eur Heart J 2006; 27: 2989-95.
86. Pittenger MF, Martin BJ. Mesenchymal stem cells and their potential as cardiac therapeutics. Circ Res 2004; 95: 9-20.
87. Xu M, Uemura R, Dai Y, et al. In vitro and in vivo effects of bone marrow stem cells on cardiac structure and function. J Mol Cell Cardiol 2007; 42: 441-8.
88. Yamaguchi J, Kusano KF, Masuo O, et al. Stromal cell-derived factor-1 effects on ex vivo expanded endothelial progenitor cell recruitment for ischemic neovascularization. Circulation 2003; 107: 1322-8.
89. Kawada H, Fujita J, Kinjo K, et al. Nonhematopoietic mesenchymal stem cells can be mobilized and differentiate into cardiomyocytes after myocardial infarction. Blood 2004; 104: 3581-7.
90. Barbash IM, Chouraqui P, Baron J, et al. Systemic delivery of bone marrow-derived mesenchymal stem cells to the infarcted myocardium: feasibility, cell migration, and body distribution. Circulation 2003; 108: 863-8.
91. Freed LE, Guilak F, Guo XE, et al. Advanced tools for tissue engineering: scaffolds, bioreactors, and signaling. Tissue Eng 2006; 12: 3285-305.
92. Sales VL, Engelmayr GC Jr, Mettler BA, et al. Transforming growth factor-beta1 modulates extracellular matrix production, proliferation, and apoptosis of endothelial progenitor cells in tissue-engineering scaffolds. Circulation 2006; 114 (Suppl): I193-I199.
93. Frangogiannis NG, Smith CW, Entman ML. The inflammatory response in myocardial infarction. Cardiovasc Res 2002; 53: 31-47.
94. Yeh ET, Zhang S, Wu HD, et al. Transdifferentiation of human peripheral blood CD34+-enriched cell population into cardiomyocytes, endothelial cells, and smooth muscle cells in vivo. Circulation 2003; 108: 2070-3.
95. Shintani S, Murohara T, Ikeda H, et al. Mobilization of endothelial progenitor cells in patients with acute myocardial infarction. Circulation 2001; 103: 2776-9.
96. Kang HJ, Kim HS, Zhang SY, et al. Effects of intracoronary infusion of peripheral blood stem-cells mobilised with granulocyte-colony stimulating factor on left ventricular systolic function and restenosis after coronary stenting in myocardial infarction: the MAGIC cell randomised clinical trial. Lancet 2004; 363: 751-6.
97. Wang Y, Tagil K, Ripa RS, et al. Effect of mobilization of bone marrow stem cells by granulocyte colony stimulating factor on clinical symptoms, left ventricular perfusion and function in patients with severe chronic ischemic heart disease. Int J Cardiol 2005; 100: 477-83.
98. Anversa P. Cardiac regeneration. J Am Coll Cardiol 2006; 47: 1769-76.
99. Condorelli G, Borello U, De Angelis L, et al. Cardiomyocytes induce endothelial cells to transdifferentiate into cardiac muscle: implications for myocardial regeneration. Proc Natl Acad Sci USA 2001; 98: 10733-8.
100. Barile L, Chimenti I, Gaetani R, et al. Cardiac stem cells: isolation, expansion and experimental use for myocardial regeneration. Nat Clin Pract Cardiovasc Med 2007; 4 (Suppl 1): S9-S14.
101. Sachinidis A, Schwengberg S, Hippler-Altenburg R, et al. Identification of small signalling molecules promoting cardiac-specific differentiation of mouse embryonic stem cells. Cell Physiol Biochem 2006; 18: 303-14.
102. Valiunas V, Doronin S, Valiuniene L, et al. Human mesenchymal stem cells make cardiac connexin and form gap junctions. J Physiol 2004; 555: 617-26.
103. Makino S, Fukuda K, Miyoshi S, et al. Cardiomyocytes can be generated from marrow stromal cells in vitro. J Clin Invest 1999; 103: 697-705.
104. Shake JG, Gruber PJ, Baumgartner, et al. Mesenchymal stem cell implantation in a swine myocardial infarct model: engraftment and functional effects. Ann Thorac Surg 2002; 73: 1919-25.
105. Kawamoto A, Iwasaki H, Kusano K, et al. CD34-positive cells exhibit increased potency and safety for therapeutic neovascularization after myocardial infarction compared with total mononuclear cells. Circulation 2006; 114: 2163-9.
106. Nygren JM, Jovinge S, Breitbach M, et al. Bone marrow-derived hematopoietic cells generate cardiomyocytes at a low frequency through cell fusion, but not transdifferentiations. Nat Med 2004; 10: 494-501.
107. Ying QL, Nichols J, Evans EP, Smith AG. Changing potency by spontaneous fusion. Nature 2002; 416: 545-8.
108. Vieyra DS, Jackson KA, Goodell MA. Plasticity and tissue regenerative potential of bone marrow-derived cells. Stem Cell Rev 2005; 1: 65-9.
109. Kajstura J, Rota M, Whang B, et al. Bone marrow cells differentiate in cardiac cell lineages after infarction independently of cell fusion. Circ Res 2005; 96: 127-37.
110. Kocher AA, Schuster MD, Bonaros N, et al. Myocardial homing and neovascularization by human bone marrow angioblasts is regulated by IL-8/Gro CXC chemokines. J Mol Cell Cardiol 2006; 40: 442-5.
111. Schuster MD, Kocher AA, Seki T, et al. Myocardial neovascularization by bone marrow angioblasts results in cardiomyocyte regeneration. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2004; 287: H525-H532.
112. Tang YL, Zhao Q, Qin X, et al. Paracrine action enhances the effects of autologous mesenchymal stem cell transplantation on vascular regeneration in rat model of myocardial infarction. Ann Thorac Surg 2005; 80: 229-36.
113. Xu, Xu Z, Xu Y, et al. Effects of mesenchymal stem cells transplantation on extracellular matrix after myocardial infarction in rats. Coron Artery Dis 2005; 16: 245-55.
114. Xu, Xu Z, Xu Y, et al. Selctive down-regulation of extracellular matrix gene expression by bone marrow-derived stem cell transplantation into infarcted myocardium. Circ J 2005; 69: 1275-83.
115. Berry MF, Engler AJ, Woo YJ, et al. Mesenchymal stem cell injection after myocardial infarction improves myocardial compliance. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2006; 290: H2196-H2203.
116. Abbott JD, Huang Y, Liu D, et al. Stromal cell-derived factor-1alpha plays a critical role in stem cell recruitment to the heart after myocardial infarction but is not sufficient to in-

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 216.73.216.77 Wed, 02 Jul 2025, 00:30:47

duce homing in the absence of injury. Circulation 2004; 110: 3300-5.
117. Peled A, Petit I, Kollet O, et al. Dependence of human stem cell engraftment and repopulation of NOD/SCID mice on CXCR4. Science 1999; 283: 845-8.
118. Kinnaird T, Stabile E, Burnett MS, et al. Marrow-derived stromal cells express genes encoding a broad spectrum of arteriogenic cytokines and promote in vitro and in vivo arteriogenesis through paracrine mechanisms. Circ Res 2004; 94: 678-85.
119. Torella D, Rota M, Nurzynska D, et al. Cardiac stem cell and myocyte aging, heart failure, and insulin-like growth factor-1 overexpression. Circ Res 2004; 94: 514-24.
120. Toker A, Yoeli-Lerner M. Akt signaling and cancer: surviving but not moving on. Cancer Res 2006; 66: 3963-6.
121. Gute N, Muraski J, Rubio M, et al. Akt promotes increased cardiomyocyte cycling and expansion of cardiac progenitor cell population. Circ Res 2006; 99: 381-8.
122. Mangi AA, Noiseux N, Kong D, et al. Mesenchymal stem cells modified with Akt prevent remodeling and restore performance of infarcted hearts. Nat Med 2003; 9: 1195-201.
123. Mazhari R, Hare JM. Mechanisms of action of mesenchymal stem cells in cardiac repair: potential influences on the cardiac stem cell niche. Nat Clin Pract Cardiovasc Med 2007; 4 (Suppl 1): S21-S26.
124. Vandervelde S, van Luyn MJ, Tio RA, Harmsen MC. Signaling factors in stem cell-mediated repair of infarcted myocardium. J Mol Cell Cardiol 2005; 39: 363-76.
125. Gnecchi M, He H, Liang OD, et al. Paracrine action accounts for marked protection of ischemic heart by Akt-modified mesenchymal stem cells. Nat Med 2005; 11: 367-8.
126. Torella D, Ellison GM, Mendez-Ferrer S, et al. Resident human cardiac stem cells: role in cardiac cellular homeostasis and potential for myocardial regeneration. Nat Clin Pract Cardiovasc Med 2006; 3 (Suppl 1): S8-S13.
127. Limana F, Germani A, Zacheo A, et al. Exogenous high-mobility group box 1 protein induces myocardial regeneration after infarction via enhanced cardiac C-kit+ cell proliferation and differentiation. Circ Res 2005; 97: e73-e83.
128. Yoon YS, Lee N, Scadova H. Myocardial regeneration with bone-marrow-derived stem cells. Biol Cell 2005; 97: 253-63.
129. Petzsch M, Ince H, Kleine HD, et al. No restenosis after G-CSF in acute myocardial infarction: insights from FIRST-LINE-AMI (Front-Integrated Revascularization and Stem Cell Liberation in Evolving Acute Myocardial Infarction by Granulocyte Colony-Stimulating Factor). (abstr) Circulation 2004; 110 (Suppl III): 238.
130. Ince H, Petzsch M, Kleine HD, et al. Prevention of left ventricular remodeling with granulocyte colony-stimulating factor after acute myocardial infarction: final 1-year results of the Front-Integrated Revascularization and Stem Cell Liberation in Evolving Acute Myocardial Infarction by Granulocyte Colony-Stimulating Factor (FIRSTLINE-AMI) Trial. Circulation 2005; 112 (Suppl): I73-I80.
131. Valgimigli M, Rigolin GM, Cittanti C, et al. Use of granulocyte-colony stimulating factor during acute myocardial infarction to enhance bone marrow stem cell mobilization in humans: clinical and angiographic safety profile. Eur Heart J 2005; 26: 1838-45.
132. Zohlnhofer D, Ott I, Mehilli J, et al. Stem cell mobilization by granulocyte colony-stimulating factor in patients with acute myocardial infarction: a randomized controlled trial. JAMA 2006; 295: 1003-10.
133. Ripa RS, Jorgensen E, Wang Y, et al. Stem cell mobilization induced by subcutaneous granulocyte-colony stimulating factor to improve cardiac regeneration after acute ST-elevation myocardial infarction: result of the double-blind, randomized, placebo-controlled stem cells in myocardial infarction (STEMMI) trial. Circulation 2006; 113: 1983-92.
134. Engelmann MG, Theiss HD, Hennig-Theiss C, et al. Autologous bone marrow stem cell mobilization induced by granulocyte colony-stimulating factor after subacute ST-segment elevation myocardial infarction undergoing late revascularization: final results from the G-CSF-STEMI (Granulocyte Colony-Stimulating Factor ST-Segment Elevation Myocardial Infarction) trial. J Am Coll Cardiol 2006; 48: 1712-21.
135. Kornowski R, Hong MK, Tio FO, et al. In-stent restenosis: contributions of inflammatory responses and arterial injury to neointimal hyperplasia. J Am Coll Cardiol 1998; 31: 224-30.
136. Dimmeler S, Aicher A, Vasa M, et al. HMG-CoA reductase inhibitors (statins) increase endothelial progenitor cells via the PI 3-kinase/Akt pathway. J Clin Invest 2001; 108: 391-7.
137. Mundy G, Garrett R, Harris S, et al. Stimulation of bone formation in vitro and in rodents by statins. Science 1999; 286: 1946-9.
138. Poglajen G, Zidar N, Gregoric ID. Stem cell therapy for ischemic heart failure. Tex Heart Inst J 2005; 32: 339-47.
139. Liu Z, Wu Y, Chen BG. Myoblast therapy: from bench to bedside. Cell Transplant 2006; 15: 455-62.
140. Hagege AA, Marolleau JP, Vilquin JT, et al. Skeletal myoblast transplantation in ischemic heart failure: long-term follow-up of the first phase I cohort of patients. Circulation 2006; 114 (Suppl): I108-I113.
141. Theiss HD, David R, Engelmann MG, et al. Circulation of CD34+ progenitor cell populations in patients with idiopathic dilated and ischaemic cardiomyopathy (DCM and ICM). Eur Heart J 2007; 28: 1258-64.
142. Chien KR. Lost and found: cardiac stem cell therapy revisited. J Clin Invest 2006; 116: 1838-40.
143. Engelmann MG, Franz WM. Stem cell therapy after myocardial infarction: ready for clinical application? Curr Opin Mol Ther 2006; 8: 396-414.
144. Bartunek J, Vanderheyden M, Wijns W, et al. Bone-marrow-derived cells for cardiac stem cell therapy: safe or still under scrutiny? Nat Clin Pract Cardiovasc Med 2007; 4 (Suppl 1): S100-S105.
145. Anversa P, Kajastura J, Leri A. If I can stop one heart from breaking. Circulation 2007; 115: 829-32.
146. Perin EC, Lopez J. Methods of stem cell delivery in cardiac diseases. Nat Clin Pract Cardiovasc Med 2006; 3 (Suppl 1): S110-S113.
147. Povsic TJ, Peterson ED. Stem cells for the ischaemic heart. Expert Opin Biol Ther 2006; 6: 427-42.
148. Zhou R, Acton PD, Ferrari VA. Imaging stem cells implanted in infarcted myocardium. J Am Coll Cardiol 2006; 48: 2094-106.
149. Bengel FM. Nuclear imaging in cardiac cell therapy. Heart Fail Rev 2006; 11: 325-32.
150. Chang GY, Xie X, Wu JC. Overview of stem cells and imaging modalities for cardiovascular diseases. J Nucl Cardiol 2006; 13: 554-69.
151. Rosenzweig A. Cardiac cell therapy - mixed results from mixed cells. N Engl J Med 2006; 355: 1274-7.
152. Bartunek J, Dimmeler S, Drexler H, et al. The consensus of the task force of the European Society of Cardiology concerning the clinical investigation of the use of autologous adult stem cells for repair of the heart. Eur Heart J 2006; 27: 1338-40.
153. Dimmeler S. Viewpoint: stem cells in cardiology. Circulation 2006; 113: f69-f70.
154. Linee guida sui prodotti per la terapia cellulare. Notiziario dell'Istituto Superiore di Sanità 2004; 17: 9-14.