

Ipotesi di lavoro Sperimentazioni cliniche di terapia cellulare cardiaca in Italia: come procedere?

Marco Canepa, Francesco Chiarella

U.O. di Cardiologia, A.O. Ospedale Santa Corona, DEA II Livello, Pietra Ligure (SV)

Key words:

Cardiac cell therapy;
Cell transplantation;
Clinical trials;
Stem cells.

Background. In the last years translation from bench to bedside of findings regarding cardiac cell therapy is swinging between delays and accelerations. Based on experimental studies, clinical trials were started in 2001. To date in Europe more than 900 patients have been treated with cell transplantation or mobilization and new clinical trials are ongoing in many countries. Published data provide a limited idea of current Italian clinical research in this field. This investigation intends to report Italian clinical trials and projects using cell therapy in cardiology.

Methods. Italian Centers involved in cell therapy clinical studies have been detected exploring scientific bibliography and online search engine. Selected Centers have been classified by the origin of collected information: i) peer-reviewed journals; ii) abstract, poster or communications; iii) press or media. A questionnaire was used and face-to-face or telephonic interviews were performed to obtain further details where needed.

Results. Among the 16 selected Centers, 5 published their experiences on peer-reviewed journals, 5 produced abstracts or communications for scientific meetings and 6 bring out their protocols through press or media. Usually Italian clinical trials are monocenter (11 monocenter studies, 2 multicenter) and enrol few patients (an average of about 10 patients treated in each study); 2 Centers are waiting for protocol approval by the Italian Institute of Health; in one case approval was not obtained by the Ethics Committee. Few centers found projects on their own preclinical studies.

Conclusions. The investigation on Italian clinical experiences with cardiac cell therapy demonstrates the limits of what has been produced so far. An Italian working group on cardiovascular regenerative therapies could represent a useful tool to improve national clinical research in this field.

(G Ital Cardiol 2007; 8 (3): 182-192)

© 2007 AIM Publishing Srl

Introduzione

Ricevuto il 13 ottobre 2006; nuova stesura il 24 gennaio 2007; accettato il 2 marzo 2007.

Per la corrispondenza:

Dr. Marco Canepa

U.O. di Cardiologia
A.O. Ospedale
Santa Corona
DEA II Livello
Via XXV Aprile, 128
17027 Pietra Ligure (SV)
E-mail:
canepamarco@email.it

La terapia cellulare cardiaca (TCC) ha avviato negli ultimi anni il cosiddetto percorso "from bench to bedside"; dalle ricerche sperimentali *in vitro* e su modello animale si è passati a studi clinici su diverse popolazioni di pazienti, principalmente: a) pazienti con infarto miocardico acuto (IMA) trattati con angioplastica primaria; b) pazienti con angina cronica refrattaria a terapie convenzionali ed evidenza di ischemia miocardica senza possibilità di rivascularizzazione; c) pazienti con scompenso cardiaco cronico sottoposti a rivascularizzazione cardiocirurgica in cui persistono alterazioni della cinesi ventricolare in segmenti non rivascularizzabili¹⁻³. La "traslazione" è avvenuta molto rapidamente in questo campo della ricerca biomedica. Un anno dopo la pubblicazione dei risultati ottenuti sul modello animale dal gruppo di Anversa^{4,5}, Strauer et al.⁶ portavano dati a favore dell'efficacia dell'iniezione intraco-

ronarica di cellule staminali adulte autologhe in 10 pazienti con IMA. I successivi studi clinici di TCC^{7,8} hanno stimolato un crescente interesse verso le possibilità offerte da questo nuovo approccio terapeutico alla patologia ischemica cardiaca; tuttavia i risultati contrastanti di recenti studi controllati randomizzati di trapianto cellulare⁹⁻¹¹ e di mobilizzazione cellulare¹²⁻¹⁷ hanno disorientato la comunità scientifica, generando schieramenti pro e contro la terapia rigenerativa del miocardio.

È opinione diffusa tra i ricercatori di base esperti dell'argomento che sia necessario tornare "back to the bench" prima di proseguire con ulteriori indagini cliniche^{18,19}; per contro i ricercatori clinici ritengono indispensabile la conduzione di sperimentazioni sull'uomo, in un campo dove la sola analisi *in vitro* e su modello animale rischierebbe di "perdersi" nella definizione delle molteplici variabili da tenere in considerazione²⁰. I dati ottenuti dalla ricerca di base non andrebbero però mai trascurati in sede di ri-

cerca clinica. Ciò è accaduto per quanto attiene alla sperimentazione con mioblasti scheletrici nell'uomo. Infatti al momento di disegnare la sperimentazione clinica non si è tenuto conto dell'aritmogenicità di queste cellule^{21,22}, già evidenziata in studi di laboratorio²³, salvo doverne poi prendere atto prevedendo la protezione antiaritmica con defibrillatore impiantabile²⁴.

La maggior parte degli studi clinici finora eseguiti orientano verso la sicurezza dell'infusione intracoronarica di cellule staminali del midollo osseo^{20,25,26} e dell'utilizzo di citochine per la mobilitazione cellulare^{14-16,27}. Tuttavia il quesito sulla *safety* è da considerare ancora aperto sia per l'esiguo numero complessivo di pazienti finora trattati sia perché in alcune esperienze cliniche di trapianto^{28,29} e di mobilitazione³⁰⁻³² cellulare è stato rilevato un maggior numero di eventi coronarici. Alla luce di queste osservazioni la relazione tra cellule staminali/progenitrici (trapiantate o mobilizzate) e progressione della malattia aterosclerotica coronarica viene esaminata con maggiore attenzione³³.

Sono tuttora aperti importanti quesiti riguardanti la tipologia e la quantità di cellule da impiegare, gli obiettivi terapeutici da perseguire (miocardioneogenesi, angiogeneasi e/o effetti paracrini) e la tempistica del trattamento. Le risposte potranno giungere solamente da uno stretto dialogo tra ricercatori di base e clinici che si occupano di questo campo della ricerca.

Il contesto europeo

Sulla base dei dati sul modello animale le sperimentazioni cliniche sono iniziate nel 2001. La maggior parte degli studi clinici di fase I in pazienti con IMA ed i successivi studi randomizzati sono stati condotti in Europa. Lo scarso sviluppo di esperienze cliniche di TCC negli Stati Uniti è verisimilmente in relazione con il rigore delle norme poste dalla Food and Drug Administration³⁴.

La Tabella 1^{6-17,22,28,29,32,35-67} riassume secondo un criterio geografico i principali studi clinici europei di trapianto o mobilitazione cellulare in pazienti con diversi tipi di patologia cardiaca.

Sono stati pubblicati 4 studi randomizzati controllati di trapianto cellulare in pazienti con IMA, tutti con endpoint primari di funzionalità cardiaca globale: rispetto all'efficacia del trattamento, lo studio BOOST non ha dimostrato beneficio a 18 mesi⁴², lo studio REPAIR-AMI un miglioramento a 4 mesi¹¹ che si è mantenuto a 12 mesi³⁸, lo studio di Lovanio⁹ e lo studio ASTAMI¹⁰ l'assenza di risultato favorevole rispettivamente a 4 e 6 mesi. Anche per quanto riguarda i 6 studi randomizzati controllati di mobilitazione cellulare con fattore stimolante le colonie di granulociti (G-CSF) nei pazienti con IMA^{12,15-17,27,30} i risultati sono contrastanti e solo lo studio FIRSTLINE-AMI sembrerebbe dimostrare un significativo miglioramento della funzione ventricolare^{12,13}.

Gli studi clinici di TCC nei pazienti con cardiopatia ischemica e scompenso cardiaco cronico sono di minori dimensioni ed in genere associati a rivascolarizzazione chirurgica o ad iniezione intramiocardica diretta delle cellule^{1,3}.

Alcuni studi hanno impiegato progenitori delle cellule endoteliali^{39,49} o cellule selezionate per l'antigene di superficie CD133^{28,43}. Piccole sperimentazioni hanno testato differenti metodiche di trapianto cellulare (l'iniezione transvenosa⁶²; la doppia iniezione – studio di Odense e studio MYSTAR; l'iniezione a tempi differenti – studio SWISS-AMI) e l'efficacia della TCC in pazienti con cardiomiopatia dilatativa (studio TOPCARE-DCM) (Tabella 1).

È inoltre in corso la valutazione dell'efficacia dell'utilizzo di un particolare stent ricoperto da anticorpi murini monoclonali contro l'antigene di superficie CD34 umano, che avrebbe la capacità di richiamare e legare cellule staminali/progenitrici circolanti (in particolare i progenitori delle cellule endoteliali), favorendo la rapida endotelizzazione della parete vascolare nella zona di impianto del dispositivo, evitando in questo modo i fenomeni di restenosi e la necessità di una doppia terapia antiaggregante prolungata^{68,69}.

Complessivamente oltre 900 pazienti sono stati sottoposti a TCC in Europa e si prevede che altrettanti vengano trattati negli studi clinici che sono attualmente in corso. Di fronte a questo quadro globale è interessante capire quale sia lo stato dell'arte della ricerca clinica sulla TCC nel nostro paese.

Motivi dell'indagine

La situazione italiana per quanto riguarda la stesura e la successiva attuazione di protocolli clinici di ricerca riguardanti la TCC è variegata e complessa. Fino alla fine del 2005 erano stati pubblicati 2 soli studi clinici nazionali con piccole casistiche^{27,70}; all'inizio del 2006 sono comparsi in letteratura altri 3 studi clinici nazionali⁷¹⁻⁷³, a dimostrazione di un crescente interesse per questo campo della ricerca biomedica. Contestualmente l'Istituto Superiore di Sanità (ISS) e l'Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA) hanno messo a disposizione informazioni riguardanti altri studi clinici (vedi Discussione), ma l'insieme di tali fonti non fornisce un quadro completo della ricerca in atto in questo settore. Considerando quanto si legge sulla stampa divulgativa nazionale o si ascolta nelle sedute congressuali delle società cardiologiche italiane, numerosi sono i Centri che hanno effettuato le prime applicazioni cliniche. Talvolta metodi e risultati di aneddotiche esperienze sono stati anticipati dai media ed hanno creato confusione ed attese fuori misura. Il lavoro si propone di descrivere le esperienze cliniche ed i progetti di studio di TCC finora avviati nel nostro paese.

Materiali e metodi

L'indagine si è proposta di individuare i Centri italiani coinvolti nella progettazione o nell'attuazione di sperimentazioni cliniche di trapianto o mobilitazione cellulare. Per la selezione dei Centri si è proceduto:

- consultando PubMed (www.pubmed.com); sono state utilizzate come parole chiave (con diverse combinazio-

Tabella 1. Principali studi di trapianto e mobilizzazione cellulare in Europa (esclusi gli studi italiani) e stima complessiva del numero di pazienti sottoposti ai diversi tipi di trattamento.

Nazione e città	TX o MOB	Sperimentatore principale	Studio ed anno	Pazienti trattati
Germania				
Dusseldorf	TX	Strauer ⁶	MNC intracoronariche in IMA (2001)	10
	TX	Strauer ³⁵	Studio IACT (2005)	18
Francoforte	TX	Zeiber ^{8,36}	Studio TOPCARE-AMI (2002)	59
	TX	Zeiber ^{11,37,38}	Studio REPAIR-AMI (2006)	101
	TX	Zeiber ³⁹	Studio TOPCARE-CHD (2006)	75
	TX	Zeiber	Studio Cellwave CHF [§]	100*
	TX	Zeiber	Studio TOPCARE-DCM [§]	20*
Hannover	TX	Drexler ^{7,40-42}	Studio BOOST (2004)	30
	TX	Drexler	Studio BOOST-2 (in corso, www.controlled-trials.com)	100*
Rostock	TX	Steinhoff ^{43,44}	Iniezione di CD133+ durante CABG (2003)	12
	TX	Steinhoff	Iniezione di CD133+ durante CABG (in corso)	50*
	MOB	Nienaber ^{12-14,45}	G-CSF in IMA (FIRSTLINE-AMI, 2005)	25
Jena	TX	Kueth ⁴⁶	MNC intracoronariche in IMA (2004)	5
	TX	Kueth ⁴⁷	MNC intracoronariche in CAD (2005)	5
	MOB	Kueth ⁴⁸	G-CSF in IMA (2005)	14
Lipsia	TX	Erbs ⁴⁹	Iniezione intracoronarica CPC dopo G-CSF (2005)	13
Monaco	MOB	Zohlhofer ¹⁵	G-CSF in IMA (REVIVAL-2, 2006)	56
	MOB	Engelmann ¹⁷	G-CSF in IMA (G-CSF-STEMI, 2006)	23
Essen	MOB	Huttmann ⁵⁰	G-CSF in scompenso cardiaco (2006)	16
Belgio				
Aalst	TX	Bartunek ^{28,29}	CD133+ intracoronariche (2005)	19
Lovanio	TX	Janssens ⁹	MNC intracoronariche in IMA (2006)	33
Hasselt	TX	Hendrikx ⁵¹	Iniezione di MNC durante CABG (2006)	10
Spagna				
Valladolid	TX	Fernandez-Aviles ⁵²	MNCs intracoronariche in IMA (2004)	20
Cordoba	MOB	Suarez de Lezo ⁵³	G-CSF in IMA (2005)	13
Pamplona	TX	Herreros ^{54,55}	Iniezione di mioblasti scheletrici durante CABG (2004)	20
Francia				
Parigi	TX	Menasché ²²	Iniezione di mioblasti scheletrici durante CABG (2003)	10
	TX	Menasché	Studio MAGIC europeo (2006, concluso)	97
Nantes	TX	Lemarchand	Studio BONAMI [§]	50*
Olanda				
Leida	TX	Beeres ^{56,57}	Iniezione intramiocardica di MNC (2006)	25
Rotterdam	TX	Fuchs ⁵⁸	Iniezione intramiocardica di cellule midollari (2006)	27
	TX	Smits ⁵⁹	Iniezione intramiocardica di mioblasti scheletrici (2003)	5
Amsterdam	TX	Hirsh ⁶⁰	Studio HEBE (in corso)	134*
Polonia				
Poznan	TX	Siminiak ⁶¹	Iniezione di mioblasti scheletrici durante CABG (2004)	10
	TX	Siminiak ⁶²	Iniezione transvenosa di mioblasti scheletrici (2005)	10
Katowice	TX	Wojakowski	Studio REGENT [§]	100*
Danimarca				
Copenaghen	MOB	Kastrup ⁶³	G-CSF in CAD (2005)	13
	MOB	Kastrup ¹⁶	G-CSF in IMA (STEMMI, 2006)	38
	TX	Kastrup	Iniezione intramiocardica di MSC [§]	40*
Odense	TX	Thayssen	MNCs intracoronariche in CAD [§]	35*
Norvegia				
Oslo	TX	Lunde ^{10,64}	Studio ASTAMI (2006)	50
Svizzera				
Berna	MOB	Zbinden ³²	GM-CSF in CAD (2005)	14
Zurigo	TX	Corti	Studio SWISS-AMI [§]	NR
Serbia e Montenegro				
Belgrado	TX	Obradovic ⁶⁵	MNC intracoronariche in IMA (2004)	4
Grecia				
Atene	TX	Katritsis ⁶⁶	MSC+EPC intracoronariche in IMA (2004)	11
UK				
Leicester	TX	Galinanes ⁶⁷	Cellule del midollo osseo durante CABG (2004)	13
Londra	TX	Heinl-Green	Iniezione transvenosa di MNC [§]	30*
Austria				
Vienna	TX	Gyongyosi	Studio MYSTAR [§]	360*
Totale pazienti trattati con trapianto di cellule staminali adulte				540
Totale pazienti trattati con trapianto di mioblasti scheletrici				152
Totale pazienti trattati con mobilizzazione cellulare				212
Totale pazienti sottoposti a TCC in Europa (Italia esclusa)				904

CAD = coronaropatia; CABG = bypass aortocoronarico; CPC = cellule progenitrici circolanti; EPC = progenitori delle cellule endoteliali; G-CSF = fattore stimolante le colonie di granulociti; GM-CSF = fattore stimolante le colonie di granulociti-macrofagi; IMA = infarto miocardico acuto; MNC = cellule mononucleate del midollo osseo; MOB = mobilizzazione di cellule; MSC = cellule staminali mesenchimali del midollo osseo; NR = non riportato; TCC = terapia cellulare cardiaca; TX = trapianto di cellule. * numero non conteggiato perché lo studio non ha ancora completato l'arruolamento o non ne sono stati pubblicati i risultati; § fonte: www.clinicaltrials.gov.

ni) “cell therapy”, “heart”, “cell mobilization”, “cell transplantation”, “bone marrow cells”, “stem cells”, “G-CSF”, “acute myocardial infarction”, “heart failure” e come limiti “human” e in seconda analisi “Italian”; sono stati selezionati solamente gli studi clinici condotti in Italia;

- consultando i database dei siti web <https://oss-sperclin.agenziafarmaco.it>, www.clinicaltrial.gov, www.clinical-trials.com, www.cardiosource.com;
- ricercando all’interno dei programmi e degli atti dei principali congressi di cardiologia (nazionali, europei ed internazionali) abstract, poster o comunicazioni di esperienze cliniche italiane in questo campo;
- analizzando i risultati della ricerca con i termini “staminali”, “cuore”, “infarto” e “cardiochirurgia”, diversamente combinati, all’interno dei principali motori di ricerca online (www.google.it, www.yahoo.it).

Risultati

L’indagine è stata svolta tra marzo e luglio 2006. Sono stati individuati 16 Centri e le informazioni raccolte secondo i metodi di indagine sono state completate attraverso l’invio di un questionario e colloqui faccia a

faccia o telefonici con referenti del Centro selezionato. I dati raccolti sono stati analizzati in base alla loro origine: a) dati provenienti da studi clinici italiani pubblicati in letteratura; b) dati provenienti da abstract, poster e comunicazioni; c) dati provenienti da stampa e web.

Studi clinici italiani pubblicati in letteratura

La Tabella 2⁷¹⁻⁸² riporta gli studi clinici italiani di TCC pubblicati in letteratura.

Abstract, poster e comunicazioni

La Tabella 3 identifica i Centri italiani che hanno prodotto abstract, poster o comunicazioni riguardanti studi clinici di TCC. È noto inoltre che 5 Cardiochirurgie italiane hanno aderito allo studio multicentrico europeo MAGIC di iniezione intramiocardica di mioblasti scheletrici durante bypass aortocoronarico²⁴, promosso da Menasché, contribuendo in piccola parte all’arruolamento.

Stampa e web

Ricercando su stampa e web secondo i criteri indicati nella sezione Materiali e metodi risulta che numerosi Centri hanno avviato sperimentazioni cliniche di TCC

Tabella 2. Studi clinici italiani di terapia cellulare cardiaca pubblicati in letteratura.

Sperimentatore e Centro	Background	Studio clinico	Prospettive future
Pompilio G. Centro Cardiologico Monzino, Milano	Esperienza preclinica del laboratorio di patologia vascolare e terapia genica ⁷⁴⁻⁷⁶ ; due rassegne ^{77,78}	Mobilizzazione con G-CSF ed iniezione intramiocardica di CD133 ⁺ durante CABG (4 pz) ^{70,79}	In corso studio CONSORT (CD133 ⁺ durante CABG) in collaborazione con Rostock (obiettivo: arruolare 100 pz, trattarne 50)
Valgimigli M. Arcispedale S. Anna, Ferrara	Studio della fisiologica mobilizzazione di cellule CD34 ⁺ ed EPC in pazienti con scompenso cardiaco ⁸⁰	Mobilizzazione con G-CSF in pz con STEMI trattato con PTCA primaria (20 pz, 10 trattati) ²⁷	
Mocini D. Ospedale San Filippo Neri, Roma	Rassegna sulle possibilità offerte dalla terapia con cellule staminali per il trattamento di aritmie cardiache ⁸¹ ; competenze ematologiche	Iniezione intramiocardica di BMC durante CABG (36 pz, 18 trattati; studio concluso nel 2004) ⁷¹	Nuovo studio di efficacia con CMR e SPECT (obiettivo: arruolare 60 pz, trattarne 30); protocollo uguale al precedente
Briguori C. Ospedale San Raffaele, Milano e Ospedale Civile, Mirano (VE)	Competenze ematologiche e di cateterismo cardiaco	Iniezione intramiocardica diretta con catetere di BMC in pz con angina refrattaria (10 trattati) ⁷²	Nuovo studio con protocollo uguale al precedente (obiettivo: trattare 15 pz con BMC non selezionate e 15 pz con CD34 ⁺); con PET
Marra S. A.O. San Giovanni Battista Molinette, Torino	Competenze ematologiche e di cateterismo cardiaco	Mobilizzazione con G-CSF+ GM-CSF in pz con STEMI trattato con PTCA primaria (8 pz) ^{73,82}	Nuovo studio di iniezione intracoronarica di BMC selezionate

BMC = cellule staminali del midollo osseo; CD133⁺ o CD34⁺ = cellule staminali del midollo osseo positive per CD133 o per CD34; CABG = bypass aortocoronarico; CMR = risonanza magnetica cardiaca; EPC = progenitori delle cellule endoteliali; G-CSF = fattore stimolante le colonie di granulociti; GM-CSF = fattore stimolante le colonie di granulociti-macrofagi; PET = tomografia ad emissione di positroni; PTCA = angioplastica coronarica transluminale percutanea; pz = pazienti; SPECT = tomografia computerizzata ad emissione di fotone singolo; STEMI = infarto miocardico con sopraslivellamento del tratto ST.

Tabella 3. Studi clinici italiani di terapia cellulare cardiaca da abstract, poster o comunicazioni.

Sperimentatore e Centro	Titolo e fonte	Studio clinico	Prospettive future
Leone A.M. Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma	Abstract: Granulocyte-colony stimulating factor in acute myocardial infarction (the RIGENERA Study) Congresso SIC 2004; Acute Cardiac Care 2004; American College of Cardiology 2005	Mobilizzazione con G-CSF in pz con STEMI anteriore trattato con PTCA primaria (12 pz, 9 trattati)	Studio con eritropoietina in cardiopatia ischemica (database AIFA); studio di mobilizzazione di EPC con statine ad alto dosaggio in IMA (Congresso ESC 2006)
Colombo A. Ospedale Luigi Sacco, Milano	Comunicazione: Intracoronary transfer of autologous CD133 ⁺ stem cells in recent myocardial infarction with extensive damage: a pilot controlled phase I/II trial Congresso ESC 2005 e 2006	Iniezione intracoronarica di CD133 ⁺ (ottenute dal midollo osseo o da leucaferesi post-G-CSF) in IMA anteriore con FE <45% (14 pz arruolati)	In corso
Achilli F. Ospedale A. Manzoni, Lecco	Comunicazione ed abstract: STEM-AMI Trial (STem cELls Mobilization in Acute Myocardial Infarction) Congresso ANMCO 2006; database AIFA	Mobilizzazione con G-CSF in pz con STEMI anteriore trattato con PTCA primaria con FE <40%	In corso (obiettivo: arruolare 50 pz, trattarne 25)
De Servi S. Ospedale di Legnano (MI)	Comunicazione: The ANMCO research protocol within the National Program on Stem Cells Congresso ANMCO 2006; database AIFA	Mobilizzazione con G-CSF in pz con angina cronica refrattaria	In corso (obiettivo: trattare 20-25 pz; 5 centri partecipanti)
Steffenino G. Ospedale S. Croce e Carle, Cuneo	Abstract: Recovery of regional contractile and metabolic function after autologous bone marrow stem cell implantation: a randomised study Congresso Cardiac Tissue Repair, Sirmione 2004	Non approvato dal Comitato Etico	

AIFA = Agenzia Italiana del Farmaco; ANMCO = Associazione Nazionale Medici Cardiologi Ospedalieri; CD133⁺ = cellule staminali del midollo osseo positive per CD133; EPC = progenitori delle cellule endoteliali; ESC = Società Europea di Cardiologia; FE = frazione di eiezione; G-CSF = fattore stimolante le colonie di granulociti; IMA = infarto miocardico acuto; PTCA = angioplastica coronarica transluminale percutanea; pz = pazienti; SIC = Società Italiana di Cardiologia; STEMI = infarto miocardico con sopraslivellamento del tratto ST.

senza aver ancora prodotto comunicazioni scientifiche. In particolare sono riportate informazioni su uno studio con iniezione intracoronarica di cellule staminali del midollo osseo condotto in 20 pazienti con IMA anteriore e frazione di eiezione <50%; un Centro cardiocirurgico riferisce di aver trattato con cellule staminali del midollo osseo una decina di pazienti sottoposti a bypass aortocoronarico. In altra sede 3 pazienti avrebbero ricevuto l'iniezione intracoronarica di cellule CD133⁺ ottenute attraverso leucaferesi dopo mobilizzazione con G-CSF e in un altro ambito cardiocirurgico circa una trentina di pazienti sarebbero stati trattati con TCC. Altri due Centri informano di essere in attesa dell'approvazione da parte dell'ISS dei loro protocolli per il trapianto di cellule staminali autologhe in pazienti sottoposti a bypass aortocoronarico.

Discussione

La situazione italiana

Complessivamente i dati raccolti sulle esperienze cliniche italiane di TCC dimostrano che nel nostro paese sono state condotte molteplici tipologie di interventi con cellule allo scopo di rigenerare il tessuto cardiaco. Le sperimentazioni si caratterizzano per il fatto di essere condotte prevalentemente da un singolo Centro (11 studi sono monocentrici, 2 policentrici) e per il limitato numero di pazienti trattati (mediamente 10 per studio); due Centri riferiscono di essere in attesa dell'approvazione del protocollo da parte dell'ISS; un protocollo clinico già presentato come abstract non ha ottenuto l'approvazione da parte del Comitato Etico. L'esiguità del numero dei pazienti trattati e l'eterogeneità delle esperienze rendono poco

significativa nel panorama europeo la sperimentazione clinica italiana in questo campo della ricerca biomedica.

Secondo i dati disponibili in letteratura o raccolti tramite questionari ed interviste, solo pochi Centri hanno compiuto proprie sperimentazioni *in vitro* o su modello animale prima di procedere ad esperienze cliniche.

Database dell'Istituto Superiore di Sanità e dell'Agenzia Italiana del Farmaco ed inquadramento legislativo

I progetti che prevedono il trapianto di cellule o l'utilizzo di terapia genica in ambito cardiologico approvati dall'ISS sono disponibili consultando le relazioni annuali della "Commissione per l'accertamento dei requisiti dei prodotti farmaceutici di nuova istituzione" (ex DPR n. 439/2001 e DMS 2/3/2004; Tabella 4); la

Tabella 5 mostra quali siano le domande pervenute dal 2002 al 2005 ed i progetti approvati.

La Commissione ha segnalato nella relazione del 2002 l'esistenza di "sperimentazioni cliniche riportate dai media o dai canali di informazione scientifici (riviste, congressi, ecc.) che non risultano approvate in accordo con le vigenti normative". Alcuni studi clinici presenterebbero elementi di scostamento dalla normativa italiana per quanto riguarda l'iter di approvazione di sperimentazioni cliniche di fase I che prevedano l'utilizzo di prodotti per terapia cellulare (PTC).

Le linee guida del 2004 dell'ISS⁸³ intendono per PTC "ogni preparazione che venga somministrata ad un essere umano con finalità analoghe ai medicinali ... e che contenga cellule vive o parti complesse di esse, sia che queste siano somministrate da sole o insieme a matrici/involucri di origine sintetica o biologica".

Tabella 4. Principali normative di riferimento per quanto concerne le sperimentazioni cliniche di prodotti per terapia cellulare in Italia.

Provvedimento	Anno	Titolo	Fonte
DMS del 2 marzo 2004	2004	Istituzione di una banca dati per il monitoraggio della terapia genica e la terapia cellulare somatica	Gazzetta Ufficiale
Linee guida	2004	Linee guida sui prodotti per terapia cellulare	Notiziario dell'ISS
Dlgs n. 211/2003	2003	Attuazione della direttiva 2001/20/CE relativa all'applicazione della buona pratica clinica nell'esecuzione delle sperimentazioni cliniche di medicinali per uso clinico	Gazzetta Ufficiale
Decreto dell'ISS del 26 aprile 2002	2002	Accertamento della composizione e innocuità dei farmaci di nuova istituzione prima della sperimentazione clinica sull'uomo. Individuazione della documentazione da sottoporre all'ISS ai sensi dell'art. 4, comma 2, del DPR 21 settembre 2001, n. 439	Gazzetta Ufficiale
DPR n. 439/2001	2001	Regolamento di semplificazione delle procedure per la verifica e il controllo di nuovi sistemi e protocolli terapeutici sperimentali	Gazzetta Ufficiale
DPR n. 70/2001	2001	Regolamento di organizzazione dell'ISS, a norma dell'articolo 9 del Dlgs 29 ottobre 1999, n. 419	Gazzetta Ufficiale
Linee guida	1999	Linee guida per l'ingegneria dei tessuti e la terapia cellulare	Notiziario dell'ISS
Circolare 10 luglio 1997	1997	Sperimentazione clinica dei medicinali	Gazzetta Ufficiale
Linee guida	1997	Linee guida per l'avvio degli studi clinici di fase I/II con cellule umane viventi per la terapia cellulare somatica	Notiziario dell'ISS

ISS = Istituto Superiore di Sanità.

Tabella 5. Progetti con prodotti di terapia cellulare in ambito cardiologico approvati dalla "Commissione per l'accertamento dei requisiti dei prodotti farmaceutici di nuova istituzione" dell'Istituto Superiore di Sanità fino al luglio 2006.

Anno e prodotto	Patologia	Presentazione	Approvazione	Data parere
2002				
Cellule staminali autologhe	Cardiomiopatia ischemica	24.10.02	No	08.04.03
Alendronato liposomiale	Prevenzione della restenosi	17.10.02	No	27.10.04
2003				
Cellule staminali CD133+	Cardiomiopatia ischemica	24.02.03	Si	25.09.03
TVICPR-003	Cardiomiopatia ischemica	05.06.03	Si	20.07.05
Ad5FGF-4	Cardiomiopatia ischemica	17.10.03	Si	07.04.04
Cellule dendritiche	Cardiomiopatia ischemica	06.11.03	No	19.04.05
2004				
Cellule CD133+	Cardiomiopatia ischemica	02.01.04	No	07.06.04
2005				
Cellule staminali mononucleate	Cardiomiopatia ischemica	27.10.05	Completamento documentazione	
Cellule staminali CD133+	Cardiomiopatia ischemica	29.12.05	Completamento documentazione	

CD133+ = cellule staminali del midollo osseo positive per CD133. Fonte: <http://www.iss.it/scf1/chis/cont.php?id=19&lang=1&tipo=1>.

Poiché citochine ed ormoni utilizzati per ottenere la mobilitazione di cellule dal midollo osseo nel tentativo di ricostituire il tessuto cardiaco non vengono considerati un PTC, il loro impiego non fa riferimento alla precedente normativa dell'ISS⁸³. È per questo che per trovare i protocolli di studi clinici di mobilitazione cellulare occorre riferirsi al database elettronico dell'Osservatorio Nazionale sulla Sperimentazione Clinica dei Medicinali, gestito dall'AIFA. La Tabella 6 mostra gli studi clinici di TCC registrati in questo database fino al luglio 2006.

Gli studi clinici di trapianto e mobilitazione cellulare fanno quindi riferimento a differenti normative; gli studi che prevedono l'utilizzo di PTC devono seguire un iter di approvazione assai complesso, descritto in parte dai regolamenti raccolti in Tabella 4. In particolare, leggi europee ed italiane richiedono il rispetto dei principi di *good clinical practice* ed esigono che la preparazione del prodotto sia effettuata seguendo le regole della *good manufacturing practice* (che riguardano la produzione) e della *good laboratory practice* (che riguardano l'analisi), all'interno di strutture certificate dal Ministero della Salute.

Limiti dell'indagine

Per conoscere l'andamento degli studi clinici in un determinato settore vengono impiegati vari metodi che includono ricerche bibliografiche, invio di schede e questionari, interviste, ecc. Muoversi in un campo della ricerca biomedica in costante evoluzione come quello della TCC risulta difficoltoso e qualsiasi tipo di indagine corre il rischio di non intercettare tutte le esperienze in atto e di ometterne alcune di rilievo. L'avvalersi dell'interrogazione di comuni motori di ricerca online oltre che della consultazione della letteratura scientifica, pur rappresentando un limite di questa indagine, consente con buona approssimazione la ricognizione delle esperienze cliniche di TCC avviate nel nostro paese. Le informazioni raccolte risultano comunque rintracciabili e verificabili e disegnano un quadro di insieme rappresentativo della ricerca clinica italiana sulla TCC.

Considerazioni conclusive

Dopo alterne fasi di entusiasmo e disillusione, l'argomento TCC necessita di un'approfondita riflessione per capire, in base alle attuali conoscenze sperimentali e cliniche, in quale direzione debbano essere indirizzati gli studi futuri.

Con riferimento al documento di consenso della Task Force della Società Europea di Cardiologia sull'investigazione clinica con cellule staminali adulte autologhe²⁵ e al recente editoriale di Rosenzweig²⁶, quattro punti dovrebbero essere tenuti in considerazione nel pianificare future sperimentazioni cliniche.

Selezione dei pazienti

Dovrebbero essere identificati specifici criteri di inclusione per selezionare i pazienti da sottoporre a questo nuovo tipo di trattamento. Gli studi dovrebbero concentrarsi su popolazioni gravate da un'elevata morbilità e mortalità nonostante le terapie oggi disponibili. È difficile trovare risultati di ulteriore beneficio in quei pazienti che con gli attuali provvedimenti terapeutici ottengono un soddisfacente recupero della funzione contrattile e della perfusione miocardica dopo un evento ischemico. Alla riapertura del vaso con angioplastica primaria ed impianto di stent può comunque conseguire un importante miglioramento della funzione ventricolare sinistra⁸⁴. È ardito speculare su variazioni della frazione di eiezione in pazienti che in seguito a rivascolarizzazione percutanea primaria dimostrino valori superiori al 50% con metodica ecocardiografica ed angiografica⁹.

Nello studio REPAIR-AMI la terapia cellulare ha dimostrato un maggior beneficio in termini di recupero della funzione sistolica globale nei pazienti con frazione di eiezione post-rivascolarizzazione più compromessa¹¹. Altre variabili in grado di influenzare l'efficacia della terapia cellulare nei pazienti con IMA sono la tempistica dell'iniezione¹¹ o della mobilitazione cellulare^{12,15,16,27} e la presenza di ostruzioni del microcircolo coronarico dopo la procedura di rivascolarizzazione⁹.

Viene largamente condivisa l'opinione che inizialmente l'attenzione dovrebbe ricadere sulle popolazio-

Tabella 6. Protocolli di studi clinici di terapia cellulare cardiaca registrati sul database elettronico dell'Osservatorio Nazionale sulla Sperimentazione Clinica dei Medicinali fino al luglio 2006.

Codice protocollo	Titolo	Centri partecipanti
1152	Eritropoietina e cardiopatia ischemica	Cardiologia Policlinico Universitario A. Gemelli, Roma
G111	Bone marrow stimulation in patients with stable refractory ischemic heart disease	Cardiologia Ospedale di Legnano (MI) Ospedale Policlinico San Matteo, Pavia
STEM-AMI	Studio pilota di somministrazione di G-CSF in pazienti affetti da infarto anteriore esteso candidati ad angioplastica primaria	Cardiologia Ospedale Manzoni, Lecco

Fonte: <https://oss-sper-clin.agenziafarmaco.it>.

ni a rischio”⁸⁵. Inoltre i pazienti con scompenso cardiaco grave trattati con dispositivi di assistenza ventricolare come ponte al trapianto potrebbero essere i candidati ideali per lo studio del comportamento delle cellule trapiantate, con l’obiettivo di analizzare il tessuto miocardico nel post-trapianto²⁶. L’accordo sui criteri per la selezione dei pazienti da sottoporre a questi trattamenti sperimentali permetterebbe in futuro di procedere ad aggregazioni statistiche dei dati ottenuti nei diversi studi clinici, oggi non realizzabili per la grande eterogeneità delle casistiche.

Indicatori di efficacia

Occorre definire quali siano gli indicatori di efficacia di questo nuovo tipo di trattamento. Alcuni autori identificano la risonanza magnetica cardiaca quale metodica di riferimento per tali valutazioni⁸⁶. Resta per ora lontano l’obiettivo di passare da endpoint surrogati (frazione di eiezione, area infartuale, spessore ed ispessimento di parete, ecc.) ad endpoint clinici quali sopravvivenza, ospedalizzazione, reinfarto²⁰; prima di pianificare studi clinici di outcome, sarebbe necessario stabilire quali siano gli endpoint surrogati di maggiore interesse²⁵, anche in relazione ai più recenti dati emersi in letteratura⁸⁷.

Necessità di ampi studi randomizzati

Futuri trial dovrebbero prevedere l’arruolamento di un elevato numero di pazienti sia per confermare i dati oggi disponibili riguardanti la sicurezza del trattamento (circa 600 pazienti sono stati sottoposti fino ad oggi a trattamento con cellule staminali adulte autologhe senza il riscontro di importanti eventi avversi^{2,25,26,34}) che per dimostrarne l’eventuale efficacia. Occorrono pertanto risultati provenienti da studi randomizzati controllati multicentrici su ampia popolazione con follow-up a lungo termine. Il recente documento di consenso della Task Force della Società Europea di Cardiologia sull’investigazione clinica con cellule staminali adulte autologhe²⁵ sottolinea espressamente che “sono da evitare piccoli studi non controllati perché non sembrano in grado di aggiungere niente di nuovo a questo campo della ricerca”. Il documento sottolinea l’importanza di piccoli studi solo se mirati “a testare la sicurezza o il meccanismo di specifiche ipotesi ... nate da esperimenti di base”.

Risorse

Esistono difficoltà nel reperire le risorse per effettuare esperienze cliniche multicentriche. Dovrebbero essere destinati finanziamenti *ad hoc*, cui accedere attraverso specifici bandi di istituzioni nazionali (Ministero della Salute, ISS, AIFA, Fondazioni) e sopranazionali (Commissione Europea). Al riguardo dovrebbe anche essere sollecitato l’interesse delle industrie farmaceutiche. Le Società Scientifiche cardiologiche dovrebbero farsi promotrici di questo tipo di ricerca, affidando alle competenze più qualificate il coordinamento e l’organizzazione di studi clinici.

In occasione del workshop “Cell therapy for the heart”, tenutosi nell’ambito del Congresso dell’Associazione Nazionale Medici Cardiologi Ospedalieri nel 2006, alcuni esperti italiani del settore hanno proposto l’istituzione di un gruppo di studio italiano intersocietario in materia di terapia rigenerativa cardiovascolare. Sono stati individuati i seguenti obiettivi: a) supportare l’aggiornamento scientifico e clinico in un settore in costante evoluzione; b) fornire valutazioni e proposte in merito alla legislazione vigente in materia di TCC; c) collaborare con l’ISS per l’istituzione di uno specifico registro nazionale dei pazienti trattati con terapia cellulare in ambito cardiologico; c) coordinare differenti gruppi di ricerca di base e sperimentale e favorire aree di ricerca comuni; d) promuovere studi clinici nel rispetto della legislazione vigente. Tali obiettivi possono rappresentare la prospettiva per la ricerca italiana sulla TCC nei prossimi anni.

Riassunto

Razionale. La traslazione “*from bench to bedside*” delle scoperte riguardanti la terapia cellulare cardiaca ha alternato in questi anni fasi di accelerazione a fasi di rallentamento. Sulla base dei risultati ottenuti sul modello animale, le sperimentazioni cliniche sull’uomo sono iniziate nel 2001. Sono più di 900 i pazienti trattati fino ad oggi in Europa con trapianto o mobilizzazione di cellule e nuovi studi clinici sono in corso in molte nazioni. I soli dati pubblicati in letteratura forniscono un’idea parziale sullo stato dell’arte della ricerca clinica italiana in questo settore. Il lavoro si propone di descrivere le esperienze cliniche ed i progetti di studio di terapia cellulare cardiaca finora avviati nel nostro paese.

Materiali e metodi. Attraverso indagini di bibliografia ed impiegando comuni motori di ricerca sono stati inventariati tutti i Centri italiani che risultano aver avviato protocolli clinici di terapia cellulare cardiaca. I Centri individuati sono stati suddivisi in base all’origine delle informazioni raccolte: a) riviste scientifiche; b) abstract, poster o comunicazioni; c) stampa divulgativa e media. Dove necessario per ottenere ulteriori informazioni è stato usato un questionario e sono stati effettuati colloqui faccia a faccia o telefonici.

Risultati. Dei 16 Centri individuati, 5 hanno pubblicato la loro esperienza su riviste scientifiche, 5 hanno prodotto abstract o comunicazioni per Congressi e di 6 si ha notizia attraverso quanto riportato dai media. La maggior parte delle sperimentazioni risultano monocentriche (11 studi monocentrici, 2 policentrici) e sono state effettuate su un limitato numero di casi (mediamente 10 pazienti trattati per studio); 2 Centri riferiscono di essere in attesa dell’approvazione del protocollo da parte dell’Istituto Superiore di Sanità; in un caso non è stata ottenuta l’approvazione da parte del Comitato Etico. Pochi Centri hanno pubblicato lavori scientifici su proprie esperienze *in vitro* o su modello animale.

Conclusioni. Il quadro complessivo della ricerca clinica italiana sulla terapia cellulare cardiaca dimostra i limiti dei contributi finora prodotti. Un gruppo di studio italiano intersocietario in materia di terapia rigenerativa cardiovascolare potrebbe rappresentare uno strumento per migliorare la ricerca clinica nazionale in questo settore.

Parole chiave: Cellule staminali; Studi clinici; Terapia cellulare cardiaca; Trapianto di cellule.

Bibliografia

1. Wollert KC, Drexler H. Clinical applications of stem cells for the heart. *Circ Res* 2005; 96: 151-63.
2. Sanchez PL, San Roman JA, Villa A, Fernandez ME, Fernandez-Aviles F. Contemplating the bright future of stem cell therapy for cardiovascular disease. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2006; 3 (Suppl 1): S138-S151.
3. Dimmeler S, Zeiher AM, Schneider MD. Unchain my heart: the scientific foundations of cardiac repair. *J Clin Invest* 2005; 115: 572-83.
4. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 2001; 410: 701-5.
5. Orlic D, Kajstura J, 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.
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. 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.
10. 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.
11. Schachinger V, Erbs S, Elsasser A, et al. Intracoronary bone marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2006; 355: 1210-21.
12. 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.
13. Ince H, Petzsch M, Kleine HD, et al. Preservation from left ventricular remodeling by front-integrated revascularization and stem cell liberation in evolving acute myocardial infarction by use of granulocyte-colony-stimulating factor (FIRSTLINE-AMI). *Circulation* 2005; 112: 3097-106.
14. Petzsch M, Ince H, Kleine H, et al. No restenosis after G-CSF in acute myocardial infarction: insights from FIRSTLINE-AMI (Front-Integrated Revascularization and Stem Cell Liberation in Evolving Acute Myocardial Infarction by Granulocyte Colony-Stimulating Factor). *Circulation* 2004; 110 (Suppl III): 238.
15. 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.
16. 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.
17. 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.
18. Chien KR. Stem cells: lost in translation. *Nature* 2004; 428: 607-8.
19. Chien KR. Lost and found: cardiac stem cell therapy revisited. *J Clin Invest* 2006; 116: 1838-40.
20. Boyle AJ, Schulman SP, Hare JM and Oettgen P. Is stem cell therapy ready for patients? Stem cell therapy for cardiac repair. Ready for the next step. *Circulation* 2006; 114: 339-52.
21. Menasche P, Hagege AA, Scorsin M, et al. Myoblast transplantation for heart failure. *Lancet* 2001; 357: 279-80.
22. 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.
23. Murry CE, Wiseman RW, Schwartz SM, Hauschka SD. Skeletal myoblast transplantation for repair of myocardial necrosis. *J Clin Invest* 1996; 98: 2512-23.
24. Alfieri O, Livi U, Martinelli L, et al. Myoblast transplantation for heart failure: where are we heading? *Ital Heart J* 2005; 6: 284-8.
25. 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.
26. Rosenzweig A. Cardiac cell therapy – mixed results from mixed cells. *N Engl J Med* 2006; 355: 1274-7.
27. 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.
28. Bartunek J, Vanderheyden M, Vandekerckhove B, et al. Intracoronary injection of CD133-positive enriched bone marrow progenitor cells promotes cardiac recovery after recent myocardial infarction: feasibility and safety. *Circulation* 2005; 112 (Suppl): I178-I183.
29. Mansour S, Vanderheyden M, De Bruyne B, et al. Intracoronary delivery of hematopoietic bone marrow stem cells and luminal loss of the infarct-related artery in patients with recent myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47: 1727-30.
30. 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.
31. Hill JM, Syed MA, Arai AE, et al. Outcomes and risks of granulocyte colony-stimulating factor in patients with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2005; 46: 1643-8.
32. Zbinden S, Zbinden R, Meier P, Windecker S and Seiler C. Safety and efficacy of subcutaneous-only granulocyte-macrophage colony-stimulating factor for collateral growth promotion in patients with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2005; 46: 1636-42.
33. 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.
34. Dimmeler S. Viewpoint: stem cells in cardiology. *Circulation* 2006; 113: f69-f70.
35. Strauer BE, Brehm M, Zeus T, et al. Regeneration of human infarcted heart muscle by intracoronary autologous bone

- marrow cell transplantation in chronic coronary artery disease: the IACT Study. *J Am Coll Cardiol* 2005; 46: 1651-8.
36. Schachinger V, Assmus B, Britten MB, et al. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction: final one-year results of the TOPCARE-AMI Trial. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44: 1690-9.
 37. Schachinger V, Tonn T, Dimmeler S, Zeiher AM. Bone-marrow-derived progenitor cell therapy in need of proof of concept: design of the REPAIR-AMI trial. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2006; 3 (Suppl 1): S23-S28.
 38. 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.
 39. Assmus B, Honold J, Schachinger V, et al. Transcoronary transplantation of progenitor cells after myocardial infarction. *N Engl J Med* 2006; 355: 1222-32.
 40. Meyer GP, Schaefer A, Fuchs M, et al. Intracoronary bone marrow cell transfer prevents the progression of diastolic dysfunction in patients after acute myocardial infarction. (abstr) *Eur Heart J* 2005; 26 (Suppl): 318.
 41. Schaefer A, Meyer GP, Fuchs M, et al. Impact of intracoronary bone marrow cell transfer on diastolic function in patients after acute myocardial infarction: results from the BOOST trial. *Eur Heart J* 2006; 27: 929-35.
 42. Meyer GP, Wollert KC, Lotz J, et al. Intracoronary bone marrow cell transfer after myocardial infarction: eighteen months' follow-up data from the randomized, controlled BOOST (BOne marrOw transfer to enhance ST-elevation infarct regeneration) trial. *Circulation* 2006; 113: 1287-94.
 43. Stamm C, Westphal B, Kleine HD, et al. Autologous bone-marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration. *Lancet* 2003; 361: 45-6.
 44. Stamm C, Kleine HD, Westphal B, et al. CABG and bone marrow stem cell transplantation after myocardial infarction. *Thorac Cardiovasc Surg* 2004; 52: 152-8.
 45. Nienaber CA, Petzsch M, Kleine HD, Eckard H, Freund M, Ince H. Effects of granulocyte-colony-stimulating factor on mobilization of bone-marrow-derived stem cells after myocardial infarction in humans. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2006; 3 (Suppl 1): S73-S77.
 46. Kueth F, Richartz BM, Sayer HG, et al. Lack of regeneration of myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans with large anterior myocardial infarctions. *Int J Cardiol* 2004; 97: 123-7.
 47. Kueth F, Richartz BM, Kasper C, et al. Autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in chronic ischemic cardiomyopathy in humans. *Int J Cardiol* 2005; 100: 485-91.
 48. Kueth F, Figulla HR, Herzau M, et al. Treatment with granulocyte colony-stimulating factor for mobilization of bone marrow cells in patients with acute myocardial infarction. *Am Heart J* 2005; 150: 115.
 49. Erbs S, Linke A, Adams V, et al. Transplantation of blood-derived progenitor cells after recanalization of chronic coronary artery occlusion: first randomized and placebo-controlled study. *Circ Res* 2005; 97: 756-62.
 50. Huttman A, Duhrsen U, Stypmann J, et al. Granulocyte colony-stimulating factor-induced blood stem cell mobilisation in patients with chronic heart failure - Feasibility, safety and effects on exercise tolerance and cardiac function. *Basic Res Cardiol* 2006; 101: 78-86.
 51. Hendrikx M, Hensen K, Clijsters C, et al. Recovery of regional but not global contractile function by the direct intramyocardial autologous bone marrow transplantation: results from a randomized controlled clinical trial. *Circulation* 2006; 114 (Suppl): I101-I107.
 52. 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.
 53. Suarez de Lezo J, Torres A, Herrera I, et al. Effects of stem-cell mobilization with recombinant human granulocyte colony stimulating factor in patients with percutaneously revascularized acute anterior myocardial infarction. *Rev Esp Cardiol* 2005; 158: 253-61.
 54. Herreros J, Prosper F, Perez A, et al. Autologous intramyocardial injection of cultured skeletal muscle-derived stem cells in patients with non-acute myocardial infarction. *Eur Heart J* 2003; 24: 2012-20.
 55. Chachques JC, Herreros J, Trainini J, et al. Autologous human serum for cell culture avoids the implantation of cardioverter-defibrillators in cellular cardiomyoplasty. *Int J Cardiol* 2004; 95 (Suppl 1): S29-S33.
 56. Beeres SL, Bax JJ, Kaandorp TA, et al. Usefulness of intramyocardial injection of autologous bone marrow-derived mononuclear cells in patients with severe angina pectoris and stress-induced myocardial ischemia. *Am J Cardiol* 2006; 97: 1326-31.
 57. Beeres SL, Bax JJ, Dibbets-Schneider P, et al. Sustained effect of autologous bone marrow mononuclear cell injection in patients with refractory angina pectoris and chronic myocardial ischemia: twelve-month follow-up results. *Am Heart J* 2006; 152: 684 e11-6.
 58. Fuchs S, Kornowski R, Weisz G, et al. Safety and feasibility of transendocardial autologous bone marrow cell transplantation in patients with advanced heart disease. *Am J Cardiol* 2006; 97: 823-9.
 59. Smits PC, van Geuns RJ, Poldermans D, et al. Catheter-based intramyocardial injection of autologous skeletal myoblasts as a primary treatment of ischemic heart failure: clinical experience with six-month follow-up. *J Am Coll Cardiol* 2003; 42: 2063-9.
 60. Hirsch A, Nijveldt R, van der Vleuten PA, et al. Intracoronary infusion of autologous mononuclear bone marrow cells or peripheral mononuclear blood cells after primary percutaneous coronary intervention: rationale and design of the HEBE trial - A prospective, multicenter, randomized trial. *Am Heart J* 2006; 152: 434-41.
 61. Siminiak T, Kalawski R, Fiszer D, et al. Autologous skeletal myoblast transplantation for the treatment of postinfarction myocardial injury: phase I clinical study with 12 months of follow-up. *Am Heart J* 2004; 148: 531-7.
 62. 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.
 63. 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.
 64. Lunde K, Solheim S, Aakhus S, Arnesen H, Abdelnoor M, Forfang K. Autologous stem cell transplantation in acute myocardial infarction: the ASTAMI randomized controlled trial. Intracoronary transplantation of autologous mononuclear bone marrow cells, study design and safety aspects. *Scand Cardiovasc J* 2005; 39: 150-8.
 65. Obradovic S, Rusovic S, Balint B, et al. Autologous bone marrow-derived progenitor cell transplantation for myocardial regeneration after acute infarction. *Vojnosanit Pregl* 2004; 61: 519-29.
 66. Katrasis DG, Sotiropoulou PA, Karvouni E, et al. Transcoronary transplantation of autologous mesenchymal stem cells and endothelial progenitors into infarcted human myocardium. *Catheter Cardiovasc Interv* 2005; 65: 321-9.

67. Galinanes M, Loubani M, Davies J, Chin D, Pasi J, Bell PR. Autotransplantation of unmanipulated bone marrow into scarred myocardium is safe and enhances cardiac function in humans. *Cell Transplant* 2004; 13: 7-13.
68. Aoki J, Serruys P, van Beusekom H, et al. Endothelial progenitor cell capture by stents coated with antibody against CD34. The HEALING-FIM (Healthy Endothelial Accelerated Lining Inhibits Neointimal Growth-First In Man) Registry. *J Am Coll Cardiol* 2005; 45: 1574-9.
69. Serruys P, for the HEALING II Investigators. The Genous endothelial cell capture system. Final results from the HEALING II study. (abstr) *Am J Cardiol* 2005; 96 (Suppl 7A): 7H.
70. Pompilio G, Cannata A, Peccatori F, et al. Autologous peripheral blood stem cell transplantation for myocardial regeneration: a novel strategy for cell collection and surgical injection. *Ann Thorac Surg* 2004; 78: 1808-12.
71. Mocini D, Staibano M, Mele L, et al. Autologous bone marrow mononuclear cell transplantation in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *Am Heart J* 2006; 151: 192-7.
72. Briguori C, Reimers B, Sarais C, et al. Direct intramyocardial percutaneous delivery of autologous bone marrow in patients with refractory myocardial angina. *Am Heart J* 2006; 151: 674-80.
73. Marra S, Scacciatella P, Usmiani T, et al. Concurrent G-CSF and GM-CSF administration for the induction of bone marrow-derived cell mobilization in patients with acute myocardial infarction: a pilot study evaluating feasibility, safety and efficacy. *Eurointervention* 2006; 4: 425-431.
74. Pesce M, Orlandi A, Iachininoto MG, et al. Myoendothelial differentiation of human umbilical cord blood-derived stem cells in ischemic limb tissues. *Circ Res* 2003; 93: e51-e62.
75. 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: e73-83.
76. Lagostena L, Avitabile D, De Falco E, et al. Electrophysiological properties of mouse bone marrow c-kit+ cells cultured onto neonatal cardiac myocytes. *Cardiovasc Res* 2005; 66: 482-92.
77. Pompilio G, Cannata A, Capogrossi MC, et al. Cardiomioplastica cellulare autologa: un traguardo raggiungibile? *Ital Heart J Suppl* 2002; 3: 1188-97.
78. Pompilio G, Capogrossi MC, Cannata A, Galanti A, Biglioli P. Endothelial progenitor cells: a potential versatile tool for the treatment of ischemic cardiomyopathies – a clinician's point of view. *Int J Cardiol* 2004; 95 (Suppl 1): S34-S37.
79. Pompilio G, Cannata A, Pesce M, Capogrossi MC, Biglioli P. Long-lasting improvement of myocardial perfusion and chronic refractory angina after autologous intramyocardial PBSC transplantation. *Cytotherapy* 2005; 7: 494-6.
80. Valgimigli M, Rigolin GM, Fucili A, et al. CD34+ and endothelial progenitor cells in patients with various degrees of congestive heart failure. *Circulation* 2004; 110: 1209-12.
81. Mocini D, Colivicchi F and Santini M. Stem cell therapy for cardiac arrhythmias. *Ital Heart J* 2005; 6: 267-71.
82. Bruno S, Bussolati B, Scacciatella P, et al. Combined administration of G-CSF and GM-CSF stimulates monocyte-derived pro-angiogenic cells in patients with acute myocardial infarction. *Cytokine* 2006; 34: 56-65.
83. Linee guida sui prodotti per terapia cellulare. *Notiziario dell'Istituto Superiore di Sanità* 2004; 17: 9-14.
84. Baks T, van Geuns RJ, Biagini E, et al. Recovery of left ventricular function after primary angioplasty for acute myocardial infarction. *Eur Heart J* 2005; 26: 1070-7.
85. Penn MS. Stem-cell therapy after acute myocardial infarction: the focus should be on those at risk. *Lancet* 2006; 367: 87-88.
86. Fuster V, Sanz J, Viles-Gonzalez JF, Rajagopalan S. The utility of magnetic resonance imaging in cardiac tissue regeneration trials. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2006; 3 (Suppl 1): S2-S27.
87. Moller JE, Hillis GS, Oh JK, Reeder GS, Gersh BJ, Pellikka PA. Wall motion score index and ejection fraction for risk stratification after acute myocardial infarction. *Am Heart J* 2006; 151: 419-25.