- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 18.118.45.162 Mon, 29 Apr 2024, 13:04:24

Rigenerazione del tessuto cardiaco infartuato: la via delle cellule staminali

Francesca Bonafè, Claudio Muscari, Carlo Guarnieri, Claudio Marcello Caldarera

Centro Ricerche sul Metabolismo Cardiaco, Dipartimento di Biochimica "G. Moruzzi", Università degli Studi, Bologna

Key words:
Cardiac surgery; Ethics; Experimental cardiology; Myocardial infarction; Ventricular remodeling.

The ventricular remodeling following an acute myocardial infarction generates a non-contractile fibrous scare which might provoke cardiac failure. Several techniques aimed at recovering myocardial performance through the utilization of stem cells have been investigated in these last years. Embryonal stem cells, although they are characterized by an elevated differentiation potential, present technical and ethical concerns. Thus, most studies have been addressed towards adult (somatic) stem cells. Three categories of adult stem cells are now mainly investigated: a) satellite cells from skeletal muscle, b) mesenchymal stem cells from bone marrow, c) stem cells which are eventually present in the cardiac tissue. Skeletal myoblasts, even if they are not able to differentiate in cardiomyocytes, can improve cardiac contractility at the level of the fibrous scare which substitutes the necrotic area. It is also possible to isolate stem cells from bone marrow which can originate several cell lines, among them cardiac muscle cells and endothelial cells. Finally, more recent studies have demonstrated that resident cardiomyocytes maintain the capability to duplicate: therefore, a population of myocardial progenitors might be able to replicate and repair the damaged tissue.

A deeper investigation of these findings in the clinical field could lead to the identification of new therapeutic strategies aimed at ameliorating the cardiac performance of the infarcted patients for short and long periods.

(Ital Heart J Suppl 2003; 4 (4): 299-305)

© 2003 CEPI Srl

Ricevuto il 20 gennaio 2003; nuova stesura il 25 febbraio 2003; accettato il 27 marzo 2003.

Per la corrispondenza:

Prof. Claudio Marcello Caldarera

Centro Ricerche sul Metabolismo Cardiaco Dipartimento di Biochimica "G. Moruzzi" Università degli Studi Via Irnerio, 48 40126 Bologna E-mail: caldarer@biocfarm.unibo.it

Le cardiopatie ischemiche, come noto, sono la principale causa di morte nei paesi industrializzati. La necrosi tissutale che segue il fenomeno ischemico determina una diminuzione del numero e della funzionalità delle cellule muscolari cardiache nella zona colpita. Poiché i cardiomiociti adulti non sono in grado di dividersi e rispondono agli stimoli mitotici con l'ipertrofia[1], la perdita cellulare si manifesta con una disfunzione contrattile conseguente alla progressiva sostituzione delle cellule cardiache con tessuto cicatriziale. Il rimodellamento ventricolare che segue l'infarto miocardico acuto può portare quindi ad un danno cardiaco irreversibile[2,3]. Il processo di rimodellamento è caratterizzato dalla rimozione del tessuto necrotico accompagnata dalla formazione di tessuto di granulazione e induzione della neovascolarizzazione nell'area perinfartuale. Quest'ultimo è un prerequisito fondamentale per la sopravvivenza dei cardiomiociti circostanti, vitali ma ipertrofici, e per la prevenzione della perdita di cellule per apoptosi[4]. Il processo di rimodellamento termina con la formazione di una cicatrice fibrosa non contrattile che può espandersi portando all'insufficienza cardiaca[2,3].

Il trattamento di elezione nelle fasi finali dello scompenso cardiaco è il trapianto d'organo[5], ma poiché risulta limitato dalla disponibilità dei donatori e dalle complicazioni legate alle problematiche immunologiche, particolare attenzione è stata recentemente rivolta allo sviluppo del trapianto cellulare come alternativa al trapianto d'organo. L'obiettivo di questa nuova strategia di intervento consiste nell'ottenere cellule in grado di sostenere il lavoro cardiaco, di integrarsi con le cellule circostanti come cardiomiociti e cellule interstiziali, e rispondere adeguatamente a stimoli fisiologici e fisiopatologici[6].

Sono attualmente allo studio tecniche che introducono nel cuore danneggiato nuove cellule miogeniche o che inducono il differenziamento delle cellule staminali eventualmente presenti nel cuore[7]. A questo scopo particolare interesse è stato rivolto verso le cellule staminali, cellule multipotenti in grado di differenziare anche in cardiomiociti.

Le cellule staminali sono cellule che mantengono immutata la loro capacità proliferativa durante tutta la vita dell'individuo, dividendosi asimmetricamente in due cellule figlie delle quali una mantiene le caratteristiche di staminalità e l'altra, invece, inizia il processo di differenziamento. Nei mammiferi cellule staminali pluripotenti

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 18.118.45.162 Mon, 29 Apr 2024, 13:04:24

sono presenti nel nodo embrionale della blastocisti, nell'embrione e nel feto[8]; si trovano in misura minore anche nell'individuo adulto, ma solo in particolari distretti dell'organismo. È quindi possibile dividerle in due categorie principali: le staminali embrionali e le staminali adulte o somatiche.

Le cellule staminali embrionali

Dalla blastocisti è possibile isolare le cellule del nodo embrionale e coltivarle *in vitro* ottenendo le cosiddette *embryonic stem cells* (ES), la cui caratteristica principale è l'elevata capacità di differenziare in qualsiasi tipo cellulare. Le ES sono adatte per ottenere colture permanenti e possono differenziare *in vitro* in neuroni[9], muscolo liscio[10], muscolo scheletrico[11] e cardiomiociti[12]. Le ES di topo sono un comodo modello per studiare la cardiogenesi poiché durante il differenziamento riassumono lo sviluppo dei cardiomiociti partendo dai loro precursori, fino alle cellule terminalmente differenziate. Le ES possono essere mantenute in coltura continua se fatte crescere su un *feeder-layer* di fibroblasti o in presenza di *leukemia inhibitory factor*[12].

Quando le ES sono coltivate come corpi embrioidi, che sono i primi aggregati cellulari che si formano dallo sviluppo *in vitro* delle ES, differenziano in varie linee cellulari tra le quali anche i fenotipi cardiaci[13]. I cardiomiociti derivanti dalle ES possono essere identificati all'interno dei corpi embrioidi poiché presentano attività contrattile e rappresentano circa il 5% della popolazione cellulare. Questi, dopo isolamento, possono essere trapiantati in modo stabile nel miocardio come dimostrato da vari autori[14,15], anche se tra le cellule da trapiantare potrebbero essere selezionati altri fenotipi presenti nei corpi embrioidi che, a lungo termine, potrebbero influenzare la funzione cardiaca. Inoltre sono stati successivamente messi a punto metodi per selezionare una sottopopolazione di cardiomiociti ventricolari utili per il trapianto.

Gli ostacoli principali all'uso delle ES per il trapianto nel miocardio sono la difficoltà di ottenere una popolazione pura e riproducibile di cardiomiociti ventricolari e le reazioni di rigetto. La possibilità di utilizzare ES umane per lo sviluppo di trapianti a carattere terapeutico ha generato inoltre una serie di dibattiti riguardanti gli aspetti etici dell'impiego di embrioni umani come materiale di partenza da cui ottenere cellule staminali. Questa controversia ha orientato gran parte della ricerca sullo studio di cellule staminali adulte, ed in particolare derivanti dal midollo osseo, come alternativa all'impiego di cellule di origine embrionale.

Le cellule staminali adulte

Le cellule staminali adulte o somatiche sono presenti in molti tessuti dell'individuo adulto come midollo osseo, sangue, epidermide, fegato, muscolo e cervello. Sono cellule multipotenti che hanno la capacità di autorinnovarsi. Rispetto alle ES risultano quindi più accessibili, non presentano problemi di natura etica e, poiché possono essere isolate anche dal paziente stesso, non richiedono trattamenti immunosoppressivi per evitare i fenomeni di rigetto.

Per molto tempo le cellule staminali somatiche sono state considerate già indirizzate verso un unico fenotipo e quindi in grado di differenziare esclusivamente in cellule del tessuto nel quale risiedono. Recentemente molti autori hanno messo in evidenza la multipotenzialità delle staminali adulte che in molti casi sono in grado di dare origine a cellule diverse da quelle del tessuto di origine.

La possibilità che le cellule staminali adulte possano transdifferenziare in più tipi cellulari è stata valutata da più autori. I primi esperimenti sono stati eseguiti utilizzando cellule staminali neurali marcate con β-galattosidasi, le quali sono state coltivate insieme a mioblasti o a cellule derivanti dai corpi embrioidi. Dopo 4-5 giorni le cellule muscolari esprimevano la β-galattosidasi, indicando che probabilmente segnali rilasciati dai mioblasti potevano aver determinato il differenziamento delle staminali in senso muscolare. Una seconda ipotesi prevede invece la possibilità che si sia verificata una fusione cellulare tra le staminali neurali ed i mioblasti o i corpi embrioidi[16,17].

Successivamente altri autori hanno dimostrato la capacità delle cellule staminali neurali e del midollo osseo di fondersi con le ES ottenendo cellule tetraploidi[18,19]. Risulta quindi problematico stabilire se il fenomeno di fusione può essere interpretato come transdifferenziamento anche alla luce della bassa percentuale di cellule tetraploidi che si formano a seguito di questo processo.

Di particolare interesse per il trattamento delle patologie cardiache è lo studio delle cellule staminali derivanti dallo stroma del midollo osseo o *mesenchymal stem cells* (MSC). Queste cellule vengono estratte dal midollo in seguito ad aspirazione o irrigazione del canale midollare e, poste in coltura, aderiscono rapidamente alla plastica formando colonie di cellule eterogenee per morfologia e caratteristiche fenotipiche[20,21] (Fig. 1). Un'analisi delle cellule che aderiscono rapidamente dopo l'estrazione dal midollo, evidenzia l'assenza di marker caratteristici delle cellule ematiche quali: CD34, CD45, CD14[22]. L'identificazione di antigeni specifici che individuino all'interno di questa popolazione le cellule realmente multipotenti risulta invece più complessa. Le MSC umane e murine sono le meglio caratterizzate mentre per le corrispondenti derivanti dal midollo osseo di ratto e altri animali da laboratorio, marker specifici sono ancora poco noti.

Il midollo osseo *in toto* contiene MSC multipotenti che derivano dal mesoderma somatico e sono coinvolte nell'automantenimento e nella riparazione di vari tessuti mesenchimali. Queste cellule possono essere in-

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 18.118.45.162 Mon, 29 Apr 2024, 13:04:24

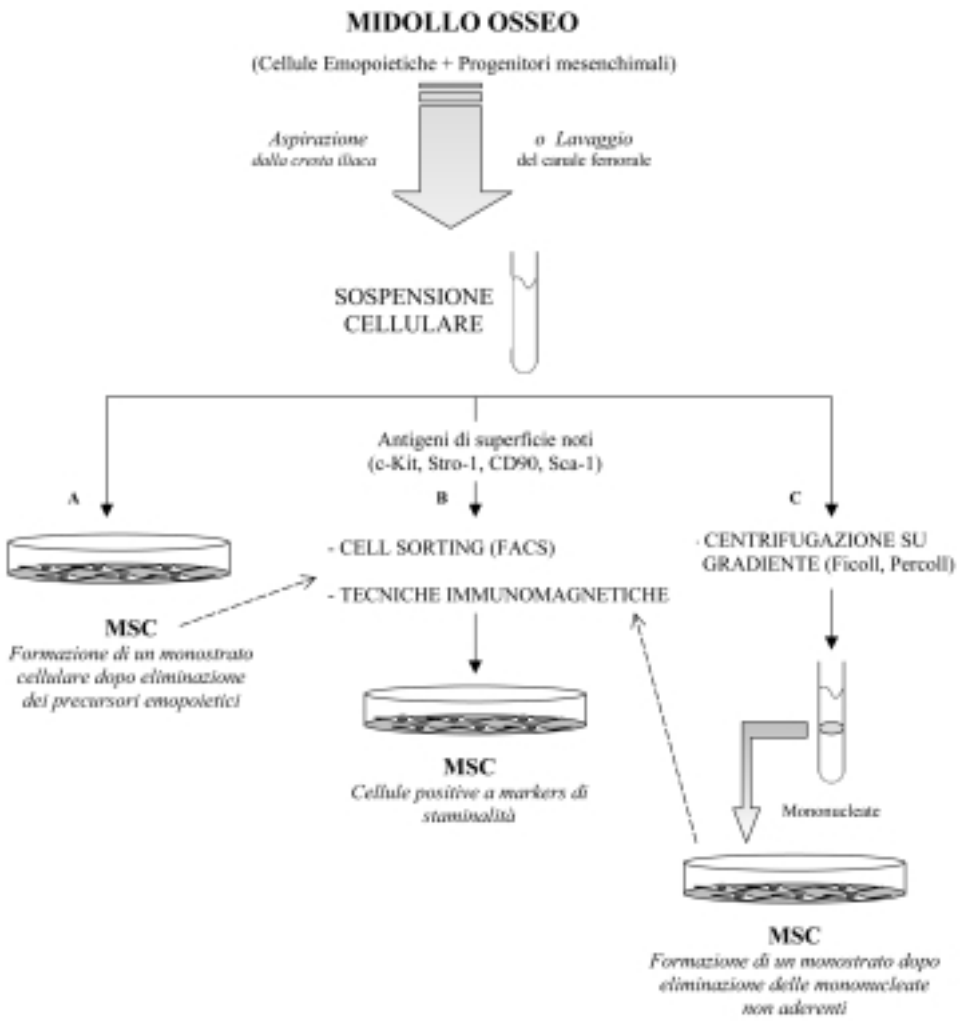

Figura 1. *Metodiche di isolamento delle cellule staminali mesenchimali (MSC) da midollo osseo. In seguito ad aspirazione a livello della cresta iliaca o a lavaggio del canale femorale, è possibile ottenere una sospensione cellulare costituita da precursori emopoietici e mesenchimali. Per separare da quest'ultima le MSC è possibile procedere in vari modi: A) selezione delle cellule in base alla capacità di aderire rapidamente alla plastica; B) selezione sulla base di antigeni di superficie noti come marker di staminalità, mediante cell sorting o anticorpi legati a bilie magnetiche; C) selezione delle cellule mononuclete in grado di aderire alla plastica dopo separazione su gradiente di densità. Le cellule ottenute con i metodi A e C possono successivamente essere selezionate sulla base di marker di staminalità (B). FACS = fluorescence-activated cell sorting.*

dotte *in vivo* e *in vitro* a differenziare in cellule della linea mesechimale quali adipociti, condrociti, osteoblasti e cellule muscolari scheletriche e cardiache[22-27].

In seguito a ripetuti passaggi in coltura dalle MSC murine è possibile ottenere una linea di cellule simili ai fibroblasti definite cardiomiogeniche[26]. Dopo prolungati trattamenti con 5-azacitidina (un inibitore della metilazione del DNA) le cellule cardiomiogeniche formano miotubuli e risultano connesse da dischi intercalari. Il fenotipo cardiomiocitario sarebbe inizialmente confermato da studi relativi all'espressione di geni cardiaci quali il peptide natriuretico atriale, il peptide natriuretico cerebrale, la catena-α pesante della miosina, l'α-actina sarcomerica; le cellule esprimerebbero quindi un pattern genico tipico delle fasi precoci dello sviluppo cardiaco[28].

Studi sul trapianto di MSC derivanti dal midollo osseo in ratti infartuati hanno dimostrato che a seguito del trapianto le cellule pretrattate con 5-azacitidina mantengono il fenotipo cardiaco e, parallelamente, inducono l'angiogenesi portando ad un miglioramento delle funzioni cardiache, quali l'aumento della pressione sviluppata e della pressione sistolica nonché ad una diminuzione dell'area cicatriziale[29].

Altri autori hanno confermato che l'ambiente cardiaco favorisce il differenziamento in senso cardiomiocitario anche in assenza del pretrattamento con 5-azacitidina[30,31]. In questi studi i livelli di MSC differenziate erano però estremamente bassi anche in seguito al trapianto di un elevato numero di cellule staminali, quindi il contributo alla funzione cardiaca non era facilmente stimabile. Wang et al.[30] hanno dimostrato che nel microambiente cardiaco le MSC possono differenziare in cellule simili ai fibroblasti nel tessuto cicatriziale o in cardiomiociti. La maggior parte degli autori concorda sul fatto che il cuore infartuato potrebbe rilasciare mediatori in grado di mobilizzare cellule staminali del midollo promuovendone il differenziamento in cardiomiociti, fibroblasti e cellule endoteliali.

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 18.118.45.162 Mon, 29 Apr 2024, 13:04:24

Tra questi le citochine sono in grado di agire come mediatori biologici a livello delle cellule cardiache. In seguito ad infarto del miocardio è stato rilevato un aumento di: interleuchina (IL)-1α, fattore di necrosi tumorale-α, IL-6 e del relativo recettore di membrana, gp130, nella forma solubile[32-34]. In particolare la riorganizzazione che segue lo stress ipossico aumenta la produzione di RNAm di IL-6 e cardiotrofina-1[35]. Entrambe queste citochine si legano con il recettore di membrana gp130, presente sui cardiomiociti, attivando le vie di trasduzione del segnale JAK/STAT e MAP kinasi, che portano i cardiomiociti adulti all'ipertrofia. In particolare la cardiotrofina-1 dà origine, nei cardiomiociti, ad un'organizzazione sarcomerica tipica del tessuto ipertrofico e all'espressione di geni fetali[36]. La liberazione di citochine a seguito del fenomeno ischemico potrebbe quindi, secondo un'ipotesi ancora non confermata, intervenire a livello delle cellule staminali promuovendone il differenziamento in senso cardiomiocitario favorendo l'espressione normalmente silente di geni embrionali legati allo sviluppo cardiaco.

Studi compiuti dal gruppo del Prof. Anversa[37,38] sull'applicazione delle cellule staminali nel trattamento delle patologie cardiache umane hanno portato all'isolamento di una sottopopolazione di cellule multipotenti purificate (le cellule staminali ematopoietiche) che risultano negative ai marker ematici (Lin^-) e positive al recettore dello *stem cell factor* (c-Kit^+). Trapiantate nel cuore in cui è stato indotto un infarto sperimentale in seguito a legatura di una coronaria, sono in grado di differenziare in endotelio vascolare, cellule muscolari lisce e cardiomiociti[37,38]. Nove giorni dopo il trapianto queste cellule e la loro progenie si ritrovano nell'area infartuata e differenziano in più linee cellulari. I cardiomiociti derivanti dal midollo osseo esprimono catena pesante della miosina e fattori di trascrizione cardiaci (MEF2, GATA-4, Nkx2.5) attivi durante le fasi precoci dello sviluppo cardiaco. Questo coincide con la perdita dell'espressione di c-Kit confermando che i nuovi cardiomiociti rappresentano cellule mature. Istologicamente sono simili ai cardiomiociti neonatali ed esprimono la connessina 43, indice di accoppiamento elettromeccanico.

La caratterizzazione delle MSC risulta ancora complessa e come marker vengono utilizzati CD90 (Thy1.1), Stro-1, Sca-1 e alcune molecole di adesione cellulare[22,39-41].

Un più recente esperimento mostra infine che il fenomeno di richiamo di cellule staminali e il transdifferenziamento danno un contributo significativo al processo di riparazione postinfartuale. L'iniezione di *stem cell factor* e *granulocyte colony-stimulating factor* (G-CSF) porta alla mobilizzazione dal midollo osseo di un numero sufficiente di cellule Lin^-, c-Kit^+ in grado di rigenerare il miocardio e le strutture vascolari[42].

Il midollo osseo è anche una sorgente di progenitori delle cellule endoteliali che possono essere mobilizzate e che, se localizzate nel sito ischemico, sono in grado di contribuire alla formazione di nuovi vasi[43]. Progenitori delle cellule endoteliali possono essere isolati anche dal sangue periferico e dal sangue derivante dal cordone ombelicale[44]. Angioblasti derivanti dal midollo osseo, da esso mobilizzati mediante iniezione sottocutanea di G-CSF, danno luogo nel cuore infartuato, ad un processo di neoangiogenesi in grado di prevenire l'apoptosi dei cardiomiociti e la deposizione del collagene che forma la cicatrice, contribuendo in questo modo a migliorare la funzione cardiaca[45].

L'insieme di tutti questi risultati può portare alla messa a punto di un'unica strategia terapeutica per combattere gli esiti di infarto del miocardio utilizzando il midollo osseo dello stesso paziente, evitando quindi le terapie immunosoppressive ed i problemi di natura etica. Le cautele nell'utilizzo di queste tecniche saranno comunque giustificate fino a che la funzionalità e le proprietà elettrofisiologiche dei cardiomiociti derivanti dalle MSC o dalle cellule staminali emopoietiche non saranno ben determinate soprattutto a lungo termine. Rimane inoltre da chiarire il meccanismo biologico e molecolare di richiamo e la capacità delle cellule staminali circolanti di transdifferenziare in più tipi cellulari a livello miocardico, poiché l'iniezione a livello sistemico di citochine potrebbe essere utilizzata per mobilizzare cellule staminali offrendo una strategia terapeutica non invasiva[42].

Parallelamente alle cellule del midollo osseo viene utilizzata, per studi sul trapianto di cellule derivanti dallo stesso soggetto ricevente o autologhe, anche una popolazione di cellule indifferenziate del muscolo scheletrico: le cellule satelliti[46]. Queste cellule progenitrici sono localizzate all'interno della lamina basale del muscolo scheletrico e sono in grado di rigenerare il muscolo danneggiato[47]. Anche se nel muscolo scheletrico dell'adulto la percentuale di cellule satelliti è bassa (3-4%), sono stati messi a punto dei protocolli di isolamento ed espansione dei mioblasti scheletrici sia da ratto che da uomo[48,49]. Nonostante le cellule satelliti non differenzino in cardiomiociti e non formino giunzioni gap[50], queste cellule dopo il trapianto non solo sopravvivono ma sono in grado di migliorare la contrattilità a livello della cicatrice nel tessuto infartuato[51]. In pazienti con infarto miocardico sottoposti ad impianto di mioblasti scheletrici autologhi, l'esame ecocardiografico e la tomografia ad emissione di positroni, 5 mesi dopo il trapianto, hanno rilevato un aumento della vitalità e della contrazione nell'area sottoposta ad intervento[52]. Il trapianto di mioblasti scheletrici nel cuore può avvenire mediante iniezione intramiocardica diretta delle cellule[48,51,53] e un primo trial clinico sull'uomo ha mostrato risultati promettenti[54].

Divisione cellulare nel cuore: le cellule staminali cardiache

Tradizionalmente le cellule cardiache sono considerate cellule terminalmente differenziate che hanno per-

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 18.118.45.162 Mon, 29 Apr 2024, 13:04:24

so la capacità di autorinnovarsi[55,56] e l'ipertrofia è il solo meccanismo attraverso il quale il cuore risponde alle situazioni di perdita cellulare nel processo di rimodellamento ventricolare.

La scoperta di mitosi nel cuore umano adulto, che ha suscitato molte controversie, è stata dimostrata mediante la visualizzazione di figure mitotiche in cuori umani trapiantati[57,58] e in cuori di pazienti con patologie cardiache[59,60]. In un modello di ratto è stata dimostrata anche l'attività telomerasica correlabile con il potenziale di autorinnovamento cellulare[61]. Altri studi mostrano che anche i cardiomiociti umani possono essere indotti a rientrare nel ciclo cellulare dopo infarto acuto del miocardio[62].

In seguito a trapianto cardiaco è identificabile una popolazione di cellule primitive indifferenziate derivate sia dal donatore che dal tessuto cardiaco non asportato del ricevente, le quali potrebbero essere cellule staminali cardiache, ed i cardiomiociti in fase mitotica la loro progenie[63].

Risulta quindi fondamentale determinare quale sia l'origine delle cellule indifferenziate presenti nel cuore umano adulto ed i meccanismi molecolari che ne determinano la sopravvivenza, la replicazione e il differenziamento in cardiomiociti.

Conclusioni

Lo scopo delle strategie di trapianto cellulare è aumentare il numero di cardiomiociti. Un risultato comune a tutti i tipi di intervento attualmente in studio include la valutazione della sopravvivenza, del differenziamento e della capacità delle cellule trapiantate di integrarsi nel tessuto ospite e di dare, a lungo termine, un contributo apprezzabile all'attività contrattile.

L'utilizzo di donatori di cellule incontra problemi tecnici ed etici, mentre l'uso di midollo osseo autologo può essere una valida alternativa al trapianto. In una prima fase di sperimentazione, l'iniezione sistemica di MSC autologhe è stata ben tollerata[64]. I risultati di uno studio pilota mostrano che il trapianto di cellule progenitrici derivanti dal midollo osseo e dal sangue periferico, per infusione intracoronarica dopo infarto acuto del miocardio, porta ad un miglioramento delle funzioni cardiache. In seguito al trapianto, 4 mesi dopo l'infarto, si è infatti verificato un aumento significativo, anche se non consistente, della frazione di eiezione e una riduzione del volume telesistolico, con conseguenti effetti positivi sul rimodellamento postinfartuale. L'esame ecocardiografico mostra inoltre un miglioramento della funzione contrattile nell'area colpita[65].

Per un ottimale utilizzo clinico sono ancora da valutare gli effetti a lungo termine ed i meccanismi molecolari alla base del processo di differenziamento di queste cellule e le strategie per ottenere un numero di cellule sufficienti che determinino un effetto terapeutico sicuro ed efficace.

Riassunto

Il rimodellamento ventricolare che segue l'infarto acuto del miocardio termina con la formazione di una cicatrice fibrosa non contrattile che può portare all'insufficienza cardiaca. Negli ultimi anni sono allo studio numerose tecniche per il recupero del tessuto cardiaco mediante l'impiego di cellule staminali. Quelle di origine embrionale, pur possedendo un'elevata capacità differenziativa, presentano problemi tecnici ed etici, per cui gran parte della ricerca si sta orientando verso lo studio delle cellule staminali adulte (o somatiche). Le tre categorie di cellule più utilizzate sono: a) le cellule satelliti del muscolo scheletrico, b) le cellule staminali mesenchimali derivanti dallo stroma del midollo osseo, c) le cellule staminali eventualmente già presenti nel tessuto cardiaco. I mioblasti scheletrici, pur non differenziando in cardiomiociti, sono in grado di migliorare la contrattilità del muscolo cardiaco a livello della cicatrice che si genera nel tessuto infartuato. Dal midollo osseo è inoltre possibile isolare cellule staminali in grado di differenziarsi in varie linee cellulari, tra cui anche quelle delle cellule muscolari cardiache ed endoteliali. Studi più recenti hanno infine dimostrato la presenza di cellule cardiache ancora in grado di dividersi: esisterebbe quindi una popolazione di cellule primitive indifferenziate capaci di replicarsi e di riparare il miocardio danneggiato.

L'approfondimento di questi risultati, specialmente in campo clinico, potrebbe portare all'identificazione di nuove strategie terapeutiche per migliorare, sia a breve che a lungo termine, l'attività cardiaca dei soggetti infartuati.

Parole chiave: Cardiochirurgia; Cardiologia sperimentale; Etica; Infarto miocardico; Rimodellamento ventricolare.

Ringraziamenti

Si ringrazia la Compagnia di San Paolo - Torino e il MIUR - Roma (FIRB 2001) per il contributo erogato per il progetto: "Il trapianto cellulare come alternativa al trapianto d'organo: studio dei processi di crescita e differenziamento delle cellule staminali verso fenotipi cardiovascolari".

Bibliografia

1. Kodama H, Fukuda K, Pan J, et al. Leukemia inhibitory factor, a potent cardiac hypertrophic cytokine, activates the JAK/STAT pathway in rat cardiomyocytes. Circ Res 1997; 81: 656-63.
2. Braunwald E, Pfeffer MA. Ventricular enlargement and remodeling following acute myocardial infarction: mechanisms and management. Am J Cardiol 1991; 68: 1D-6D.
3. Pfeffer MA, Braunwald E. Ventricular remodeling after myocardial infarction. Experimental observations and clinical implications. Circulation 1990; 81: 1161-72.

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 18.118.45.162 Mon, 29 Apr 2024, 13:04:24

4. Cheng W, Kajstura J, Nitahara JA, et al. Programmed myocyte cell death affects the viable myocardium after infarction in rats. Exp Cell Res 1996; 226: 316-27.
5. Hunt SA. Current status of cardiac transplantation. JAMA 1998; 280: 1692-8.
6. Soonpaa MH, Daud AI, Koh GY, et al. Potential approaches for myocardial regeneration. Ann NY Acad Sci 1995; 752: 446-54.
7. Hierlihy AM, Seale P, Lobe CG, Rudnicki MA, Megeney LA. The post-natal heart contains a myocardial stem cell population. FEBS Lett 2002; 530: 239-43.
8. Doetschman TC, Eistetter H, Katz M, Schmidt W, Kemler R. 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.
9. Strubing C, Ahnert-Hilger G, Shan J, Wiedenmann B, Hescheler J, Wobus AM. 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.
10. Wartenberg M, Gunther J, Hescheler J, Sauer H. The embryoid body as a novel in vitro assay system for antiangiogenic agents. Lab Invest 1998; 78: 1301-14.
11. Rohwedel J, Maltsev V, Bober E, Arnold HH Hescheler J, Wobus AM. Muscle cell differentiation of embryonic stem cells reflects myogenesis in vivo: developmentally regulated expression of myogenic determination genes and functional expression of ionic currents. Dev Biol 1994; 164: 87-101.
12. Wobus AM. Potential of embryonic stem cells. Mol Aspects Med 2001; 22: 149-64.
13. 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.
14. Klug MG, Soonpaa MH, Koh GY, Field LJ. Genetically selected cardiomyocytes from differentiating embryonic stem cells from stable intracardiac grafts. J Clin Invest 1996; 98: 216-24.
15. Min JY, Yang Y, Converso KL, Liu L, Morgan JP, Xiao YF. Transplantation of embryonic stem cells improves cardiac function in postinfarcted rats. J Appl Physiol 2002; 92: 288-96.
16. Clarke DL, Johansson CB, Wilbertz J, et al. Generalized potential of adult neural stem cells. Science 2000; 288: 1660-3.
17. Galli R, Borello U, Gritti A, et al. Skeletal myogenic potential of human and mouse neural stem cells. Nat Neurosci 2000; 3: 986-91.
18. Ying QL, Nichols J, Evans EP, Smith AG. Changing potency by spontaneous fusion. Nature 2002; 416: 545-8.
19. Terada N, Hamazaki T, Oka M, et al. Bone marrow cells adopt the phenotype of other cells by spontaneous cell fusion. Nature 2002; 416: 542-5.
20. Prockop DJ. Marrow stromal cells as stem cells for nonhematopoietic tissues. Science 1997; 276: 71-4.
21. Colter DC, Class R, DiGirolamo CM, Prockop DJ. Rapid expansion of recycling stem cells in cultures of plastic-adherent cells from human bone marrow. Proc Natl Acad Sci USA 2000; 97: 3213-8.
22. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. Science 1999; 284: 143-7.
23. Haynesworth SE, Goshima J, Goldberg VM, Caplan AI. Characterization of cells with osteogenic potential from human marrow. Bone 1992; 13: 81-8.
24. Saito T, Dennis JE, Lennon DP, Young RG, Caplan AI. Myogenic expression of mesenchymal stem cells within myotubes of mdx mice in vitro and in vivo. Tissue Eng 1995; 1: 327-43.
25. Grigoriadis AE, Heersche JN, Aubin JE. Differentiation of muscle, fat, cartilage, and bone from progenitor cells present in a bone-derived clonal cell population: effect of dexamethasone. J Cell Biol 1988; 106: 2139-51.
26. 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.
27. 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.
28. 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.
29. Tomita S, Li RK, Weisel RD, et al. Autologous transplantation of bone marrow cells improves damaged heart function. Circulation 1999; 100 (Suppl): II247-II256.
30. 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.
31. Toma C, Pittenger MF, Cahill KS, Byrne BJ, Kessler PD. Human mesenchymal stem cells differentiate to a cardiomyocyte phenotype in the adult murine heart. Circulation 2002; 105: 93-8.
32. Aukrust P, Ueland T, Lien E, et al. Cytokine network in congestive heart failure secondary to ischemic or idiopathic dilated cardiomyopathy. Am J Cardiol 1999; 83: 376-82.
33. Miyao Y, Yasue H, Ogawa H, et al. Elevated plasma interleukin-6 levels in patients with acute myocardial infarction. Am Heart J 1993; 126: 1299-304.
34. Ono K, Matsumori A, Shioi T, Furukawa Y, Sasayama S. Cytokine gene expression after myocardial infarction in rat hearts: possible implication in left ventricular remodeling. Circulation 1998; 98: 149-56.
35. Hishinuma S, Funamoto M, Fujio Y, Kunisada K, Yamauchi-Takihara K. Hypoxic stress induces cardiotrophin-1 expression in cardiac myocytes. Biochem Biophys Res Commun 1999; 264: 436-40.
36. Pennica D, Shaw KJ, Swanson TA, et al. Cardiotrophin-1: biological activities and binding to the leukemia inhibitory factor receptor/gp130 signaling complex. J Biol Chem 1995; 270: 10915-22.
37. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Bodine SM, Leri A, Anversa P. Transplanted adult bone marrow cells repair myocardial infarcts in mice. Ann NY Acad Sci 2001; 938: 221-9.
38. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. Nature 2001; 410: 701-5.
39. Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. Nature 2002; 418: 41-9.
40. Bonafè F, Gamberini G, Farruggia G, et al. Caratterizzazione delle cellule staminali mesenchimali del midollo osseo di ratto e loro differenziamento verso fenotipi cardiovascolari. (abstr) Ital Heart J 2002; 3 (Suppl 7): 38S.
41. Tanaka-Duozuno M, Suzu S, Yamada M, et al. Detection of murine adult bone marrow stroma-initiating cells in Lin^{-}c-fms^{+}c-kit ^{low}VCAM-1^{+} cells. J Cell Physiol 2001; 189: 45-53.
42. 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.
43. Asahara T, Murohara T, Sullivan A, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. Science 1997; 275: 964-7.

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 18.118.45.162 Mon, 29 Apr 2024, 13:04:24

44. Gamberini C, Bonafè F, Farruggia G, et al. Confronto tra cellule umane CD133+ e mononucleate provenienti da sangue cordonale e di soggetti adulti: studio delle potenzialità proliferative e di differenziamento in cellule endoteliali. (abstr) Ital Heart J 2002; 3 (Suppl 7): 35S.
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. Campion D. The muscle satellite cell: a review. Int Rev Cytol 1984; 87: 225-51.
47. Kessler PD, Byrne BJ. Myoblast cell grafting into heart muscle: cellular biology and potential applications. Annu Rev Physiol 1999; 61: 219-42.
48. Suzuki K, Brand NJ, Smolenski RT, Jayakumar J, Murtuza B, Yacoub MH. Development of a novel method for cell transplantation through the coronary artery. Circulation 2000; 10 (Suppl 3): III359-III364.
49. Blau HM, Webster C. Isolation and characterization of human muscle cells. Proc Natl Acad Sci USA 1981; 78: 5623-7.
50. Reineke H, MacDonald GH, Hauschka SD, Murry CE. Electromechanical coupling between skeletal and cardiac muscle. Implications for infarct repair. J Cell Biol 2000; 149: 731-40.
51. Taylor DA, Atkins BZ, Hungspreugs P, et al. Regenerating functional myocardium: improved performance after skeletal myoblast transplantation. Nat Med 1998; 4: 929-33.
52. Menasche P, Hagege AA, Scorsin M, et al. Myoblast transplantation for heart failure. Lancet 2001; 357: 279-80.
53. Marelli D, Desrosiers C, el-Alfy M, Kao RL, Chiu RC. Cell transplantation for myocardial repair: an experimental approach. Cell Transplant 1992; 1: 383-90.
54. Menasche P, Hagege A, Scorsin M, et al. Autologous skeletal myoblast transplantation for cardiac insufficiency. First clinical case. Arch Mal Coeur Vaiss 2001; 94: 180-2.
55. Soonpaa MH, Field LJ. Survey of studies examining mammalian cardiomyocyte DNA synthesis. Circ Res 1998; 83: 15-26.
56. Soonpaa MH, Koh GY, Pajak L, et al. Cyclin D1 overexpression promotes cardiomyocyte DNA synthesis and multinucleation in transgenic mice. J Clin Invest 1997; 99: 2644-54.
57. Yan SM, Finato N, Artico D, et al. DNA content, apoptosis and mitosis in transplanted human hearts. Adv Clin Path 1998; 2: 205-19.
58. Beltrami CA, Di Loreto C, Finato N, et al. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA), DNA synthesis and mitosis in myocytes following cardiac transplantation in man. J Mol Cell Cardiol 1997; 29: 2789-802.
59. Kajstura J, Leri A, Finato N, Di Loreto C, Beltrami CA, Anversa P. Myocyte proliferation in end-stage cardiac failure in humans. Proc Natl Acad Sci USA 1998; 95: 8801-5.
60. Anversa P, Kajstura J. Ventricular myocytes are not terminally differentiated in the adult mammalian heart. Circ Res 1998; 83: 1-14.
61. Leri A, Barlucchi L, Limana F, et al. Telomerase expression and activity are coupled with myocyte proliferation and preservation of telomeric length in the failing heart. Proc Natl Acad Sci USA 2001; 98: 8626-31.
62. 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.
63. Quaini F, Urbanek K, Beltrami AP, et al. Chimerism of the transplanted heart. N Engl J Med 2002; 346: 5-15.
64. Lazarus HM, Haynesworth SE, Gerson SL, Rosenthal NS, Caplan AI. Ex vivo expansion and subsequent infusion of human bone marrow-derived stromal progenitor cells (mesenchymal progenitor cells): implications for therapeutic use. Bone Marrow Transplant 1995; 16: 557-64.
65. Assmus B, Schachinger V, Teupe C, et al. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI). Circulation 2002; 10: 3009-17.