- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 18.97.14.90 Tue, 10 Mar 2026, 00:56:14

Cardiomioplastica cellulare autologa: un traguardo raggiungibile?

Giulio Pompilio*§, Aldo Cannata*§, Maurizio C. Capogrossi**, Francesco Alamanni*, Maurizio Pesce§§, Antonia Germani§§, Paolo Biglioli*

**Dipartimento di Chirurgia Cardiovascolare, Università degli Studi, Centro Cardiologico Monzino IRCCS, Milano, **Laboratorio di Patologia Vascolare, Istituto Dermopatico dell'Immacolata IRCCS, Roma, §Programma Clinico di Terapia Genica e Cellulare Cardiovascolare, §§Laboratorio di Biologia Vascolare e Terapia Genica, Università degli Studi, Centro Cardiologico Monzino IRCCS, Milano*

Key words:
Cardiomyopathies; Heart cardiac failure; Myocardial infarction.

Myocardial cell therapy is a new promising therapeutic option for patients with heart failure. In this paper, we review the main experimental evidences and the first clinical researches in this field. Moreover, a comment on the theoretical and practical aspects for a pilot clinical use and a glance to the future are also provided.

(Ital Heart J Suppl 2002; 3 (12): 1188-1197)

© 2002 CEPI Srl

Ricevuto il 26 agosto 2002; nuova stesura il 31 ottobre 2002; accettato il 29 novembre 2002.

Per la corrispondenza:

Dr. Giulio Pompilio

Dipartimento di Chirurgia Cardiovascolare
Università degli Studi
Centro Cardiologico Monzino IRCCS
Via Parea, 4
20138 Milano
E-mail: giulio.pompilio@cardiologicomonzino.it

Introduzione

La terapia dell'insufficienza cardiaca è divenuta una delle sfide più impegnative della moderna medicina occidentale. L'impatto che questa patologia ha acquisito in termini di mortalità e di richiesta di ospedalizzazione è infatti in crescita costante, anche a causa dell'aumentata aspettativa di vita. Si stima che tale patologia colpisca lo 0.4-2% della popolazione generale e il 10% degli anziani[1].

I meccanismi responsabili dell'insufficienza ventricolare sono molteplici: prima fra tutte la cardiopatia ischemica, seguita da affezioni di natura virale, immunopatologica o idiopatica. Il terminale comune di tutte queste patologie è la morte e/o la disfunzione della cellula muscolare cardiaca.

Tra le differenti terapie disponibili rivolte alla cura delle forme più avanzate di scompenso, il trapianto cardiaco e l'assistenza ventricolare meccanica sono attualmente le sole ad offrire la possibilità di modificare drasticamente la storia naturale della malattia[2,3]. Tuttavia, malgrado costanti progressi scientifici e tecnologici, tali terapie sono ancora caratterizzate da alcuni limiti fondamentali: a) l'impossibilità di rispondere al danno cardiomiocitario irreversibile in termini riparativi; b) l'insorgenza di complicanze non trascurabili, quali le infezioni o i fenomeni tromboembolici nelle assistenze ventricolari[3] e la coronarosclerosi nel trapianto cardiaco[4]; c) i limiti di applicabilità, sia per i costi molto elevati, sia per la penuria di donatori[5].

I più recenti progressi della biologia molecolare e cellulare hanno aperto una nuova potenziale finestra terapeutica per il trattamento dell'insufficienza cardiaca: il trapianto cellulare o cardiomioplastica cellulare (CMC)[6].

Cardiomioplastica cellulare: di che cosa si tratta?

Per CMC si intende l'innesto di nuove cellule nel contesto del tessuto miocardico danneggiato, che abbiano la capacità di rigenerare il muscolo cardiaco ripristinando la sua funzione.

Affinché la CMC possa essere utilizzata clinicamente, devono essere stabilite:

- quali sono le linee cellulari più consone per il trapianto: come vedremo, le linee cellulari candidate per CMC sono diverse. Uno degli obiettivi primari è quello di stabilire quali linee cellulari siano più efficaci per l'innesto, anche in relazione al substrato anatomo-patologico bersaglio (area cicatriziale, zona perinfartuale, aree ischemiche);
- quali sono le tecniche più efficaci per l'innesto cellulare: le vie di inoculazione ad oggi ipotizzabili sono: epicardica, endocardica, intracoronarica. I loro limiti e vantaggi sono da mettere in relazione alla possibilità di favorire l'introduzione e la migrazione delle cellule nell'area danneggiata.

Inoltre, da un punto di vista funzionale, i requisiti fondamentali che le cellule innestate devono possedere sono:

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 18.97.14.90 Tue, 10 Mar 2026, 00:56:14

• colonizzare il miocardio (integrazione anatomica). Tale requisito è ovviamente condizione fondante qualsivoglia innesto cellulare terapeutico. Ciò implica che le cellule innestate sono in grado di sopravvivere nel tessuto ricevente, sia esso una cicatrice o tessuto muscolare patologico. È stato ipotizzato che in determinate situazioni di insufficiente apporto ematico, parte delle cellule innestate devono anche essere in grado di contribuire alla propria vascolarizzazione, con la creazione di nuovi vasi (angiogenesi);
• differenziare in senso cardiomiocitario. Le cellule innestate devono possedere una "plasticità" cellulare che permette una loro "riprogrammazione" all'interno del tessuto ricevente;
• contrarsi efficacemente (integrazione funzionale). La candidatura dei vari tipi cellulari, come vedremo successivamente, ricade su cellule che abbiano proprietà contrattili, o che possano acquisirle una volta innestate nel miocardio ricevente;
• creare un accoppiamento elettromeccanico con il tessuto miocardico circostante (integrazione elettromeccanica). Tale requisito è senz'altro difficile da dimostrare. In linea teorica, un cardiomiocita di nuova formazione non soltanto deve contrarsi efficacemente; deve anche poterlo fare in sinergia con il miocardio ospite circostante. Ciò implica che le nuove cellule formino giunzioni intercellulari comunicanti con i cardiomiociti nativi al fine di ricevere lo stimolo elettrico, e che siano in grado di rispondere ad esso. La capacità di accoppiarsi elettromeccanicamente a cellule circostanti può avvenire spontaneamente mediante l'attuazione di un programma differenziativo nella cellula ospite o può essere indotto artificialmente attraverso l'introduzione di geni che favoriscano la formazione di giunzioni comunicanti con i miociti preesistenti.

Le evidenze prodotte in modelli sperimentali suggeriscono che vi sono differenti possibili sorgenti di reperimento di cellule che abbiano le potenzialità di soddisfare in ambito clinico le necessità prima elencate[7]. Di primaria importanza appare di conseguenza nell'uomo la fonte di reperimento cellulare.

Possiamo, per maggiore facilità di descrizione, suddividere le sorgenti di reperimento cellulare potenzialmente utilizzabili in ambito clinico in allogenica e autologa (Tab. I). La derivazione allogenica prevederebbe l'utilizzo di cellule ricavate da embrioni umani, da feti (donatori cadaveri) o da cordone ombelicale, mentre la derivazione autologa invece utilizzerebbe cellule prelevate dallo stesso paziente destinato a ricevere la CMC. Vediamo in dettaglio le evidenze scientifiche ad oggi disponibili.

Tabella I. Potenziali fonti di reperimento per cardiomioplastica cellulare nell'uomo.

Derivazione allogenica: embrione, feto o cordone ombelicale
Cellule staminali pluripotenti
Cardiomiociti fetali
Derivazione autologa
Cellule muscolari scheletriche/lisce
Cardiomiociti (maturi o precursori)
Cellule del midollo osseo (cellule staminali ematopoietiche e mesenchimali)

Cardiomioplastica cellulare allogenica

Per allogenica, si intende una fonte di reperimento geneticamente non identica al ricevente. Allo stato attuale, i tipi cellulari allogenici più sperimentati per prospettive di trapianto nell'uomo sono le cellule staminali embrionali (ES) umane, i cardiomiociti fetali (CF) o neonatali, e le cellule staminali ematopoietiche (CSE) da cordone ombelicale.

Cellule staminali embrionali. Vi sono sempre maggiori evidenze sperimentali che le ES derivate da blastocisti umana (hES) possano essere selezionate e coltivate *in vitro*. Queste cellule hanno la proprietà di essere "totipotenti", cioè in grado di differenziarsi *in vitro* ed *in vivo* in molti tipi cellulari differenti. Recentemente, si è dimostrato che varie linee di ES umane sono in grado di dare origine in coltura a cellule nervose, cellule ematopoietiche e cellule endoteliali[8]. La prima dimostrazione del potenziale cardiomiogenico delle hES è stata data da Itskovitz-Eldor et al.[9] che hanno selezionato tra i differenti tipi cellulari ottenuti dal differenziamento *in vitro* delle hES delle cellule simili a cardiomiociti, con capacità contrattili. Seguendo questa linea di ricerca, Kehat et al.[10] hanno dimostrato la presenza di cardiomiociti in fase precoce di differenziazione ottenuti da colture di cellule staminali di derivazione embrionale. Tali cellule hanno dimostrato avere le proprietà ultrastrutturali, genetiche e funzionali dei cardiomiociti differenziati.

Il potenziale vantaggio dell'utilizzazione delle hES rispetto alle cellule staminali adulte è la illimitata capacità di proliferare *in vitro* e di generare un'amplissima gamma di linee cellulari[11].

Tuttavia, il loro impiego clinico è ancora ipotesi sperimentale[12,13]. Di là da importanti problematiche etiche legate all'utilizzazione di embrioni umani, vi sono anche potenziali significative limitazioni per un impiego terapeutico. Infatti, le hES più indifferenziate possono dare formazione a tumori benigni (teratomi) e maligni (teratocarcinomi)[11]. In secondo luogo, l'aspetto immunologico non è stato ancora approfondito e non è chiaro se cellule derivate dalle hES *in vitro* possano dar luogo ad una reazione immunitaria da parte dell'organismo ricevente[11]. Sebbene entrambe queste problematiche potranno in futuro essere risolte con l'ingegneria genetica, che permetterà di selezionare cellule già inizialmente differenziate verso il "lineage" desiderato e non immunogeniche, l'utilizzo clinico delle hES appare oggi ancora ipotetico.

Cardiomiociti fetali. Studi sperimentali hanno dimostrato la fattibilità del trapianto di CF in una cicatrice

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 18.97.14.90 Tue, 10 Mar 2026, 00:56:14

miocardica. I CF appaiono dopo l'innesto come veri e propri cardiomiociti, con sarcomeri e giunzioni intercellulari composte da desmosomi e fascia "adherens"[14]. Inoltre, 2 settimane dopo l'impianto, tali cellule compartecipano del supporto ematico del tessuto ricevente[15]. Li et al.[16] hanno dimostrato, in preparato isolato di cuore di roditore (modello di Langendorff), che dal punto di vista funzionale il tessuto neomiocardico formato da CF ha la capacità di contenere l'espansione cicatriziale postinfartuale e migliorare la contrattilità ventricolare. Un'analoga osservazione sperimentale è stata condotta da Scorsin et al.[17] con il trapianto di CF in animali adulti portatori di ischemia miocardica acuta. I parametri emodinamici (frazione di eiezione, indice cardiaco) erano migliori nei roditori sottoposti a CMC con CF rispetto ai controlli. Inoltre, l'area infartuale si dimostrava significativamente ridotta.

Tuttavia, sebbene l'impiego di CF a scopo terapeutico appaia dal punto di vista sperimentale molto promettente, rimangono irrisolte le problematiche sovraesposte a proposito delle ES: il potenziale immunologico, tumorigeno e infettivo. Gli stessi esperimenti di Scorsin et al.[17] sono stati effettuati in roditori immunosoppressi, mentre Li et al.[18] hanno dimostrato in animali da esperimento trattati con ciclosporina come si verifichi un certo grado di rigetto dei CF innestati nonostante la terapia immunosoppressiva. Infine, non da sottovalutare nel caso di questo modello è la difficoltà di un reperimento quantitativamente significativo per un largo uso clinico di queste cellule.

Cellule staminali da cordone ombelicale umano. Diversi studi in topi e ratti immunosoppressi hanno mostrato che cellule staminali $CD34^+$ ottenute dal sangue del cordone ombelicale umano hanno la potenzialità di colonizzare tessuti ischemici e dare origine a cellule endoteliali e vasi neoformati[19,20]. Nostri dati recenti ancora non pubblicati suggeriscono che oltre alla descritta capacità a differenziare verso il "lineage" endoteliale, le cellule $CD34^+$ del cordone ombelicale umano danno origine a cellule muscolari scheletriche (CMS) nell'arto ischemico ed *in vitro* in esperimenti di riaggregazione con mioblasti murini. Ciò suggerisce che queste cellule posseggono una capacità differenziativa superiore rispetto a quanto descritto precedentemente e che esse rappresentano probabilmente cellule in grado di colonizzare con successo il miocardio e differenziare in cardiomiociti.

Le problematiche sovraesposte sono potenzialmente risolvibili solamente con l'uso di cellule geneticamente identiche al ricevente. La cardiomioplastica autologa si propone proprio questo scopo.

Cardiomioplastica cellulare autologa

Per autologa si intende una fonte di reperimento geneticamente identica al ricevente. Nella tabella II[21-34] vengono riportati i maggiori studi sperimentali che sono stati effettuati con diversi tipi cellulari potenzialmente utilizzabili nell'uomo. Vediamoli in dettaglio.

Cellule staminali isolate dall'individuo adulto. Le cellule staminali sono cellule indifferenziate con la caratteristica di rinnovarsi e di dare origine ad una progenie di cellule differenziate. Studi recenti hanno dimostrato la presenza di tali cellule in diversi tessuti adulti, come il sistema nervoso, il muscolo scheletrico, il midollo osseo, il fegato e l'epidermide. Fino a poco tempo fa si riteneva che tali cellule fossero in grado di rigenerare solo il tessuto nel quale risiedevano. Senza entrare in dettaglio, in quanto una descrizione accurata dell'argomento esula dai propositi di questo lavoro, ricordiamo che negli ultimi anni, numerose evidenze sperimentali hanno smentito tale dogma dimostrando come cellule isolate da un determinato tessuto sono in grado di transdifferenziare in cellule di un tessuto di origine diversa[35]. Attualmente le cellule staminali del midollo osseo (CMO) costituiscono una fonte di reperimento molto promettente per CMC autologa in ambito clinico. Il crescente interesse cardiologico nei confronti delle CMO deriva dal fatto che recenti evidenze sperimentali effettuate *in vitro* hanno dimostrato che esse possono essere indotte a differenziarsi sia in cardiomiociti che in cellule endoteliali di nuovi vasi[36]. Nel midollo si trovano principalmente due differenti popolazioni cellulari: a) le CSE e b) le cellule staminali mesenchimali (CSM). Da studi molto recenti, esisterebbero poi cellule staminali addirittura residenti nel miocardio stesso (cellule staminali cardiache).

Cellule staminali ematopoietiche. Le CSE presentano un'elevata plasticità nel generare non soltanto le cellule del sangue, bensì diversi tipi di cellule mature, quali cellule muscolari lisce, cardiomiociti[30] e CMS[37]. Questa loro plasticità è determinata dalla presenza, nell'ambito della popolazione di CSE, di precursori cellulari che possono essere identificati dall'espressione di specifici marker di superficie come le molecole c-kit, CD34 e Sca-1. La possibilità di identificare cellule staminali in base all'espressione di marker di superficie ha permesso di individuare, nel midollo osseo, sottopopolazioni cellulari con diverso potenziale differenziativo. In particolare è stato dimostrato come cellule $c\text{-}kit^+$ e $Sca\text{-}1^+$, note anche con il nome di "side population", che costituiscono lo 0.05% delle cellule totali presenti nel midollo osseo, abbiano un'elevata capacità di ripopolare il midollo osseo in animali irradiati e di contribuire alla rigenerazione del tessuto cardiaco ischemico[29]. L'espressione del marcatore CD34 identifica, invece, le cellule progenitrici di endotelio[38], le quali, in seguito ad ischemia del tessuto scheletrico[39] o del tessuto cardiaco[40], e/o a trattamenti con citochine quali il "granulocyte macrophage-colony stimulating factor"[41] e fattori angiogenici (fattore di crescita vascolare endoteliale)[42] sono mobiliz-

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 18.97.14.90 Tue, 10 Mar 2026, 00:56:14

Tabella II. Cardiomioplastica cellulare autologa: sintesi delle maggiori ricerche sperimentali con sorgenti cellulari di potenziale utilizzazione clinica.

Autore	Animale	Modello sperimentale	Cellule/somministrazione	Risultati
Chiu et al.[21], 1995	Cane	Criolesione/cellule autologhe	CMS/impianto intramiocardico	CMS impiantate con caratteristiche strutturali conservate
Taylor et al.[22], 1998	Coniglio	Criolesione	CMS/impianto intramiocardico	Evidenza di parziale attecchimento nel miocardio; in 5/12 animali funzione ventricolare migliorata
Tomita et al.[23], 1999	Ratto	Criolesione del miocardio/cellule autologhe	CSM (5-azacitidina)/ impianto intramiocardico	Differenziazione *in vitro* in neo-cardiomiociti; induzione di angiogenesi; miglioramento della funzione ventricolare
Atkins et al.[24], 1999	Coniglio	Criolesione/cellule autologhe	CMS/impianto intramiocardico	Attecchimento di CM impiantate. Presenza di cardiomiociti immaturi
Sakai et al.[25], 1999	Ratto	Criolesione/cellule isogeniche	CA atriali/impianto intramiocardico	Attecchimento dei CA che non si contraggono. Limitazione dell'espansione della cicatrice
Yoo et al.[26], 2000	Cavie	Cardiopatia dilatativa/modello di Langendorff	CML/impianto intramiocardico	Attecchimento delle CML con miglioramento della funzione ventricolare
Yoo et al.[27], 2000	Cavia	Cardiopatia dilatativa/cellule autologhe/modello di Langendorff	CA/impianto intramiocardico	Isole di CA nel miocardio nativo; incremento della funzione ventricolare
Li et al.[28], 2000	Maiale	Infarto/cellule autologhe	CA setto/impianto intramiocardico	Dimostrazione SPECT di perfusione e contrazione nell'infarto
Jackson et al.[29], 2001	Topi irradiati	Infarto (occlusione IVA)/cellule eterologhe	CSE/mobilizzazione indiretta	Colonizzazione della regione perinfartuale (letto vascolare)
Orlic et al.[30], 2001	Topi transgenici	Infarto (occlusione IVA)	CSE ($Lin^{-}c\text{-}kit^{POS}$)/ impianto intramiocardico	Formazione di neocardiomiociti, arteriole e capillari
Kocher et al.[31], 2001	Ratto	Infarto (occlusione IVA)	CSE ($CD34^{+}$ e $CD117^{+}$)/impianto intramiocardico	Identificazione delle sottopopolazioni di CSE coinvolte nei processi riparativi ed angiogenici
Wang et al.[32], 2001	Ratto	Infarto (occlusione IVA)/cellule isogeniche	CSM/iniezione intracoronarica	CSM nella circolazione capillare, e poi nel miocardio nativo
Hamano et al.[33], 2002	Cane	Ischemia/infarto cronici	CMO/impianto intramiocardico	Aumento vascolarizzazione ed ispessimento perinfartuale
Tomita et al.[34], 2002	Maiale	Infarto (occlusione IVA)/cellule autologhe	CSM/impianto intramiocardico	Le CSM formano isole di neo-cardiomiociti con induzione di angiogenesi; miglioramento della funzione ventricolare

CA = cardiomiociti; CML = cellule muscolari lisce; CMO = cellule staminali del midollo osseo; CMS = cellule muscolari scheletriche; CSE = cellule staminali ematopoietiche; CSM = cellule staminali mesenchimali; IVA = arteria coronaria interventricolare anteriore; SPECT = tomografia computerizzata ad emissione di fotone singolo.

zate dal midollo osseo nel circolo periferico e reclutate a formare nuovi vasi nei tessuti danneggiati. Tali evidenze sperimentali, insieme alla dimostrazione che cellule staminali sono normalmente presenti nel circolo periferico e sono in grado di differenziare in diversi tipi cellulari[43], offrono la possibilità di sviluppare un nuovo approccio terapeutico non invasivo, per la rigenerazione del tessuto cardiaco.

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 18.97.14.90 Tue, 10 Mar 2026, 00:56:14

Cellule staminali mesenchimali. Le CSM sono cellule staminali derivate dalla frazione stromale, non ematopoietica, del midollo osseo. Se trapiantate in sede ectopica possono dare origine a tessuti che derivano dal mesoderma embrionale, come tessuto adiposo, tessuto connettivo e il tessuto reticolare di supporto dei vasi sanguigni. In realtà la plasticità di tali cellule è ben più ampia in quanto, studi recenti dimostrano che le CSM sono in grado di generare cellule derivanti da un foglietto embrionale diverso dal mesoderma, come le cellule neuronali[44] e cardiache[45]. Sulla base di tali evidenze sperimentali e considerata la relativa facilità di isolamento e di espansione in coltura delle CSM, è naturale ritenere queste cellule tra i migliori candidati da poter utilizzare per fini terapeutici volti alla ricostruzione di diversi tessuti.

Cellule staminali cardiache. Per lungo tempo si è ritenuto che le cellule cardiache adulte, fossero terminalmente differenziate, incapaci di rinnovarsi e pertanto di rigenerare il miocardio. Tale dogma è stato recentemente demolito da una recente pubblicazione[46] in cui gli autori mostrano la presenza di cardiomiociti proliferanti nel miocardio infartuato. Ma qual è l'origine di tali cellule? Una risposta a questa domanda è stata fornita da Quaini et al.[47] i quali hanno individuato cellule staminali, c-kit$^+$, Sca-1$^+$ e MDR1$^+$, nell'atrio e nell'apice del ventricolo del miocardio. L'identificazione di tali cellule è il risultato di una serie di esperimenti volti a caratterizzare il fenomeno del chimerismo nei trapianti cardiaci. Analizzando cuori umani trapiantati in individui di sesso maschile e provenienti da individui di sesso femminile mediante una tecnica che permette di evidenziare il cromosoma Y, la presenza di cellule del recipiente sono state identificate all'interno del cuore trapiantato dimostrando, dunque, il fenomeno del chimerismo. Tuttavia la maggior parte delle cellule c-kit$^+$ e MDR1$^+$ non erano Y$^+$, suggerendo l'ipotesi che cellule staminali cardiache risiedano nel miocardio.

Studi sperimentali. Linee cellulari a potenziale cardiomiogenico sono state isolate per la prima volta da cellule stromali del midollo osseo di murena[45]. Tali cellule, opportunamente coltivate *in vitro* e trattate con 5-azacitidina, un agente demetilante analogo della citosina, in grado di alterare l'espressione di geni coinvolti nel differenziamento muscolare[48], si sono rivelate capaci di creare giunzioni intercellulari con le cellule circostanti, di contrarsi, formando strutture intracellulari simili a miotubuli, e di battere in sincronia, rispettivamente dopo 1, 2 e 3 settimane dall'inizio del trattamento *in vitro*. L'osservazione ultrastrutturale ha rivelato la presenza di sarcomeri e organelli intracellulari simili ai cardiomiociti. È stata inoltre osservata una positività ad anticorpi per miosina cardiaca, desmina ed actina. L'analisi delle isoforme delle proteine contrattili ha rivelato che tali cellule possiedono un pattern di espressione genica simile a cardiomiociti in fase di differenziazione (ad esempio, l'espressione di geni regolatori della cardiogenesi quali il MEF-2A e il MEF-2C).

I modelli sperimentali hanno permesso di definire anche il ruolo delle CMO nella CMC autologa. Ad esempio, Jackson et al.[29] hanno trapiantato CSE in topi irradiati che sono stati successivamente sottoposti a legatura dell'arteria coronaria interventricolare anteriore (IVA). La successiva analisi del tessuto infartuale ha rivelato la presenza delle CSE del ricevente, suggerendo che le cellule staminali erano state mobilizzate dal midollo ed indotte a colonizzare il miocardio da non precisati fattori di mobilizzazione e reclutamento all'interno della lesione infartuale.

Risultati ancora più promettenti si sono ottenuti con inoculazione diretta intramiocardica. Orlic et al.[30] hanno utilizzato CSE per CMC autologa diretta nel topo. Il modello utilizzato è quello infartuale attraverso la legatura dell'IVA. Cellule staminali purificate per mezzo di un marker cellulare di superficie (Lin$^-$c-kit^{POS}), sono state iniettate nel miocardio perinfartuale. Nove giorni dopo l'impianto, si è osservata la formazione di neocardiomiociti, di endotelio vascolare e di cellule muscolari lisce. Il risultato è quindi la creazione di nuovo tessuto miocardico comprensivo di letto vascolare (arteriole e capillari). Tale rigenerazione interessa fino al 68% della preesistente area infartuale. Inoltre, la sopravvivenza dei topi sottoposti a CMC si dimostra superiore ai controlli. In un precedente studio, Tomita et al.[23], utilizzando un modello di lesione "a frigore" (-190°C con azoto liquido) del miocardio, avevano dimostrato che cellule progenitrici del midollo precedentemente trattate con 5-azacitidina e successivamente impiantate nella lesione si differenziavano in cellule muscolari cardiache, con espressione tipica di catene miosiniche pesanti e troponina I. Da un punto di vista funzionale, i cuori sottoposti a CMC autologa possedevano rispetto ai controlli una funzione cardiaca migliore in termini di lavoro ventricolare. Inoltre, le cellule impiantate erano in grado di indurre angiogenesi nella cicatrice infartuale, provvedendo a produrre i substrati necessari per la creazione di un letto vascolare.

Dalle suddette evidenze sperimentali appare quindi come le CMO abbiano un grande potenziale terapeutico per la rigenerazione del tessuto miocardico danneggiato, essendo in grado di differenziarsi sia in cardiomiociti che in neovasi, potendo quindi essere impiegate sia con finalità riparative, che di rivascolarizzazione. Un importante contributo a questa teoria è stato fornito da Kocher et al.[31]. Utilizzando CSE in un modello infartuale di ratto, essi hanno isolato le frazioni di CSE coinvolte nel processo riparativo ed angiogenico, identificate con i marker di superficie cellulare CD34 e CD117 (cellule progenitrici di endotelio). L'impiego associato di tali sottopopolazioni ha contemporaneamente permesso di ridurre l'area cicatriziale e la deposizione di collagene, e di migliorare l'apporto ematico della zona perinfartuale. Quindici settimane dopo l'infarto, la percentuale di cicatrice rispetto al tessuto vita-

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 18.97.14.90 Tue, 10 Mar 2026, 00:56:14

le era del 13% negli animali sottoposti a CMC con CSE, contro il 36-45% dei controlli.

Hamano et al.[33] hanno recentemente utilizzato un modello di ischemia/infarto cronico nel cane, con impianto autologo di cellule prelevate dal midollo osseo. Tale studio preclinico ha dimostrato che l'impianto di CMO prelevate dalla cresta iliaca e purificate è in grado, rispetto ai controlli, di ispessire la regione miocardica cronicamente ischemica, e l'esame istologico ha evidenziato un aumento del numero dei capillari. Dal punto di vista funzionale, l'analisi ecocardiografica non ha permesso invece di evidenziare un incremento significativo della contrattilità ventricolare. Gli autori hanno concluso che le CMO impiantate con questa tecnica hanno proprietà cardiomiogeniche ed angiogeniche, pur non essendo probabilmente così numerose da incidere sulla funzione contrattile dell'area ischemico-infartuale. Un secondo studio preclinico molto interessante è stato recentemente condotto da Tomita et al.[34], utilizzando un modello infartuale nel maiale. Le CSM sono state aspirate dallo sterno, coltivate ed incubate con 5-azacitidina. Una volta iniettate nella regione infartuale, le CSM hanno dato luogo dopo 4 settimane dall'impianto a isole di neocardiomiociti (con sarcomeri, bande Z e positività per troponina I), supportate da una rete vascolare, in grado di ispessire significativamente la regione cicatriziale. Dal punto di vista dell'emodinamica cardiaca, si è inoltre notato che i cuori sottoposti a CMC sviluppavano un lavoro cardiaco maggiore rispetto ai controlli, con volumi sisto-diastolici indicativi di un minore rimodellamento postinfartuale. Questo studio dimostra quindi che la CMC con CMO è potenzialmente efficace nel migliorare la funzione ventricolare nella cardiopatia dilatativa ad eziologia ischemica.

Cellule muscolari. Una seconda interessante fonte per CMC nell'uomo è rappresentata dalle CMS e dalle cellule muscolari lisce. La facilità di reperimento e la possibilità di espansione *in vitro* ha fatto di queste cellule la prima fonte di utilizzazione per CMC dapprima in animale da esperimento e, più recentemente, anche in ambito clinico.

Un promettente tipo cellulare di precursori di CMS di potenziale utilizzo clinico sono le cellule satelliti. Si tratta di cellule staminali miogeniche che si trovano in prossimità della lamina basale delle miofibrille, coinvolte nei meccanismi di rigenerazione muscolare dopo traumi. L'interesse per tali cellule deriva dalla facilità con cui possono essere isolate da biopsie muscolari e quindi utilizzate nell'uomo per CMC autologa e dalla recente evidenza che precursori miogenici con un potenziale differenziativo più ampio, sono presenti nel midollo osseo[49]. Cellule satelliti isolate e trapiantate nel miocardio hanno dimostrato di possedere alcune caratteristiche istologiche simili ai cardiomiociti[50] e di contrarsi efficacemente[51]. Un ulteriore vantaggio offerto dalle CMS è la capacità di acquisire resistenza alla fatica, modificando le caratteristiche delle proteine contrattili[52].

D'altro canto, l'impossibilità dei miociti di origine scheletrica a stabilire giunzioni di tipo comunicante ("gap junctions"), fa supporre che queste cellule non possano accoppiarsi elettromeccanicamente con i cardiomiociti e che quindi la loro funzione si esplichi essenzialmente a livello meccanico (ispessimento della cicatrice infartuale) più che meccanico-funzionale (contributo alla contrazione).

Studi sperimentali. Un importante modello sperimentale di CMC con CMS è stato messo a punto da Taylor et al.[22]. Essi hanno trapiantato da fonte autologa mioblasti scheletrici nel miocardio di coniglio 1 settimana dopo criolesione transmurale. I risultati sono stati parzialmente incoraggianti per quanto riguarda attecchimento e funzionalità: in 7 conigli su 12 si è osservato l'attecchimento delle CMS. L'analisi istologica ha dimostrato isole di strutture miotubulari nel contesto della regione cicatriziale, con positività alla miogenina, caratteristica delle cellule trapiantate. In un gruppo più ristretto (5 animali) la funzione ventricolare sistolica e diastolica risultava significativamente migliore rispetto ai controlli. Tuttavia, un reperto controverso di questa serie di esperimenti è stata la relativamente scarsa quantità di CMS isolate nel contesto del miocardio sottoposto a trapianto, rispetto alla presenza di cellule con caratteristiche di cardiomiociti. Gli autori hanno sostenuto l'ipotesi della differenziazione non terminale delle CMS, che in un "milieu" miocardico sarebbero capaci di trasformarsi in cellule cardiache. A corroborare questa tesi, lo stesso gruppo[24], con un modello di infarto nel coniglio, suggerisce la possibilità della differenziazione di cardiomiociti immaturi dalle cellule muscolari impiantate (reperiti alla periferia dell'impianto cellulare).

Tuttavia, senza addentrarci in difficili disquisizioni sulla natura dei cardiomiociti immaturi nel contesto di tessuto riparativo (si pensi alle recenti tesi sulle cellule staminali miocardiche), sembra improbabile una tale ipotesi. Vi sono infatti fondamentali differenze di struttura tra i miociti scheletrici e quelli cardiaci, che rendono problematica l'integrazione funzionale delle CMS nel miocardio. La prima differenza è la mancanza di giunzioni intercellulari di tipo "gap junctions" nelle CMS[53,54]; la seconda riguarda l'isoforma del recettore diidropiridinico, responsabile della trasformazione dell'impulso elettrico in contrazione meccanica[55]. Queste differenze rendono evidentemente impossibile alle CMS un accoppiamento elettromeccanico nel contesto del tessuto miocardico. D'altra parte, un dato a favore delle CMS è la dimostrazione di un'alta resistenza nel contesto del tessuto miocardico. In un modello canino di trapianto autologo, esse sono state trovate vitali a 3 mesi dall'impianto[21].

Studi sperimentali di CMC autologa sono stati condotti anche utilizzando cellule muscolari lisce. Queste possono facilmente essere prelevate e coltivate *in vitro*, avendo anche la capacità di produrre fattori angiogeni-

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 18.97.14.90 Tue, 10 Mar 2026, 00:56:14

ci come il fattore di crescita vascolare endoteliale e quindi di stimolare una rete vasale di supporto. Il gruppo di ricerca di Toronto[26,56] ha impiantato cellule muscolari lisce in cavie con cardiomiopatia dilatativa, valutando a 4 settimane la funzione ventricolare sinistra in cuore isolato. Rispetto ai controlli, i cuori sottoposti a CMC dimostravano un incremento significativo del lavoro ventricolare ed una diminuzione dei volumi.

Le CMS tuttavia hanno le stesse limitazioni funzionali delle CMS per un'integrazione elettrica con i cardiomiociti circostanti.

Studi clinici. Precursori di CMS (cellule satelliti) sono state le prime linee cellulari utilizzate per CMC nell'uomo, grazie alla facilità di prelievo e di coltura ed alle incoraggianti evidenze sperimentali. Pioniere di queste ricerche è il gruppo di Menasché a Parigi. CMS autologhe (a larga percentuale mioblasti) prelevate dal muscolo vastus lateralis, ed opportunamente coltivate *in vitro*, sono state impiantate nel contesto di una cicatrice infartuale della parete ventricolare posteriore, con iniezione intramiocardica, in paziente portatore di insufficienza cardiaca congestizia (frazione di eiezione ecocardiografica bidimensionale 21%). La procedura è stata effettuata contestualmente all'esecuzione di bypass coronarici. Cinque mesi dopo l'intervento, i controlli hanno dimostrato un incremento della frazione di eiezione globale (30%) e una ripresa della contrazione in parete posteriore (sede di CMC). Inoltre, uno studio con tomografia computerizzata ad emissione di positroni ha dimostrato un moderato aumento di attività metabolica nel contesto della parete posteriore trapiantata[57]. Questi dati clinici preliminari suggeriscono che nell'uomo la CMC con CMS ha fornito incoraggianti risultati. Naturalmente, come sottolinea lo stesso Menasché, rimangono interrogativi aperti a riguardo dell'effettiva capacità delle cellule muscolari a partecipare sinergicamente alla contrazione ventricolare e al destino delle cellule muscolari trapiantate nel lungo periodo.

Cardiomiociti. La terza promettente linea cellulare per utilizzo clinico in cardiomioplastica autologa è ovviamente rappresentata dalle stesse cellule muscolari cardiache mature. In linea teorica, il prelievo autologo di cardiomiociti nel cuore umano è possibile sia durante intervento cardiochirurgico, sia con prelievo bioptico, rendendo i cardiomiociti una sorgente cellulare percorribile in ambito clinico.

Studi sperimentali. L'uso di cardiomiociti adulti eviterebbe le limitazioni pratiche ed etiche legate all'utilizzo di CF. Il gruppo di ricerca di Toronto ha largamente utilizzato, in analogia con gli esperimenti effettuati con CF, cardiomiociti prelevati da animali adulti per CMC in modelli di cardiopatia ischemica e dilatativa. Nei ratti, cellule miocardiche atriali autologhe adulte espanse in coltura sono state impiantate in aree miocardiche danneggiate da criolesione[25]. I cardiomiociti atriali sono stati capaci di sopravvivere nel tessuto cicatriziale, limitando l'espansione della necrosi e migliorando la performance ventricolare rispetto ai controlli. Tuttavia, tali cellule non hanno dimostrato proprietà contrattili, e la capacità di allinearsi come cardiomiociti nativi all'interno della cicatrice, comportandosi similmente alle CMS. Osservazioni analoghe sono state condotte con il trapianto di cardiomiociti adulti sul cuore isolato di cavia con cardiopatia dilatativa[27].

In seguito, lo stesso gruppo ha condotto un promettente studio preclinico su maiale con un modello sperimentale di necrosi-ischemia e contemporaneo prelievo bioptico settale di cardiomiociti autologhi[28]. Tali cellule, coltivate ed espanse, sono state direttamente iniettate nell'area necrotica. Sebbene l'osservazione *in vitro* non era stata in grado di rivelare proprietà contrattili, l'analisi ultrastrutturale ed immunoistochimica confermava le caratteristiche di normali cardiomiociti. Un'analisi scintigrafica (tomografia computerizzata ad emissione di fotone singolo) effettuata dopo l'impianto ha evidenziato, rispetto ai controlli, una maggiore perfusione e aumentati indici di contrattilità regionale nel contesto della cicatrice iatrogena negli animali sottoposti a CMC autologa.

I cardiomiociti possiedono tuttavia alcune limitazioni legate alla difficoltà di prelievo, di coltura ed espansione *in vitro*, nonché al reale potenziale terapeutico dopo l'impianto. Uno studio comparativo effettuato su cuore isolato di cavia tra cardiomiociti e cellule muscolari lisce in modello di cardiopatia dilatativa, ha infatti evidenziato una possibile superiorità delle cellule muscolari lisce nel migliorare la funzione ventricolare[58].

Considerazioni finali

Dai dati in nostro possesso emerge che ogni linea cellulare proposta per CMC autologa offre vantaggi e limiti peculiari in vista di un impiego clinico.

Le CMS sono facilmente reperibili ed espandibili in coltura. Tuttavia, non è chiaro se esse siano in grado di integrarsi anatomicamente e funzionalmente con il tessuto cardiaco circostante, creando una rete vascolare di supporto e giunzioni intercellulari atte ad una loro contrazione sincrona con il battito cardiaco. Non è chiaro inoltre se possano differenziarsi in vere cellule cardiache o siano altrimenti in grado di riprogrammarsi in cellule resistenti alla fatica.

I cardiomiociti autologhi sono teoricamente cellule perfette per CMC. Tuttavia è complesso il loro prelievo (biopsia endocardica) e l'espansione *in vitro*. Gli esperimenti sono stati finora condotti con sole cellule fetali, che pongono sia problemi di rigetto che etici. Le cellule staminali cardiache (qualora potessero essere isolate ed espanse *in vitro*) potrebbero rappresentare un'interessante fonte autologa per l'impiego clinico.

Le cellule staminali di derivazione dal midollo osseo sono la scoperta più recente. Sebbene la loro utiliz-

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 18.97.14.90 Tue, 10 Mar 2026, 00:56:14

zazione appaia promettente (relativa facilità di prelievo autologo e capacità sperimentale di transdifferenziazione in cardiomiociti ed endotelio), rimangono molti punti da chiarire in merito al loro reale potenziale differenziativo nell'uomo[59].

Per tutte le linee cellulari, sono poi necessari studi approfonditi per analizzare l'effettiva funzionalità e capacità di sopravvivenza nel tempo nel contesto del tessuto miocardico danneggiato.

Infine, per ogni trasferimento cellulare sarà importante stabilire il numero ottimale di cellule da iniettare. Benché nella maggioranza degli esperimenti il numero di cellule iniettate si aggiri su diversi milioni, tale numero è probabilmente insufficiente a generare un incremento di funzione ventricolare clinicamente rilevabile. Come suggerito dagli studi di Orlic et al.[30,41], il successo della CMC sembrerebbe piuttosto dipendere dalla capacità delle cellule (nel caso specifico cellule staminali) di proliferare autonomamente nel tessuto miocardico.

Appare evidente quanta ricerca aggiuntiva allo stato delle nostre conoscenze sia oggi necessaria.

Il futuro?

Sulla scorta delle evidenze sperimentali e dei pionieristici tentativi in ambito clinico, la CMC autologa non sembra essere soltanto un sogno di pochi ricercatori. Certamente, in ambito clinico, tutto deve ancora essere dimostrato. Tuttavia, si possono fin da ora prevedere quali saranno i punti "strategici" sui quali si concentreranno i prossimi studi clinici e sperimentali.

Il paziente. Essenziale sarà l'identificazione dei pazienti cardiopatici che possono meglio rispondere alla terapia cellulare. Ciò per quanto riguarda il substrato anatomico responsabile (eziologia ischemica, idiopatica, ecc.), il grado di severità e di progressione della malattia, ed infine il ruolo della CMC nei confronti delle terapie tradizionali. Gli studi clinici pilota dovranno quindi essere randomizzati e caso-controllo per classe di patologia.

Le cellule. Sarà un punto critico di ricerca e discussione. Al momento, sembra probabile che i tipi cellulari che verranno per primi utilizzati per trapianto autologo, per praticità di prelievo ed eventualmente di coltura *in vitro*, saranno le cellule di derivazione del midollo osseo (staminali ematopoietiche e mesenchimali) e le CMS progenitrici (cellule satelliti). Non è da escludere che differenti linee cellulari possano rivelarsi più efficaci in diverse condizioni patologiche (cicatrice infartuale, aree ischemiche, miopatia primitiva), e che quindi si possa prefigurare un'utilizzazione combinata per coprire diversi obiettivi terapeutici.

La via di somministrazione. Al momento, la metodica di somministrazione delle cellule più utilizzata nei modelli animali è l'inoculazione intramiocardica diretta. Questa potrà avvenire sia per via chirurgica (epicardica), che percutanea, con appositi cateteri (via endocardica). Una terza possibilità è offerta dalla somministrazione intracoronarica, già utilizzata per veicolare nell'uomo fattori di crescita angiogenici e, nell'animale da esperimento, cellule autologhe[32,60], che tuttavia potrebbe rivelarsi non così efficace come la somministrazione diretta, perché meno precisa nel raggiungere le aree miocardiche bersaglio.

L'ingegneria molecolare e cellulare. Le possibilità offerte dall'ingegneria molecolare aprono nuovi scenari nel campo della terapia cellulare. Si pensi ad esempio alla possibilità di effettuare un trasferimento genico attraverso cellule trapiantate ingegnerizzate. Per esempio, la CMC con cellule che esprimono fattori di crescita angiogenici (fattore di crescita fibroblastico, fattore di crescita vascolare endoteliale) può indurre un'importante neovascolarizzazione collaterale, aumentando le possibilità di sopravvivenza delle cellule impiantate ed eventualmente reclutando alla contrazione aree miocardiche contigue ibernate. Un'ulteriore possibilità è la costruzione di graft cellularizzati con cellule autologhe, con capacità contrattile e potenziale di crescita, da utilizzare in interventi riparativi del cuore o dei grossi vasi, soprattutto nelle cardiopatie congenite[61].

In conclusione, la CMC è una materia complessa ed in continua evoluzione, che ha la potenzialità di offrire nuove prospettive al paziente cardiopatico. Il suo trasferimento in ambito clinico appare oggi auspicabile sulla base dei dati a nostra disposizione. Soltanto la perseveranza e la serietà dei ricercatori permetteranno di raggiungere nel prossimo futuro le risposte che attendiamo.

Riassunto

La cardiomioplastica cellulare autologa è una nuova promettente opzione terapeutica per l'insufficienza cardiaca, che emerge da molteplici evidenze sperimentali. In questo lavoro, vengono riassunti i maggiori studi sperimentali in materia ed i primi studi clinici. Si è cercato inoltre di sintetizzare brevemente i requisiti teorici ed applicativi per una corretta utilizzazione clinica e le prospettive future offerte dall'ingegneria cellulare.

Parole chiave: Cardiomiopatie; Infarto miocardico; Insufficienza cardiaca.

Bibliografia

1. Dargie HJ, McMurray J. Chronic heart failure: epidemiology, aetiology, pathophysiology and treatment. In: Rowlands DJ, ed. Recent advances in cardiology II. London: Churchill Livingstone, 1992: 73-114.

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 18.97.14.90 Tue, 10 Mar 2026, 00:56:14

2. Hosenpud JD, Bennett LE, Keck BM, Fiol B, Boucek MM, Novick RJ. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: sixteenth official report-1999. J Heart Lung Transplant 1999; 18: 611-26.
3. Rose EA, Gelijns AC, Moskowitz AJ, et al. Long-term mechanical left ventricular assistance for end-stage heart failure. N Engl J Med 2001; 20: 1435-43.
4. Thompson JG. Atheroma in a transplanted heart. Lancet 1969; 2: 1297.
5. El Oakley RM, Yonan NA, Simpson BM, Deiraniya AK. Extended criteria for cardiac allograft donors: a consensus study. J Heart Lung Transplant 1996; 15: 255-9.
6. Kedes L, Kloner RA, Starnes VA. Can a few good cells now mend a broken heart? J Clin Invest 1993; 92: 1115-6.
7. El Oakley RM, Ooi OC, Bongso A, Yacoub MH. Myocyte transplantation for myocardial repair: a few good cells can mend a broken heart. Ann Thorac Surg 2001; 71: 1724-33.
8. Reubinoff BE, Pera MF, Fong CY, Trounson A, Bongso A. Embryonic stem cell lines from human blastocysts: somatic differentiation in vitro. Nat Biotechnol 2000; 18: 399-404.
9. Itskovitz-Eldor J, Schuldiner M, Karsenti D, et al. Differentiation of human embryonic stem cells into embryoid bodies compromising the three embryonic germ layers. Mol Med 2000; 6: 88-95.
10. Kehat I, Kenyagin-Karsenti D, Snir M, et al. Human embryonic stem cells can differentiate into myocytes with structural and functional properties of cardiomyocytes. J Clin Invest 2001; 108: 407-14.
11. The human embryonic stem cell and the human embryonic germ cell. In: Stem cells: scientific progress and future research directions. http://www.nih.gov/news/stemcell/scireport.html
12. Jones JM, Thompson JA. Human embryonic stem cell technology. Semin Reprod Med 2000; 18: 219-23.
13. Pedersen RA. Embryonic stem cells for medicine. Sci Am 1999; 280: 68-73.
14. Li RK, Mickle DAG, Weisel RD, Zhang J, Mohabeer MR. In vivo survival and function of trasplanted rat cardiomyocytes. Circ Res 1996; 78: 283-8.
15. Koh GY, Klug MG, Soonpaa MH, Field LJ. Differentiation and long-term survival of C2C12 myoblast grafts in heart. J Clin Invest 1993; 92: 1548-54.
16. Li RK, Jia ZQ, Weisel RD, et al. Cardiomyocyte transplantation improves heart function. Ann Thorac Surg 1996; 62: 654-61.
17. Scorsin M, Hagege AA, Marotte F, et al. Does transplantation of cardiomyocytes improve function of infarcted myocardium? Circulation 1997; 96 (Suppl): 188-93.
18. Li RK, Mickle DAG, Weisel RD, et al. Natural history of fetal rat cardiomyocytes transplanted into adult rat myocardial scar tissue. Circulation 1997; 96 (Suppl): 179-87.
19. Murohara T, Ikeda H, Duan J, et al. Transplanted cord blood-derived endothelial precursor cells augment postnatal neovascularization. J Clin Invest 2000; 105: 1527-36.
20. Schatteman GC, Hanlon HD, Jiao C, Dodds SG, Christy BA. Blood-derived angioblasts accelerate blood-flow restoration in diabetic mice. J Clin Invest 2000; 106: 571-8.
21. Chiu RCJ, Zibaitis A, Kao RL. Cellular cardiomyoplasty: myocardial regeneration with satellite cell implantation. Ann Thorac Surg 1995; 60: 12-8.
22. Taylor DA, Atkins BZ, Hungspreugs P, et al. Regenerating functional myocardium: improved performance after skeletal myoblast transplantation. Nat Med 1998; 4: 929-33.
23. Tomita S, Li RK, Weisel RD, et al. Autologous transplantation of bone marrow cells improves damaged heart function. Circulation 1999; 100 (Suppl): 247-56.
24. Atkins BZ, Lewis CW, Kraus WE, Hutcheson KA, Glower DD, Taylor DA. Intracardiac transplantation of skeletal myoblasts yields two populations of striated cells in situ. Ann Thorac Surg 1999; 67: 124-9.
25. Sakai T, Li RK, Weisel RD, et al. Autologous heart cell transplantation improves cardiac function after myocardial injury. Ann Thorac Surg 1999; 68: 2074-81.
26. Yoo KJ, Li RK, Weisel RD, Mickle DA, Li G, Yau TM. Autologous smooth muscle cell transplantation improved heart function in dilated cardiomyopathy. Ann Thorac Surg 2000; 70: 859-65.
27. Yoo KJ, Li RK, Weisel RD, et al. Heart cell transplantation improves heart function in dilated cardiomyopathic hamsters. Circulation 2000; 1028 (Suppl 3): 204-9.
28. Li RK, Weisel RD, Mickle DA, et al. Autologous porcine heart cell transplantation improved heart function after a myocardial infarction. J Thorac Cardiovasc Surg 2000; 119: 62-8.
29. Jackson KA, Majka SM, Wang H, et al. Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells. J Clin Invest 2001; 107: 1395-402.
30. Orlic D, Kajustra J, Chimenti S, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. Nature 2001; 410: 701-5.
31. 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.
32. Wang JS, Shum-Tim D, Chedrawy E, Chiu RCJ. The coronary delivery of marrow stromal cells for myocardial regeneration: pathophysiologic and therapeutic implications. J Thorac Cardiovasc Surg 2001; 122: 699-705.
33. Hamano K, Li TS, Kobayashi T, et al. Therapeutic angiogenesis induced by local autologous bone marrow cell implantation. Ann Thorac Surg 2002; 73: 1210-5.
34. Tomita S, Mickle DA, Weisel RD, et al. Improved heart function with myogenesis and angiogenesis after autologous porcine bone marrow stromal cell transplantation. J Thorac Cardiovasc Surg 2002; 123: 1132-40.
35. Blau HM, Brazelton TR, Weimann JM. The evolving concept of a stem cell: entity or function? Cell 2001; 105: 829-41.
36. Can stem cells repair a damaged heart? In: Stem cells: scientific progress and future research directions. http://www.nih.gov/news/stemcell/scireport.html
37. Ferrari G, Cusella-De Angelis G, Coletta M, et al. Muscle regeneration by bone marrow-derived myogenic progenitors. Science 1998; 279: 1528-30.
38. Asahara T, Murohara T, Sullivan A, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. Science 1997; 275: 964-7.
39. Asahara T, Masuda H, Takahashi T, et al. Bone marrow origin of endothelial progenitor cells responsible for postnatal vasculogenesis in physiological and pathological neovascularization. Circ Res 1999; 85: 221-8.
40. Shintani S, Murohara T, Ikeda H, et al. Mobilization of endothelial progenitor cells in patients with acute myocardial infarction. Circulation 2001; 103: 2776-9.
41. 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.
42. Kalka C, Masuda H, Takahashi T, et al. Vascular endothelial growth factor(165) gene transfer augments circulating endothelial progenitor cells in human subjects. Circ Res 2000; 86: 1198-202.
43. Korbling M, Katz RL, Khanna A, et al. Hepatocytes and epithelial cells of donor origin in recipients of peripheral-blood stem cells. N Engl J Med 2002; 346: 738-46.
44. Woodbury D, Schwarz EJ, Prockop DJ, Black IB. Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons. J Neurosci Res 2000; 61: 364-70.

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 18.97.14.90 Tue, 10 Mar 2026, 00:56:14

45. 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.
46. 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.
47. Quaini F, Urbanek K, Beltrami AP, et al. Chimerism of the transplanted heart. N Engl J Med 2002; 346: 5-15.
48. Konieczny SF, Emerson CP Jr. 5-azacytidine induction of stable mesodermal stem cell lineages from 10T1/2 cells: evidence for regulatory genes controlling determination. Cell 1984; 38: 791-800.
49. Gussoni E, Soneoka Y, Strickland CD, et al. Dystrophin expression in the mdx mouse restored by stem cell transplantation. Nature 1999; 401: 390-4.
50. Zibaitis A, Greentree D, Ma F, Marelli D, Duong M, Chiu R. Myocardial regeneration with satellite cell implantation. Transplant Proc 1994; 26: 3294.
51. Murry CE, Kay MA, Bartosek T, Hauschka SD, Schwartz SM. Muscle differentiation during repair of myocardial necrosis in rats via gene transfer with MyoD. J Clin Invest 1996; 98: 2209-17.
52. Goldspink G, Scutt A, Loughna PT, Wells DJ, Jaenicke T, Gerlach GF. Gene expression in skeletal muscle in response to stretch and force generation. Am J Physiol 1992; 262: 356-63.
53. Severs NJ. Microscopy of the gap junction: a historical perspective. Microsc Res Tech 1995; 31: 388-46.
54. Reinecke 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.
55. Garcia J, Tanabe T, Beam KG. Relationship of calcium transients to calcium currents and charge movements in myotubes expressing skeletal and cardiac dihydropyridine receptors. J Gen Physiol 1994; 103: 125-47.
56. Li RK, Jia ZQ, Weisel RD, Merante F, Mickle DAG. Smooth muscle cell transplantation into myocardial scar tissue improves heart function. J Mol Cell Cardiol 1999; 31: 313-22.
57. Menasché P, Hagege AA, Scorsin M, et al. Myoblast transplantation for heart failure. Lancet 2001; 357: 279-80.
58. Yoo KJ, Li RK, Weisel RD, et al. Smooth muscle cells transplantation is better than heart cells transplantation for improvement of heart function in dilated cardiomyopathy. Yonsei Med J 2002; 43: 296-303.
59. Morshead CM, Benveniste P, Iscove NN, van der Kooy D. Hematopoietic competence is a rare property of neural stem cells that may depend on genetic and epigenetic alterations. Nat Med 2002; 8: 268-73.
60. Fedak P, Verma S, Weisel RD, Mickle DAG, Li RK. Angiogenesis: protein, gene or cell therapy? Heart Surg Forum 2001; 4: 301-4.
61. Li RK, Jia ZQ, Weisel RD, Mickle DAG, Choi A, Yau FM. Survival and function of bioengineered cardiac grafts. Circulation 1999; 100 (Suppl): 63-9.