

# Terapie antiremodeling: nuove strategie e prospettive future nell'insufficienza cardiaca cronica post ischemica: Parte I

## *Anti remodeling therapy: new strategies and future perspective in post-ischemic heart failure: Part I*

Domenico Sirico<sup>1\*</sup>, Andrea Salzano<sup>1\*</sup>, Dario Celentani<sup>2</sup>, Michele Arcopinto<sup>3</sup>,  
Alberto Maria Marra<sup>1</sup>, Emanuele Bobbio<sup>1</sup>, Angelo Russo<sup>1</sup>,  
Francesco Giallauria<sup>1</sup>, Carlo Vigorito<sup>1</sup>

**ABSTRACT:** *Anti remodeling therapy: new strategies and future perspective in post-ischemic heart failure: Part I. D. Sirico, A. Salzano, D. Celentani, M. Arcopinto, A.M. Marra, E. Bobbio, A. Russo, F. Giallauria, C. Vigorito.*

In recent years, the remarkable progress achieved in terms of survival after myocardial infarction have led to an increased incidence of chronic heart failure in survivors. This phenomenon is due to the still incomplete knowledge we possess about the complex pathophysiological mechanisms that regulate the response of cardiac tissue to ischemic injury. These involve various cell types such as fibroblasts, cells of the immune system, endothelial cells, cardiomyocytes and stem cells, as well as a myriad of mediators belonging to

the system of cytokines and not only. In parallel with the latest findings on post-infarct remodeling, new potential therapeutic targets are arising to halt the progression of disease. In this review, we evaluate the results obtained from four new therapeutic strategies: in this part we evaluate gene therapy and novel aspect of stem cells therapy in remodeling; in the second part we will investigate, micro-RNA, post-translational modification and microspheres based therapy.

*Keywords: cardiac remodeling, gene therapy, stem cells, micro-RNA, post-translational modification, microspheres, heart failure.*

*Monaldi Arch Chest Dis 2014; 82: 187-194.*

<sup>1</sup> Department of Translational Medical Sciences, University Federico II, Naples, Italy.

<sup>2</sup> Città della Salute e della Scienza di Torino Hospital, Turin, Italy.

<sup>3</sup> Department of Cardiac Surgery, IRCCS Policlinico San Donato, Milan, Italy.

\* These authors equally contributed.

Corresponding author: Andrea Salzano, MD; Department of Translational Medical Sciences; Federico II University of Naples; Via S. Pansini, 5; I-80131 Naples, Italy; Phone/Fax: +390817463492; E-mail address: andre.salzano@gmail.com

### Introduzione

Grazie ai recenti miglioramenti delle tecniche di riperfusion coronarica e della terapia farmacologica dell'IMA, negli ultimi anni si è verificato un considerevole aumento della sopravvivenza dei pazienti con questa patologia, anche nei casi più severi [1, 2]. Contemporaneamente ciò ha determinato un aumento della morbilità nei pazienti sopravvissuti i quali, in un arco di tempo che va da pochi giorni a diversi mesi, spesso sviluppano disfunzione sistolica e/o diastolica di grado variabile, aritmie maggiori e sintomi da ICC. Questa evoluzione è dovuta al *remodeling*, un meccanismo fisiopatologico che è stato definito "l'espressione genetica secondaria a danno cardiaco risultante in cambiamenti molecolari, cellulari e interstiziali che si manifestano clinicamente come cambiamenti di dimensione, forma e funzione del cuore" [3]. Come si evince dalla definizione, il *remodeling* si verifica in seguito a danno cardiaco di qualunque tipo, sia acuto che cronico; tuttavia l'infarto del miocardio

ne rappresenta senza dubbio la causa più frequente e pertanto la maggior parte delle ricerche sul *remodeling* sono state condotte su modelli post-ischemici. Nell'ICC sono numerosi gli studi che stanno cercando testare nuove ipotesi, basate su meccanismi fisiopatologici complementari a quelli classici, nel tentativo di identificare nuovi bersagli terapeutici [4]. Si pensi al modello ormono-metabolico, che da anni si è affacciato nel panorama della ricerca clinica [5, 6], date le crescenti evidenze di una connessione molto stretta tra le alterazioni ormonali e il sistema cardiovascolare [7, 8]. Tra questi, il *remodeling* post-infartuale è stato oggetto di studi da oltre un ventennio e, sebbene rimangano numerosi aspetti ampiamente sconosciuti, le scoperte effettuate hanno permesso di progettare e mettere in atto delle strategie terapeutiche volte a contrastare specifiche alterazioni cellulari e molecolari in modo da prevenire le suddette manifestazioni patologiche [9]; come spesso accade in numerose condizioni cliniche [10, 11], diversi sono i bersagli cellulari coinvolti, basti pensare alle cellule infiammatorie,

cellule endoteliali, molecole di adesione, cellule della matrice extracellulare etc. Questa review, divisa in due parti, esaminerà i risultati ottenuti da alcune di esse. Sarà inoltre focalizzata l'attenzione su alcuni effetti che i training di esercizio fisico, da soli o inseriti come componenti della riabilitazione cardiologica hanno su alcune di questi nuove strategie. È dimostrato infatti che la riabilitazione cardiologica ha effetti benefici proprio nel prevenire il remodeling cardiaco [12, 13], oltre che nel migliorare la performance cardiovascolare e la perfusione miocardica in pazienti affetti da cardiopatia ischemica cronica [14-17]. Diversi sono i meccanismi attraverso i quali l'esercizio fisico esercita i suoi effetti benefici: migliora la funzione endoteliale [18], ha proprietà anti-infiammatorie [19, 20], miglioramento dell'imbalance autonomico [21-25] e la dimostrata riduzione dello stress ossidativo [26].

### Fisiopatologia del *remodeling* cardiaco

A partire già dai primi istanti dopo un evento ischemico la morte delle fibrocellule miocardiche, per necrosi o apoptosi, determina una riduzione della massa contrattile cardiaca; cascate di segnalazione di tipo immuno-infiammatorio vengono attivate, determinando una variazione dell'espressione genica delle cellule miocardiche, coinvolgendo sia quelle superstiti dell'area infartuata sia quelle a distanza presenti nella restante porzione di miocardio vitale [27]. Ciò dà luogo a due processi simultanei e interconnessi: la guarigione dell'area infartuata e la comparsa di ipertrofia ventricolare eccentrica.

La guarigione dell'area infartuata inizia con la rimozione del tessuto cardiaco necrotico che viene sostituito da un tessuto di granulazione altamente cellularizzato, i cui principali costituenti sono elementi della linea monocito-macrofagica [28]. In particolare, è stata osservata la presenza di due popolazioni di macrofagi ben distinte: il sottotipo M1 che predomina nelle fasi iniziali e mostra attività infiammatoria e fagocitica, e il sottotipo M2 che subentra al precedente nella fase di cicatrizzazione e promuove la neoangiogenesi, il reclutamento di fibroblasti e la produzione di matrice extracellulare [29]. Per un'ottimale riparazione post-ischemica è fondamentale che il reclutamento di queste due popolazioni avvenga in maniera sequenziale e finemente regolata. A determinare la migrazione, la polarizzazione e l'attivazione dei macrofagi in questa fase sono diverse famiglie di citochine infiammatorie, prodotte da cellule interstiziali cardiache come fibroblasti o cellule endoteliali, come ipotizzato in altre condizioni cliniche [10], ma anche dai linfociti. È stato dimostrato inoltre che il "milieu", rappresentato dalla matrice extracellulare, svolge un ruolo chiave nella regolazione di questo processo. Successivamente, grazie alla presenza dei fibroblasti e alla loro differenziazione in mio-fibroblasti (elementi dotati di capacità contrattile, proliferativa e secretoria), il tessuto di granulazione va incontro a un processo fibrotico di cicatrizzazione che stabilizza e rinforza la parete ventricolare [30]. Una volta avvenuta la deposizione di fibre collagene in quantità sufficiente a garantire l'integrità strutturale della parete, il ventricolo risulta molto resistente alla defor-

mazione e pertanto questa tappa rappresenta un punto cruciale nella guarigione dell'area infartuata.

Nel frattempo, per far fronte alla perdita di tessuto contrattile e conservare la gittata sistolica, entra in atto nel cuore un meccanismo di compenso emodinamico rappresentato dalla dilatazione della camera ventricolare: così facendo la gittata sistolica viene riportata nel *range* fisiologico al prezzo di un aumento del carico di lavoro e dello stress di parete e a discapito della frazione di eiezione. Tuttavia la zona infartuata in questa fase iniziale è formata da tessuto di granulazione e miocardio necrotico e offre minor resistenza allo stress di parete. Si determina così l'espansione dell'infarto, ossia un'estensione della zona non contrattile e un contemporaneo assottigliamento della parete di tale zona, in assenza di morte cellulare aggiuntiva e senza un aumento delle pressioni di riempimento [31]. Questo evento si spiega con uno stiramento dei cardiomiociti superstiti, con una compressione degli spazi intercellulari ma soprattutto con un meccanismo detto "slippage", ovvero lo scorrimento di un cardiomiocita sull'altro per mancanza di adesione alla matrice extracellulare, la quale è sottoposta a un intenso turnover in questa fase. Il miocardio vitale non interessato dall'ischemia subisce variazioni analoghe in questo processo, andando incontro a un'ipertrofia "maladattativa" caratterizzata da un aumento del consumo di ossigeno, da una crescita longitudinale più che trasversale delle fibrocellule e da fibrosi interstiziale e perivascolare [32]. In questo modo si instaura un circolo vizioso di dilatazione/ipertrofia i cui fattori determinanti sono la dimensione dell'area infartuata, il grado di cicatrizzazione della stessa e lo stress di parete [31].

Una volta avvenuta la formazione della cicatrice nell'area infartuale, nell'arco di tempo di alcune settimane dall'evento ischemico, il *remodeling* subisce un forte rallentamento, senza però arrestarsi del tutto [31]. Lo stato clinico-funzionale del paziente fino a questo punto è determinato principalmente dall'entità dei processi precoci di *remodeling*, i quali sono strettamente connessi con l'attivazione neuroormonale di sistemi come quello noradrenergico e il SRAA; lo spessore della parete infartuata insieme al volume del ventricolo sinistro rappresentano in questa fase i due fattori prognostici principali [31]. Il rimodellamento però non si arresta, poiché il miocardio si trova ancora sottoposto a un aumento della tensione parietale unitamente a una diminuzione della disponibilità di ossigeno. L'apposizione di collagene continua in modo più o meno organizzato causando un incremento della *stiffness* ventricolare, la contrattilità del miocardio vitale diminuisce progressivamente a causa del peggioramento dell'ossigenazione tissutale. Tutto questo porta quasi invariabilmente alla comparsa di sintomi riferibili a disfunzione sisto-diastolica e dunque allo sviluppo di ICC [32].

Il *remodeling* post-infartuale è frutto dell'insieme dei processi sopracitati, ed è proprio su di essi che intervengono i farmaci oramai divenuti i capisaldi della terapia dell'IMA. Ciononostante, pur essendo efficaci nell'arginare le fasi precoci di espansione dell'infarto e dilatazione ventricolare, questi si sono dimostrati poco attivi sui processi di

remodeling cronico, che sono i responsabili della morbilità e della mortalità dei pazienti sopravvissuti a un IMA nel lungo termine. Per questo motivo si stanno cercando delle strategie alternative che possano limitare l'entità del danno miocardico, accelerare la formazione di una cicatrice resistente, favorire la neoangiogenesi e contrastare lo stimolo differenziale verso l'ipertrofia eccentrica.

### Terapia genica

La scoperta che l'alterazione primitiva alla base del *remodeling* cardiaco fosse il cambiamento del pattern miocardico di espressione genica, con l'espressione di geni tipici della vita fetale e silenziati nel cuore sano, insieme alla repressione di altri geni normalmente espressi, ha portato a ipotizzare che intervenendo su tale processo si potesse cambiare il corso e il risultato finale del rimodellamento. La terapia genica, che si serve di vettori biologici per indurre l'espressione forzata di geni assenti o silenziati nelle cellule di determinati tessuti [33] è emersa subito come potenziale candidato a raggiungere tale obiettivo.

I vettori utilizzati per ottenere il trasferimento di materiale genetico nelle cellule si dividono in virali e non-virali, questi ultimi rappresentati fondamentalmente da plasmidi. I plasmidi sono molecole di DNA circolare a doppio filamento che possono variare da 1 a oltre 1000 kbasi di lunghezza. Essi consentono un'espressione genica molto limitata nel tempo per via del fatto che non si integrano nel genoma della cellula ospite ma rimangono extra-cromosomici. Insieme a questa criticità, va sottolineato anche il basso tasso di internalizzazione nelle cellule bersaglio dovuto alla difficoltà per il plasmide di superare il sistema immunitario e le nucleasi extracellulari, la membrana cellulare, gli enzimi lisosomiali e le nucleasi citoplasmatiche e infine le membrane nucleari [34]. Una tecnica attuale riesce a proteggere in qualche modo il plasmide inserendolo in liposomi cationici che legano gli acidi nucleici carichi negativamente [35], ma tale metodica necessita di una perfusione tissutale ottimale o, in alternativa, della somministrazione per via iniettiva nell'area infartuata, procedura gravata da un alto rischio di perforazione.

Ben più elevata, di circa 100 volte, è l'efficacia del trasferimento con vettori virali. Questi possono essere AdV, AAV e Lentivirus [36, 37]. I primi sono stati impiegati già da qualche anno in campo cardiologico perché presentano un buon tropismo per il tessuto cardiaco. Con la delezione di alcuni geni virali, gli AdV vengono resi incapaci di replicarsi e possono ospitare fino a 36 kbasi di genoma esogeno [36]; i principali problemi legati al loro utilizzo riguardano la transitorietà dell'espressione del gene terapeutico, poiché il genoma virale non si integra in quello ospite, e soprattutto un'elevata immunogenicità dovuta al fatto che spesso il sistema immunitario è già venuto a contatto con gli AdV, generalmente i sierotipi 2 e 5, e perciò contrasta l'infezione con risultati citotossici sul tessuto miocardico. Gli AAV sono una famiglia di 6 virus isolati casualmente da colture adenovirali. Si tratta di virus incapaci di replicazione autonoma, che di solito richie-

dono la coinfezione con AdV per moltiplicarsi, il che li rende dei vettori di materiale genetico eccezionali [36]. Riconoscono come recettore l'eparansolfato, ma è probabile che, come gli AdV, leghino anche dei co-recettori che conferiscono la specificità tissutale, come l'integrina  $\alpha V$ . La delezione della maggior parte dei geni che codificano le proteine virali strutturali permette di inserire circa 5 kbasi di geni esogeni [36]. Una volta penetrato nel nucleo il genoma dell'AAV si integra in quello umano, determinando l'espressione della proteina terapeutica per diversi mesi, oltre alla trasmissione del gene esogeno alle cellule figlie in caso di divisione. L'inserzione può d'altro canto causare mutagenesi inserzionale. I Lentivirus, appartenenti alla famiglia dei Retrovirus, sono dei virus a RNA, capsulati, che si inseriscono in modo molto stabile nel genoma ospite [36]. Sono stati diffusamente studiati per la terapia del cancro, del Parkinson, dell'anemia falciforme; meno in ambito cardiovascolare, probabilmente a causa di un maggiore tempo di latenza prima dell'effetto terapeutico. Anche essi possono essere causa di mutagenesi inserzionale.

Nonostante il rischio teorico di indurre mutazioni e/o delezioni di geni dell'ospite, gli ormai numerosi studi di terapia genica nell'animale e nell'uomo hanno decretato la sicurezza e la non-cancerogenicità della somministrazione di costrutti virali tramite infusione intracoronarica, nel breve e medio termine [38]. Diversamente, permangono ancora dei dubbi sulla sicurezza dell'iperespressione forzata e non regolata di proteine all'interno delle cellule, e pertanto sono state messe a punto delle tecniche di ingegneria genetica che permettono al gene terapeutico di essere acceso o spento a seconda delle condizioni di ossigenazione del *milieu* extracellulare [33].

Per quanto riguarda la scelta del gene da far esprimere ai cardiomiociti e probabilmente anche ai fibroblasti di un'area ischemica, le strategie usate sono state diverse: stimolare la neoangiogenesi, prevenire il danno da ischemia-riperfusion, inibire l'apoptosi, ridurre l'infiammazione [27]. L'aumento dell'angiogenesi è stato ottenuto per mezzo di VEGF, HGF e FGF, tutti con risultati molto promettenti nell'animale [33, 36]. Nei trials clinici i fattori di crescita angiogenetici sono stati studiati prevalentemente nella cardiopatia ischemica non trattabile con PCI. Gli *endpoint* primari e secondari di perfusione tissutale hanno registrato un miglioramento generale ma lieve, il che si spiega perché il costrutto virale è stato somministrato con l'infusione intracoronarica, la quale in presenza di cardiopatia ischemica non garantisce una *delivery* ottimale a differenza dell'iniezione *in loco* usata negli animali. Tuttavia il riscontro di un effettivo aumento nella proliferazione vascolare lascia ben sperare per un'applicazione della tecnica nel post-infarto. Dopo i promettenti risultati degli esperimenti su modelli animali [39], il gruppo dell'Università di Kuopio sta svolgendo un trial che valuterà l'efficacia del VEGF-D dopo IMA, i cui risultati sono attesi per il 2016.

Il danno ischemico, così come quello da ischemia-riperfusion, determina oltre alla necrosi anche l'apoptosi dei cardiomiociti. L'aumento del

calcio intracellulare che si associa a questa condizione e che determina anche il fenomeno del miocardio "stordito" è divenuto il bersaglio di una fra le più promettenti terapie geniche. Sono state studiate molte proteine tra quelle coinvolte nell'omeostasi intracellulare del calcio; tra le più promettenti c'è sicuramente la SR Calcium ATPase-2 (SERCA-2) [40-42]. La sua sperimentazione in fase II in un piccolo trial randomizzato e controllato, il CUPID [38], ha portato a dei risultati incoraggianti per la prevenzione e la cura dell'ICC. Al CUPID va anche il merito di aver dimostrato l'efficacia e sicurezza della somministrazione intracoronarica del vettore AAV-1 durante un comune cateterismo cardiaco, all'interno di coronarie con TIMI score 3.

Sono attualmente in corso studi su modelli animali di ischemia-riperfusion che valutano l'effetto protettivo della somministrazione preventiva di geni ad azione antiossidante, come SOD, Glutathione-perossidasi, Catalasi, oppure geni di enzimi come la eNOS, tutti con risultati positivi finora. Si stanno anche sperimentando tecniche per arrestare l'apoptosi con geni anti-apoptotici come Bcl-2, Hsp-70, Akt, IGF-1, oppure limitare l'infiammazione locale con l'espressione di recettori solubili del TNF- $\alpha$  [33].

Infine notevoli sforzi sono stati compiuti nel tentativo di unificare il campo della terapia genica con quello delle cellule staminali. In studi su animali, la somministrazione di cellule della muscolatura vasale o fibroblasti che iperesprimevano fattori di crescita angiogenetici come VEGF o FGF ha portato a un aumento della formazione di circoli collaterali e quindi dell'ossigenazione miocardica [43]. Con l'impiego di SM secernenti VEGF si è osservato anche una riduzione dell'apoptosi. I risultati migliori tuttavia sembrano essere stati ottenuti con MSC a cui venivano fatti esprimere VEGF e FGF, oppure Akt [44]. In quest'ultimo caso è stato rilevato un effetto benefico anti-apoptotico anche in cellule distanti dall'area ischemica. Meritano di essere citati i successi ottenuti anche con l'uso di progenitori endoteliali EPC esprimenti eNOS, che hanno portato alla creazione del trial ENACT-AMI [45], un grande trial di fase IIb controllato e randomizzato, ora all'avvio, il quale sperimenterà questa tecnica in pazienti con infarti estesi trattati con successo con PTCA.

In sintesi, il *rationale* di utilizzo della terapia genica posa su solide conoscenze di fisiopatologia che si stanno ampliando ulteriormente. Di pari passo sorgono nuove ipotesi di terapia per arrestare il *remodeling*, come testimonia il sempre crescente numero di studi sui modelli animali. I primi dati della sperimentazione clinica sono incoraggianti, ma è necessario un maggior numero di osservazioni, soprattutto per quanto riguarda la sicurezza dei costrutti virali nel periodo decennale.

### Cellule staminali

Studi su modelli animali hanno dimostrato che le cellule staminali trapiantate nel miocardio infartuato possono differenziare in cardiomiociti e cellule endoteliali, sostituendo le cellule perse durante l'ischemia. Inoltre è stata dimostrata a livello dell'atrio

e dell'apice ventricolare la presenza di CSC [46] capaci di rimpiazzare le cellule miocardiche morte per insulti di lieve entità; tuttavia queste non sono in grado di riparare un danno esteso come nel caso di un IMA [47].

Esistono vari tipi di cellule staminali distinguibili in base alla loro capacità differenziativa: le cellule pluripotenti, presenti nell'embrione, possono dare origine ai tessuti dei tre foglietti mesodermici, mentre le cellule multipotenti, presenti nell'adulto in sangue, midollo osseo, fegato, muscolo e tessuto adiposo, possono formare tessuti provenienti da uno solo di questi foglietti. Le cellule staminali pluripotenti ESC presentano maggiore capacità proliferativa e possono differenziare in tutte le principali popolazioni cellulari residenti nel miocardio, ovvero cardiomiociti, cellule muscolari lisce e cellule endoteliali; allo stesso modo, proprio per il loro elevato potenziale proliferativo, presentano un alto rischio di indurre tumori, soprattutto teratomi. Il loro utilizzo nell'ambito di una terapia anti-*remodeling* validata incontra problematiche di carattere immunologico per via della compatibilità interindividuale e di carattere etico legate al prelievo dagli embrioni, in aggiunta alla complessità delle tecniche necessarie per ottenere popolazioni cellulari pure. Dalla riprogrammazione di cellule adulte sono state ottenute le IPS [48] che rispetto alle cellule embrionali hanno il vantaggio di non determinare problemi di tipo etico, ma i procedimenti effettuati per ottenerne la riprogrammazione sono lunghi e complessi e ciò ne limita l'utilizzo. Le BMC possono essere facilmente prelevate dalla cresta iliaca o possono essere mobilizzate con la somministrazione di fattori di crescita emopoietici. Sono cellule autologhe per cui non evocano una risposta immunitaria. Diversi trials hanno studiato l'impiego di SM [48], mioblasti da muscolo scheletrico, data la loro ampia disponibilità e la sicurezza del loro utilizzo. Tuttavia la loro capacità di trans-differenziare in popolazioni cellulari miocardiche si è dimostrata deludente. Maggiore interesse suscitano le cellule staminali prelevate da tessuto adiposo ASC che come i SM sono prelevabili in quantità notevoli, non causano problemi di ordine immunologico o etico, dimostrando comunque un potenziale rigenerativo e terapeutico adeguato. Al momento sono in corso di svolgimento due trials clinici controllati e randomizzati, l'APOLLO e il PRECISE, che valutano la sicurezza dell'impianto cardiaco di ASC nel post-infarto il primo, nella cardiopatia ischemica non trattabile con PCI il secondo. Le MSC, cellule staminali mesenchimali derivanti dallo stroma del midollo osseo, non esprimono proteine MHC-II B-7 quindi non sono capaci di evocare una risposta immunitaria T-mediata. Esse rappresentano una minima percentuale delle cellule del midollo osseo ( $1/10^4$ ), ma vengono facilmente isolate ed espanse in cultura e per giunta hanno un elevato potenziale di *homing* nei tessuti danneggiati e differenziazione [49]. Inoltre è stato osservato che la somministrazione di MSC provoca il reclutamento di *cluster* endogeni di cellule staminali cardiache. Il principale ostacolo al loro utilizzo è il tempo che impiegano per differenziarsi in cardiomiociti, circa 14 giorni, e la necessità prima della somministrazione di un

trattamento che ne aumenti la resistenza all'ipossia e ai radicali liberi facilitando il loro attecchimento nella zona infartuata [50]. A questo scopo sono state messe in pratica diverse strategie, come la somministrazione di fattori di crescita (BMP, IGF-1, FGF) [51], di farmaci [52, 53] (atorvastatina, estrogeni) o l'utilizzo di biomateriali come veicoli.

Per quanto riguarda le vie di somministrazione, sono state sperimentate diverse alternative. La somministrazione per via intracoronarica consente il rilascio di un'elevata concentrazione di cellule ma al tempo stesso può causare ostruzione microvascolare, soprattutto se si utilizzano MSC, a causa delle loro maggiori dimensioni e della loro tendenza ad aderire all'endotelio. L'iniezione intramiocardica in cateterismo si è rivelata un approccio valido in quanto consente di iniettare direttamente le cellule nell'area necrotica senza causare ostruzione microvascolare, con maggiore ritenzione delle cellule *in situ* e minori possibilità di attecchimento in altri organi [54, 55]. La complessità di esecuzione e il rischio di perforare la parete rappresentano gli svantaggi di questa tecnica. L'iniezione intravenosa nelle vene coronariche [42, 49] ha mostrato nel maiale un effetto pro-aritmogeno per accorciamento del periodo refrattario; nell'uomo questa osservazione non si è verificata [56]. Nel topo è stata osservata anche un aumento dell'incidenza di tumori non riscontrato nell'uomo, ma per stabilire la non-cancerogenicità è necessario ancora un *follow-up* a lungo termine nei pazienti trattati. Dal momento che il tessuto ischemico rilascia citochine in grado di reclutare le cellule circolanti, può essere utilizzata anche l'iniezione venosa sistemica, ma ovviamente con il rischio che un gran numero di cellule rimanga intrappolato in altri organi.

Data la novità di questa opzione terapeutica, appare evidente come un maggior numero di osservazioni sia necessario per stabilirne l'efficacia assoluta e relativa rispetto alle terapie convenzionali. Attualmente i risultati degli studi condotti con le cellule staminali sono di difficile interpretazione data l'eterogeneità delle popolazioni cellulari e delle tecniche impiegate. La maggior parte degli studi ha utilizzato la frazione di eiezione (FE) del ventricolo sinistro per valutare l'efficacia della terapia, essendo questa un ottimo predittore di ICC dopo un IMA e un fattore prognostico indipendente. Il *gold standard* per la sua misurazione è la risonanza magnetica cardiaca, che tuttavia non è stata impiegata da tutti i gruppi di ricerca. Recenti metanalisi sulle BMC [57] hanno riscontrato un miglioramento degli indici funzionali e morfologici di appena il 3-4%, per lo più imputabile a un effetto benefico dei mediatori secreti in modo paracrino dalle cellule staminali, più che a un reale attecchimento e differenziazione di queste. Risultati più incoraggianti (FE +8-12%) ma ancora incompleti provengono dallo studio di fase I SCIPIO [58], in cui ai pazienti sono state somministrate CSC prelevate dall'auricola destra e amplificate *in vitro*. Lo studio TAC-HFT [59], sebbene condotto su un campione ristretto, ha dimostrato la sicurezza dell'uso MSC e BMC e la loro efficacia nel prevenire eventi maggiori, ma solo di carattere tromboembolico. Sta per essere avviato un grande trial internazionale di fase III, lo studio BAMI, che

valuterà l'efficacia a 3 anni del trattamento con BMC nel prevenire la morte e l'ospedalizzazione per causa cardiovascolari in pazienti che hanno avuto un IMA. La non-univocità dei risultati dei vari trial è sicuramente imputabile alla conoscenza incompleta dei meccanismi che regolano l'azione delle cellule staminali nel miocardio ischemico, ma è stato ipotizzato che anche differenze nel tempo di somministrazione delle cellule staminali possano interferire con i dati osservati. A questo proposito i ricercatori dello studio SWISS-AMI [60] hanno dimostrato che il trattamento è più efficace se la somministrazione viene effettuata tra i 4 e i 7 giorni dopo l'IMA, in quanto nelle prime fasi del post-infarto l'ambiente ossidante e l'infiammazione tissutale portano a morte le cellule iniettate e ne riducono l'attecchimento.

In conclusione si può affermare che, pur essendo la rigenerazione del miocardio ischemico con cellule staminali la meno recente delle terapie anti-*remodeling* qui prese in esame, dei risultati robusti circa la sua efficacia nel migliorare la sopravvivenza dei pazienti con IMA sono ancora assenti. L'identificazione della linea cellulare e della metodica di somministrazione più idonea è sicuramente uno degli obiettivi da perseguire, unitamente a un periodo di osservazione più lungo. Riguardo alla sicurezza di impiego, numerosi trials hanno stabilito che l'uso di BMC, MSC e SM non comporta particolari rischi.

## Conclusioni

Il grande progredire delle scoperte in campo fisiopatologico ha portato negli ultimi anni la ricerca di terapie indirizzate non tanto ad antagonizzare i meccanismi patologici, ma a ripristinare o stimolare i meccanismi fisiologici persi o alterati a causa della patologia. Questo crescente interesse alla terapie "biologiche" ha comportato una gran numero di pubblicazioni di lavori scientifici sia di basic-medicine che di sperimentazione clinica. Sebbene ancora non sia possibile al momento attuale avere indicazioni certe, non essendo i risultati ottenuti univoci, è certo che in un futuro non troppo remoto queste terapie anti-*remodeling* diverranno fondamentali nel trattamento delle patologie cardiovascolari. Perché ciò avvenga tuttavia sono indispensabili studi clinici randomizzati e controllati su vasta scala e di lunga durata che ne possano attestare la superiorità o la non-inferiorità rispetto alle attuali cure farmacologiche e chirurgiche.

## Riassunto

*Grazie ai notevoli progressi terapeutici e del tasso di sopravvivenza dopo infarto del miocardio, vi è nel mondo un aumento dell'incidenza di insufficienza cardiaca cronica. Questo fenomeno è dovuto alla impossibilità di prevenire la progressione del danno miocardico, a causa della conoscenza ancora parziale che possediamo sui complessi meccanismi fisiopatologici che regolano la risposta del tessuto cardiaco al danno ischemico. Essi vedono coinvolti svariati tipi cellulari come fibroblasti, cellule del sistema immunitario, cellule endoteliali,*

cardiomiociti e cellule staminali, nonché una miriade di mediatori appartenenti al sistema delle citochine e non solo. Da qui l'interesse verso il post-infartuale, campo nel quale emergono nuovi potenziali target terapeutici per arrestare la progressione cronica del danno miocardico. In questa review, verranno esaminati i risultati ottenuti da quattro nuove strategie terapeutiche; nella prima parte verranno affrontati i risultati ottenuti mediante la terapia genica e l'impiego delle cellule staminali; nella seconda parte verranno discusse le innovazioni ed i risultati più recenti ottenuti grazie ai micro-RNA, alle modifiche post-traduzionali e all'uso delle microsfele.

#### ABBREVIAZIONI (in ordine alfabetico)

**AAV:** Virus Adeno-Associato  
**AdV:** Adenovirus  
**ASC:** Adipose Stem Cells  
**ASO:** Anti-Sense Oligonucleotides  
**BMC:** Bone Marrow-derived Cells  
**CHAM:** Calcium HydroxyApatite Microspheres  
**CSC:** Cardiac Stem Cells  
**eNOS:** endothelial Nitric Oxide-Synthase  
**EPC:** Endothelial Progenitor Cells  
**ESC:** Embryonic Stem Cells  
**FGF:** Fibroblast Growth Factor  
**GHM:** Gelatin Hydrogel Microspheres  
**HGF:** Hepatocyte Growth Factor  
**ICC:** Insufficienza Cardiaca Cronica  
**IGF-1:** Insulin-like Growth Factor-1  
**IMA:** Ischemia Miocardica Acuta  
**IPS:** Inducible Pluripotent Stem cells  
**MHC:** Myosin Heavy Chain  
**miRNA:** micro-RNA  
**MSC:** Mesenchymal Stem Cells  
**mRNA:** RNA messaggero  
**PCI:** Percutaneous Coronary Intervention  
**PEI:** PoliEtilen-Immuna  
**SOD:** Superossido-Dismutasi  
**SM:** Skeletal Myoblasts  
**SRAA:** Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterone  
**TAC:** Transverse Aortic Constriction  
**VEGF:** Vascular-Endothelial Growth Factor

#### Bibliografia

- Braunwald E. Heart failure. *JACC Heart Fail* 2013; 1: 1-20.
- Dorn GW, 2nd. Novel pharmacotherapies to abrogate postinfarction ventricular remodeling. *Nat Rev Cardiol* 2009; 6: 283-91.
- Cohn JN, Ferrari R, Sharpe N. Cardiac remodeling—concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. Behalf of an International Forum on Cardiac Remodeling. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35: 569-82.
- Cittadini A, Marra AM, Arcopinto M, Bobbio E, Salzano A, Sirico D, Napoli R, Colao A, Longobardi S, Baliga RR, Bossone E, Sacca L. Growth hormone replacement delays the progression of chronic heart failure combined with growth hormone deficiency: an extension of a randomized controlled single-blind study. *JACC Heart Fail* 2013; 1: 325-30.
- Marra AM, Arcopinto M, Bobbio E, Salzano A, Sacca L, Cittadini A. An unusual case of dilated cardiomyopathy associated with hypopituitarism. *Intern Emerg Med* 2012; 7 Suppl 2: S85-7.
- Bossone E, Limongelli G, Malizia G, Ferrara F, Vriza O, Citro R, Marra AM, Arcopinto M, Bobbio E, Sirico D, Caliendo L, Ballotta A, D'Andrea A, Frigiola A, Isgaard J, Sacca L, Antonio C. The T.O.S.C.A. Project: research, education and care. *Monaldi Arch Chest Dis* 2011; 76: 198-203.
- Pasquali D, Arcopinto M, Renzullo A, Rotondi M, Accardo G, Salzano A, Esposito D, Saldamarco L, Isidori AM, Marra AM, Ruvolo A, Napoli R, Bossone E, Lenzi A, Baliga RR, Sacca L, Cittadini A. Cardiovascular abnormalities in Klinefelter syndrome. *Int J Cardiol* 2013; 168: 754-9.
- Marra AM, Improda N, Capalbo D, Salzano A, Arcopinto M, De Paulis A, Alessio M, Lenzi A, Isidori AM, Cittadini A, Salerno M. Cardiovascular abnormalities and impaired exercise performance in adolescents with Congenital Adrenal Hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 2014; jc20141805 (in press).
- Landmesser U, Wollert KC, Drexler H. Potential novel pharmacological therapies for myocardial remodeling. *Cardiovasc Res* 2009; 81: 519-27.
- Salzano A, Sirico D, Golia L, Faga V, Flora M, Bossone E, Cittadini A. [The portopulmonary hypertension: an overview from diagnosis to treatment]. *Monaldi Arch Chest Dis* 2013; 80: 66-8.
- Arcopinto M, Cella CA, Wesolowski R, Salzano A, Bossone E, Cittadini A, Baliga RR. Primary prevention of cancer-related thrombosis: special focus on ambulatory patients. *Int J Cardiol* 2014; 173: 583-4.
- Giallauria F, Cirillo P, Lucci R, Pacileo M, De Lorenzo A, D'Agostino M, Moschella S, Psaroudaki M, Del Forno D, Orio F, Vitale DF, Chiariello M, Vigorito C. Left ventricular remodeling in patients with moderate systolic dysfunction after myocardial infarction: favourable effects of exercise training and predictive role of N-terminal pro-brain natriuretic peptide. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2008; 15: 113-8.
- Giallauria F, Galizia G, Lucci R, D'Agostino M, Vitelli A, Maresca L, Orio F, Vigorito C. Favourable effects of exercise-based Cardiac Rehabilitation after acute myocardial infarction on left atrial remodeling. *Int J Cardiol* 2009; 136: 300-6.
- Giallauria F, Lucci R, D'Agostino M, Vitelli A, Maresca L, Mancini M, Aurino M, Del Forno D, Giannuzzi P, Vigorito C. Two-year multicomprehensive secondary prevention program: favorable effects on cardiovascular functional capacity and coronary risk profile after acute myocardial infarction. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)* 2009; 10: 772-80.
- Giannuzzi P, Temporelli PL, Marchioli R, Maggioni AP, Balestroni G, Ceci V, Chieffo C, Gattone M, Griffo R, Schweiger C, Tavazzi L, Urbinati S, Valagussa F, Vanuzzo D, Investigators G. Global secondary prevention strategies to limit event recurrence after myocardial infarction: results of the GOSPEL study, a multicenter, randomized controlled trial from the Italian Cardiac Rehabilitation Network. *Arch Intern Med* 2008; 168: 2194-204.
- Giallauria F, Acampa W, Ricci F, Vitelli A, Maresca L, Mancini M, Grieco A, Gallicchio R, Xhoxhi E, Spinelli L, Cuocolo A, Vigorito C. Effects of exercise training started within 2 weeks after acute myocardial infarction on myocardial perfusion and left ventricular function: a gated SPECT imaging study. *Eur J Prev Cardiol* 2012; 19: 1410-9.
- Giallauria F, Acampa W, Ricci F, Vitelli A, Torella G, Lucci R, Del Prete G, Zampella E, Assante R, Rengo G, Leosco D, Cuocolo A, Vigorito C. Exercise training early after acute myocardial infarction reduces stress-induced hypoperfusion and improves left ventricular function. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2013; 40: 315-24.
- Tarro Genta F, Eleuteri E, Temporelli PL, Comazzi F, Tidu M, Bouslenko Z, Bertolin F, Vigorito C, Giannuzzi P, Giallauria F. Flow-mediated dilation normalization predicts outcome in chronic heart failure patients. *J Card Fail* 2013; 19: 260-7.

19. Giallauria F, Cirillo P, D'Agostino M, Petrillo G, Vitelli A, Pacileo M, Angri V, Chiariello M, Vigorito C. Effects of exercise training on high-mobility group box-1 levels after acute myocardial infarction. *J Card Fail* 2011; 17: 108-14.
20. Cirillo P, Giallauria F, Pacileo M, Petrillo G, D'Agostino M, Vigorito C, Chiariello M. Increased high mobility group box-1 protein levels are associated with impaired cardiopulmonary and echocardiographic findings after acute myocardial infarction. *J Card Fail* 2009; 15: 362-7.
21. Giallauria F, De Lorenzo A, Pileri F, Manakos A, Lucci R, Psaroudaki M, D'Agostino M, Del Forno D, Vigorito C. Long-term effects of cardiac rehabilitation on end-exercise heart rate recovery after myocardial infarction. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2006; 13: 544-50.
22. Giallauria F, Lucci R, Pietrosante M, Gargiulo G, De Lorenzo A, D'Agostino M, Gerundo G, Abete P, Rengo F, Vigorito C. Exercise-based cardiac rehabilitation improves heart rate recovery in elderly patients after acute myocardial infarction. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2006; 61: 713-7.
23. Giallauria F, Lucci R, De Lorenzo A, D'Agostino M, Del Forno D, Vigorito C. Favourable effects of exercise training on N-terminal pro-brain natriuretic peptide plasma levels in elderly patients after acute myocardial infarction. *Age Ageing* 2006; 35: 601-7.
24. Giallauria F, De Lorenzo A, Pileri F, Manakos A, Lucci R, Psaroudaki M, D'Agostino M, Del Forno D, Vigorito C. Reduction of N terminal-pro-brain (B-type) natriuretic peptide levels with exercise-based cardiac rehabilitation in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2006; 13: 625-32.
25. Smart NA, Meyer T, Butterfield JA, Faddy SC, Passino C, Malfatto G, Jonsdottir S, Sarullo F, Wisloff U, Vigorito C, Giallauria F. Individual patient meta-analysis of exercise training effects on systemic brain natriuretic peptide expression in heart failure. *Eur J Prev Cardiol* 2012; 19: 428-35.
26. Rengo G, Parisi V, Femminella GD, Pagano G, de Lucia C, Cannavo A, Liccardo D, Giallauria F, Scala O, Zincarelli C, Perrone Filardi P, Ferrara N, Leosco D. Molecular aspects of the cardioprotective effect of exercise in the elderly. *Aging Clin Exp Res* 2013; 25: 487-97.
27. Dobaczewski M, Gonzalez-Quesada C, Frangogiannis NG. The extracellular matrix as a modulator of the inflammatory and reparative response following myocardial infarction. *J Mol Cell Cardiol* 2010; 48: 504-11.
28. Frantz S, Bauersachs J, Ertl G. Post-infarct remodeling: contribution of wound healing and inflammation. *Cardiovasc Res* 2009; 81: 474-81.
29. Nahrendorf M, Pittet MJ, Swirski FK. Monocytes: protagonists of infarct inflammation and repair after myocardial infarction. *Circulation* 2010; 121: 2437-45.
30. van den Borne SW, Diez J, Blankesteijn WM, Verjans J, Hofstra L, Narula J. Myocardial remodeling after infarction: the role of myofibroblasts. *Nat Rev Cardiol* 2010; 7: 30-7.
31. Gajarsa JJ, Kloner RA. Left ventricular remodeling in the post-infarction heart: a review of cellular, molecular mechanisms, and therapeutic modalities. *Heart Fail Rev* 2011; 16: 13-21.
32. Beltrami CA, Finato N, Rocco M, Feruglio GA, Puricelli C, Cigola E, Quaini F, Sonnenblick EH, Olivetti G, Anversa P. Structural basis of end-stage failure in ischemic cardiomyopathy in humans. *Circulation* 1994; 89: 151-63.
33. Lavu M, Gundewar S, Lefer DJ. Gene therapy for ischemic heart disease. *J Mol Cell Cardiol* 2011; 50: 742-50.
34. Williams PD, Kingston PA. Plasmid-mediated gene therapy for cardiovascular disease. *Cardiovasc Res* 2011; 91: 565-76.
35. Ko YT, Hartner WC, Kale A, Torchilin VP. Gene delivery into ischemic myocardium by double-targeted lipoplexes with anti-myosin antibody and TAT peptide. *Gene Ther* 2009; 16: 52-9.
36. Eckhouse SR, Jones JA, Spinale FG. Gene targeting in ischemic heart disease and failure: translational and clinical studies. *Biochem Pharmacol* 2013; 85: 1-11.
37. Bonci D, Cittadini A, Latronico MV, Borello U, Aycock JK, Drusco A, Innocenzi A, Follenzi A, Lavitrano M, Monti MG, Ross J, Jr., Naldini L, Peschle C, Cossu G, Condorelli G. 'Advanced' generation lentiviruses as efficient vectors for cardiomyocyte gene transduction in vitro and in vivo. *Gene Ther* 2003; 10: 630-6.
38. Jessup M, Greenberg B, Mancini D, Cappola T, Pauly DF, Jaski B, Yaroshinsky A, Zsebo KM, Dittrich H, Hajjar RJ. Calcium Upregulation by Percutaneous Administration of Gene Therapy in Cardiac Disease I. Calcium Upregulation by Percutaneous Administration of Gene Therapy in Cardiac Disease (CUPID): a phase 2 trial of intracoronary gene therapy of sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup>-ATPase in patients with advanced heart failure. *Circulation* 2011; 124: 304-13.
39. Rutanen J, Rissanen TT, Markkanen JE, Gruchala M, Silvennoinen P, Kivela A, Hedman A, Hedman M, Heikura T, Orden MR, Stacker SA, Achen MG, Hartikainen J, Yla-Herttuala S. Adenoviral catheter-mediated intramyocardial gene transfer using the mature form of vascular endothelial growth factor-D induces transmural angiogenesis in porcine heart. *Circulation* 2004; 109: 1029-35.
40. Moccia F, Lodola F, Dragoni S, Bonetti E, Bottino C, Guerra G, Laforenza U, Rosti V, Tanzi F. Ca<sup>2+</sup> signalling in endothelial progenitor cells: a novel means to improve cell-based therapy and impair tumour vascularisation. *Curr Vasc Pharmacol* 2014; 12: 87-105.
41. Moccia F, Dragoni S, Cinelli M, Montagnani S, Amato B, Rosti V, Guerra G, Tanzi F. How to utilize Ca(2)(+) signals to rejuvenate the reparative phenotype of senescent endothelial progenitor cells in elderly patients affected by cardiovascular diseases: a useful therapeutic support of surgical approach? *BMC Surg* 2013; 13 Suppl 2: S46.
42. Berra-Romani R, Avelino-Cruz JE, Raqeeb A, Della Corte A, Cinelli M, Montagnani S, Guerra G, Moccia F, Tanzi F. Ca(2)(+)-dependent nitric oxide release in the injured endothelium of excised rat aorta: a promising mechanism applying in vascular prosthetic devices in aging patients. *BMC Surg* 2013; 13 Suppl 2: S40.
43. Goncalves GA, Vassallo PF, dos Santos L, Schettert IT, Nakamuta JS, Becker C, Tucci PJ, Krieger JE. Intramyocardial transplantation of fibroblasts expressing vascular endothelial growth factor attenuates cardiac dysfunction. *Gene Ther* 2010; 17: 305-14.
44. Cittadini A, Monti MG, Iaccarino G, Di Rella F, Tsihchlis PN, Di Gianni A, Stromer H, Sorriento D, Peschle C, Trimarco B, Sacca L, Condorelli G. Adenoviral gene transfer of Akt enhances myocardial contractility and intracellular calcium handling. *Gene Ther* 2006; 13: 8-19.
45. Taljaard M, Ward MR, Kutryk MJ, Courtman DW, Camack NJ, Goodman SG, Parker TG, Dick AJ, Galipeau J, Stewart DJ. Rationale and design of Enhanced Angiogenic Cell Therapy in Acute Myocardial Infarction (ENACT-AMI): the first randomized placebo-controlled trial of enhanced progenitor cell therapy for acute myocardial infarction. *Am Heart J* 2010; 159: 354-60.
46. Beltrami AP, Barlucchi L, Torella D, Baker M, Limana F, Chimenti S, Kasahara H, Rota M, Musso E, Urbanek K, Leri A, Kajstura J, Nadal-Ginard B, Anversa P. Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. *Cell* 2003; 114: 763-76.
47. Leri A, Kajstura J, Anversa P. Role of cardiac stem cells in cardiac pathophysiology: a paradigm shift in human myocardial biology. *Circ Res* 2011; 109: 941-61.
48. Taylor DA, Atkins BZ, Hungspreugs P, Jones TR, Reedy MC, Hutcheson KA, Glower DD, Kraus WE. Regenerating functional myocardium: improved performance after skeletal myoblast transplantation. *Nat Med* 1998; 4: 929-33.

49. Hare JM, Traverse JH, Henry TD, Dib N, Strumpf RK, Schulman SP, Gerstenblith G, DeMaria AN, Denktas AE, Gammon RS, Hermiller JB, Jr., Reisman MA, Schaer GL, Sherman W. A randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-escalation study of intravenous adult human mesenchymal stem cells (prochymal) after acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2009; 54: 2277-86.
50. Power C, Rasko JE. Promises and challenges of stem cell research for regenerative medicine. *Ann Intern Med* 2011; 155: 706-13, W217.
51. Cittadini A, Monti MG, Petrillo V, Esposito G, Imparato G, Luciani A, Urciuolo F, Bobbio E, Natale CF, Sacca L, Netti PA. Complementary therapeutic effects of dual delivery of insulin-like growth factor-1 and vascular endothelial growth factor by gelatin microspheres in experimental heart failure. *Eur J Heart Fail* 2011; 13: 1264-74.
52. Cai A, Zheng D, Dong Y, Qiu R, Huang Y, Song Y, Jiang Z, Rao S, Liao X, Kuang J, Dai G, Mai W. Efficacy of Atorvastatin combined with adipose-derived mesenchymal stem cell transplantation on cardiac function in rats with acute myocardial infarction. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2011; 43: 857-66.
53. Erwin GS, Crisostomo PR, Wang Y, Wang M, Markel TA, Guzman M, Sando IC, Sharma R, Meldrum DR. Estradiol-treated mesenchymal stem cells improve myocardial recovery after ischemia. *J Surg Res* 2009; 152: 319-24.
54. Perin EC, Silva GV, Assad JA, Vela D, Buja LM, Sousa AL, Litovsky S, Lin J, Vaughn WK, Coulter S, Fernandes MR, Willerson JT. Comparison of intracoronary and transendocardial delivery of allogeneic mesenchymal cells in a canine model of acute myocardial infarction. *J Mol Cell Cardiol* 2008; 44: 486-95.
55. Freyman T, Polin G, Osman H, Crary J, Lu M, Cheng L, Palasis M, Wilensky RL. A quantitative, randomized study evaluating three methods of mesenchymal stem cell delivery following myocardial infarction. *Eur Heart J* 2006; 27: 1114-22.
56. de la Fuente LM, Stertz SH, Argentieri J, Penaloza E, Miano J, Koziner B, Bilos C, Altman PA. Transendocardial autologous bone marrow in chronic myocardial infarction using a helical needle catheter: 1-year follow-up in an open-label, nonrandomized, single-center pilot study (the TABMMI study). *Am Heart J* 2007; 154: 79 e1-7.
57. Strauer BE, Steinhoff G. 10 years of intracoronary and intramyocardial bone marrow stem cell therapy of the heart: from the methodological origin to clinical practice. *J Am Coll Cardiol* 2011; 58: 1095-104.
58. Bolli R, Chugh AR, D'Amario D, Loughran JH, Stoddard MF, Ikram S, Beache GM, Wagner SG, Leri A, Hosoda T, Sanada F, Elmore JB, Goichberg P, Cappetta D, Solankhi NK, Fahsah I, Rokosh DG, Slaughter MS, Kajstura J, Anversa P. Cardiac stem cells in patients with ischaemic cardiomyopathy (SCIPIO): initial results of a randomised phase 1 trial. *Lancet* 2011; 378: 1847-57.
59. Trachtenberg B, Velazquez DL, Williams AR, McNiece I, Fishman J, Nguyen K, Rouy D, Altman P, Schwarz R, Mendizabal A, Oskouei B, Byrnes J, Soto V, Tracy M, Zambrano JP, Heldman AW, Hare JM. Rationale and design of the Transendocardial Injection of Autologous Human Cells (bone marrow or mesenchymal) in Chronic Ischemic Left Ventricular Dysfunction and Heart Failure Secondary to Myocardial Infarction (TAC-HFT) trial: A randomized, double-blind, placebo-controlled study of safety and efficacy. *Am Heart J* 2011; 161: 487-93.
60. Surder D, Schwitter J, Moccetti T, Astori G, Rufibach K, Plein S, Lo Cicero V, Soncin S, Windecker S, Moschovitis A, Wahl A, Erne P, Jamshidi P, Auf der Maur C, Manka R, Soldati G, Buhler I, Wyss C, Landmesser U, Luscher TF, Corti R. Cell-based therapy for myocardial repair in patients with acute myocardial infarction: rationale and study design of the SWiss multicenter Intracoronary Stem cells Study in Acute Myocardial Infarction (SWISS-AMI). *Am Heart J* 2010; 160: 58-64.