

Komórki macierzyste serca

Cardiac stem cells

Tomasz Jadczyk, Wojciech Wojakowski

III Katedra Kardiologii, Śląski Uniwersytet Medyczny, Katowice

WSTĘP

Rewolucyjnym odkryciem ostatnich lat było doniesienie, że mięsień sercowy dorosłych ludzi nie jest końcowo zróżnicowanym narządem. Obalono dotychczasowy paradygmat, a nowa definicja określa serce jako organ o powolnym, ale zachowanym przez całe życie potencjale regeneracyjnym [1]. Ocenia się, że u zdrowych osób na 10^6 kardiomiocytów przypada 14 komórek zdolnych do podziału, a liczba ta znacznie wzrasta u osób z ostrym zawałem serca (AMI) i u pacjentów z kardiomiopatią [2]. Odkrycie to było silnym impulsem do rozpoczęcia badań, których ukoronowaniem miało być zregenerowanie uszkodzonego fragmentu miokardium i odwrócenie skutków niewydolności serca. Dotychczas wielkie nadzieje wiązano z komórkami macierzystymi szpiku kostnego (BMCs, *bone marrow-derived cells*). Ogromny entuzjazm związany z możliwościami terapeutycznymi zainicjował serię badań klinicznych, mimo że dane z eksperymentów przeprowadzonych na zwierzętach były zbyt skąpe [3–8]. Wyniki uzyskane w badaniach klinicznych są niejednoznaczne [9–13], a wyniki metaanaliz wskazują, że u pacjentów z AMI terapia BMCs przynosi korzyści w postaci miernego wzrostu (2–3%) frakcji wyrzutowej lewej komory (LVEF) [14], przy czym efekt ten jest silniej widoczny w grupie pacjentów z rozległym zawałem [15]. Terapia zastoinowej niewydolności serca (CHF, *congestive heart failure*) za pomocą BMCs wykazuje podobną skuteczność, jednak liczba badań jest tu znacznie mniejsza [16–18]. Istotny postęp w dziedzinie terapii komórkowej stanowi odkrycie rezydentnych komórek macierzystych serca (CSC, *cardiac stem cells*). Ich obecność potwierdzono zarówno u zwierząt [19], jak i u ludzi [20, 21]. Odkrycie to stworzyło nowe perspektywy, szczególnie w leczeniu CHF. Niniejszy artykuł ma na celu przedstawienie obecnego stanu wiedzy na temat biologii i możliwości zastosowania CSC w badaniach klinicznych.

ODNOWA MIOKARDIUM

Przez wiele lat uważano, że kardiomiocyty u osób dorosłych nie mają zdolności do podziału, a serce traktowano jako cał-

kowicie zróżnicowany narząd. Liczba komórek miała być ściśle określona w 3.–6. miesiącu po urodzeniu [2], a każde uszkodzenie miokardium wiązano z procesem nieodwracalnej utraty kardiomiocytów. Zastanawiające było jednak to, że w sercu dorosłych ludzi obserwowano średnio 80% kardiomiocytów jednojądrowych i 20% dwujądrowych [22]. Ponadto w zwierzęcym modelu zawału serca stwierdzono wzrost ilości cykliny E, A, B [2], DNA oraz zaobserwowano proces kariokinezy i cytokinezy kardiomiocytów [23, 24]. Wszystkie te elementy wskazują na zdolność tych komórek do podziału. Za istnieniem procesu odnowy komórek mięśnia sercowego przemawiają dane dotyczące apoptozy kardiomiocytów. Systematyczny spadek liczby kardiomiocytów w ciągu trwania życia doprowadziłby do widocznego ubytku masy mięśnia, dlatego też stwierdzono, że proces apoptozy musi być w jakiś sposób bilansowany. Dopiero badania zespołu Piero Anversy [22] dostarczyły przekonujących dowodów na obecność dzielących się kardiomiocytów zarówno u osób zdrowych, jak i z uszkodzonym miokardium. Późniejsze eksperymenty udowodniły istnienie CSC zdolnych do różnicowania się we wszystkie komponenty strukturalne mięśnia sercowego [25]. Dowiedziano ponadto, że zjawisko regeneracji jest bardziej nasilone przy niedokrwinnym uszkodzeniu miokardium [26]. Istnieją również dowody na to, że oprócz CSC ludzkie dojrzałe kardiomiocyty mogą ponownie wejść w cykl komórkowy [22]. Wszystkie przedstawione powyżej mechanizmy dają możliwość regeneracji serca.

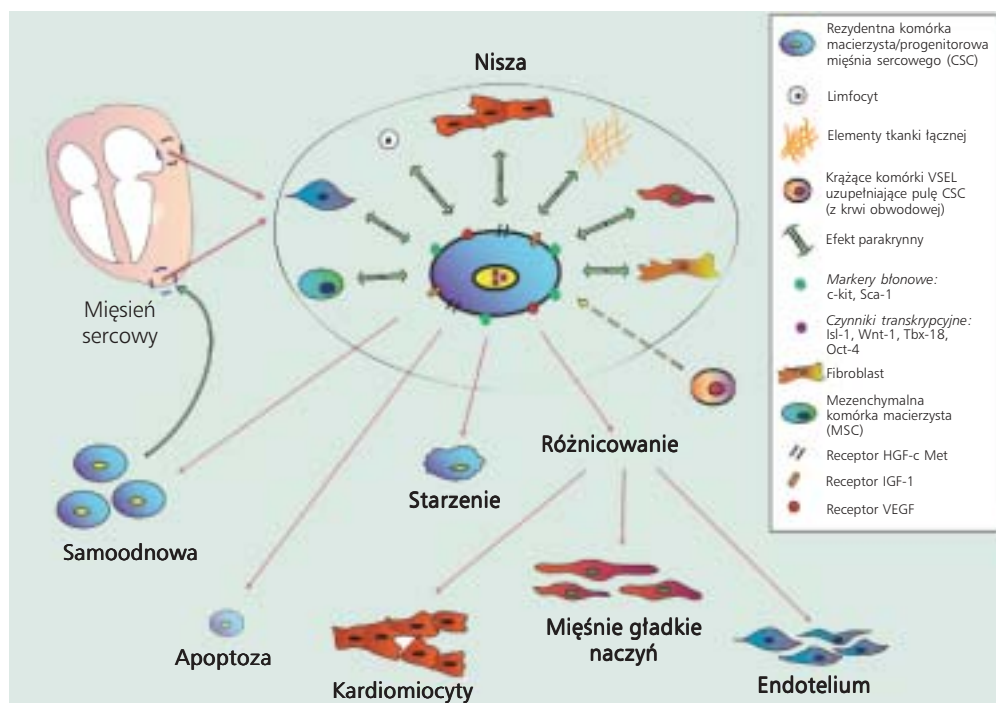
REZYDENTNE KOMÓRKI MACIERZYSTE MIĘŚNIA SERCOWEGO (CSC)

Rezydentne CSC to niezróżnicowane komórki macierzyste występujące u dorosłych osobników, obecne z częstością 1 CSC na 8000–20 000 kardiomiocytów [2]. Są niewielkich rozmiarów o średniej wielkości $5 \mu\text{m}$ i objętości $203 \pm 50 \mu\text{m}^3$ [26]. Charakteryzują się multipotencjalnością, klonogennością oraz zdolnością do podziałów w mechanizmie symetrycznym i asymetrycznym [1]. Wykazano, że w sercu CSC występują głównie w obrębie przedsionków i koniuszka, a ich liczba zależy od obciążenia mechanicznego (rozmiest-

Adres do korespondencji:

dr hab. n. med. Wojciech Wojakowski, III Katedra Kardiologii, Śląski Uniwersytet Medyczny, ul. Ziołowa 45–47, 40–635 Katowice, tel: +48 32 252 39 30, e-mail: wojtek.wojakowski@gmail.com

Praca wpłynęła: 21.02.2010 r. Zaakceptowana do druku: 24.02.2010 r.



Rycina 1. Charakterystyka niszy komórki macierzystej serca oraz zakres różnicowania i samoodnowy CSC

czenie jest odwrotnie proporcjonalne do siły działającej na miokardium). Komórki macierzyste serca są ułożone w niszach (ryc. 1) zapewniających właściwe mikrośrodowisko, a integracja jest realizowana dzięki połączeniom międzykomórkowym, aktywnym substancjom parakrynnym i tkance łącznej [25]. Szczególnie istotna wydaje się interakcja między CSC a mezenchymalnymi komórkami macierzystymi, również obecnymi w sercu [27]. Biochemiczny dialog, jaki prowadzą komórki, decyduje więc o losie CSC (różnicowanie, samoodnowa, apoptoza, starzenie) [25]. Komórki te mają także zdolność migracji pod wpływem czynników chemotaktycznych, głównie czynnika wzrostu hepatocytów (HGF) oraz czynnika wzrostu śródbłonnka naczyniowego (VEGF) [28]. Ruch zgodny ze wzrastającym gradientem stężenia HGF jest mediowany przez jego receptor c-Met obecny na powierzchni CSC [29]; HGF w mniejszym stopniu promuje także wzrost i przeżywalność komórek [29], a VEGF mediuje swoją funkcję przez aktywację szlaku sygnałowego PI3k/Akt. Innym ważnym czynnikiem oddziałującym na CSC jest insulinopodobny czynnik wzrostu-1 (IGF-1) będący sygnałem do podziału i podtrzymania żywotności.

Rezydentne CSC mają zdolność do różnicowania się w komórki miokardium, endotelium, mięśni gładkich i fibroblastów [25], co umożliwia regenerację uszkodzonego fragmentu mięśnia sercowego i poprawę jego funkcji.

Istnieją 3 podstawowe teorie dotyczące pochodzenia CSC [30]:

- konstytutywne zasiedlanie podczas rozwoju osobniczego;
- mobilizacja komórek macierzystych do krwi i napływ do serca pod wpływem uszkodzenia mięśnia sercowego;

— CSC jako endogenna pula komórek miokardium pochodząca z grzebienia nerwowego.

Niewykluczone jest także współistnienie wymienionych mechanizmów. Sugeruje się, że komórki uzupełniające pulę sercowych CSC wywodzą się ze szpiku kostnego. Kilka populacji, w tym komórki zrębu szpiku (MSC) i małe komórki o fenotypie zarodkowych komórek macierzystych (VSEL), mogą ulegać mobilizacji do krwi oraz migracji do miokardium [30]. Za istnieniem tego procesu przemawia zjawisko chimeryzmu w przeszczepionych sercach, opisane przy badaniu serc zmarłych biorców płci męskiej, dla których dawcą serca była kobieta. Minami i wsp. [31] oraz Quaini i wsp. [32] potwierdzili obecność kardiomiocytów, komórek mięśni gładkich i śródbłonnka posiadających chromosom Y, co wskazuje na migrację komórek z tkanek biorcy. Kontrowersje budzi nadal ocena ilościowa tego zjawiska oraz to, czy proces zapewnia powstanie znaczącej dla funkcji serca liczby elementów kurczliwych [33]. Chimeryzm obserwuje się również u kobiet będących biorcami szpiku kostnego od mężczyzn. Komórki z chromosomem Y odnaleziono bowiem w obrębie naczyń wieńcowych oraz w samym miokardium [34, 35].

Współczesne metody identyfikacji CSC wykorzystują obecność specyficznych markerów powierzchniowych (CD31, CD34, c-kit, Sca-1, Flk-1/KDR), czynników transkrypcyjnych (Isl-1, Wnt-1, Tbx-18, Oct-4), zdolność wydalanania barwnika Hoechst (komórki SP) oraz tworzenie sfer podczas hodowli *in vitro* [20, 36]. Mimo szerokiego spektrum markerów wydaje się, że jest to homogenna grupa komórek, a optyczna mnogość wynika z różnych metod identyfikacji

zastosowanych przez poszczególnych badaczy. Z pewnością można natomiast stwierdzić, że CSC występują w sercu i mogą różnicować się w dojrzałe, funkcjonalne kardiomiocyty [1].

Sercowe komórki SP

(CSP, cardiac side-population)

Ta subpopulacja rezydentnych komórek macierzystych serca posiada zdolność wydalania barwnika Hoechst [19], co zawdzięcza obecności ATP-zależnego białka transportującego w błonie cytoplazmatycznej [37]. Komórki o podobnym charakterze znaleziono również w wielu innych tkankach, lecz CSP są odrębne pod względem fenotypowym i genetycznym [1]. W badaniach przeprowadzonych na zwierzętach potwierdzono zdolność CSP do różnicowania się w kardiomiocyty zarówno *in vitro*, jak i *in vivo* po implantacji [38]. W zwierzęcym modelu zawału serca stwierdzono wzrost ilości CSP po uszkodzeniu miokardium [39]. Szczególną podgrupę CSPs stanowią komórki CD31⁻, ponieważ bardzo łatwo różnicują się w kierunku kardiomiocytów i mają zdolność skurczu *in vitro* [40]. U myszy występują 1 na 30 000 komórek serca [40].

Komórki c-kit dodatnie

C-kit (CD117) to receptor dla czynnika komórek macierzystych (SCF, *stem cell factor*) stosowany jako marker powierzchniowy dla identyfikacji komórek macierzystych. Komórki c-kit⁺ zostały opisane po raz pierwszy w 2003 roku przez Beltramiego, który stwierdził ich znaczną koncentrację w korniuszku i w przedsionkach serca szczura [21]. Bearzi i wsp. [41] zidentyfikowali je również u ludzi, udowadniając równocześnie wszystkie cechy komórek macierzystych (samoodnowa, klonogenność, multipotencjalność). Bardzo istotnym doniesieniem z tej samej pracy było udokumentowanie, że nowe kardiomiocyty i naczynia powstają po implantacji ludzkich c-kit⁺ CSC zwierzętom [41]. Tillmanns i wsp. [42] wykazali zdolność różnicowania c-kit⁺ CSC w komórki mięśni gładkich i endotelium tętnic wieńcowych, a w mniejszym stopniu również w kardiomiocyty. Podstawowym problemem w badaniach nad komórkami c-kit⁺ jest trudność w ich izolacji, o czym świadczy różna wydajność uzyskania tych komórek przez poszczególnych badaczy. Konieczna jest więc standaryzacja procedur izolacji, przechowywania, hodowli i kontroli jakości. Na podstawie przeprowadzonych dotychczas badań klinicznych z BMCs można stwierdzić, że parametry te są bardzo istotne [1].

Komórki Sca-1 dodatnie

W większości badań u myszy CSC wykazują ekspresję Sca-1, natomiast wątpliwości budzi używanie tego antygenu do identyfikacji CSCs u ludzi [1]. Sca-1 jest antygenem mysim i jak dotąd nie opisano jego funkcji u ludzi ani nie wykazano przekonująco struktury i funkcji epitopu, z którym wiąże się przeciwciała anty-Sca-1 [1].

Komórki zdolne do tworzenia kardiosfer

Tę podgrupę CSC odróżniono ze względu na unikatową zdolność tworzenia sfer podczas hodowli *in vitro*. Ich obecność potwierdzono w biopsjach serc zwierząt i ludzi [20]. Charakteryzują się ekspresją markerów komórek endotelium i komórek macierzystych [20]. Z tego powodu kardiosfery traktuje się jako układ heterogeny. Badania na myszach w modelu zawału serca z wykorzystaniem tego podtypu CSCs wykazały polepszenie funkcji serca i wytworzenie nowych kardiomiocytów oraz komórek endotelium [1].

Komórki Isl-1 dodatnie

Komórki wykazujące ekspresję Isl-1, czynnika transkrypcyjnego szczególnie aktywnego podczas rozwoju zarodkowego, mają zdolność transformacji w kardiomiocyty, mięśnie gładkie i endotelium [43]. Komórki macierzyste serca wykazujące obecność Isl-1 stwierdzono dotychczas u szczurów, myszy, a także u ludzi [44]. W rozwoju osobniczym Isl-1 stanowi bardzo ważny czynnik, niezbędny do prawidłowego rozwoju serca [45]. Niska liczebność w obrębie miokardium dorosłych osobników stanowi jednak ograniczenie w zastosowaniu Isl-1⁺ CSC w terapii [1].

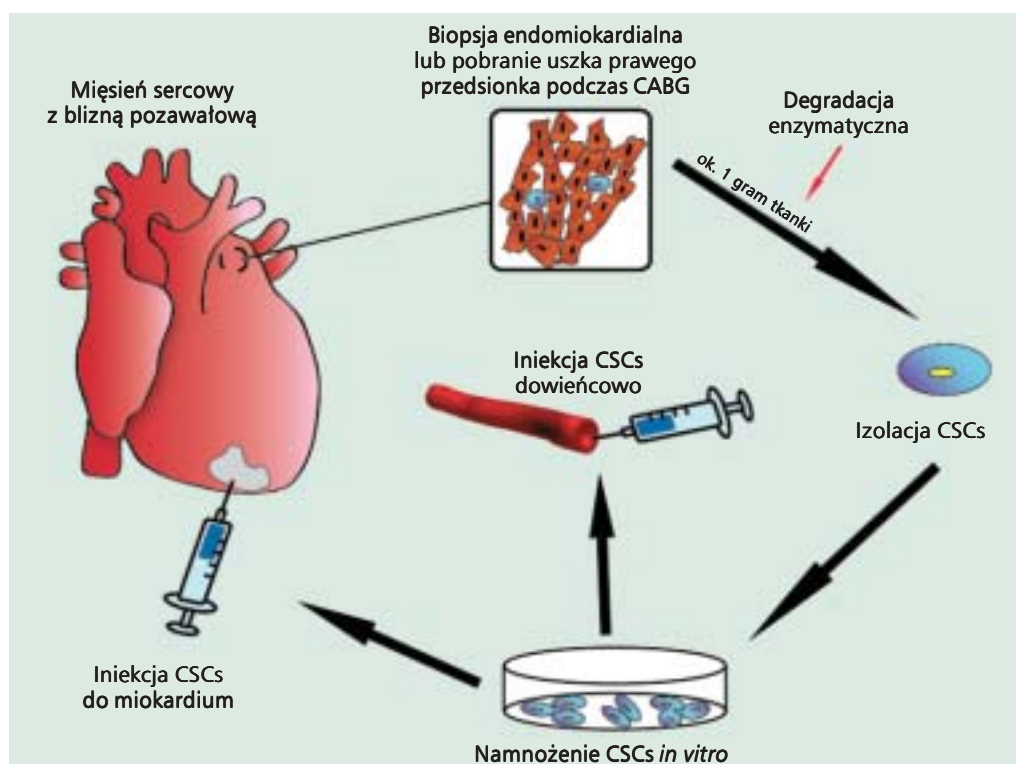
Komórki Wnt-1 i Tbx-18 dodatnie

Są to, podobnie jak Isl-1, czynniki transkrypcyjne. Komórki dodatnie pod względem Wnt-1 i Tbx-18 mają zdolność różnicowania się w mięśnie gładkie, komórki endotelium i kardiomiocyty [1]. Dotychczasowo zidentyfikowano je tylko u myszy [1].

Należy podkreślić, że powyższy podział CSC na podgrupy jest sztuczny i wynika z różnych metod ich identyfikacji stosowanych przez poszczególne grupy badaczy.

Rezydentne komórki macierzyste/progenitorowe serca stanowią bardzo obiecującą alternatywę dla komórek egzogeny, gdyż przewyższają je pod względem wydajności różnicowania w dojrzałe, funkcjonalne kardiomiocyty. Podstawowym ograniczeniem jest jednak uzyskanie odpowiedniej ilości komórek, szczególnie u pacjentów z istniejącą chorobą serca. Zasadniczy wydaje się tutaj sposób pobrania komórek, gdyż Kubo i wsp. [46] wyizolowali komórki c-kit⁺ z 36 na 37 ludzkich serc i udowodnił, że liczba CSC wzrasta około 4-krotnie u chorych z CHF. W kwestii pobrania CSC warte uwagi są również wyniki badań nad wpływem antracykliny na rozwój kardiomiopatii w przebiegu zmniejszenia puli tych komórek u pacjentów nowotworowych. Dane sugerują możliwość odwrócenia negatywnych skutków zastosowanej terapii przez zabezpieczenie odpowiedniej ilości autologicznych CSC przed włączeniem leczenia i ich późniejszej aplikacji [47].

Dokładne poznanie profilu CSCs, ich funkcji w regionalnej homeostazie i odnowie mięśnia sercowego są kluczowe dla planowanych badań klinicznych z ich zastosowaniem. Grupą chorych, którzy mogliby odnieść korzyść z terapii CSC,



Rycina 2. Proces pozyskania, hodowli i aplikacji komórek macierzystych/progenitorowych mięśnia sercowego u pacjentów z kardiomiopatią niedokrwienną

są pacjenci z CHF, a w mniejszym stopniu z zawałem serca. Wynika to z faktu, że potrzeba odpowiednio dużo czasu na wyizolowanie, hodowlę i aplikację komórek (ryc. 2), dlatego możliwości zastosowania tej metody w stanach ostrych są niewielkie. Dopracowanie wyżej wymienionych elementów (od uzyskania komórek do podania) wydaje się kluczowe i decydujące dla końcowego wyniku leczenia [1]. Rozważane są następujące sposoby implantacji CSC: pośredni (podanie do naczyń) i bezpośredni (wstrzyknięcie do miokardium). Każdy z nich ma swoje wady i zalety — aplikacja do układu naczyniowego może być mało wydajna u pacjentów z przewlekłą chorobą serca, gdzie proces zagnieżdżania komórek wydaje się niewielki; podanie bezpośrednie jest natomiast trudniejsze technicznie w przypadku metody przezskórnej [1]. Obecnie trwają już 3 badania kliniczne z wykorzystaniem CSC u ludzi (<http://clinicaltrials.gov>; NCT00474461, NCT00893360, NCT00981006) [48–50].

Badania Kubo i wsp. [46] wskazują, iż mimo że komórki c-kit⁺ były izolowane od pacjentów z zaawansowaną chorobą serca w hodowli *in vitro* wysoki odsetek różnicował się w kardiomiocyty. Sugeruje to, że komórki rezydentne mogą być w jakiś sposób lokalnie hamowane w nieznanym dotąd mechanizmie. Wydaje się, że przeżywalność aplikowanych

komórek i ich zdolność różnicowania w dojrzałe kardiomiocyty nie są jedyną przyczyną poprawy funkcji serca (obserwowana < 72 h od podania komórek) [51]. Coraz częściej podnosi się więc kwestię działania parakrynnego komórek macierzystych [51]. Ostatnie doniesienia wskazują, że dowieńcowe podanie CSC aktywuje endogenną pulę CSC nawet 30 dni po okluzji tętnicy przy współistniejącej bliznie pozawałowej. Skutkuje to poprawą funkcji lewej komory i korzystnymi zmianami strukturalnymi (wzrost ilości funkcjonalnego miokardium w obszarze pozawałowym oraz zmniejszona ilość tkanki łącznej w rejonie okołozawałowym). Za parakrynnym mechanizmem przemawia bardzo niska liczba komórek pochodzących z egzogennej puli CSC (kardiomiocyty, komórki endotelium i mięśnie gładkie naczyń), a także wzrost ilości białka wytwarzanego przez endogenne CSC przy widocznym efekcie klinicznym. Dane te sugerują możliwość zastosowania CSCs u pacjentów z kardiomiopatią niedokrwienną [52].

Program operacyjny Innowacyjna Gospodarka, grant POIG 01.02–00–109/09 „Innowacyjne metody zastosowania komórek macierzystych w medycynie”, grant Servier 2010 oraz granty Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego 0651/P01/2007/32 i 2422/P01/2007/32.

Piśmiennictwo

- Oikonomopoulos A, Sereti K-I, Liao R. Resident cardiac stem/progenitor cells for cardiac regeneration. *Drug Discovery Today: Therapeutic Strategies* 2008; 5: 193–199.
- Anversa P, Kajstura J. Ventricular myocytes are not terminally differentiated in the adult mammalian heart. *Circ Res*, 1998; 83: 1–14.
- 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: 1395–1402.
- Murry CE, Soonpaa MH, Reinecke H et al. Haematopoietic stem cells do not transdifferentiate into cardiac myocytes in myocardial infarcts. *Nature*, 2004; 428: 664–668.
- Sadek H, Martin C, Latif S et al. Bone-Marrow-derived side population cells for myocardial regeneration. *J Cardiovasc Translat Res*, 2009; 2: 173–181.
- Yoon J, Choi SC, Park CY et al. Bone marrow-derived side population cells are capable of functional cardiomyogenic differentiation. *Molecules Cells*, 2008; 25: 216–223.
- Chien KR. Stem cells: lost in translation. *Nature*, 2004; 428: 607–608.
- Balsam LB, Wagers AJ, Christensen JL et al. Haematopoietic stem cells adopt mature haematopoietic fates in ischaemic myocardium. *Nature*, 2004; 428: 668–673.
- Wollert KC, Meyer GP, Lotz J et al. Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomised controlled clinical trial. *Lancet*, 2004; 364: 141–148.
- Schachinger V, Assmus B, Britten MB et al. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction: final one-year results of the TOPCARE-AMI Trial. *J Am Coll Cardiol*, 2004; 44: 1690–1699.
- Tendera M, Wojakowski W, Rużyłło W et al. Intracoronary infusion of bone marrow-derived selected CD34+CXCR4+ cells and non-selected mononuclear cells in patients with acute STEMI and reduced left ventricular ejection fraction: results of randomized, multicentre Myocardial Regeneration by Intracoronary Infusion of Selected Population of Stem Cells in Acute Myocardial Infarction (REGEN) Trial. *Eur Heart J*, 2009; p. ehp073.
- Janssens S, Dubois C, Bogaert J et al. Autologous bone marrow-derived stem-cell transfer in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: double-blind, randomised controlled trial. *Lancet*, 2006; 367: 113–121.
- Tendera M, Wojakowski W. Cell therapy — success does not come easy. *Eur Heart J*, 2009; 30: 640–641.
- Zhang S-N, Sun A-J, Ge J-B et al. Intracoronary autologous bone marrow stem cells transfer for patients with acute myocardial infarction: A meta-analysis of randomised controlled trials. *Inter J Cardiol*, 2009; 136: 178–185.
- Drexler H, Wollert KC. Stem cells: Bone marrow cell therapy for MI: goal achieved? *Nat Rev Cardiol*, 2009; 6: 615–616.
- Assmus B, Honold J, Schachinger V et al. Transcatheter Transplantation of functionally competent bmcs is associated with a decrease in natriuretic peptide serum levels and improved survival of patients with chronic postinfarction heart failure: results of the TOPCARE-CHD Registry. *Circ Res*, 2007; 100: 1234–1241.
- Yao K, Huang R, Qian J et al. Administration of intracoronary bone marrow mononuclear cells on chronic myocardial infarction improves diastolic function. *Heart*, 2008; 94: 1147–1153.
- Losordo DW, Schatz RA, White CJ et al. Intramyocardial transplantation of autologous cd34+ stem cells for intractable angina: a phase i/ia double-blind, randomized controlled trial. *Circulation*, 2007; 115: 3165–3172.
- Hierlihy AM, Seale P, Lobe CG, Rudnicki MA, Megeney LA. The post-natal heart contains a myocardial stem cell population. *FEBS Lett*, 2002; 530: 239–243.
- Messina E, De Angelis L, Giacomello A et al. Isolation and expansion of adult cardiac stem cells from human and murine heart. *Circ Res*, 2004; 95: 911–921.
- Beltrami AP, Barlucchi L, Torella D et al. Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. *Cell*, 2003; 114: 763–776.
- Anversa P, Nadal-Ginard B. Myocyte renewal and ventricular remodelling. *Nature*, 2002; 415: 240–243.
- Kajstura J, Chimenti S, Limana F et al. Myocyte proliferation in end-stage cardiac failure in humans. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998; 95: 8801–8805.
- Beltrami AP, Urbanek K, Kajstura J et al. Evidence that human cardiac myocytes divide after myocardial infarction. *N Engl J Med*, 2001; 344: 1750–1757.
- Barile L, Messina E, Giacomello A, Marbán E. Endogenous cardiac stem cells. *Prog Cardiovasc Dis*, 2007; 50: 31–48.
- Urbanek K, Torella D, Sheikh F et al. Myocardial regeneration by activation of multipotent cardiac stem cells in ischemic heart failure. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005; 102: 8692–8697.
- Nakanishi C, Yamagishi M, Yamahara K et al. Activation of cardiac progenitor cells through paracrine effects of mesenchymal stem cells. *Bioch Biophys Res Commun*, 2008; 374: 11–16.
- Tang J, Wang J, Kong X et al. Vascular endothelial growth factor promotes cardiac stem cell migration via the PI3K/Akt pathway. *Experim Cell Res*, 2009; 315: 3521–3531.
- Linke A, Muller P, Nurzynska D et al. Stem cells in the dog heart are self-renewing, clonogenic, and multipotent and regenerate infarcted myocardium, improving cardiac function. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005; 102: 8966–8971.
- Lyngbaek S, Schneider M, Hansen JL, Sheikh SP. Cardiac regeneration by resident stem and progenitor cells in the adult heart. *Basic Res Cardiol*, 2007; 102: 101–114.
- Minami EM, Laflamme A, Saffitz JE, Murry CE. Extracardiac progenitor cells repopulate most major cell types in the transplanted human heart. *Circulation*, 2005; 112: 2951–2958.
- Quaini F, Urbanek K, Beltrami AP et al. Chimerism of the transplanted heart. *N Engl J Med*, 2002; 346: 5–15.
- Anversa P, Leri A, Rota M et al. Concise review: stem cells, myocardial regeneration, and methodological artifacts. *Stem Cells*, 2007; 25: 589–601.
- Jiang S, Walker L, Afentoulis M et al. Transplanted human bone marrow contributes to vascular endothelium. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004; 101: 16891–16896.
- Thiele J, Varus E, Wickenhauser C et al. Mixed chimerism of cardiomyocytes and vessels after allogeneic bone marrow and stem-cell transplantation in comparison with cardiac allografts. *Transplantation*, 2004; 77: 1902–1905.
- Gonzales C, Pedrazzini T. Progenitor cell therapy for heart disease. *Exp Cell Res*, 2009; 315: 3077–3085.
- Martin CM, Meeson AP, Robertson SM et al. Persistent expression of the ATP-binding cassette transporter, Abcg2, identifies cardiac SP cells in the developing and adult heart. *Dev Biol*, 2004; 265: 262–275.
- Oyama T, Nagai T, Wada H et al. Cardiac side population cells have a potential to migrate and differentiate into cardiomyocytes *in vitro* and *in vivo*. *J Cell Biol*, 2007; 176: 329–341.
- Martin CM, Meeson AP, Robertson SM et al. Hypoxia-inducible factor-2{alpha} transactivates abcg2 and promotes cytoprotection in cardiac side population cells. *Circ Res*, 2008; 102: 1075–1081.
- Pfister O, Mouquet F, Jain M et al. CD31- but Not CD31+ cardiac side population cells exhibit functional cardiomyogenic differentiation. *Circulation Res*, 2005; 97: 52–61.
- Bearzi C, Rota M, Anversa P et al. Human cardiac stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007; 104: 14068–14073.
- Tillmanns J, Rota M, Hosoda T et al. Formation of large coronary arteries by cardiac progenitor cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008; 105: 1668–1673.
- Moretti A, Caron L, Nakano A et al. Multipotent embryonic isl1+ progenitor cells lead to cardiac, smooth muscle, and endothelial cell diversification. *Cell*, 2006; 127: 1151–1165.
- Laugwitz KL, Moretti A, Lam J et al. Postnatal isl1+ cardioblasts enter fully differentiated cardiomyocyte lineages. *Nature*, 2005; 433: 647–653.
- Cai CL, Liang X, Shi Y, Chu PH, Pfaff SL, Chen J. Isl1 identifies a cardiac progenitor population that proliferates prior to differentiation and contributes a majority of cells to the heart. *Dev Cell*, 2003; 5: 877–889.
- Kubo H, Jaleel N, Kumarapeli A et al. Increased cardiac myocyte progenitors in failing human hearts. *Circulation*, 2008; 118: 649–657.
- De Angelis A, Piegari E, Cappetta D et al. Anthracycline cardiomyopathy is mediated by depletion of the cardiac stem cell pool and is rescued by restoration of progenitor cell function. *Circulation*, 2010; 121: 276–292.
- AutoLogous Human CArdiac-Derived Stem Cell to Treat Ischemic CArdiomyopathy (ALCADIA), NCT00981006. Available from: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00981006>.
- CArdiosphere-Derived AUtologous Stem Cells to Reverse ventricular dySfunction (CADUCEUS), NCT00893360. Available from: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00893360>.
- Myocardial Regeneration Using Cardiac Stem Cells (SCIPIO), NCT00474461. Available from: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00474461>.
- Gnecchi M, He H, Noiseux N et al. Evidence supporting paracrine hypothesis for Akt-modified mesenchymal stem cell-mediated cardiac protection and functional improvement. *FASEB J*, 2006; 20: 661–669.
- Tang X-L, Rokosh G, Sanganalalath SK et al. Intracoronary administration of cardiac progenitor cells alleviates left ventricular dysfunction in rats with a 30-day-old infarction. *Circulation*, 2010; 121: 293–305.