

La Nuova

Informazione Cardiologica

Anno 30° - Febbraio - 2010

FOGLIO ELETTRONICO DOMICILIARE N. 26

Cellule staminali cardiache

Tradizionalmente il cuore è stato visto come un organo statico incapace di riparare qualsiasi forma di danno. Secondo questo paradigma, il numero dei miociti è stabilito alla nascita, e questa popolazione, di miociti terminalmente differenziati, è insostituibile per tutta la vita dell'organo e dell'organismo ⁽¹⁾. L'invecchiamento dei miociti è dettata dall'età dell'organismo, e i miociti possono solo aumentare in dimensioni o morire. In accordo con questa nozione, la perdita di miociti è definitiva e il cuore non ha alcun meccanismo di riserva che compensi la morte cellulare e l'usura derivante dalle esigenze fisiologiche della vita quotidiana. Ci sono uomini e donne di 100 anni e più anziani, e secondo questo paradigma, tutti i loro miociti avrebbero vissuto 100 anni o più. In altre parole, dovrebbero coincidere l'età delle persone e quella dei loro miociti. I miociti sopravvivrebbero sostituendo continuamente organelli intracellulari, lasciando intatta la vitalità delle cellule.

Nonostante la dimostrazione di rigenerazione di miociti nel rimodellamento ventricolare ⁽²⁾, il concetto del cuore come un organo postmitotico è ancora ampiamente considerato valido. Per tale ragione, la ricerca sulle cellule staminali cardiache (CSCs) è stata percepita come uno sforzo inutile, sebbene cellule staminali siano state individuate in modo imprevisto in vari organi, compreso il cervello, reni, polmoni e muscoli scheletrici.

Tuttavia, negli ultimi anni, la dimostrazione del rinnovo di miociti nel cuore normale e malato hanno rivelato un'immagine nuova, dinamica e vitale di questo organo. Il cumulo di cellule staminali adulte è più probabile che si formi nel corso della vita prenatale o subito dopo la nascita. La migrazione di cellule staminali, la loro proliferazione, maturazione e morte regolano l'omeostasi del cuore degli adulti.

L'osservazione più rilevante, che ha drammaticamente messo in discussione il vecchio paradigma del cuore come un organo post-mitotico, è stata l'identificazione di cellule maschili nei cuori femminili trapiantati in destinatari maschi. La migrazione delle cellule dall'organo trapiantato al destinatario produce un chimerismo sistemico, e la migrazione delle cellule dall'ospite all'organo trapiantato provoca un chimerismo d'organo. L'esame istologico degli atri ha permesso di evidenziare un elevato livello di chimerismo cardiaco causato dalla migrazione di cellule primitive del destinatario al cuore innestato. Presunte cellule staminali e cellule progenitrici sono state individuate nel miocardio di controllo e in numero maggiore nei cuori trapiantati ⁽³⁾. La presenza di cellule di sesso maschile, nel cuore femminile è coerente con la tesi che le cellule germinali possano migrare verso il cuore trapiantato e dar luogo a tre principali progenie di cellule cardiache: miociti, cellule muscolari lisce e cellule endoteliali.

La riparazione del miocardio richiede la formazione di miociti e vasi coronarici, e non può essere compiuta da una cellula già impegnata per il lignaggio dei miociti. In presenza di un infarto, la generazione dei miociti da sola non può ripristinare la performance contrattile in una regione acinetica; miociti non potrebbero crescere o sopravvivere in mancanza di formazione dei vasi coronarici.

Le arteriole di resistenza sono critiche per la fornitura di sangue, e la consegna di ossigeno è controllata dalla rete capillare. Allo stesso modo, la creazione di vasi da soli non potrebbe ripristinare il miocardio morto e l'attività contrattile nella parte infartuata della parete ventricolare; i vasi non producono forza contrattile. La rigenerazione del miocardio richiede

l'utilizzo di una cella più primitiva multipotente come il *c-Kit* positivo per CSC (cellule staminali cardiache) ^(4,5).

Origine delle cellule staminali cardiache

Conoscenze attuali supportano il concetto che le cellule primitive sono presenti nel cuore durante la vita embrionale e regolano morfogenesi del cuore e sviluppo post-natale. L'organogenesi comincia con la specificazione di una popolazione di cellule progenitrici ⁽⁶⁾. La dimensione del numero di progenitori cardiaci embrionali condiziona la dimensione finale dell'organo. Per esempio, l'acido retinoico, che riduce il numero prenatale di progenitori cardiaci, comporta un'ipoplasia del cuore. La morfogenesi del cuore è un processo complesso che risulta dall'assemblaggio di sottoinsiemi di cellule del miocardio che esercitano funzione contrattile ma sono espressi da geni differenti ^(7,8).

Con una tecnologia molto complicata sono stati definiti i modelli d'istogenesi miocardica ed è stata dimostrata l'esistenza di uno specifico progenitore comune di cardiomiociti nella vita pre-natale e post-natale ⁽⁹⁾. La cosa più importante è che questo studio ha portato alla documentazione inequivocabile dell'origine intracardiaca dei miociti adulti e ha escluso la possibilità che un'immigrazione secondaria di cellule staminali da organi distanti si possa verificare in condizioni fisiologiche in età adulta. Accasamento e trapianto di cellule staminali attraverso la circolazione sistemica e i vasi sanguigni porterebbero a una localizzazione punteggiata di miociti di derivazione extra-cardiaca, con piccoli accumuli in vicinanza di capillari e arteriole ⁽⁹⁾.

Le nicchie di cellule staminali cardiache

Le cellule staminali sono accumulate nelle nicchie che si trovano in profondità nel tessuto per proteggerle da stimoli nocivi ^(10,11,12,13). La nicchia costituisce il microambiente in cui le cellule primitive si dividono, differenziandosi, e muoiono. Il riconoscimento di cellule staminali all'interno del loro ambiente naturale è di fondamentale importanza; le cellule staminali non resistono in assenza di cellule di supporto all'interno della nicchia ⁽¹¹⁾. La struttura di una nicchia sembra essere specificamente concepita per soddisfare le esigenze particolari delle cellule staminali residenti. A loro volta, le cellule staminali possono svolgere un ruolo importante nell'organizzazione e nella specificazione di una nicchia ⁽¹⁰⁾.

Le nicchie condividono somiglianze nell'attivazione di vie comuni di trasduzione del segnale che regolano l'andamento ciclico e l'auto-rinnovamento, della condizione indifferenziata delle loro cellule residenti ^(11,12,13). Tuttavia, nei vari organi con la potenzialità di auto-rinnovamento ciclico, le nicchie possono differire in organizzazione strutturale e composizione cellulare che creano un microambiente specifico per ogni tessuto.

L'individuazione di una nicchia di cellule staminali è un'impresa difficile nei mammiferi. Questa ricerca è compiuta più facilmente in organismi più semplici, come la *Drosophila*. Recentemente, raggruppamenti di cellule staminali cardiache (CSCs) sono stati trovati nel cuore degli adulti ⁽⁴⁾. Anche se gli ammassi di CSCs sono sparsi in tutto il miocardio, la loro distribuzione sembra essere condizionata dai diversi livelli di stress di parete. In effetti, la frequenza dei raggruppamenti di cellule staminali cardiache è inversamente proporzionale al carico emodinamico sostenuto dalle regioni anatomiche del cuore: le nicchie si accumulano negli atri e all'apice e sono meno numerose alla base e nella parte mediana del ventricolo sinistro (Fig.1).

Forze fisiche, come la deformazione meccanica, e l'elevato stress parietale possono essere trasdotti nelle risposte intracellulari che regolano il funzionamento e il destino delle cellule. In modo simile ai segnali d'azione chimici, vale a dire, citochine e ormoni, forze locali che modulano la migrazione delle cellule, la proliferazione, la differenziazione, e la morte ^(14,15).

FIG. 1. Rappresentazione schematica di nicchie di cellule staminali cardiache (CSC).

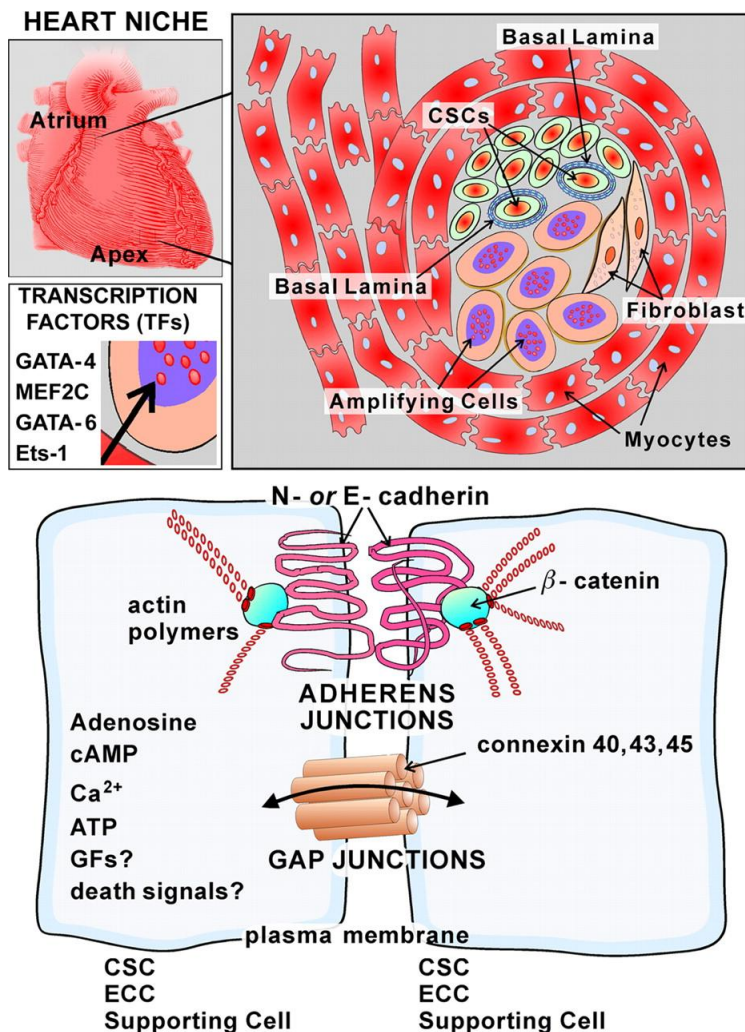


Fig.1. Raggruppamenti di cellule staminali cardiache (CSCs) sono prevalentemente situati negli atri e all'apice e consistono di miociti differenziati che circondano gruppi di CSC e cellule amplificanti a elevata capacità di sdoppiamento. Le cellule amplificanti sono cellule impegnate che esprimono fattori di trascrizione dei lignaggi, cardiaco (GATA-4), di miociti (MEF2C), di cellule muscolari lisce (GATA-6), e di cellule endoteliali (Ets1). Le interazioni tra CSCs, cellule impegnate precocemente (ECCs), e cellule di sostegno avvengono attraverso proteine giunzionali (caderine e connesine).⁽¹⁶⁾

Cellule progenitrici cardiache e riparazione miocardica

Il riconoscimento che il cuore dei mammiferi possiede un compartimento di cellule staminali che rigenerano miociti e vasi coronarici, solleva la possibilità unica di ricostituire miocardio morto dopo infarto, di ripopolare il cuore ipertrofico scompensato con nuovi miociti meglio funzionanti, e strutture vascolari, e, forse, a invertire la dilatazione ventricolare e l'assottigliamento parietale, restaurando le caratteristiche anatomiche e fisiologiche del cuore normale. Questa ipotesi è supportata dall'identificazione di cellule staminali cardiache (CSCs) nel cuore umano ^(17,18). Inoltre, cellule staminali cardiache iniettate localmente nel miocardio infartuato di animali immunodeficienti riparano il tessuto necrotico e migliorano la funzione ventricolare ^(17,19). Queste osservazioni hanno costituito la base di un nuovo paradigma in cui cellule staminali cardiache multipotenti sono implicate nel normale ricambio di miociti, cellule endoteliali, cellule muscolari lisce, e fibroblasti.

La comprensione dei meccanismi di omeostasi cardiaca offrirà la straordinaria opportunità di potenziare questo processo che si verifica naturalmente e promuove la rigenerazione del miocardio dopo un danno tessutale. Il rischio che la stimolazione di cellule staminali cardiache

possa indurre tumori maligni è improbabile, poiché questi costituiscono una forma estremamente rara di patologia cardiaca. Le cellule staminali cardiache dovrebbero essere più efficaci nella produzione di nuovo miocardio rispetto alle cellule progenitrici provenienti da altri organi. Le cellule staminali cardiache sono già programmate per creare muscolo cardiaco e, su attivazione, possono rapidamente generare cardiomiociti e vasi coronarici, eventualmente per salvare il cuore indebolito ⁽²⁰⁾.

Tuttavia, il campo della cardiologia rigenerativa è nella sua infanzia, e molta cautela deve essere esercitata prima che questa forma di terapia cellulare possa essere applicata nell'uomo. Sono necessarie le informazioni biologiche di base riguardanti la capacità delle CSCs di migrare, dividere, e differenziare. Così pure, stati patologici ischemici e non ischemici possono presentare profonde e distinte implicazioni sulla funzione dei raggruppamenti di cellule staminali cardiache, comprendenti l'accrescimento e la differenziazione dei lignaggi. Purtroppo, non esiste alcun modello animale valido che possa essere impiegato per raccogliere le informazioni di base che sono di enorme importanza prima di procedere all'applicazione del trattamento con cellule staminali cardiache in individui umani ⁽¹⁶⁾.

Rigenerazione miocardica e cardiomiopatia ischemica e non ischemica

La rigenerazione del miocardio si verifica nell'uomo in seguito a lesioni ischemiche ⁽²¹⁾ e non ischemiche ⁽¹⁸⁾. Tuttavia, la proliferazione dei miociti sembra essere limitata al miocardio vitale adiacente, ma pur sempre lontana dalla zona di necrosi infartuale o in altre condizioni patologiche in aree di miocardio intatto ⁽¹⁸⁾. L'identificazione delle cellule staminali cardiache conferma la nozione che i miociti replicanti costituiscono una sottopopolazione di cellule amplificanti in rapida crescita, originate da progenitori o cellule più primitive. Le CSCs sono distribuite in tutte le regioni del cuore; ciò fa pensare che la ricostituzione di cellule parenchimali e di vasi coronarici possa verificarsi in tutto il miocardio, offrendo un grande potenziale per la riparazione cardiaca. Cellule staminali cardiache che si trovano all'interno di un infarto o nelle sue prossimità, potrebbero dividersi e differenziarsi per ricostituire il miocardio morto.

Figura 2. Rigenerazione del miocardio nel cuore umano

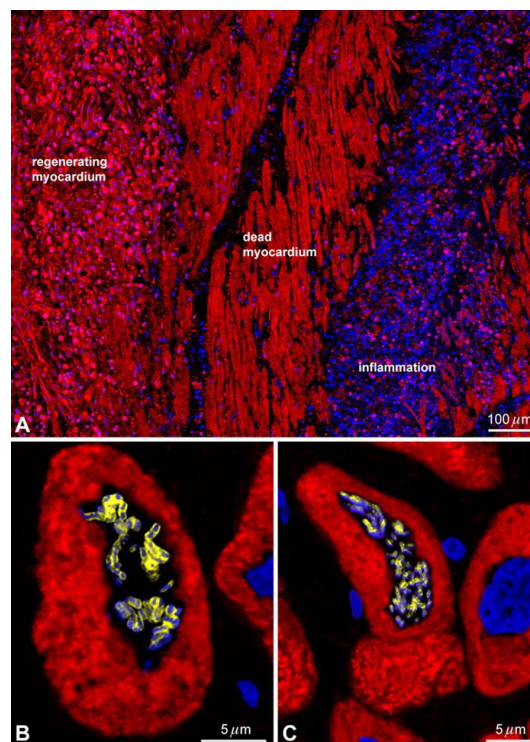


Figura 2. A: Uno spazio di formazione spontanea di miociti (α -actina del sarcomero, rosso) è presente in prossimità di una zona di necrosi di miocardio infartuato e di una regione di reazione infiammatoria (incampo blu). B e C: cromosomi in metafase (PI, blu) sono evidenti in due piccoli miociti che si stanno dividendo (catena pesante della miosina cardiaca, rosso), nel cuore di pazienti affetti da stenosi aortica cronica ⁽¹⁸⁾.

Nuove conoscenze sulle cellule staminali cardiache umane

Molto recente è la dimostrazione ⁽²²⁾ che il cuore umano contiene un pool di cellule in grado di creare miociti in vitro e di rigenerare miocardio in vivo. La raccolta di cellule staminali cardiache umane è riuscita con successo in tutte le quattro camere da tutti i campioni di miocardio, indipendentemente da età, sesso, tipo e durata della malattia. Ciò indica che nel cuore scompensato è presente un compartimento di cellule staminali. Di conseguenza, cellule staminali cardiache umane funzionalmente competenti possono essere isolate da campioni di miocardio e, dopo la loro espansione, essere somministrate di nuovo al paziente. Sono in corso due studi clinici, fase I, per testare la sicurezza del c-kit-positivo allografico ⁽²³⁾, e delle cardiospheres. ⁽²⁴⁾ Le cellule staminali derivate da tessuti di cuore umano si sviluppano in strutture sferiche pluricellulari chiamate cardiospheres che esprimono le normali proprietà del tessuto cardiaco primitivo, e le cellule della muscolatura liscia dei vasi sanguigni.

Il riconoscimento che nel cuore dell'uomo adulto esiste un compartimento di cellule staminali, risponde solo in parte alla questione se queste cellule mantengono la capacità di dividersi e differenziarsi in tutta vita o se le variabili che influiscono sugli esseri umani, tra cui età, malattie, effetti correlati di geni, ambiente e modifiche probabilistiche, interferiscono con la crescita di cellule staminali cardiache umane (hCSC) limitando la loro efficacia terapeutica. L'accumulo di cardiomiociti senescenti male contraenti nel cuore anziano pone la questione se l'invecchiamento colpisce uniformemente le nicchie hCSC o se un sottoinsieme di cellule staminali mantiene la sua gioventù durante l'intera durata dell'organo.

Gli stati patologici di origine ischemica e non ischemica, insieme con la durata e la gravità della malattia, possono esercitare profonde influenze su disponibilità e funzionalità di cellule staminali cardiache umane. La distribuzione geografica di cellule staminali cardiache umane potrebbe non essere uniforme all'interno del miocardio e nicchie di cellule staminali cardiache umane possono accumulare preferenzialmente in determinate regioni anatomiche, e possibilmente interferire con acquisizioni cellulari. Il sesso può rappresentare un altro importante fattore che determina lo sviluppo di cellule staminali cardiache umane e la differenziazione dei lignaggi cellulari.

La distribuzione di cellule staminali cardiache umane nelle diverse regioni anatomiche del cuore può condizionare il loro numero e il comportamento funzionale. L'atrio destro è la fonte più ricca di cellule c-kit-positive, e queste cellule staminali cardiache umane sono dotate di maggiore capacità di accrescimento e di potenziale differenziazione. Questa constatazione ha grandi implicazioni cliniche ed è in armonia con la localizzazione non uniforme di progenitori cardiaci in cuori animali e umani.

Sulla base dei dati raccolti ⁽²²⁾ si può retroattivamente dedurre che nell'atrio destro le condizioni ambientali mantengono le nicchie di cellule staminali cardiache umane in uno stato indifferenziato, prevenendo il loro esaurimento con l'invecchiamento e la malattia. Le dinamiche cellulari all'interno delle nicchie è strettamente regolamentato. Anche se si formano continuamente nuovi cardiomiociti, il numero di cellule staminali cardiache umane entro le nicchie rimane costante in un cuore in stato stabile. Nel cuore malato e in quello senescente vacillante, le nicchie miocardiche mantengono un livello significativo di plasticità evolutiva e mantengono la capacità di sentire il danno cellulare nel tessuto di residenza e rispondono a queste esigenze, aumentando il numero di cellule staminali replicanti ⁽²²⁾.

I campioni miocardici ottenuti da donatrici femmine hanno prodotto un numero maggiore di cellule staminali cardiache umane ⁽²²⁾. Queste osservazioni supportano l'ipotesi che la minore incidenza dello scompenso cardiaco nelle donne possa dipendere da una riserva maggiore e più efficiente di cellule staminali cardiache umane già presenti alla nascita e che persistono lungo tutto l'arco della vita. Questa differenza tra i sessi può elevare il ricambio cellulare cardiaco in età adulta e senescenza, ritardando l'inizio della cardiopatia d'invecchiamento.

Allo stesso modo, il cuore femminile adulto è più efficiente del cuore maschile nel sostenere carichi patologici; il compartimento dei cardiomiociti nelle femmine è composto da cellule più giovani e meglio funzionanti perché le cellule staminali cardiache umane possono sostituire in modo più efficiente vecchi miociti morenti con nuove progenie differenziate ^(25,26).

Benché siano stati studiati solo 4 casi di scompenso cardiaco in fase terminale, il ventricolo sinistro rimaneva ancora la sorgente anatomica più ricca di cellule staminali cardiache umane ⁽²²⁾. Questa è una constatazione critica e nuova. È difficile immaginarsi come la causa dello scompenso del cuore e il percorso imprevedibile della malattia influenzino il compartimento e la distribuzione delle cellule staminali cardiache. Malattie cardiache ischemiche e l'ipertensione sono le cause principali di scompenso cardiaco congestivo; in entrambi i casi, il sovraccarico prolungato sul miocardio può comportare l'attivazione e la proliferazione di cellule staminali cardiache umane localizzate nelle zone di confine di necrosi o cicatrici infartuali, o sparsi in tutto il miocardio del cuore iperteso. Questa possibilità è stata dimostrata essere valida negli animali ⁽²⁷⁾ e nell'uomo, ^(28,29), per cui le cellule progenitrici avviano un'intensa, anche se insufficiente, risposta rigenerativa per contrastare la morte cellulare e ripristinare la massa del muscolo cardiaco.

Bibliografia

1. Agah R, Kirshenbaum LA, Abdellatif M, et al. Adenoviral delivery of E2F-1 directs cell cycle reentry and p53-independent apoptosis in postmitotic adult myocardium in vivo. *J Clin Invest* 100: 2722–2728, 1997.
2. Anversa P and Nadal-Ginard B. Myocyte renewal and ventricular remodelling. *Nature* 415: 240–243, 2002.
3. Quaini F, Urbanek K, Beltrami AP, et al. Chimerism of the transplanted heart. *N Engl J Med* 346: 5–15, 2002.
4. Beltrami AP, Barlucchi L, Torella D, et al. Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. *Cell* 114: 763–776, 2003.
5. Linke A, Müller P, Nurzynska D, et al. Cardiac stem cells in the dog heart regenerate infarcted myocardium improving cardiac performance. *Proc Natl Acad Sci USA* 102: 8966–8971, 2005.
6. Pandur P. What does it take to make a heart? *Biol Cell* 97: 197–210, 2005.
7. Sieber-Blum M. Cardiac neural crest stem cells. *Anat Rec* 276: 34–42, 2004.
8. Solloway MJ and Harvey RP. Molecular pathways in myocardial development: a stem cell perspective. *Cardiovasc Res* 58: 264–277, 2003.
9. Eberhard D and Jockusch H. Patterns of myocardial histogenesis as revealed by mouse chimeras. *Dev Biol* 278: 336–346, 2005.
10. Fuchs E, Tumber T, and Guasch G. Socializing with the neighbors: stem cells and their niche. *Cell* 116: 769–778, 2004.
11. Spradling A, Drummond-Barbosa D, and Kai T. Stem cells find their niche. *Nature* 414: 98–104, 2001.
12. Watt FM and Hogan BLM. Out of Eden: stem cells and their niches. *Science* 287: 1427–1438, 2000.
13. Tumber T, Guasch G, Greco V, et al. Defining the epithelial stem cell niche in skin. *Science* 303: 359–363, 2004.
14. Leri A, Claudio PP, Li Q, et al. Stretch-mediated release of angiotensin II induces myocyte apoptosis by activating p53 that enhances the local RAS and decreases the Bcl-2 to Bax protein ratio in the cell. *J Clin Invest* 101: 1326–1342, 1998.
15. Sadoshima J and Izumo S. The cellular and molecular response of cardiac myocytes to mechanical stress. *Annu Rev Physiol* 59: 551–571, 1997.
16. Leri A, Kajstura J, Anversa P. Cardiac stem cells and mechanisms of myocardial regeneration. *Physiol Rev.* 2005; 85: 1373–1416.
17. Bearzi C, Cascapera S, Nascimbene A, et al. Characterization and growth of human cardiac stem cells. Late-breaking developments in stem cell biology and cardiac growth regulation. *Circulation* 111: 1720, 2005.
18. Urbanek K, Quaini F, Tasca G, et al. Intense myocyte formation from cardiac stem cells in human cardiac hypertrophy. *Proc Natl Acad Sci USA* 100: 10440–10445, 2003.

19. Messina E, De Angelis L, Frati G, et al. Isolation and expansion of adult cardiac stem cells from human and murine heart. *Circ Res* 95: 911–921, 2004.
20. Dawn B, Stein AB, Urbanek K, et al. Cardiac stem cells delivered intravascularly traverse the vessel barrier, regenerate infarcted myocardium, and improve cardiac function. *Proc Natl Acad Sci USA* 102: 3766–3771, 2005.
21. 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* 102: 8692–8697, 2005.
22. Itzhaki-Alfia Ayelet, Leor J, Raanani E, et al. Patient characteristics and cell source determine the number of isolated human cardiac progenitor cells. *Circulation*. 2009; 120: 2559–2566.
23. Bearzi C, Rota M, Hosoda T, et al. Human cardiac stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007; 104: 14068–14073.
24. Smith RR, Barile L, Cho HC, et al. Regenerative potential of cardiosphere-derived cells expanded from percutaneous endomyocardial biopsy specimens. *Circulation*. 2007; 115: 896–908.
25. Chimenti C, Kajstura J, Torella D, et al. Senescence and death of primitive cells and myocytes leads to premature cardiac aging and heart failure. *Circ Res*. 2003; 93: 604–613.
26. Gonzalez A, Rota M, Nurzynska D, et al. Activation of cardiac progenitor cells reverses the failing heart senescent phenotype and prolongs lifespan. *Circ Res*. 2008; 102: 597–606.
27. Boni A, Urbanek K, Nascimbene A, et al. Notch1 regulates the fate of cardiac progenitor cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008; 105: 15529–15534.
28. 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 U S A*. 2005; 102: 8692–8697.
29. Parmacek MS, Epstein JA. Cardiomyocyte renewal. *N Engl J Med*. 2009; 361: 86–88.

Prof. Paolo Rossi, primario cardiologo Novara e-mail: paolorossi_125@fastwebnet.it