
Hjärtats stamceller och regeneration vid hjärtskada

ILKKA TIKKANEN, PÄIVI LAKKISTO, HELI SEGERSVÄRD,
JUHA-MATTI SIREN, HANNA FORSTEN, EEVA PALOJOKI OCH MIKA LAINE

Nya forskningsresultat har visat att hjärtat, benmärgen och vissa andra vävnader innehåller stamceller eller progenitorceller som kan aktiveras för att bilda nya hjärtmuskelceller och blodkärl vid hjärtskada. Denna upptäckt öppnar en alldeles ny möjlighet för att förhindra och behandla hjärtsvikt efter hjärtinfarkt eller vid andra hjärtsjukdomar. Genom förstärkning av hjärtats egen regenerationsförmåga kan det i framtiden bli möjligt att betydligt förbättra behandlingsresultaten vid hjärtsjukdomar. Detta kan åstadkommas antingen med cellterapi där man injicerar isolerade, kardiomyogena stam/progenitorceller i hjärtcirkulationen eller direkt i hjärtmuskeln eller genom att stimulera hjärtats egna stamceller och regenerationsmekanismer. Det sistnämnda alternativet tycks för tillfället vara mer lovande eftersom effekten av direkt cellterapi på hjärtats funktion och hjärtinfarktens storlek hittills har varit begränsad i kliniska studier. Fortsatt forskning behövs för att utreda regleringen av hjärtats stamceller eller deras och andra progenitorcellers roll i regenerationen av hjärtat vid olika hjärtsjukdomar.

FÖRFATTARNA

Docent **Ilkka Tikkanen** är specialist i invärtesmedicin och nefrologi och arbetar som avdelningsöverläkare vid HUCS, Medicinska enheten. Han är ledare för Helsinki Hypertension Centre of Excellence (certified by European Society of Hypertension) och gruppchef för forskningsgruppen vid Minerva.

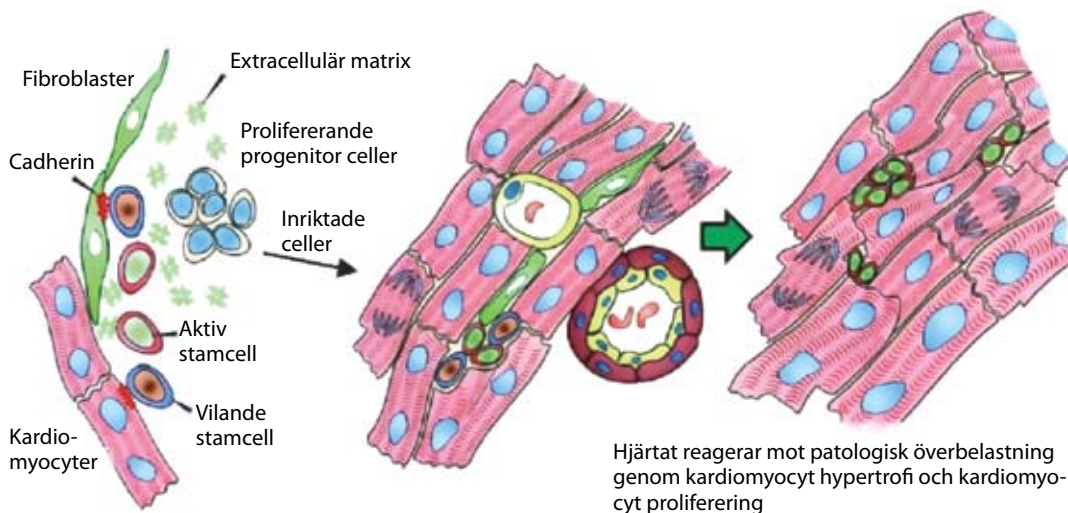
ML Päivi Lakkisto, MK Heli Segersvärd, MK Juha-Matti Siren och VML Hanna Forsten är alla forskare i Ilkka Tikkanens forskningsgrupp. Till forskningsgruppen hör också MD **Eeva Palojoki** som är specialist i inre medicin och kardiologi och arbetar på kardiologiska kliniken vid HUCS samt docent **Mika Laine som** är specialist i invärtesmedicin och kardiologi och avdelningsöverläkare vid HUCS.

Inledning

Väsentliga strukturella förändringar vid utvecklingen av hjärtsvikt innehåller hjärtcellernas överväxt och ökad bildning av bindvävnad samt förlust av hjärtceller på grund av programmerad celledöd, apoptos. Dessa förändringar är typiska för fenomenet med ombyggnad (remodelling) efter hjärtinfarkt men förekommer i alla former av hjärtsvikt. Ischemisk hjärtsjukdom, hypertension med hypertrofi av hjärtat, idiopatisk dilaterande kardiomyopati, samt diabetisk kardiomyopati kan alla leda till dessa förändringar i hjärtat och till kronisk, irreversibel förlust av hjärtats funktion. Liknande förändringar ser man även i det åldrande hjärtat vid hög ålder. Nuvarande kardiovaskulära mediciner kan fördröja utvecklingen av dessa målorganskador men slutligen endast delvis förhindra morbiditet och mortalitet i hjärt- och kärlsjukdomar.

Man har tidigare ansett att hjärtceller inte kan fördelas eller förnyas efter hjärtinfarkt eller vid andra kroniska hjärtsjukdomar. Å andra sidan vet man att den apoptosinducerade förlusten av hjärtmuskelceller leder till minskningen av cellantalet om nya celler inte bildas. Man har beräknat att apoptos med en

HJÄRTAT ÄR ETT SJÄLVFÖRNYANDE ORGAN



Figur 1. Nya forskningsresultat har visat att hjärtat innehåller stamceller som kan aktiveras för att bilda nya hjärtmuskelceller och blodkärl vid hjärtskada (1).

hastighet av 0,1–0,3 % leder till en förlust av hela hjärtat inom några år. Därför har man föreslagit att hjärtat måste innehålla en regenerationsmekanism som bildar nya hjärtceller efter hjärtskada. Nya forskningsresultat har faktiskt kunnat bevisa att det finns stamceller i hjärtat som kan aktiveras och fördelas för att bilda ny hjärtvävnad vid hjärtskadan (1, 2), (Figur 1).

Upptäckten av hjärtats egna stamceller öppnar en alldeles ny möjlighet för att förhindra och behandla hjärtsvikt efter hjärtinfarkt och vid andra kroniska hjärtsjukdomar. Genom att kombinera nuvarande behandlingsprinciper för hjärtsvikt med möjliga behandlingsmetoder för att förstärka hjärtats egen regenerationsförmåga blir det kanske möjligt att betydligt förbättra behandlingsresultat av hjärtsjukdomar i framtiden. En alternativ behandlingsmöjlighet är att tillämpa cellterapi med stamceller eller progenitorceller isolerade från vävnaden utanför hjärtat. För närvarande vet man dock alldeles för litet om regleringen av hjärtats stamceller eller deras och andra progenitorcellers roll i regenerationen av hjärtat vid olika hjärtsjukdomar (3).

Ursprunget till hjärtats stamceller

Kardiomyogena stamceller utanför hjärtat

Utöver att äkta embryonala stamceller kan bilda alla former av hjärtceller och blodkärls-celler, har man kunnat identifiera många olika stamceller som förekommer vid vuxen ålder

(adult type) och har kardiomyogen potential (4, 5). Dessa celler kan vara antingen hjärtats egna stam/progenitorceller eller celler som har ursprung utanför hjärtat i andra vävnader (non-resident), särskilt i benmärgen. Benmärgen innehåller olika cellpopulationer som har förmåga att proliferera, migrera och differentiera till hjärtmuskelceller, bindvävnadsceller, endotelceller och blodkärlens glattmuskelceller. Hematopoetiska stamceller, endotelialprogenitorceller, mesenkymala stamceller, multipotenta adulta progenitorceller och så kallade side population-celler kan alla ge upphov till celler som behövs för hjärtats regeneration och nyformation av blodkärl. Navelsträngen innehåller flera progenitorcellspopulationer inklusive hematopoetiska stamceller, mesenkymala stamceller samt endoteliala progenitorceller. Cirkulerande endoteliala progenitorceller visar också viss kardiomyogenisk potential. Nyligen har man kunnat bevisa att även fettvävnadsceller har kapacitet att förvandlas till hjärtmuskelceller och blodkärl. Vid cellterapi för hjärtskada har man ytterligare använt skelettmuoblaster som har potential för differentiering till fungerande myotuber och skelettmuskelfibrer (Figur 2).

Hjärtats egna stamceller

På grund av uttrycket av speciella stamcells-markörer i celler isolerade från hjärtat har flera forskningsgrupper kunnat demonstrera att hjärtat självt innehåller stamceller eller progenitorceller. Dessutom kan dessa celler

aktiveras för att proliferera och bilda nya hjärtmuskelceller och blodkärlsceller (1, 4, 5). Fyra av hjärtats olika stamcells- eller progenitorcellspopulationer har isolerats: 1) c-Kit-celler (the receptor tyrosinekinase-c-Kit), 2) Sca-1-celler (stem cell antigen-1) 3) side population-celler, och 4) Isl-1-celler. Skeptiska forskare har dock kritiserat dessa fynd för att vara artificiella på grund av cellfusion eller t.ex. dedifferentiering av hjärtmuskelceller beroende på experimentförhållandena. Man har också påstått att även hjärtats "egna" stamceller ändå kan ha sitt ursprung utanför hjärtat.

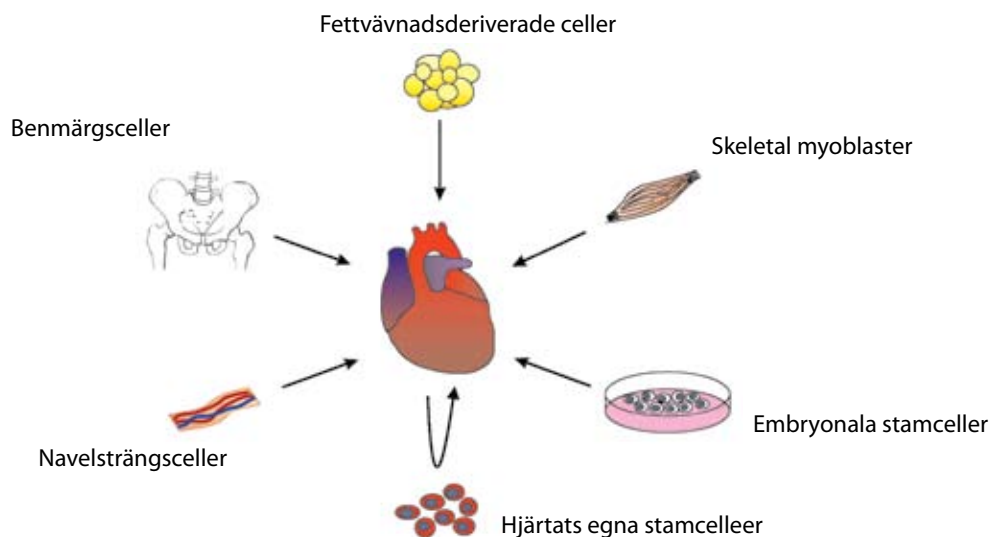
Cellterapi vid hjärtskada

Experimentella studier har visat att cellterapi med kardiomyogena celler kan förbättra hjärtperfusion och hjärtats kontraktilitet (6, 7). Det finns flera olika möjligheter för cellterapi att kunna påverka hjärtats funktion och struktur (Figur 3). Stam- eller progenitorceller kan transdifferentieras till hjärtmuskelceller, endoteliala celler och glattmuskelceller samt bilda nya blodkärl och fungerande ny hjärtmuskel (4, 7). En annan mekanism skulle vara fusion med existerande hjärtmuskelceller eller blodkärlsceller. Under både experimentella och kliniska förhållanden bevaras endast ett fåtal av de injekterade stamcellerna, och största delen införlivas- inte i hjärtvävnaden på lång sikt. Man har därför föreslagit att effekten av cellterapi på hjärtats struktur och funktion

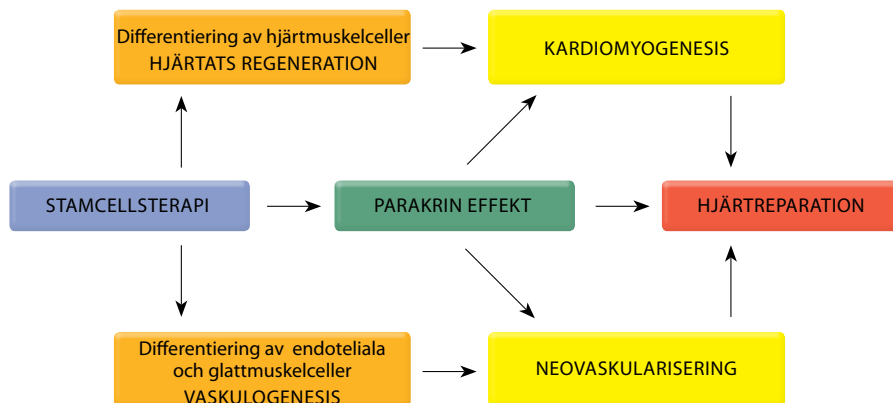
till största delen beror på parakrina mekanismer genom sekretionen av proangiogena cytokiner eller mobiliseringen av hjärtats egna stamceller eller aktiveringen av andra regenerationsmekanismer (4, 7, 8). Å andra sidan kan cellterapi förhindra det negativa fenomenet med remodelling efter hjärtskada genom att förhindra hypertrofi och ofördelaktig ärrbildning.

Olika celltyper inklusive benmärgsceller, skelettamyoblaster, hjärtats egna progenitorceller, fettvävnadsceller, navelsträngsceller och embryonala stamceller har prövats för hjärtreparation både experimentellt och i kliniska studier. Vid kliniska studier kan cellterapin ges intravenöst, genom intrakoronär infusion eller genom direkt injektion i hjärtmuskeln (4, 7).

I kliniska undersökningar tycks cellterapi med benmärgsceller vara trygg både på kort och på lång sikt. Transplantation av skelettamyoblaster har varit associerad med en ökad risk för biverkningar i form av ventrikulära rytmstörningar, som ventrikulär takykardi. Funktionella resultat av kliniska celltransplantationsundersökningar har däremot varit en besvikelse. Effekten på hjärtats funktion eller hjärtinfarktens storlek efter hjärtinfarkt i olika kliniska serier har varit kliniskt obetydlig eller ytterst bristfällig (7). Orsaken för misslyckade resultat kan vara antingen att antalet celler som använts för celltransplantation redan teoretiskt sett har varit för litet eller att cellernas överlevnad i ett ischemiskt



Figur 2. Ursprunget till celler som har använts för hjärtregeneration (7).



Figur 3. Möjliga mekanismer som förklarar hur cellterapi kan åstadkomma hjärtats regeneration efter hjärtskada (8).

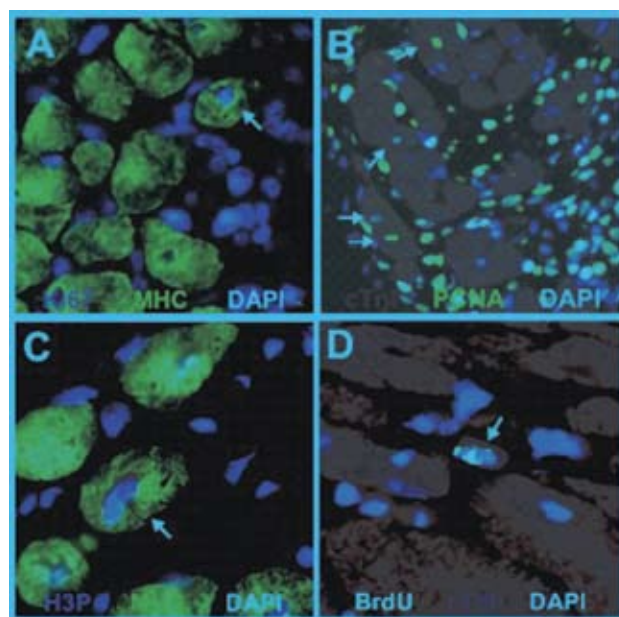
område i hjärtat har blivit omöjligt eller alltför kort för att åstadkomma ny muskelvävnad och nya blodkärl.

Förstärkning av hjärtats endogena regenerationsförmåga

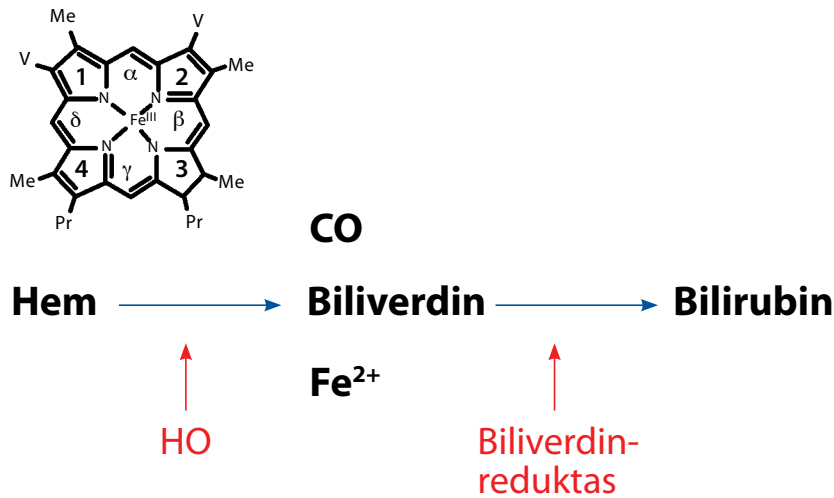
Eftersom effekten av exogen cellterapi har varit mer eller mindre begränsad, har man föreslagit en alternativ strategi som baserar sig på att förstärka hjärtats egen regenerationsförmåga (1). Man har kunnat visa att vissa tillväxtfaktorer (framför allt HGF, hepatocyt-tillväxtfaktorn; och IGF-1, insulinliknande tillväxtfaktorn-1) stimulerar mobiliseringen och proliferationen av hjärtats progenitorcel-

ler (9). Genom att behandla hjärtats stamceller med HGF och IGF-1 har man lyckats åstadkomma regeneration av hjärtskada efter experimentell hjärtinfarkt. Nygenererat, fungerande myokardium i stället för ärrbildning kunde påvisas i kombination med förbättrad hjärtfunktion (5, 9).

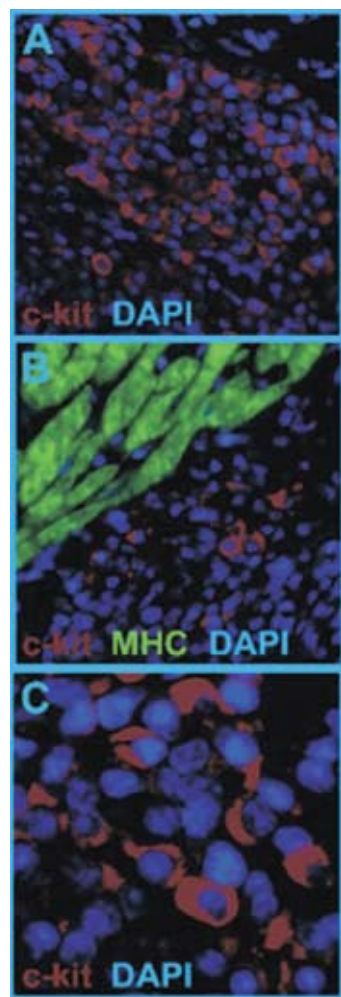
Man vet att stamcellerna själva utsöndrar flera olika cytokiner och andra parakrina och angiogena faktorer (4, 5, 8). Dessa cytokiner och tillväxtfaktorer kan inducera cellprotektion och regeneration samt neovaskularisering. Deras roll i regleringen av stamcellssignalering, differentiering och mobilisering tycks vara komplex, vilket man bara preliminärt har börjat förstå. Stamcel-



Figur 4. Hjärtats regeneration efter experimentell hjärtinfarkt. Hjärtmuskelceller, som uttrycker de hjärtmuskelcellspecifika antigenerna MHC eller cTnI, uttrycker också proliferationsmarkörerna Ki67 (A) eller PCNA (B). C): En hjärtmuskelcell i mitos (HistH3P+). D): BrdU-positivitet användes för att märka nya, nyligen uppkomna hjärtceller efter hjärtinfarkt (14).



Figur 5. Hemoxygenas (HO)-1 och biologiska aktiva molekyler som bildas genom nedbrytningen av hem.



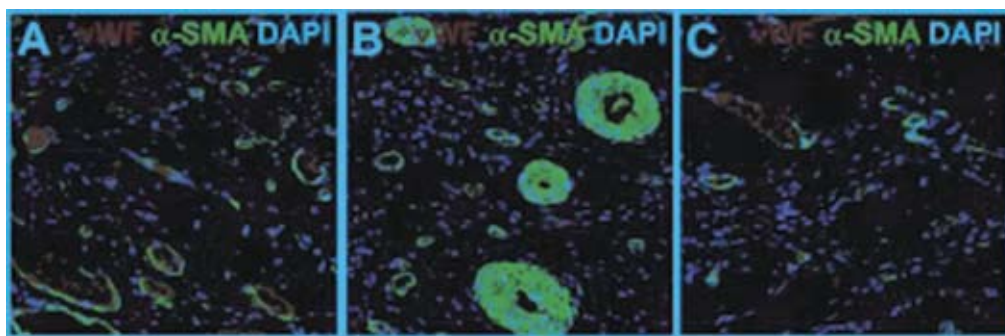
Figur 6. Ackumulering av C-kit-positiva stamceller i infarktområdet (10).

ler och deras parakrina faktorer kan även påverka fenomenet remodelling i hjärtat, kontraktilitet och hjärtmetabolism. Å andra sidan vet man alldeles för litet om hur andra regleringsmekanismer och faktorer påverkar hjärtats stamcellsfunction.

Egna studier. I våra egna studier har vi också kunnat bevisa att nybildning av hjärtmuskelceller definitivt ökar efter experimentell hjärtinfarkt och att denna process kan påverkas genom olika interventioner (10). (Figur 4).

En intressant ny mekanism som gäller hjärtats regeneration och cellprotektion i detta sammanhang är axeln hemoxygenas-1-kolmonoxid (HO-1-CO). Man har kunnat bevisa att HO-1 fungerar som en endogen skyddsmekanism i olika stressituationer. HO-1 har antioxidativa, antiapoptotiska, antiinflammatoriska och antiproliferativa egenskaper genom nedbrytningen av prooxidativ hem och produktionen av biologiskt aktiva molekyler, biliverdin och CO (11, 12), (Figur 5). HO-1 och CO deltar också i regleringen av angiogenes (13).

Vi har tidigare kunnat påvisa att HO-1 (mRNA, protein) induceras efter akut hjärtinfarkt (14). Våra nya forskningsresultat antyder att HO-1-förmedlade skyddsmekanismer påverkar inte bara antiapoptotiskt utan även ökar nybildningen av hjärtceller och blodkärl i det ischemiska området i hjärtat efter hjärtinfarkt. En del av dessa skyddseffekter tycks vara CO-beroende, eftersom behandling med en CO-donator (metylenklorid) verkade synnerligen stimulerande på antalet stamceller i



Figur 7. Induktion av hemoxygenas-1 med CoPP-behandling ökar angiogenes (A), medan behandling med en CO-donator stimulerar nybildningen av större blodkärl (B) efter hjärtinfarkt i rått. C: Obehandlade kontrollinfarktgruppen (10).

hjärtat (Figur 6) och deras differentiering till hjärtmuskelceller och blodkärl i infarktområdet (Figur 7). Samtidigt ökade genuttrycket av tillväxtfaktorn VEGF (vascular endothelial growth factor) och SDF-1 (stromal cell derived factor 1), vilket står i samklang med den centrala roll dessa faktorer har i aktiveringen av stamceller och regleringen av angiogenes (10).

Till slut

Stamcellsforskningen har blivit ett av kärnområdena inom kardiovaskulär medicin i hela världen. I fortsättningen blir det aktuellt att ytterligare undersöka regleringen av hjärtats stamcellsfunktion och deras roll i regenerationen vid hjärtskada och i utvecklingen av kronisk hjärtsvikt vid olika hjärtsjukdomar. Prognosen vid svår systolisk hjärtsvikt är dålig trots effektiv behandling med nuvarande kardiovaskulära läkemedel. Genom förstärkning av hjärtats egen regenerationsförmåga blir det kanske möjligt att i framtiden åstadkomma betydligt bättre behandlingsresultat vid hjärtsjukdomar.

Docent Ilkka Tikkanen
Medicinska Forskningsinstitutet Minerva
Biomedicum 2U
Stockholmsgatan 8
00290 Helsingfors
ilkka.tikkanen@hus.fi

Referenser

1. Anversa P, Kajstura J, Leri A, Bolli R. Life and death of cardiac stem cells. A paradigm shift in cardiac biology. *Circulation* 2006;113:1415–63.
2. Hsieh PCH, Segers VFM, Davis ME, MacGillivray C, Gannon J, Molkentin JD, Robbins J, Lee RT. Evidence from a genetic fate-mapping study that stem cells refresh adult mammalian cardiomyocytes after injury. *Nature Medicine* 2007;13:970–974.
3. Kajstura J, Urbanek K, Rota M, Bearzi C, Hosoda T, Bolli R, Anversa P, Leri A. Cardiac stem cells and myocardial disease. *J Mol Cell Cardiol* 2008;45:505–513.
4. Perino MG, Yamanaka S, Li J, Wobus AM, Boheler KR. Cardiomyogenic stem and progenitor cell plasticity and the dissection of cardiopoiesis. *J Mol Cell Cardiol* 2008;45:475–494.
5. Smart N, Riley PR. The stem cell movement. *Circ Res* 2008;102:1155–68.
6. Rota M, Padin-Iruegas E, Misao Y, De Angelis A, Maestroni S, Ferreira-Martins J, Fiumana E, Rastaldo R, Arcarese ML, Mitchell TS, Boni A, Bolli R, Urbanek K, Hosoda T, Anversa P, Leri A, Kajstura J. Local activation or implantation of cardiac progenitor cells rescue scarred infarcted myocardium improving cardiac function. *Circ Res* 2008;103:107–116.
7. Beeres SLMA, Atsma DE, van Ramshorst J, Schalijs MJ, Bax JJ. Cell therapy for ischaemic heart disease. *Heart* 2008;94:1214–26.
8. Gnechchi M, Zhang Z, Ni A, Dzau VJ. Paracrine mechanisms in adult stem cell signaling and therapy. *Circ Res* 2008;103:1204–19.
9. Urbanek K, Rota M, Cascapera S, Bearzi C, Nascimbene A, De Angelis A, Hosoda T, Chimenti S, Baker M, Limana F, Nurzynska D, Torella D, Rotatori F, Rastaldo R, Musso E, Quaini F, Leri A, Kajstura J, Anversa P. Cardiac stem cells possess growth factor-receptor systems that following activation regenerate the infarcted myocardium improving ventricular function and long-term survival. *Circ Res* 2005;97:663–673.
10. Lakkisto P, Kytö V, Forsten H, Siren J-M, Segersvärd H, Voipio-Pulkki L-M, Laine M, Pulkki K, Tikkanen I. Heme oxygenase-1 and carbon monoxide promote cardiac neovascularization after myocardial infarction by modulating the expression of Hif-1 α , SDF-1 α and VEGF-B. Submitted.
11. Ndisang JF, Tabien HE, Wang R. Carbon monoxide and hypertension. *J Hypertens* 2004;22:1057–74.
12. Otterbein LE. The evolution of carbon monoxide into medicine. *Respir Care* 2009;54:925–932.
13. Dulak J, Deshane J, Jozkowicz A, Agarwal A. Heme oxygenase-1 and carbon monoxide in vascular pathobiology: focus on angiogenesis. *Circulation* 2008;117: 231–241.
14. Lakkisto P, Palojoki E, Bäcklund T, Saraste A, Tikkanen I, Voipio-Pulkki LM, Pulkki K. Expression of heme oxygenase-1 in response to myocardial infarction in rats. *J Mol Cell Cardiol* 2002 ;34:1357–65.