

Vasculogenesi e angiogenesi nel danno vascolare nella sclerosi sistemica

Vasculogenesis and angiogenesis: vascular damage in systemic sclerosis

S. Guiducci, M. Matucci Cerinic

Dipartimento di BioMedicina, Sezione di Reumatologia, Università degli Studi di Firenze

La sclerosi sistemica (SSc) è una malattia multisistemica del connettivo caratterizzata dalla presenza di alterazioni microvascolari con deficit angiogenetico (1). Suddividendo la patogenesi della SSc in momenti successivi è possibile considerare il microcircolo come la struttura colpita dalla malattia che in più fasi coinvolge l'organismo del paziente affetto da SSc (2). La cellula endoteliale (CE) viene inizialmente attivata tramite una noxa ignota alla produzione di molecole di adesione, chemiochine, citochine e fattori di crescita. In tal modo viene facilitato il passaggio (homing) linfocitario nei tessuti. Inizialmente si ha un danno a carico della CE seguito da un ispessimento dell'intima e da un progressivo restringimento del lume fino alla completa ostruzione del vaso. Nella SSc la CE è sottoposta a modificazioni tali da determinare danno e morte della cellula stessa, con conseguente disfunzione del controllo del tono vascolare, riduzione del flusso sanguigno e ischemia tissutale. A seguito di queste alterazioni più del 90% dei pazienti affetti da SSc presentano fenomeno di Raynaud (FR), associato a sclerodattilia, ulcere digitali e ischemia che provocano, nei casi più gravi, gangrena ed amputazione.

Le alterazioni del microcircolo inducono una risposta cellulare finalizzata al ripristino della funzionalità endoteliale e della perfusione tissutale, tramite diversi meccanismi, tra cui la produzione di varie molecole pro-angiogenetiche. Il danno ca-

pillare può essere osservato a livello del letto ungueale con la capillaroscopia che permette di visualizzare l'alterazione endoteliale. La capillaroscopia visualizza cambiamenti morfologici che si hanno a livello dei capillari ungueali (megacapillari, capillari a cespuglio, microemorragie, aree avascolari per perdita dei capillari) (3). Il danno endoteliale e la perdita dell'angiogenesi possono essere quindi considerati due eventi chiave nella patogenesi della SSc.

Il processo chiamato "angiogenesi" (cioè formazione di nuovi vasi da vasi pre-esistenti) dipende principalmente dall'attivazione, proliferazione e migrazione di CE. È noto che nella SSc questo processo è alterato e malfunzionante, anche se le CE si trovano in uno stato di ipossia che è abitualmente uno stimolo per attivare il processo di formazione di nuovi vasi da vasi pre-esistenti (4). Nonostante la riduzione del flusso sanguigno e dei livelli della pressione parziale di ossigeno, paradossalmente non esiste evidenza per una sufficiente angiogenesi nella cute di pazienti SSc. Tale mancata risposta angiogenetica probabilmente può essere spiegata da una sintesi inappropriata di fattori angiogenetici o da una sua inibizione da parte di fattori angiostatici (5).

Il processo di formazione di nuovi vasi nell'uomo adulto, si ha non soltanto dal processo chiamato di angiogenesi ma anche dalla "vasculogenesi" che vede coinvolti progenitori endoteliali cellulari (EPC) mobilizzati dal midollo osseo in risposta a citochine o ipossia. Tali progenitori endoteliali indipendentemente dalla presenza di vasi pre-esistenti, migrano verso la zona tissutale che necessita di nuovi vasi e si differenziano in cellule endoteliali mature creando un nuovo sistema vascolare (vasculogenesi). Il numero di cellule progenitrici endoteliali che viene rilasciato in circolo dal mi-

Indirizzo per la corrispondenza:

Dott.ssa Serena Guiducci
Dipartimento di BioMedicina
Sezione di Reumatologia
Università degli Studi di Firenze
Villa Monna Tessa
Viale Pieraccini, 18 - 50139 Firenze
E-mail: s.guiducci@hotmail.com

dollo osseo, varia sotto diversi stimoli e condizioni patologiche.

Non è ancora noto se le alterazioni che la CE subisce avvengano nel processo maturativo della cellula stessa o si presentino soltanto quando le CE si sono già organizzate a formare il vaso. Un'ipotesi è che il danno subito dalla CE nella SSc abbia inizio a livello dei progenitori endoteliali (EPC) in un momento del loro sviluppo quale, ad esempio, nel midollo osseo prima che la cellula venga immessa nel torrente circolatorio. Il danno in altre parole avverrebbe nei vari passaggi che intercorrono tra lo stato di cellula staminale e quello di CE commissionata.

Il numero di EPC che viene rilasciato in circolo dal midollo osseo, varia sotto diversi stimoli e condizioni patologiche. Anche nella SSc è stato visto (6, 7) che il numero di EPC circolanti è diverso rispetto ai controlli sani e rispetto ad altre condizioni immunitarie come l'artrite reumatoide. Nella SSc è stato riscontrato un numero minore di EPC circolanti che sembra peraltro essere legato alle alterazioni cliniche del coinvolgimento vascolare. Recentemente, Oswald et al. (8) hanno dimostrato come anche le cellule mesenchimali staminali (MSC) possano differenziarsi in CE mature e non sono ristrette alla differenziazione della linea mesodermica. È stato dimostrato che le MSC derivate da midollo osseo di pazienti SSc (MSC-SSc) possono differenziarsi in senso endoteliale se sottoposte a specifico stimolo e precisamente sotto alte concentrazioni di VEGF che è stato dimostrato essere presente ad elevati livelli nel siero di pazienti SSc (9, 10). In particolare le MSC-SSc hanno però una capacità inferiore rispetto alla popolazione sana di esprimere un fenotipo endoteliale e di creare vasi in vitro probabilmente per la diminuita capacità di effettuare chemioinvasione, primo step essenziale nell'angiogenesi (10). È anche stata valutata l'attività telomerasica delle MSC-SSc, che ha dimostrato come tali linee cellulari siano in uno stato di senescenza precoce, fatto che determina anche una morfologia alterata delle MSC-SSc che appare infatti piena di vacuoli citoplasmatici e granuli presumibilmente apoptotici.

Le caratteristiche delle cellule MSC-SSc riflettono ciò che succede in periferia alle cellule microvascolari endoteliali mature (MVEC-SSc) che hanno una ridotta capacità chemioinvasiva rispetto alle sane, rispondono al VEGF in modo dose-dipendente ma non hanno la capacità di creare strutture vascolari quando immesse in Matrigel (11). Questa incapacità angiogenetica da parte delle MVEC-

SSc è dovuta in parte alla troncatura di u-PAR da parte di MMP12 secreta da molte cellule tra le quali i fibroblasti, i linfociti e le CE stesse. Molto però rimane da comprendere sulla funzionalità di MVEC-SSc che si trovano in uno stato di costante stimolo ipossico, perennemente attivate. Per quanto riguarda il rapporto tra VEGF ed il suo recettore VEGFR-2, è stato valutato come queste due molecole siano iperespresse a livello delle CE dei vasi nelle biopsie di cute affetta da SSc (12). Nonostante ciò le MVEC-SSc non riescono ad innescare la cascata di eventi che porta, in ultima analisi, alla formazione di nuovi vasi. La troncatura di u-PAR è soltanto una parziale spiegazione "locale" in quanto cellule staminali da midollo osseo che dovrebbero avere infinite capacità proliferative, dovrebbero cioè essere cellule che per definizione sono "plastiche", sono invece deficitarie (10). Queste sono infatti cellule già senescenti, cellule che hanno una capacità diminuita di formare vasi capillari ed appaiono granuleggianti e sofferenti.

Nella SSc, da un lato è presente un'insufficiente angiogenesi, dall'altro un'alterata vasculogenesi con un numero di EPC modificato rispetto ai controlli sani (13).

Rimane però ancora da comprendere se i progenitori endoteliali nella SSc siano un marker di danno endoteliale o una causa di insufficiente riparazione vascolare (14). Le EPC potrebbero essere candidate per approcci terapeutici innovativi nella SSc, in quanto sono coinvolte sia nella formazione di nuovi vasi nei tessuti ischemici (15), sia nella riparazione di vasi pre-esistenti (16). Questo è anche indirettamente supportato da recenti studi che dimostrano come cellule staminali trapiantate migliorino il danno microvascolare nella SSc (17-19). Inoltre le EPC possono anche essere utilizzate come biomarker per individuare e quantizzare la capacità individuale del paziente di riparare il danno vascolare e di formare nuovi vasi (20). La SSc è sicuramente un modello ideale per studiare nuove strategie terapeutiche di rigenerazione vascolare proprio a causa dell'esteso danno a livello endoteliale e per la perdita di neoangiogenesi. Rimangono però ancora delle ombre sul potenziale utilizzo di EPC o di MSC nella SSc dal momento che ancora non è compreso appieno il loro ruolo nel processo di danno e rigenerazione del sistema endoteliale e microvascolare. Affinchè ciò avvenga è necessario che vengano forniti nuovi dati sulla catena di eventi patogenetici che portano al danno endoteliale ed alla perdita di angiogenesi e vasculogenesi nella SSc.

BIBLIOGRAFIA

1. Herron GS, Romero LI. Vascular abnormalities in scleroderma. *Semin Cutan Med Surg* 1998; 17: 12-7.
2. Herrick AL. Vascular function in systemic sclerosis. *Curr Opin Rheumatol* 2000; 12: 527-33.
3. Cutolo M, Pizzorni C, Sulli A. Nailfold video-capillaroscopy in systemic sclerosis. *Z Rheumatol*. 2004; 63: 457-62.
4. Konttinen YT, Mackiewicz Z, Ruuttila P, Ceponis A, Sukura A, Povilenaite D, et al. Vascular damage and lack of angiogenesis in systemic sclerosis skin. *Clin Rheumatol* 2003; 22: 196-202.
5. Distler J, Hirth A, Kurowska-Stolarska M, Gay RE, Gay S, Distler O. Angiogenic and angiostatic factors in the molecular control of angiogenesis. *Q J Nucl Med* 2003; 47: 149-61.
6. Del Papa N, Colombo G, Fracchiolla N, Moronetti LM, Ingegnoli F, Maglione W, et al. Circulating endothelial cells as a marker of ongoing vascular disease in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 1296-304.
7. Kuwana M, Okazaki Y, Yasuoka H, Kawakami Y, Ikeda Y, et al. Defective vasculogenesis in systemic sclerosis. *Lancet* 2004; 364: 603-10.
8. Oswald J, Boxberger S, Jorgensen B, Feldmann S, Ehninger G, Bornhauser M, et al. Mesenchymal stem cells can be differentiated into endothelial cells in vitro. *Stem Cells* 2004; 22: 377-84.
9. Distler O, Del Rosso A, Giacomelli R, Cipriani P, Conforti ML, Guiducci S, et al. Angiogenic and angiostatic factors in systemic sclerosis: increased levels of vascular endothelial growth factor are a feature of the earliest disease stages and are associated with the absence of fingertip ulcers. *Arthritis Res* 2002; 4: R11.
10. Cipriani P, Guiducci S, Miniati I, Cinelli M, Urbani S, Marrelli A, et al. Impairment of endothelial cell differentiation from bone marrow-derived mesenchymal stem cells: new insight into the pathogenesis of systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 2007; 56: 1994-2004.
11. D'Alessio S, Fibbi G, Cinelli M, Guiducci S, Del Rosso A, Margheri F, et al. Matrix metalloproteinase 12-dependent cleavage of urokinase receptor in systemic sclerosis microvascular endothelial cells results in impaired angiogenesis. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 3275-85.
12. Distler O, Distler JH, Scheid A, Acker T, Hirth A, Rethage J, et al. Uncontrolled expression of vascular endothelial growth factor and its receptors leads to insufficient skin angiogenesis in patients with systemic sclerosis. *Circ Res* 2004; 95: 109-16.
13. Distler J H W, Allanore Y, Avouac J, Giacomelli R, Guiducci S, Moritz F, et al. EULAR Scleroderma Trials and Research group statement and recommendations on endothelial precursor cells *Ann Rheum Dis* 2009; 68: 163-8.
14. Koch AE, Distler O. Vasculopathy and disordered angiogenesis in selected rheumatic diseases: rheumatoid arthritis and systemic sclerosis. *Arthritis Res Ther* 2007; 9: S3.
15. Urbich C, Dimmeler S. Endothelial progenitor cells: characterization and role in vascular biology. *Circ Res* 2004; 95: 343-53.
16. Zammaretti P, Zisch AH. Adult 'endothelial progenitor cells'. *Renewing vasculature*. *Int J Biochem Cell Biol* 2005; 37: 493-503.
17. Fleming JN, Nash RA, McLeod DO, Fiorentino DF, Shulman HM, Connolly MK, et al. Capillary regeneration in scleroderma: stem cell therapy reverses phenotype? *PLoS ONE* 2008; 3: e1452.
18. Nagaya N, Kangawa K, Kanda M, Uematsu M, Horio T, Fukuyama N, et al. Hybrid cell-gene therapy for pulmonary hypertension based on phagocytosing action of endothelial progenitor cells. *Circulation* 2003; 108: 889-95.
19. Zhao YD, Courtman DW, Deng Y, Kugathasan L, Zhang Q, Stewart DJ. Rescue of monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension using bone marrow-derived endothelial-like progenitor cells: efficacy of combined cell and eNOS gene therapy in established disease. *Circ Res* 2005; 96: 442-50.
20. Hill JM, Zalos G, Halcox JP, Schenke WH, Waclawiw MA, Quyyumi AA, et al. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk. *N Engl J Med* 2003; 348: 593-600.