



DERLEME

ENDOTEL PROGENİTÖR HÜCRELER

S. Özgür Tekeli, Kaya Emerk

Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi Biyokimya, İstanbul

ÖZET

Endotelyal progenitör hücreler (EPH) gelecek yıllarda vasküler hastalıkların tedavi yöntemleri arasına girmeye adaydır. Postnatal süreçte de fonksiyonlarını devam ettirdikleri kanıtlanan EPH'ler kemik iliğinde olgunlaşıp, dolaşıma çıkarak vasküler hasarın olduğu bölgelerde yoğunlaşıp hasarın tamir edilmesinde merkezi rol alırlar. EPH'ler kemik iliğinden ayrıldıktan sonra hücre yüzey belirteçlerinde birtakım değişiklikler geçirerek olgun endotel hücrelere dönüşebilirler. Günümüzde EPH'lerle ilişkili hem klinik hem de deneysel çalışmalar oldukça artmıştır. Fakat EPH'lerin olgunlaşmasını, göçünü ve hasarlı bölgeye yerleşmesini sağlayan mekanizmalar tam olarak aydınlatılmış değildir.

Anahtar Kelimeler: Endotelyal progenitör hücreler, vaskülogenez, anjiogenez, tamir, endotelyal hücreler

ENDOTHELIAL PROGENITOR CELLS

ABSTRACT

Endothelial progenitor cells (EPCs) are candidate for, to be a treatment option for vascular diseases. It has been proven that EPCs preserve their functions in the postnatal period. EPCs mature in bone marrow, enter peripheral circulation then gather at the site of vascular injury to take a central role in repair process. After they leave bone marrow the cell surface markers of them can change and they can differentiate to mature endothelial cells. At the present time clinical and experimental studies about EPCs fairly increase. But the mechanisms which enable EPCs to mature, migrate and home at the site of injury had not yet been enlightened.

Keywords: Endothelial progenitor cells, vasculogenesis, angiogenesis, repair, endothelial cells

INTRODUCTION

Endotel hücrelerin bölünme yetenekleri ölçüsünde çoğalarak ve göç ederek var olan damarlardan yeni kapillerler oluşturmaya anjiyogenez denir. Vaskülogenez ise dolaşımda bulunan endotel hücre öncüllerinin (endotel progenitör hücreler) daha önceden var olan herhangi bir damardan köken almadan olgun endotel hücrelere dönüşerek yeni bir damar oluşturmaları olarak bilinir. Yakın tarihe kadar postnatal süreçte organizmanın fizyolojik gereksinimlerini karşılamak veya iskemik dokulara veya tümörlere oksijen sağlamak amacıyla yeni kapiller damarların oluşmasında sadece anjiyogenezin rol aldığı düşünülmekteydi. Vaskülogenezin ise sadece embriyonik dönemde yeni damar oluşumunu sağladığı sanılmaktaydı. Ancak, Asahara ve Shi

yaptıkları deneylerle kemik iliği kaynaklı hematopoetik progenitör hücrelerin endotel hücreye embriyonik dönemin dışında da dönüşebildiğini, iskemi sonrası endotel bütünlüğün tekrar sağlanmasında ve yeni kapiller oluşumunda bizzat rol aldıklarını bularak vaskülogenez ile ilgili yaygın kanıyı değiştirdiler^{1,2}.

Endotel Progenitör Hücrelerin Soyağacı

Endotel hücrelerin yaşam süreçlerindeki akıbetleri Şekil 1'de gösterilmiştir. Nekroz, kopma ve apoptoz yolu ile damar cidarını açık bırakan endotel hücreleri ya mevcut hücrelerin bölünmesi yolu ile ya da dolaşımdaki öncül hücrelerin yapışması yolu ile bu bölgeyi kapatırlar. Normal şartlarda kanda ml başına 1-3 tane damar duvarından kopmuş endotel hücre bulunur ve bu kopmuş

İletişim Bilgileri:

Kaya Emerk

e-mail: kmerk@ttnet.net.tr

Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi Biyokimya, İstanbul, Turkey

Marmara Medical Journal 2007;20(1);59-65

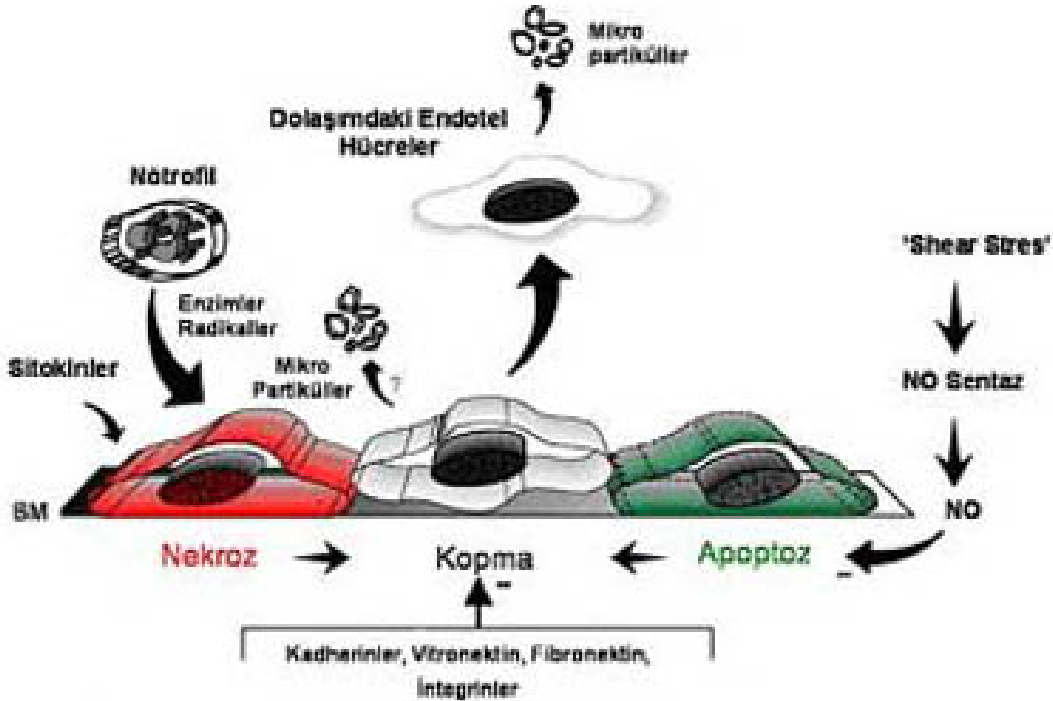


endotel hücrelerin yerlerine yenilerinin konulmasına ihtiyaç vardır. Aşırı endotel yapımı ihtiyacı belirdiğinde ise mevcut hücrelerin bölünme hızı yetmez ve dolaşımdan öncül hücreler çağrılır³.

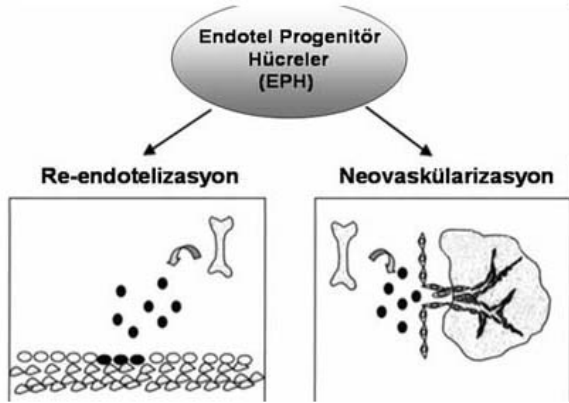
Endotel progenitör hücrelerin olgunlaşma yönünden hematopoetik kök hücrelerle endotel hücreler arasında bir yerde olduğu bilinmektedir. Endotel progenitör hücreleri, endotel hücrelerle ve hematopoetik kök hücrelerle bir takım ortak hücre yüzey belirteçleri taşımaktadırlar. Yapılan araştırmalarla endotel progenitör hücrelerin endotel hücre belirteç proteini olan VEGFR-2'yi ve hematopoetik kök hücre yüzey belirteci olan CD34'ü taşıdıkları gösterilmiştir. Bunun yanında her ne kadar düşük seviyede olsa da endotel hücreleri CD34 belirteci taşıyabildikleri için araştırmacılar endotel progenitör hücrelerin endotel hücrelerden ayırımı yapabilmek amacıyla daha özgün bir yüzey belirteci tanımlamaya ihtiyaç duymuşlardır. Bu amaçla örtüşen en önemli bulgu endotel hücrelerce

taşınmayan CD133'ün olgunlaşmamış endotel progenitör hücrelerce taşındığının gösterilmesi olmuştur. Endotel progenitör hücreler olgunlaştıkça üzerlerindeki CD133 belirtecini kaybetmekte ve endotel hücrelere dönüşmektedirler⁴ (Şekil 2).

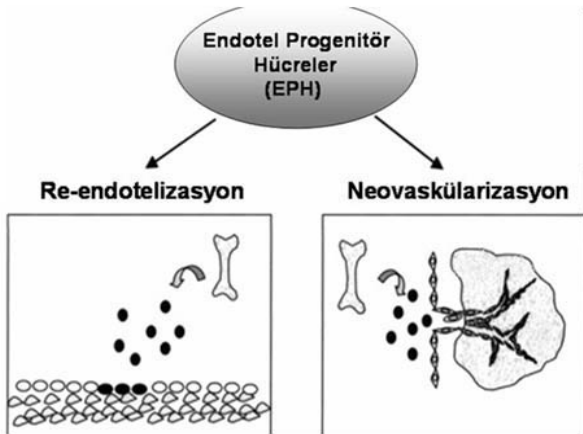
Endotel progenitör hücreleri tanımlamakta veya daha doğrusu endotel hücreye dönüşme kabiliyeti taşıyan hücreleri tanımlamakta karşılaşılan bir başka zorluk da bu hücrelerin kemik iliğinden başka hangi dokulardan kaynaklandığını ve bunların özelliğini ortaya koymaktır. Yapılan bazı araştırmalar yağ dokusunda ve kalp dokusunda yer alan bazı hücrelerin de endotel hücrelere dönüşebildiğini göstermiştir^{5,6}. Ancak bu hücrelerin kemik iliğinden mi köken aldığını, yoksa embriyonik gelişimden kalan ve bu dokularda ikamet eden hücreler mi olduklarını henüz bilinmemektedir. Bugünkü bilgilerimizle endotel progenitör hücre primitif hematopoetik kök hücrelerden köken alan ve endotel hücrelere dönüşme kabiliyeti taşıyan hücrelerdir.



Şekil 1. Endotel hücrelerin yaşam süreçlerindeki akıbetleri Şekil 1'de gösterilmiştir. Nekroz, kopma ve apoptoz yolu ile damar cidarını açık bırakan endotel hücreleri ya mevcut hücrelerin bölünmesi yolu ile ya da dolaşımdaki öncül hücrelerin yapışması yolu ile bu bölgeyi kapatırlar. Normal şartlarda ml kan başına 1-3 endotel hücre yenilenmesine ihtiyaç vardır. Aşırı endotel yapımı ihtiyacı belirdiğinde ise mevcut hücrelerin bölünme hızı yetmez ve dolaşımdan öncül hücreler çağrılır [F. Dignat-George, J. Sampol Circulating endothelial cells in vascular disorders: new insights into an old concept *European Journal Of Haematology*, 2000;65:215.]



Şekil 2. Endotel Progenitör Hücrelerin (EPH) kökeni ve farklılaşması. Şemada görüldüğü gibi EPH'lerin hematopoetik kök hücrelerden ve hematopoetik olmayan kök hücrelerden köken alma ve farklılaşma potansiyelleri bulunmakta [C.Urbich, S. Dimmeler Endothelial Progenitor Cells *Circulation Research*. 2004;95:343.].



Şekil 3. EPH'ler hem var olan damarın tamirinde hem de yeni damar oluşumunda anahtar role sahipler [C.Urbich, S. Dimmeler Endothelial Progenitor Cells *Circulation Research*. 2004;95:343.].

Endotel Progenitör Hücrelerin Kemik İliğinden Mobilizasyonu

Endotel progenitör hücreler yaşamın postnatal döneminde de var olan mononükleer hücrelerdir. Erişkin sağlıklı vasküler sisteminde endotel hücrelerin bölünme hızları göreceli olarak düşüktür ($t_{1/2} \sim 3$ yıl) ⁷. Normal koşullarda dolaşımda bulunan endotel progenitör hücreler dolaşımda bulunan tüm hücrelerin $\sim 0,01$ 'i kadardır. Sağlıklı bir erişkinde endotel progenitör hücreler belirli oranlarda endotel hücre bütünlüğünün

restorasyonuna katkıda bulunabilmektedirler (Şekil 3).

Endotel progenitör hücreler kemik iliğinin vasküler bölgesinde depolanırlar ve sabit bir hızda dolaşıma katılırlar. Aynı zamanda bu depo ihtiyaç halinde dolaşıma gerektiği kadar endotel progenitör hücre sağlayan bir rezervuar görevi de görür. Endotel progenitör hücrelerin dolaşıma katılmalarını körükleyen bir çok patolojik ve fizyolojik olay mevcuttur. Bu olaylar sırasında ortaya çıkan aracı moleküller kemik iliğini uyararak endotel progenitör hücreleri dolaşıma doğru mobilize ederler. Bu olaylar içinde endotel progenitör hücrelerin dolaşıma katılmalarını arttıran en önemli sebep doku iskemisi ve hasarıdır. Bu patolojilerde hasarlı dokudan salınan medyatörler (ör: VEGF-A, GM-CSF) kemik iliğinin sessiz bölgesinde yer alan endotel progenitör hücre öncüllerini uyararak onların endotel progenitör hücrelere dönüşümünü hızlandırır ⁸. Kemik iliğinin sessiz bölgesinde oluşan endotel progenitör hücreler çeşitli medyatör ve proteinlerin (ör: NO, matriks metalloproteinaz-9, sKitL) etkisiyle kemik iliğinin vasküler bölgesine geçerek burada çoğalırlar ve dolaşıma katılmak üzere mobilize olurlar ⁹ (Şekil. 4). Bunların yanı sıra endotel progenitör hücrelerin kemik iliğinden mobilizasyonunda kemik iliği stromal hücrelerinde eksprese edilen endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) aktivitesinin de etkili olduğu düşünülmektedir ¹⁰.

Akut vasküler travma olarak tanımlayabileceğimiz koroner arter cerrahisi geçiren hastalarda yapılan araştırmada dolaşıma hızlı fakat geçici bir şekilde endotel progenitör hücre akımı gözlenmiştir. Hasardan 6-12 saat sonra dolaşımda bulunan endotel progenitör hücre sayısı %50 artmış ve 2-3 gün içerisinde bazal düzeylerine dönmüştür. Benzer şekilde plazma VEGF düzeylerinin de yükselmesi VEGF'nin endotel progenitör hücrelerin mobilizasyonunda ve başkalaşmasında anahtar rol alabilme olasılığının yüksek olduğunu göstermiştir ¹¹.

Travmadan başka bölgesel iskeminin de endotel progenitör hücre mobilizasyonunda



güçlü bir endojen stimulatör olduğu yapılan araştırmalarla ortaya konmuştur¹².

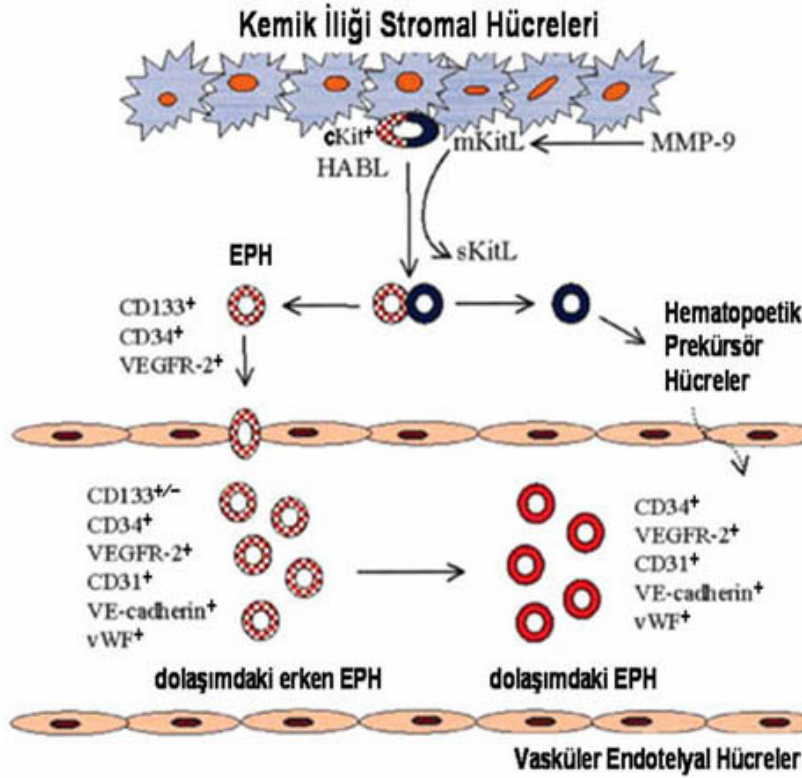
Kemik iliğinden mobilize olan endotel progenitör hücreler hasarlı dokudan salınan kemotaktik faktörler (VEGF, SDF-1, MCP-1) sayesinde hasarın olduğu bölgeye gelip burada hasarlı damar duvarının tamirinde veya yeni damar oluşumunda görev alırlar¹³⁻¹⁶ (Şekil 5).

Vasküler Patolojilerde Endotel Progenitör Hücrelerin Yeri

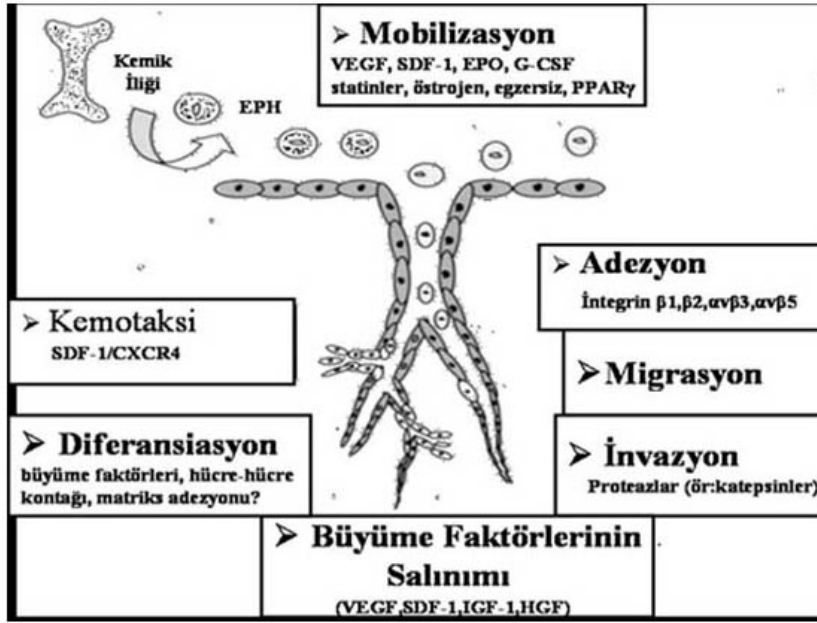
Yeni damar oluşumunda bu kadar önemli role sahip olan endotel progenitör hücrelerin damar hastalıklarında ne tip değişikliklere uğradığı da merak konusu olmuştur. Endotel

progenitör hücre sayısında veya fonksiyonunda görülen sapmalar bir çok patolojiyle ilişkilendirilmiştir.

Tümöral oluşumlarda indüklenen yeni damar oluşumunda endotel progenitör hücrelerin rolü olduğu kanıtlanmıştır. Asahara ve arkadaşlarının yaptığı bir araştırmada tümörün periferinde bulunan vasküler ağda yoğun miktarlarda endotel progenitör hücrelere rastlanmıştır¹⁷. Bunun yanında tümör gelişiminde endotel progenitör hücrelerin önemli bir role sahip oldukları da gösterilmiştir¹⁸. Bu bulgular araştırmacıları kanserde yeni tedavi yaklaşımları geliştirmeye itmiştir.



Şekil 4. Kemik iliğinden endotel progenitör hücrelerin (EPH) mobilizasyonu bir çok faktörle düzenlenen kompleks bir mekanizmadır. Membrana bağlı Kit ligandını (mKitL) çözünür Kit ligandına (sKitL) çeviren matriks metalloproteinaz-9 (MMP-9)'un aktivasyonu bu mekanizmanın erken bir basamağını oluşturur. Daha sonra genel hematopoetik ve anjioblast prekürsör hücrelerinin (hemanjioblast, HABL) de dahil olduğu c-Kit-pozitif kök ve progenitör hücreler kemik iliği mikro ortamında vasküler bölgeye doğru hareket ederler. Bu yer değişikliği hücreleri aktive ederek sessiz haldeki hücreleri çoğalan hücrelere çevirir. Kemik iliğindeki ve sonradan dolaşıma katılan erken EPH'ler CD133/CD34/VEGFR2/CD31/VE-cadherin/von Willebrand faktör(vWf) belirteçlerini taşırlar. Fakat EPH'ler dolaşımda olgunlaştıkça üzerlerindeki CD 133 belirtecini kaybederler [M. Hristov, W. Erl, P.C. Weber, Endothelial progenitor cells: mobilization, differentiation, and homing Arteriosclerosis, Thrombosis, And Vascular Biology, 2003;23:1185.].



Şekil 5. EPH'ler kemik iliğinden başlayarak fonksiyonlarını yerine getirecekleri bölgeye göç edene kadar bir çok medyatör ile etkilenebilir ve bu medyatörler tarafından yönlendirilirler [C.Urbich, S. Dimmeler Endothelial Progenitor Cells *Circulation Research*. 2004;95:343.].

Dolaşımda bulunan endotel progenitör hücre sayısının azlığı ile kardiyovasküler hastalık gelişimine yol açabilecek endotelial tamir kapasitesinin düşüklüğü arasında korelasyon bulunmuştur¹⁹. Bir başka araştırmada koroner arter hastalarında endotel progenitör hücre sayısının azaldığı ve göç etme kapasitesinin bozulduğu gösterilmiştir. Endotel progenitör hücrelerde görülen bu patolojik değişikliklerin kardiyovasküler risk faktörleriyle korele olabileceği de söylenmektedir^{20,21}. Koroner arter hastalarında gözlenen bu değişikliklerin benzerlerini tip II diyabetli hastalarda da gözlemek mümkündür²².

Yapılan araştırmalarla eritropoetin ve östrojenin endotel progenitör hücre mobilizasyonuna yol açtığı bunun yanında statinlerin de endotel progenitör hücre çoğalmasında ve göç etme kabiliyetini arttırdığı gözlenmiştir²³⁻²⁵. Tüm bunlara ek olarak yaşlanmayla birlikte endotel progenitör hücre sayısında ve fonksiyonlarında azalma bir çok kez kanıtlanmıştır²⁶.

Endotel Progenitör Hücrelerin Töropatik Kullanımı

Günümüzde endotel progenitör hücreler kardiyovasküler hastalıkların ve tümörlerin

tedavi yöntemlerini artırmada bunun yanında gelişmelerini önlemede önemli bir şans olarak görülmektedir.

İskemi modelleri yaratılan sıçanlarda (arka bacak iskemisi, miyokardiyal iskemisi) endotel progenitör hücre transplantasyonu sonrasında transplante edilen endotel progenitör hücrelerin olgun endotel hücrelere dönüşerek iskemik bölgelerinde neovaskülarizasyonu anlamlı derecede artırdığı gözlenmiştir^{27,28}. Yine sıçanlarda serebrovasküler olayların tedavisi amacıyla kullanılan endotel progenitör hücrelerin yeni damar oluşumuna çok önemli katkılarda buldukları gösterilmiştir²⁹.

Endotel progenitör hücrelerin töropatik olarak kullanılmaya aday olduğu bir başka alan da doku greftleridir. Özellikle vasküler greftlerle ilişkili olarak yapılan çalışmalarda endotel progenitör hücrelerin ekildiği vasküler greftlerin ekilmeyenlere göre daha fazla yüzey endotelizasyonu ve vaskülarizasyon gösterdikleri ve stabilitelelerini daha uzun süre korudukları saptanmıştır³⁰.

Geçmişte yapılan araştırmalarda kültüre kardiyomyositlerden oluşan hücre tabakalarının iskemik kalp hastalığında ve kardiyomyopatlarda kardiyak fonksiyonu



artırdığı gösterilmiştir. Endotel progenitör hücrelerin ekleneceği kardiyomiyosit hücre tabakalarının çok daha iyi sonuçlar vereceği düşünülmektedir^{31,32}.

Günümüze kadar endotel progenitör hücrelerin tümör anjiogenezinde önemli roller aldıkları bir çok grup tarafından ortaya konmuştur. Bundan yola çıkarak yapılan çalışmalarda da gösterildiği gibi endotel progenitör hücre fonksiyonunun bozulması tümörün gelişimini engelleyebilmektedir.

SONUÇ

Endotel progenitör hücrelerin postnatal süreçte de fonksiyonlarını devam ettirdiğinin bilgisine ulaşılması ve fonksiyonlarının daha fazla anlaşılması hem birçok patolojik süreci daha iyi algılamamıza neden olmakta hem de günümüzde mortalitenin en sık sebepleri sıralamasında ilk iki sırayı alan kardiyovasküler hastalıkların ve kanserin tedavisinde yeni seçenekler ortaya koymaktadır.

KAYNAKLAR

1. Asahara T, Murohara T, Sullivan A, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science* 1997; 275: 964–967.
2. Shi Q, Rafii S, Wu MH, et al. Evidence for circulating bone marrow-derived endothelial cells. *Blood* 1998; 92: 362–367.
3. Dominik B, Peter Ganz. Endothelial Function: From Vascular Biology to Clinical Applications. *Am J Cardiol* 2002; 90(10C): 40-48.
4. Peichev M, Naiyer A J, Pereira D, et al. Expression of VEGFR-2 and AC133 by circulating human CD34(+) cells identifies a population of functional endothelial precursors. *Blood* 2000; 95: 952–958.
5. Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Engineering* 2001 7: 211–228.
6. Beltrami AP, Barlucchi L, Torella D et al. Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. *Cell* 2003; 114: 763–776.
7. Schwartz SM, Benditt EP. Clustering of replicating cells in aortic endothelium. *Proceedings of the National Academy of Science U.S.A.* 1976; 73(2): 651–653.
8. Tepper OM, Sealove BA, Murayama T, Asahara T. Newly emerging concepts in blood vessel growth: recent discovery of endothelial progenitor cells and their function in tissue regeneration. *J Med Invest* 2003; 51: 353–359.
9. Heissig B, Hattori K, Dias S, et al. Recruitment of stem and progenitor cells from the bone marrow niche

requires MMP-9 mediated release of kit-ligand. *Cell* 2002; 109: 625–637.

10. Aicher A, Heeschen C, Mildner-Rihm C, et al. Essential role of endothelial nitric oxide synthase for mobilization of stem and progenitor cells. *Nat Med* 2003; 9: 1370–1376
11. Gill M, Dias S, Hattori K, et al. Vascular trauma induces rapid but transient mobilization of VEGFR2(+) AC133(+) endothelial precursor cells. *Circ Res* 2001; 88: 167–174.
12. Takahashi T, Kalka C, Masuda H, et al. Ischemia- and cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization. *Nat Med* 1999; 5: 434–438.
13. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor and the regulation of angiogenesis. *Rec Prog Horm Res* 2000; 55: 15–35.
14. Asahara T, Takahashi T, Masuda H, et al. VEGF contributes to postnatal neovascularization by mobilizing bone marrow-derived endothelial progenitor cells. *Embo J* 1999; 18: 3964–3972.
15. Yamaguchi J, Kusano KF, Masuo O, et al. Stromal cell-derived factor-1 effects on ex vivo expanded endothelial progenitor cell recruitment for ischemic neovascularization. *Circulation* 2003; 107: 1322–1328.
16. Fujiyama S, Amano K, Uehira K, et al. Bone marrow monocyte lineage cells adhere on injured endothelium in a monocyte chemoattractant protein-1 dependent manner and accelerate reendothelialization as endothelial progenitor cells. *Circ Res* 2003; 93: 980–989.
17. Asahara T, Masuda H, Takahashi T, et al. Bone marrow origin of endothelial progenitor cells responsible for postnatal vasculogenesis in physiological and pathological neovascularization. *Circ Res* 1999; 85: 221–228.
18. Lyden D, Hattori K, Dias S, et al. Impaired recruitment of bone-marrow-derived endothelial and hematopoietic precursor cells blocks tumor angiogenesis and growth. *Nat Med* 2001; 7: 1194–1201.
19. Hill JM, Zalos G, Halcox JP, et al. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk. *N Eng J Med* 2003; 348: 593–600.
20. Vasa M, Fichtlscherer S, Adler K, et al. Increase in circulating endothelial progenitor cells by statin therapy in patients with stable coronary artery disease. *Circulation* 2001; 103: 2885–2890.
21. Vasa M, Fichtlscherer S, Aicher A, et al. Number and migratory activity of circulating endothelial progenitor cells inversely correlate with risk factors for coronary artery disease. *Circ Res* 2001; 89: 1–7.
22. Teper OM, Galiano RD, Capla JM, et al. Human endothelial progenitor cells from type II diabetics exhibit impaired proliferation, adhesion, and incorporation into vascular structures. *Circulation* 2002; 106: 2781–2786.
23. Heeschen C et al. Erythropoietin is a potent physiologic stimulus for endothelial progenitor cell mobilization. *Blood* 2003; 102: 1340–1346.
24. Iwakura A et al. Estrogen-mediated, endothelial nitric oxide synthase-dependent mobilization of bone marrow-



- derived endothelial progenitor cells contributes to reendothelialization after arterial injury. *Circulation* 2003; 108: 3115–3121.
25. Llevadot J et al. HMG-CoA reductase inhibitor mobilizes bonemarrow–derived endothelial progenitor cells. *J Clin Invest* 2001; 108: 399–405.
 26. Edelberg JM et al. Young adult bone marrow-derived endothelial precursor cells restore aging-impaired cardiac angiogenic function. *Circ Res* 2002; 90: 89–93.
 27. Kalka C, Masuda H, Takahashi T, et al. Transplantation of ex vivo expanded endothelial progenitor cells for therapeutic neovascularization. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 3422–3427.
 28. Kawamoto A, Gwon HC, Iwaguro H, et al. Therapeutic potential of ex vivo expanded endothelial progenitor cells for myocardial ischemia. *Circulation* 2001; 103: 634–637.
 29. Zhang ZG, Zhang L, Jiang Q, et al. Bone marrow-derived endothelial progenitor cells participate in cerebral neovascularization after focal cerebral ischemia in the adult mouse. *Circ Res* 2002; 90: 284–288.
 30. Kaushal S, Amiel GE, Guleserian KJ, et al. Functional small diameter neovessels created using endothelial progenitor cells expanded ex vivo. *Nat Med* 2001; 7: 1035–1040.
 31. Shimizu T, Yamato M, Isoi Y, et al. Fabrication of pulsatile cardiac tissue grafts using a novel 3-dimensional cell sheet manipulation technique and temperature-responsive cell culture surfaces. *Circ Res* 2002; 90: e40
 32. Shimizu T, Yamato M, Akutsu T, et al. Electrically communicating three-dimensional cardiac tissue mimic fabricated by layered cultured cardiomyocyte sheets. *J Biomed Mater Res* 2002; 60: 110–117.