

## תאי אב אנדותליים וטרשת עורקים

סאהר חאמד, אריאל רוגין

הפקולטה לרפואה ורפואת, הטכניון, המח' לקרדיולוגיה, מרכז רפואי רמב"ם, חיפה

## תאי אב אנדותליים (Endothelial progenitor cells)

לשד-העצם מכיל מספר רב של תאים אשר יכולים להתמייין לסוגי תאים שונים. לחלק מתאים אלו יכולת ליצור רקמות. אחד מן התאים הללו הם תאי אב אנדותליים (תא"א)<sup>1</sup> – אשר להם יכולת להתמייין לתאי אנדותל בוגרים. תא"א משתתפים בתהליך צמיחת כלי-דם בריקמה איסכמית (Angiogenesis) [2]. התאים בודדו לראשונה בשנת 1997.

תא"א מיוצרים בלשד-העצם, ומספר קטן מהם נמצא באופן קבוע במחזור הדם. במצבי דחק, התאים עוברים מלשד-העצם למחזור הדם. תהליך השיחרור והנדידה נקבע על-ידי מספר רב של ציטוקינים והורמונים אשר חלקם משוחררים בתגובה לנזק ככלי-הדם. מערכת הבקרה של גורמי גדילה אלו מורכבת ועדיין לא ברורה. לתא"א יכולת לנדוד ולהגיע לאזורים שבהם נגרם נזק לכלי-דם. תא"א מסוגלים להתביית באותם מקומות שבהם כלי-הדם פגועים כדי לעזור בתיקון הנזק. ייתכן שכמות תאים אלו בדם מהווה מדד לסיכון למחלות לב וכלי-דם. כמרכן, ירידה במספר או באיכות תא"א עלולה לתרום להתהוות טרשת עורקים.

לצורך איפיון התאים נעזרים בסמנים הנמצאים על-פני התא. בספרות קיימת מחלוקת לגבי האיפיון הסופי של תא"א, מאחר שהסמנים משתנים בהתאם לבשלות התא [5,4]. מספר סמנים סגוליים CD133, CD34 ו-KDR המאפיינים אותם כתא"א תיפקודיים. כאשר תא"א יוצאים למחזור הדם הם מאבדים חלק מן הסמנים ומבטאים סמנים אחרים – CD31, VE-cadherin ו-vWF [3]. נמצא, כי לתא"א יכולת לייצר צינוריות נימיות (Capillary) מחוץ לגוף כאשר מגדלים אותם על משתית (מטריקס) חוץ-תאית (Matrigel).

בשנים האחרונות נערכים ניסיונות אשר מטרתם בנייה מחדש (רגנרציה) של ריקמה איסכמית או נימקית בעזרת טיפול תאי [7,6]. נוסו מספר רב של תאים, וחלק מן המחקרים מצביע על תוצאות מעודדות. נמצא כי תא"א תורמים משמעותית ליצירת כלי-דם חדשים, הן במחלת כלי-דם היקפית (PVD) והן לאחר אוטם שריר הלב [8-11].

## כיצד בודקים תא"א?

ניתן לבדוד התאים מבדיקת דם רגילה מתוך שיכבת התאים החד-גרעיניים. ניתן למדוד את כמותם באמצעות Flow cytometry בעזרת הסמנים CD133, CD34 ו-KDR. את תיפקודם ויכולתם ליצור מושבות בודקים בעזרת ספירת מושבות אשר נוצרות לאחר מספר ימים במצע גידול בתנאי במעבדה Colony-forming unit assays [13,12]. ניתן לאפיין איכות התאים באמצעות בדיקות

## תקציר

שיכבת האנדותל ממלאת תפקיד מרכזי במניעת טרשת עורקים. גורמי-סיכון למחלת לב וכלי-דם עלולים לגרום לנזק לשיכבה זו, למוות תאי מתוכנת של תאי אנדותל ולהפרעה בשלמות מחסום זה. תאי אב אנדותליים מיוצרים בלשד-העצם והם בעלי יכולת להתמייין לתאי אנדותל בוגרים. תאים אלו משתתפים בתהליך צמיחת כלי-דם בריקמה איסכמית ובאני-דוטליזציה לאחר נזק. יש להם היכולת התיאורטית לעזור התפתחות רובד הטרשת. אולם גורמי-סיכון לטרשת, כגון עישון, לחץ-דם מוגבר, סוכרת, רמת שומנים גבוהה, מורידים את מספרם של תאי אב אנדותליים ופוגמים באיכותם. מובאת סקירת הסיפור של תאי אב אנדותליים כסמן לטרשת ולתחזית של חולי לב, ואפשרויות עתידיות לטיפול.

## הקדמה

טרשת העורקים היא מהגורמים העיקריים לתמותה ותחלואה במדינות המערב בכלל ובישראל בפרט. טרשת עורקים יכולה להתבטא באוטם שריר הלב, אי-ספיקת לב, אירוע מוח ומחלת כלי-דם היקפיים [1]. בעשורים האחרונים אותרו לא מעט גורמי-סיכון להתהוותה, ובמקביל נעשה מאמץ רב לטפל בהם. כתוצאה מכך, נמצאות התחלואה והתמותה ממחלות הנובעות מטרשת העורקים במגמת ירידה בישראל ובעולם. הנחיות הקיימות במניעת טרשת עורקים מדגישות שינויים בהרגלי חיים וטיפול בגורמי-סיכון. כאשר מקפידים על ההנחיות ניתן במקרים רבים למנוע אירועים, כגון אירוע מוח או אוטם שריר הלב. אולם ההקפדה על ההנחיות אינה קלה ואינה מיושמת תמיד במלואה. טרשת עורקים פוגעת באספקת הדם וגוררת פגיעה בתיפקוד הרקמות. חולים רבים, אשר למרות טיפול מיטבי בתרופות הניתן להם, וניסיונות נשנים אשר מטרתם שיפור אספקת דם באמצעות פעולות מילעוריות, כגון צינתור כלילי או ניתוח מעקפים, עדיין נותרים תסמיניים ומוגבלים בחיי היומיום. מספר החולים בקבוצה זו צפוי לגדול בשנים הקרובות. טיפול אשר ימנע התקדמות טרשת העורקים או ישפר את אספקת הדם על-ידי צמיחת כלי-דם חדשים, עשוי לעזור לקבוצת חולים זו ולהפחית תסמינים.

לשיכבת האנדותל תפקיד חשוב בתהליך טרשת העורקים. חיוני כי שיכבת תאים זו תשמור על שלמותה ועל תיפקודה. פגיעה של האנדותל מופיעה בשלבים המוקדמים של טרשת העורקים. במשך שנים סברו כי תיקון נזקים בשיכבה זו מבוצע ברמה המקומית. בשנים האחרונות התברר כי בתהליך משתתפים גם תאי אב אשר מקורם בלשד-העצם.

מילות מפתח: טרשת עורקים; מחלות לב וכלי-דם; סוכרת; תאי אב אנדותליים.  
Key words: Atherosclerosis; Cardiovascular disease; Diabetes; Endothelial progenitor cells.

<sup>1</sup> תא"א – תאי אב אנדותליים.

לחץ־דם — בנוכחות יתר־לחץ־דם קטן מספר תא"א, אך תיפקודם אינו נפגע. אנגיוטנסין-II פוגע בשיגשוג תא"א, ותרופות הבולמות קולטן לאנגיוטנסין-II מונעות השפעה זו. מתן תרופות מקבוצת מעכבי האנזים המהפך (ACE-I) מעלה פי 2.5 את כמות תא"א ואף משפר את תיפקודם [19,18].

סוכרת — סוכרת מסוג-2 גורמת לירידה בתיפקוד תא"א. דווח כי ככל שרמת המוגלובין A1c גבוהה יותר, כך מספר תא"א נמוך יותר [20]. אנו מצאנו כי יכולת הנדידה, יכולת יצירת מבנים דמויי תעלות בבדיקת Matrigel ויכולת ההתרכבות — פגומים בבדיקים עם סוכרת מסוג-2 רמות גבוהות של גלוקוזה משפיעות לרעה על תיפקודי תא"א במנגנון של עיכוב יצירת NO ו-MMP-9. סוכרת פוגעת בגיוס תא"א מלשד־העצם, ולכן אפשרויות צמיחת כל־הדם (אנגיוגניזיס) מופרעות [21].

רמת שומנים גבוהה — במחקר קטן על 20 חולים נמצא כי כאשר קיימים ערכים מוגברים של כולסטרול, מס־פר תא"א היה קטן יותר ותיפקודם היה מופרע [22]. הסיבה לכך ככל הנראה מוות תאי מתוכנת מוגבר של תא"א. תופעות אלו נמנעו כאשר החולים טופלו בסטטין. ככל הנראה רמת כולסטרול HDL קשורה לרמה גבוהה של תא"א — וייתכן כי חלק מהשפעת הכולסטרול ה"טוב" היא דרך מנגנון תא"א [23].

עישון — כמות תא"א בעישון ירודה, אך נמצא כי כבר 4 שבועות לאחר הפסקת עישון מספר תא"א עולה לתקין [24]. השפעות הניקוטין על תיפקוד תא"א מורכבות, בריכוז נמוך מאוד יש פעילות מוגברת, אך ככל שעולים בריכוז — חל עיכוב בפעילות [25].

פעילות גופנית — פעילות גופנית קבועה מספר פעמים בשבוע קשורה לשיעור תחלואה נמוך מטרשת עורקים [2]. בדרגם חיה, חוסר פעילות גופנית קשור לשיעור מוגבר של מחלה כלילית, דחק חימצוני מוגבר, פגיעה בתיפקוד אנדותל וטרשת עורקים [26]. בקרב עכברים המבצעים פעילות גופנית קבועה (ריצה על גלגל מסתובב) נמצא כי מספר תא"א עולה. כמו כן, האנדותרליזציה לאחר גרימת נזק לכלי דם הייתה מהירה יותר [26]. בחולים עם מחלה כלילית אשר החלו לבצע פעילות גופנית במיסגרת תוכנית שיקום לב עולה רמת תא"א [27]. מימצאים דומים ניצפו בבדיקים בריאים.

### רמת תא"א ותמותה ממחלת לב

ורנר וחב' [16] בדקו תא"א ב-519 חולים עם מחלה כלילית אשר עברו צינתור לב ועקבו אחריהם במשך 12 חודשים. רמת תא"א

נוספות, כגון היכולת ליצור מבנים דמויי־תעלות כל־דם או יכולת נדידה.

### מנגנונים של טרשת עורקים

תהליך הופעת טרשת עורקים מורכב, כולל גורמים רבים ומובן רק בחלקו. בין המשתתפים הרבים בתהליך מורכב זה נמצאים גם תאי האנדותרל. בשלבים מוקדמים בטרשת העורקים תיפקודם נפגע. פגיעה באנדותרל פוגמת בגמישות העורק וביכולתו לעבור הרפיה. יש שיגשוג של ריקמת שריר חלק — שלב הכרחי בתהליך הטרשת. עם הזמן נגרם נזק לתאי אנדותל ומספרם קטן בתהליכי מוות תאי מתוכנת, אשר מוביל לפגיעה בדופן הפנימי של כל־הדם. עקב כך חלה נדידה מוגברת של מונוציטים המכילים מיצבורי שומן, שיפ־עול ציטוקינים מעוררי דלקת והרחבת רובד הטרשת [14].

עד לאחרונה הדעה המקובלת הייתה, כי תיקון אנדותל מתבצע באופן מקומי על־ידי תאי אנדותל הסמוכים לאזור הנזק. מעדויות בשנים האחרונות עולה, כי לת־א"א תפקיד מכריע בתיקון אנדותל פגום. עירוי תא"א מוביל לריפוי מהיר יותר של האנדותרל ומביא לשיפור בתיפקוד תאי האנדותרל. במחקרים בבני־אדם הודגם, כי רמה גבוהה של תא"א קשורה בפחות אירועי לב [16,15].

תיקון תאי אנדותל בעזרת תא"א עשוי להתפתח בעתיד כאפשרות טיפול לאותה קבוצת חולים הלוקים בתסמיני טרשת עורקים ונמצאים תחת טיפול מרבי בתרופות, אשר אין אפשרות לעזור להם באמצעי ה־וואסקולריזציה בצינתור או ניתוח.

### תא"א ומחלת לב וכלי־דם

דירוג הסיכון לפי פרמינגהאם מצביע על סיכון לתחלואה מגורמים הקשורים לטרשת עורקים. נמצאה התאמה בדירוג זה לכמות

נמוכה יותר של תא"א [13]. מספר תא"א היו מנבא טוב יותר להפרעה בתיפקוד האנדותרל מאשר גורמי־סיכון למחלה טרשתית [13]. תיסמונת כלילית חדה, אי־ספיקת לב חדה ואוטם שריר הלב גררו עלייה במספר תא"א — עובדה המצביעה כי זו התגובה הפיזיולוגית התקינה עקב נזק בכלי־הדם.

### תא"א וגורמי־סיכון לטרשת עורקים

מספר תא"א במחזור הדם נמצאים ביחס הפוך למספר גורמי־הסיכון לטרשת עורקים [17,13]. בקרב נבדקים עם מחלה כלילית נמצאה כמחצית מכמות תא"א לעומת נבדקים ללא מחלה כלילית. בנוסף, תא"א אשר בודדו מחולים עם מחלה כלילית אופיינו לא רק בכמות ירודה, אלא גם באיכות ירודה. לתאים יכולת נדידה מופרעת אשר הייתה ביחס הפוך למספר גורמי־הסיכון.

◀ האנדותרל ממלא תפקיד מרכזי במ־ניעת טרשת עורקים. גורמי־סיכון למחלת לב וכלי־דם עלולים לגרום לנזק לשיכבה זו, למוות תאי מתוכנת של תאי אנדותל ולהפרעה בשלמות מחסום זה.

◀ תאי אב אנדותליים מיוצרים בלשד־העצם והם בעלי יכולת להתמייין לתאי אנדותל בוגרים. תאים אלו משתתפים בתהליך צמיחת כל־דם בריקמה איסכמית ובאנדותרליזציה לאחר נזק. יש להם היכולת התיאור־טית לעצור את התפתחות רובד הטרשת.

◀ גורמי־סיכון לטרשת, כגון עישון, לח־ץ־דם מוגבר, סוכרת, רמת שומנים גבוהה, מורידים את מספרם של תאי אב אנדותליים ופוגמים באיכותם. ייתכן שתאי אב אנדותליים יכולים להוות סמן לטרשת ולתחזית לחולי לב, ובאמצעותם ניתן לתקן נזקי טרשת.

- genesis in physiological and pathological neovascularization. *Circ Res*, 1999; 85: 221-228.
4. *Rafii S & Lyden D*, Therapeutic stem and progenitor cell transplantation for organ vascularization and regeneration. *Nat Med*, 2003; 9: 702-712.
  5. *Rehman J, Li J, Orschell CM & March KL*, Peripheral blood "endothelial progenitor cells" are derived from monocyte/macrophages and secrete angiogenic growth factors. *Circulation*, 2003; 107: 1164-1169.
  6. *Orlic D, Kajstura J, Chimenti S & al*, Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature*, 2001; 410: 701-705.
  7. *Wollert KC, Meyer GP, Lotz J & al*, Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomized controlled clinical trial. *Lancet*, 2004; 364: 141-148.
  8. *Yamamoto K, Kondo T, Suzuki S & al*, Molecular evaluation of endothelial progenitor cells in patients with ischemic limbs: therapeutic effect by stem cell transplantation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004; 24: e192-e196.
  9. *Kawamoto A, Gwon HC, Iwaguro H & al*, Therapeutic potential of ex vivo expanded endothelial progenitor cells for myocardial ischemia. *Circulation*, 2001; 103: 634-37.
  10. *Assmus B, Schachinger V, Teupe C & al*, Transplantation of Progenitor Cells and Regeneration Enhancement in Acute Myocardial Infarction (TOPCARE-AMI). *Circulation*, 2002; 106: 3009-17.
  11. *Kalka C, Masuda H, Takahashi T & al*, Transplantation of ex vivo expanded endothelial progenitor cells for therapeutic neovascularization. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000; 97: 3422-27.
  12. *Ingram DA, Mead LE, Tanaka H & al*, Identification of a novel hierarchy of endothelial progenitor cells using human peripheral and umbilical cord blood. *Blood*, 2004; 104: 2752-2760.
  13. *Hill JM, Zalos G, Halcox JP & al*, Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk. *N Engl J Med*, 2003; 348: 593-600.
  14. *Crosby JR, Kaminski WE, Schatteman G & al*, Endothelial cells of hematopoietic origin make a significant contribution to adult blood vessel formation. *Circ Res*, 2000; 87: 728-730.
  15. *Werner N, Kosiol S, Schiegl T & al*, Circulating endothelial progenitor cells and cardiovascular outcomes. *N Engl J Med*, 2005; 353: 999-1007.
  16. *Schmidt-Lucke C & Rossig L*, Reduced number of circulating endothelial progenitor cells predicts future cardiovascular events: proof of concept for the clinical importance of endogenous vascular repair. *Circulation*, 2005; 111: 2981-87.
  17. *Vasa M, Fichtlscherer S, Aicher A & al*, Number and migratory activity of circulating endothelial progenitor cells inversely correlate with risk factors for coronary artery disease. *Circ Res*, 2001; 89: E1-E7.
  18. *Imanishi T, Hano T & Nishio I*, Angiotensin II potentiates vascular endothelial growth factor-induced proliferation and network formation of endothelial progenitor cells. *Hypertens Res*, 2004; 27: 101-108.
  19. *Min TQ, Zhu CJ, Xiang WX & al*, Improvement in endothelial progenitor cells from peripheral blood by ramipril therapy in

נבדקה על-ידי Flow cytometry כנגד הסמנים הסגוליים CD34 ו-KDR. החולים סווגו לשלוש קבוצות, בהתאם למספר התאים שנמדדו. לאחר התאמה לגורמי-סיכון מרובים, נמצא כי בקרב החולים בעלי רמת תא"א גבוהה הייתה הישרדות טובה יותר – פחות תמותה מסיבה שמקורה בלב. כמו-כן, באותה קבוצה היו פחות אירועי לב, כגון אישפוז או צינתור דחוף. רמת תא"א לא ניבאה אוטם שריר הלב במעקב תוך שנה.

נערכו מספר מחקרים בניסיון לקשור בין סמנים בנסיוב לבין פרוגנוזה של חולי לב, כדוגמת הומוציסטאין, אינטרליקין-6, C-Reactive Protein, Soluble CD-40 Ligand, Glutathione Peroxidase-1, אך זהו המחקר הראשון הקושר בין תא לבין תחזית. ניבוי בעזרת סמנים מורכב, מאחר שקיימים קשרים מורכבים ביניהם, והם מושפעים מגורמים מקומיים וסביבתיים רבים. ייתכן כי מציאת תא כסמן לתחזית מהווה יתרון לעומת סמנים בנסיוב, מאחר שהוא פחות מושפע מקשרים בין סמנים ומגורמים אחרים.

### רמת תא"א ואירוע מוח

בחולים עם אירוע מוח, מספר תא"א – מופחת [28], כמו-כן, נמצאה התאמה בין אזורים במוח עם זילוח מופחת לבין מספר נמוך של תא"א.

לסיכום, גורמי-סיכון לטרשת עורקים משפיעים על כמות תא"א ועל תפקודם. גורמי-הסיכון הידועים מורידים את מספר תא"א, מפחיתים את יכולת הנדידה ויצירת מושבות. בחולה עם גורמי-סיכון, אשר לוקה בטרשת עורקים תיתכן פגיעה ביכולת התיקון של שיכבת האנדותרל ושיקומה, ועקב כך החמרה נוספת של הטרשת. מאידך, טיפול אשר מעלה את מספר תא"א עשוי לשפר או לעצור הטרשת. סטטינים ומעכבי אנזים המהפך הם שני טיפולים אשר קשורים לשיפור במספר תא"א. השפעה דומה מושגת בעזרת פעילות גופנית.

כאשר גורמים לנזק בכלי-דם בדגם חיה, מתן תא"א הביא לאנדותרליזציה מהירה לעומת אינבו. כמו-כן, מתן תא"א משפר את יצירת כלי-הדם במצבים של איסכמיה. קיימת קבוצת חולים אשר למרות טיפול מיטבי בתרופות וניסיונות לשיפור אספקת הדם באמצעים פולשניים, עדיין נותרים תסמינים ומוגבלים בחיי היומיום. עידוד יצירת מערכת מעקפים עצמוניים (קולטרליים) ותיקון שיכבת האנדותרל בעזרת הזלפת תא"א עשויים להקל על התסמינים. בשנים הקרובות ייקבע מקום תא"א בטיפול בחולים עם טרשת עורקים.

### ב י ב ל י ו ג ר פ י ה

1. *Bitzur R, Harats D & Rubinstein A*, Guidelines for the prevention and treatment of atherosclerosis and cardiovascular diseases: treatment of diabetes mellitus, dyslipidemia and the prevention of stroke. *Harefuah*, 2005; 144: 647-54.
2. *Asahara T, Murohara T, Sullivan A & al*, Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science*, 1997; 275: 964-67.
3. *Asahara T, Masuda H, Takahashi T & al*, Bone marrow origin of endothelial progenitor cells responsible for postnatal vasculo-

- patients with stable coronary artery disease. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2004; 18: 203-209.
20. *Tepper OM, Galiano RD, Capla JM & al*, Human endothelial progenitor cells from type II diabetics exhibit impaired proliferation, adhesion, and incorporation into vascular structures. *Circulation*, 2002; 106: 2781-2786.
  21. *Krangel N, Adams V, Linke A & al*, Hyperglycemia reduces survival and impairs function of circulating blood-derived progenitor cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005; 25: 698-703.
  22. *Chen JZ, Zhang FR, Tao QM & al*, Number and activity of endothelial progenitor cells from peripheral blood in patients with hypercholesterolaemia. *Clin Sci (Lond)*, 2004; 107: 273-280.
  23. *Dimmeler S, Aicher A, Vasa M & al*, HMG-CoA reductase inhibitors (statins) increase endothelial progenitor cells via the PI 3-kinase/Akt pathway. *J Clin Invest*, 2001; 108: 391-397.
  24. *Kondo T, Hayashi M, Takeshita K & al*, Smoking cessation rapidly increases circulating progenitor cells in peripheral blood in chronic smokers. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004; 24: 1442-1447.
  25. *Wang X, Zhu J, Chen J & Shang Y*, Effects of nicotine on the number and activity of circulating endothelial progenitor cells. *J Clin Pharmacol*, 2004; 44: 881-889.
  26. *Laufs U, Wassmann S, Czech T & al*, Physical inactivity increases oxidative stress, endothelial dysfunction, and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005; 25: 809-814.
  27. *Sandri M, Adams V, Gielen S & al*, Effects of exercise and ischemia on mobilization and functional activation of blood-derived progenitor cells in patients with ischemic syndromes: results of 3 randomized studies. *Circulation*, 2005; 111: 3391-3399.
  28. *Ghani U, Shuaib A, Salam A & al*, Endothelial progenitor cells during cerebrovascular disease. *Stroke*, 2005; 36: 151-153.
- 
- מחבר מכותב: אריאל רוגין, המחלקה לקרדיולוגיה, מרכז רפואי רמב"ם, הפקולטה לרפואה רפפורט — טכניון, חיפה 31096  
 משרד: 04-854-2181, פקס: 04-854-3451  
 דוא"ל: aroguin@technion.ac.il