

¿Cuál es el papel de las células endoteliales progenitoras en la enfermedad renal crónica?



E. Rodríguez-Ayala, Q. Yaoa, C. Holmen, B. Lindholm, S. Sumitran-Holgersson, P. Stenvinkel

Imbalance between detached circulating endothelial cells and endothelial progenitor cells in chronic kidney disease. *Blood Purif* 2006; 24: 196-202

Análisis crítico: A. Ramos /C. Caramelo

Servicio de Nefrología. Fundación Jiménez Díaz-Capio. Madrid.



Tipo de Diseño y Seguimiento: Estudio observacional, prospectivo, abierto, no controlado, en pacientes con enfermedad renal crónica (ERC), estadio 5 de la clasificación de la *National Kidney Foundation*, no en diálisis.



Asignación: No aleatorización.



Enmascaramiento: No se realizó enmascaramiento.



Ámbito: *Karolinska University Hospital*, Huddinge, Estocolmo, Suecia.



Pacientes: 19 pacientes con enfermedad renal crónica estadio 5 no en diálisis. 9 varones. Etiología de la enfermedad renal: nefropatía diabética (6), glomerulonefritis crónica (3), enfermedad renal poliquística del adulto (3), no filiada (7); un 30% de pacientes con enfermedad cerebrovascular, cardiovascular o vascular periférica; once fumadores activo-pasivos; prácticamente todos con tratamiento antihipertensivo; doce con inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina (IECA), no refieren dosis; nueve pacientes en tratamiento con estatinas al inicio del estudio; catorce pacientes en tratamiento con eritropoyetina; veinte controles sanos emparejados para edad y sexo.



Intervención: Datos analíticos: albúmina, PCRhs, hemoglobina, colesterol total, triglicéridos, HDL-Col, HbA1c, urea y creatinina plasmáticas. Aclaramiento de creatinina o iohexol. Aislamiento de células mononucleares de sangre periférica, centrifugación e incubación con anticuerpos monoclonales anti Tie-2 (receptor de Angiopoyetina, usado como marcador de célula progenitora endotelial —CEP—), VEGFR-2 —KDR— (Receptor tipo 2 de factor de crecimiento del endotelio vascular, utilizado como marcador de CEP), MHC Clase-I cadena A (MICA) o CD31 (marcador endotelial, aplicado a células endoteliales circulantes —CEC—).



VARIABLES DE RESULTADO: Concentración de CEC y CEP, marcadores inflamatorios y no inflamatorios en CEC, en una cohorte de pacientes con ERC avanzada, comparando los resultados con un grupo de controles sanos.



Tamaño muestral: Un total de 19 pacientes con ERC, con aclaramientos de 4-34 ml/min, sin especificarse aclaramientos individuales.

Promoción: Fundación Söderberg y *Swedish Medical Research Council*.

RESULTADOS PRINCIPALES

Análisis basal de los grupos:

Datos analíticos	ERC (n = 19)	Controles (n = 20)	Valor de P
Filtrado glomerular renal, ml/min 8 (4-34)		Se supone normalidad No aportan valores	
Crp, mg/dl	6,9 ± 0,86		
Albúmina, g/dl	3,41 ± 1,7		
PCRhs	8,1 (0,2-136)		
CEC			
MICA, %	7,6 ± 2,7	1,6 ± 0,3	p < 0,05
CD31, %	22,8 ± 4,2	9,4 ± 0,8	p < 0,01
CEP			
Tie-2, %	0,16 ± 0,07	0,53 ± 0,15	p < 0,05
VEGFR-2, %	0,42 ± 0,10	2,8 ± 0,72	p < 0,01

Resumen de resultados

- Los pacientes con enfermedad renal crónica tienen un número significativamente mayor de células MICA+, sin embargo el número de CEP -Tie-2 o KDR (+) es menor en comparación al grupo control.
- No existe correlación entre edad y niveles de CEP-CEP.
- No se encuentra correlación entre el filtrado glomerular renal y niveles de MICA+, Tie-2+ o KDR+; tampoco con niveles de PCR.
- No hay diferencias significativas entre diabéticos y no diabéticos.
- No hay diferencias significativas con estatinas ni EPO. En los pacientes con IECAs, las células que expresan KDR están aumentadas casi significativamente.

CONCLUSIONES DE LOS AUTORES

Se sugiere que existe un desbalance entre el n° de CEC y CEP en pacientes con ERC. Son necesarias futuras investigaciones para evaluar el papel de estas células como posibles marcadores inflamatorios, así como los efectos de los IECAs en la movilización de CEP en pacientes con ERC avanzada.

CLASIFICACIÓN

Células endoteliales progenitoras, células endoteliales maduras, ERC avanzada. Nivel de evidencia: 4. Grado de recomendación: C (ver nota metodológica 2).

COMENTARIOS

La validez de los resultados está condicionada decisivamente por el escaso número de enfermos estudiado, pero el tema en sí es de máxima actualidad e interés. El estudio de las CEC-CEP es una herramienta nueva para abordar la disfunción endotelial, y sus límites y técnicas no están aún plenamente establecidas. Los datos del trabajo que comentamos corresponden a pacientes con ERC avanzada no en diálisis, un subgrupo en el cual hay una carencia casi absoluta de información referida a CEC-CEP.

La disfunción endotelial, de la que se habla asiduamente desde hace dos décadas, es un concepto aún en busca de definición. De forma literal, disfunción endotelial significa alteración de las propiedades normales del endotelio, y suele aplicarse a dos de ellas: la vasodilatación, a través de producción de óxido nítrico (NO) y prostaciclina, y la regulación de la coagulación (antiagregación/proagregación). Esta disfunción es un conjunto de trastornos asociados al aumento del riesgo cardiovascular. Las alteraciones más comunes incluyen un estado proinflamatorio de la pared del vaso, con daño bioquímico secundario a estrés oxidativo, disminución del NO por disminución de la expresión y reducción/bloqueo de la actividad de la sintasa endotelial de óxido nítrico (NOS_e), y aumento de moléculas de adhesión (Proteína quimiotáctica de monocitos —MCP-1—, Molécula de adhesión de células vasculares —VCAM-1— y molécula de adhesión intercelular tipo 1 —ICAM-1). Se produce, además, un daño estructural directo del endotelio. Este daño pondría en marcha procesos reparativos, que en caso de fracasar, ocasionarían la desunión con respecto a las células endoteliales vecinas y la matriz, con la consiguiente separación de la monocapa y paso a la sangre. Las células endoteliales adultas están programadas para destruirse tras su desprendimiento («anoikis»); no ocurre así con las CEP, que mantienen capacidad de circulación y anidamiento a distancia. En su conjunto, se trata de un proceso insuficientemente caracterizado, sobre el que existe un gran interés investigacional. Este interés deriva de la doble vertiente del estudio de las CEP en la reparación endotelial y del posible uso de las CEC-CEP como marcadores in-

flamatorios y predictores de eventos cardiovasculares (*ver nota metodológica 1*). La idea que subyace en este último punto es que el daño endotelial aumentaría el número de CEC, como consecuencia de su desprendimiento, y generaría señales, aún no identificadas, para la movilización de CEP de la médula. Los datos en modelos animales indican que las CEP son fundamentales en la reparación de endotelios dañados, pero prácticamente no hay evidencia directa en humanos.

Los mayores estudios acerca de CEP como marcadores corresponden hasta ahora a pacientes con patología coronaria y vascular. En ellos se ha encontrado una relación significativa entre el aumento de CEC y eventos cardiovasculares, y entre la disminución de CEP y la progresión del proceso aterosclerótico¹. Sin embargo, el tema está todavía en fase preliminar. En ERC se han realizado trabajos en pacientes en hemodiálisis², que encuentran asociación significativa entre eventos cardiovasculares y aumento de CEC (*ver nota clínica*). Sin embargo, los datos disponibles en ERC leve-moderada o avanzada no en diálisis son escasos³. En este sentido, es difícil saber en qué medida es la uremia la que contribuye a los cambios en CEC y CEP, o si en realidad se trata de una superposición con enfermedad arteriosclerótica severa.

REFERENCIAS

- Shantsila E, Watson T, et al. Endothelial Progenitor cells in cardiovascular disorders. *Journal of the American College of Cardiology* 2007; 49: 741-752.
- Mehmet K, Bihorac A, Segal M. Circulating Endothelial Cells as Potential Markers of the State of the Endothelium in Hemodialysis Patients. *American Journal of Kidney Diseases* 2003; 42: 704-712.
- De Groot K, Balhmann F, Fliser D, et al. Uremia causes endothelial progenitor cell deficiency. *Kidney International* 2004; 66: 641-646.

CONCLUSIONES de los REVISORES

La medida de CEC —correspondiente a endotelio adulto desprendido—, combinada con la de CEP —movilizadas en inflamación/estrés— y marcadores inflamatorios en CEP, ofrece una nueva alternativa de valoración estructural y funcional del endotelio en la uremia y otras alteraciones cardiovasculares. Sin embargo, el estado actual de los conocimientos sobre la cuestión hace prematuras las conclusiones, no pudiendo precisarse el valor definitivo de la medición de CEC-CEP como herramienta diagnóstica.

NOTAS CLÍNICAS

SIGNIFICADO PRONÓSTICO DE LAS CÉLULAS ENDOTELIALES CIRCULANTES Y PROGENITORAS (A. Ramos, C. Caramelo)

El significado dado a las CEC-CEP como indicador pronóstico va ligado a su relación con los factores de riesgo cardiovascular. Sin embargo, no está suficientemente claro que su utilidad pronóstica supere la de otras técnicas analíticas, como por ejemplo la determinación de PCR. Un punto de posible discordancia es determinar si estas células aumentan o disminuyen en relación a distintas patologías. Así, si bien en enfermedades neoplásicas o mielofibrosis se ha encontrado un aumento consistente de CEC-CEP, los datos en enfermedad cardiovascular y renal no son homogéneos. Así, se ha referido que la concentración de CEC-CEP disminuye con la edad, hipertensión arterial, diabetes mellitus de tipo 1 y 2, tabaquismo, hipercolesterolemia y arteriosclerosis subclínica¹. Por el contrario, trabajos en pacientes en hemodiálisis o con ERC demuestran un aumento de células circulantes identificadas como endoteliales²; este aumento se relaciona con incremento del riesgo cardiovascular, y es conceptualmente opuesto a lo encontrado por Hill et al³ en población no urémica y por Suh, et al en urémicos⁴ —menor número y capacidad angiogénica de CEP—. Además, el estudio de Suh, et al apunta no solo a que existe un mayor riesgo coronario en los pacientes con menos CEP, sino que una mayor dosis de hemodiálisis mejoraría la funcionalidad de las CEP. Para completar este panorama de no uniformidad, Herbrig, et al⁵ han encontrado un aumento del número total de CEP, pero con menor funcionalidad.

Con esta base, ¿cuáles serían los principales puntos de interés de la medida de CEC-CEP? En primer lugar, su aporte al conocimiento de la enfermedad cardiovascular de la uremia y a la acción de diferentes terapéuticas cardiovasculares. Datos recientes relacionan un incremento de movilización de estas células con el uso de eritropoyetina humana recombinante, darbepoetina y factores de crecimiento. Un aspecto activo es el análisis de la historia

natural de las CE, desde su formación hasta su llegada a la pared endotelial a la que pueden agregarse empleando varias integrinas^{6,7}. En este sentido, hay que subrayar algunas preguntas que aún no se han respondido: ¿cómo las CEP se movilizan desde la médula ósea, a qué estímulos quimiotácticos responden? ¿cómo eligen el sitio de anclaje («homing») y como son los mecanismos completos para llevarlo a cabo? ¿cuál es su importancia real en la reparación endotelial y, por consiguiente, si existe una patología por depleción o disfunción de CEP? ¿Realmente disminuye la producción de las CEP en la uremia o se reduce su vida útil? ¿cuál es el efecto de la hemodiálisis sobre las CEC-CEP?

REFERENCIAS

- Chironi G, Simon A, et al. Decreased number of circulating CD34+KDR+ cells in asymptomatic subjects with preclinical atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2007; 191: 115-120.
- Koc M, Segal M, et al. Circulating endothelial cells are associated with future vascular events in hemodialysis patients. *Kidney International* 2005; 67: 1078-1085.
- Suh, Sung J, Jeon ES, et al. Decreased Number and Impaired Angiogenic Function of Endothelial Progenitor Cells in Patients With Chronic Renal Failure. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 1246-1252.
- Kong D, Melo L, Dzau V, et al. Cytokine-Induced Mobilization of Circulating Endothelial Progenitor Cells Enhances Repair of Injured Arteries. *Circulation* 2004; 110: 2039-46.
- Wu Y, Ip J, Dzau V, et al. Essential Role of ICAM-1/CD18 in Mediating EPC Recruitment, Angiogenesis, and Repair to the Infarcted Myocardium. *Circulation Research* 2006; 99: 315.

NOTAS METODOLÓGICAS

1. PROBLEMAS METODOLÓGICOS EN LA IDENTIFICACIÓN DE CÉLULAS ENDOTELIALES CIRCULANTES Y PROGENITORAS (A. Ramos, C. Caramelo)

En los trabajos publicados desde la primera identificación de las células endoteliales circulantes y progenitoras (CEC-CEP), llama la atención la gran diversidad metodológica. Este es probablemente el aspecto clave en el momento actual, ya que podría explicar las notables diferencias en resultados, que llegan incluso a conclusiones opuestas. Un punto crítico es el reconocimiento de la necesidad de usar de forma mandatoria al menos 3 marcadores de alta afinidad y especificidad para la identificación de CEC-CEP en la citometría de flujo, y la extracción de muestras de sangre de volumen suficiente. La táctica más frecuente de diagnóstico diferencial es usar CD34 como marcador de precursores medulares, CD45 como panhemopoyético y CD146, CD31 y/o VEGFR2 como marcadores endoteliales¹. Como ejemplo negativo, los trabajos de Koc solo utilizan un marcador, CD146, aunque unido a microesferas magnéticas, solo extraen 0,5 ml de sangre, y no toman en cuenta datos clínicos o medicación. El uso de un marcador inapropiado introduciría un grave error sistemático. En cambio, Hill, et al² y Herbrig, et al³ emplean muestras superiores a 20 ml, marcadores múltiples y extreman los controles de identidad del tipo celular y manejo de las muestras. El uso de distintos métodos de estimación del número de CEC-CEP, vg, conteo directo, siembra, identificación y recuento de colonias, expresión por ml o por campo microscópico, introduce otros elementos de confusión al comparar resultados. Los estudios que incluyen análisis de propiedades de CEC-CEP, aportan un valor añadido relevante, por ejemplo en casos como la diabetes o la uremia, en que las CE pueden estar dañadas funcionalmente⁴. Será necesario una puesta en común y una revisión crítica de estos métodos para generar información de mayor fiabilidad.

REFERENCIAS

- Bertolini F, Shaked Y, Kerbel R, et al. The multifaceted circulating endothelial cell in cancer: towards marker and target identification. *Nature Reviews. Cancer* 2006; 6: 855.
- Rask-Madsen C, King G. Mechanisms of Disease: endothelial dysfunction in insulin resistance and diabetes. *Nature Clinical Practice Endocrinology & Metabolism* 2007; 3: 46-56.
- Hill J, Zalos G, Finkel T, et al. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk. *N Engl J Med* 2003; 348: 593-600.
- Herbrig K, Gross P, Passauer J, et al. Increased total number but Impaired Migratory Activity and Adhesion of Endothelial Progenitor Cells in Patients on Long-Term Hemodialysis. *American Journal of Kidney Diseases* 2004; 44: 840-849.

2. NIVEL DE EVIDENCIA DE LOS ESTUDIOS PILOTO (C. Quereda, F. García López)

Los estudios piloto tienen interés para explorar una determinada hipótesis científica y decidir si merece la pena embarcarse en un estudio más amplio con un diseño adecuado, que resulte probatorio desde el punto de vista clínico (pronóstico o terapéutico). Los resultados —como en los del trabajo que nos ocupan— pueden ser muy sugerentes y atractivos y animar a la comunidad científica a continuar investigando. Pero su nivel de evidencia es muy bajo y, por tanto, su utilidad inmediata desde el punto de vista clínico.