ARCHIVOS DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE OFTALMOLOGÍA

www.elsevier.es/oftalmologia

Editorial

Células progenitoras del endotelio: su posible potencial en la terapia celular de la retina isquémica

Endothelial progenitor cells: their possible potential in cell therapy for ischemic retina

A. Villalvilla y R. Fernández-Durango*

Departamento de Investigación, Hospital Clínico San Carlos, Madrid, España

Células progenitoras del endotelio

Las células progenitoras del endotelio (CPE), una población heterogénea en varios estadios de maduración, juegan un papel fundamental en la formación y regeneración del endotelio vascular¹. Cuando en un tejido se produce una isquemia, el factor inducible por hipoxia 1-alfa (HIF-1alfa) se estabiliza, induciendo la transcripción de citoquinas pro-angiogénicas como el factor derivado del estroma 1 (SDF-1) y el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF). Estas citoquinas, a través de sus receptores CXCR4 y VEGFR-2, respectivamente, presentes en las CPE, participan en la movilización y reclutamiento de estas células desde la médula ósea hasta el tejido isquémico. Allí, junto a las células endoteliales maduras que forman los vasos, contribuyen a la neovascularización de la zona².

Las CPE se caracterizan por citometría de flujo mediante una serie de marcadores de superficie que determinan sus distintos estadios de diferenciación. Se estudia la co-expresión de al menos un marcador de células inmaduras (CD34 o CD133) y otro de células endoteliales (VEGFR-2, CD31 y CD144). En estudios clínicos, un número reducido de células CD34⁺ VEGFR-2⁺ y CD34⁺ se correlaciona con el pronóstico y los factores de riesgo de enfermedad cardiovascular³.

Disfunción endotelial en diabetes mellitus

En pacientes con diabetes mellitus (DM) se genera una disfunción endotelial que precede al desarrollo de complicaciones macro y microvasculares, y que está asociada a un número reducido de CPE circulantes. Estas CPE presentan alteraciones en su capacidad de migración al tejido isquémico, su diferenciación en un fenotipo endotelial maduro, su adhesión, su capacidad proliferativa así como en su incorporación a vasos sanguíneos⁴.

En animales diabéticos también existe una disminución del número de CPE en sangre periférica⁵ y en médula ósea⁶ junto con una reducción de su movilización en respuesta a estímulos⁷.

Células progenitoras del endotelio en la Retinopatía diabética

Retinopatía diabética en humanos

Una gran proporción de pacientes diabéticos desarrollan retinopatía diabética no proliferativa (RDNP) caracterizada por alteración del flujo sanguíneo, pérdida de pericitos, y rotura

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: fernandez.durango@gmail.com (R. Fernández-Durango).

0365-6691/\$ – see front matter © 2010 Publicado por Elsevier España, S.L. en nombre de Sociedad Española de Oftalmología.

doi:10.1016/j.oftal.2010.10.001

de la barrera hematorretiniana (BHR). Posteriormente algunas RDNP evolucionan a retinopatía diabética proliferativa (RDP) con formación de microaneurismas, hemorragias y exudados que conllevan la formación de zonas isquémicas con capilares acelulares⁸.

La contribución de las CPE a la disfunción vascular en la DM es muy controvertida. Mientras que en las complicaciones macrovasculares manifestadas clínicamente (cardiopatía isquémica, insuficiencia cardíaca, enfermedad vascular cerebral e insuficiencia arterial periférica) existe un crecimiento defectuoso de los vasos sanguíneos junto con una disminución de CPE circulantes, paradójicamente en la RDP se produce un aumento de neovascularización, que va acompañada de un aumento del número y de la capacidad clonogénica de las CPE^{4,9,10}. En un trabajo reciente se ha observado que los pacientes con DM tipo 1 que presentan RDNP, las CPE circulantes están disminuidas en relación con los pacientes sin RDNP. Sin embargo, a medida que el grado de RDNP avanza a RDP la proporción de CPE maduras (diferenciadas) aumenta en relación con las CPE menos maduras⁸. Las CPE maduras, quizás reclutadas de la médula ósea por algunas citoquinas producidas en la retina isquémica, podrían contribuir a la aberrante neovascularización que se produce en la RDP. VEGF y SDF-1 parecen ser algunas de las citoquinas responsables, ya que su concentración aumenta con el grado de RD en el vítreo de pacientes diabéticos tipo 2².

En conclusión, podemos establecer que en pacientes diabéticos a) el número de CPE está disminuido, b) las CPE presentan defectos funcionales y c) en la RDP aparecen aumentadas las CPE maduras.

Retinopatía diabética en animales de experimentación

En ratas diabéticas generadas por inyección de estreptozotocina (STZ), no se desarrolla neovascularización retiniana pero sí alteraciones microvasculares, como aumento de la permeabilidad vascular e inflamación y aparición de capilares acelulares. Aunque en estos animales se ha observado un aumento de la expresión de VEGF en la retina, la expresión de HIF-1alfa y HIF-2alfa no aparece alterada en este tejido por la inducción de la diabetes¹¹ lo que podría explicar que la movilización y reclutamiento de CPE no sean adecuados.

Las ratas BBZDR/Wor, un modelo de DM tipo 2 espontánea, desarrollan estados tardíos de retinopatía diabética pre-proliferativa, con aumento de la actividad de la NADH oxidasa, peróxido de hidrógeno y VEGF en la retina, aunque no alcanzan la fase proliferativa de la enfermedad. En un estudio realizado por Busik et al¹² en estas ratas, las CPE aparecieron reducidas en sangre periférica, con una disminución de la expresión de genes responsables de los ritmos circadianos (regulados por el Sistema Nervioso Central) tanto en médula ósea y sangre como en la propia retina. Estos resultados apuntan a que la neuropatía diabética podría alterar la función de la médula ósea en la diabetes.

Factores implicados en las alteraciones de las células progenitoras del endotelio

Las alteraciones de las CPE, tanto en pacientes diabéticos como en modelos animales de DM, están relacionadas con la

hiperglucemia, la presencia de productos avanzados finales de la glucosilación de factores de crecimiento circulantes, el estrés oxidativo y las condiciones pro-inflamatorias que acontecen en esta enfermedad¹³.

El control de la glucemia en pacientes con DM normaliza el número de CPE circulantes¹⁴. En ratas diabéticas también se ha observado que el control de la glucosa en sangre con insulina permite una recuperación parcial de la movilización de CPE⁷.

En relación con el estrés oxidativo, las células de la médula ósea de diabéticos poseen defectos de la actividad de la enzima eNOS, y la aportación de NO exógeno corrige la alteración de su capacidad migratoria *in vitro*¹⁵. En la diabetes experimental, esta enzima aparece «desacoplada», con producción de radicales superóxido en lugar de óxido nítrico^{5,16}. Se ha demostrado que el aumento de la actividad antioxidante recupera parcialmente la activación de eNOS y el reclutamiento de las CPE¹⁶.

Terapia celular autóloga en las complicaciones vasculares de la DM

Actualmente existen evidencias de que la terapia celular basada en el trasplante de células mononucleares procedentes de médula ósea o de sangre periférica puede prevenir las complicaciones vasculares así como incrementar la neovascularización y perfusión en isquemia crónica¹³.

El trasplante autólogo de CPE podría aplicarse para la revascularización de la retina isquémica en la DM y otras patologías oculares. Sin embargo, estudios experimentales han demostrado que las células circulantes CD34⁺ obtenidas de pacientes diabéticos e inyectadas en el vítreo de animales diabéticos y otros modelos de retinopatía no tienen la misma capacidad para incorporarse a los vasos retinianos dañados que las células de sujetos sanos¹⁷.

El trasplante autólogo de CPE modificadas podría abrir la puerta a la terapia celular en el tratamiento de la RDP. La funcionalidad alterada de las CPE de pacientes diabéticos podría recuperarse por diversos métodos¹³:

1. Modificación genética de CPE *ex vivo* para incrementar su potencial angiogénico o prolongar su supervivencia.
2. Tratamiento *ex vivo* de células de la médula ósea con pequeñas moléculas (estimuladores de la síntesis de eNOS, IGF-1, PPAR-gamma) para reducir el estrés oxidativo y aumentar la disponibilidad de óxido nítrico.
3. Manipulación *in vivo* de CPE (tratamiento con hormona de crecimiento o AMD3100, un antagonista de CXCR4) para aumentar la movilización.
4. Manipulación del ambiente diabético receptor de las CPE (tratamiento con antioxidantes, insulina, estatinas, glitazonas) para favorecer su correcta migración.

BIBLIOGRAFÍA

1. Asahara T, Murohara T, Sullivan A, Silver M, van der Zee R, Li T, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science*. 1997;275(5302):964-7.
2. Brooks HL, Caballero S, Newell CK, Steinmetz RL, Watson D, Segal MS, et al. Vitreous levels of vascular endothelial

- growth factor and stromal-derived factor 1 in patients with diabetic retinopathy and cystoid macular edema before and after intraocular injection of triamcinolone. *Arch Ophthalmol*. 2004;122(12):1801-7.
3. Fadini GP, Maruyama S, Ozaki T, Taguchi A, Meigs J, Dimmeler S, et al. Circulating progenitor cell count for cardiovascular risk stratification: a pooled analysis. *PLoS ONE*. 2010;7(5(7)):e11488.
 4. Tepper OM, Galiano RD, Capla JM, Kalka C, Gagne PJ, Jacobowitz GR, et al. Human endothelial progenitor cells from type II diabetics exhibit impaired proliferation, adhesion, and incorporation into vascular structures. *Circulation*. 2002;106(22):2781-6.
 5. Thum T, Fraccarollo D, Schultheiss M, Froese S, Galuppo P, Widder JD, et al. Endothelial nitric oxide synthase uncoupling impairs endothelial progenitor cell mobilization and function in diabetes. *Diabetes*. 2007;56(3):666-74.
 6. Ohshima M, Li T, Kubo M, Qin S, Hamano K. Antioxidant Therapy Attenuates Diabetes-Related Impairment of Bone Marrow Stem Cells. *Circ J*. 2009;73(1):162-6.
 7. Fadini GP, Sartore S, Schiavon M, Albiero M, Baesso I, Cabrelle A, et al. Diabetes impairs progenitor cell mobilisation after hindlimb ischaemia-reperfusion injury in rats. *Diabetologia*. 2006 10;49(12):3075-84.
 8. Brunner S, Schernthaner G, Satler M, Elhenicky M, Hoellerl F, Schmid-Kubista KE, et al. Correlation of different circulating endothelial progenitor cells to stages of diabetic retinopathy: first in vivo data. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2009;50(1):392-8.
 9. Tan K, Lessieur E, Cutler A, Nerone P, Vasanji A, Asosingh K, et al. Impaired function of circulating CD34(+) CD45(-) cells in patients with proliferative diabetic retinopathy. *Exp Eye Res*. 2010;91(2):229-37.
 10. Fadini GP, Sartore S, Baesso I, Lenzi M, Agostini C, Tiengo A, et al. Endothelial progenitor cells and the diabetic paradox. *Diabetes Care*. 2006;29(3):714-6.
 11. Wright WS, McElhatten RM, Messina JE, Harris NR. Hypoxia and the expression of HIF-1alpha and HIF-2alpha in the retina of streptozotocin-injected mice and rats. *Exp Eye Res*. 2010;90(3):405-12.
 12. Busik JV, Tikhonenko M, Bhatwadekar A, Opreanu M, Yakubova N, Caballero S, et al. Diabetic retinopathy is associated with bone marrow neuropathy and a depressed peripheral clock. *J Exp Med*. 2009;206(13):2897-906.
 13. Jarajapu YP, Grant MB. The promise of cell-based therapies for diabetic complications: challenges and solutions. *Circ Res*. 2010;106(5):854-69.
 14. Kusuyama T, Omura T, Nishiya D, Enomoto S, Matsumoto R, Takeuchi K, et al. Effects of treatment for diabetes mellitus on circulating vascular progenitor cells. *J Pharmacol Sci*. 2006;102(1):96-102.
 15. Segal MS, Shah R, Afzal A, Perrault CM, Chang K, Schuler A, et al. Nitric oxide cytoskeletal-induced alterations reverse the endothelial progenitor cell migratory defect associated with diabetes. *Diabetes*. 2006;55(1):102-9.
 16. Sambucetti G, Morbelli S, Vanella L, Kusmic C, Marini C, Massollo M, et al. Diabetes impairs the vascular recruitment of normal stem cells by oxidant damage, reversed by increases in pAMPK heme oxygenase-1, and adiponectin. *stem cells*. 2009;27(2):399-407.
 17. Caballero S, Sengupta N, Afzal A, Chang K, Li Calzi S, Guberski DL, et al. Ischemic vascular damage can be repaired by healthy, but not diabetic, endothelial progenitor cells. *Diabetes*. 2007;56(4):960-7.