

DETECCIÓN DE CÉLULAS PROGENITORAS ENDOTELIALES CIRCULANTES POR CITOMETRIA DE FLUJO

R. García-Delgado, J. Eserverri, S. García-Segovia^b, J. Gonzalez, I. Caparros, A. Rosell, S. del Castillo, M.P. Queipo, A. Campos, R. García-Sánchez y G. Ramírez

Servicio de Hematología y Hemoterapia. ^bServicio de Bioquímica. Hospital Clínico Virgen de la Victoria. Málaga.

Recientes estudios proporcionan evidencias de que la neovascularización postnatal implica células progenitoras endoteliales circulantes (EPCs). Las EPCs son eventos raros en la sangre periférica normal, representando del 0,01% al 0,0001% de las células mononucleares. Diferentes marcadores de superficie han sido usados para detectar estas células y todavía no se ha llegado a un consenso sobre el inmunofenotipo ni se ha estandarizado el método de detección.

Objetivo: Evaluar un método de detección de EPCs en sangre periférica (SP) por citometría de flujo.

Material y métodos: Se extrajo S.P. de 26 sujetos (17 hombres y 9 mujeres entre los 55 y 74 años de edad) que acudieron al hospital para una analítica de un preoperatorio no oncológico y sin antecedentes de cardiopatía previa para evitar factores de confusión. Se congeló plasma para la determinación de citocinas circulantes y en 24 horas las células mononucleadas se separaron mediante lisis con cloruro de amonio y se incubaron con los siguientes anticuerpos CD34/CD45/CD133/KDR. Se realizó una adquisición secuencial usando una "live gate" en 34 para conseguir un número suficiente de eventos y se analizaron las poblaciones de CD34, EPCs en la gate de linfocitos y EPCs en la live gate de 34. Se usaron controles isotópicos para cada muestra. Se consideraron EPCs las células CD34, CD45, CD133 y KDR positivas.

Resultados: Fueron analizables 24 muestras. La media de CD34 fue de $2,84 \pm 1,40$ cs/#mL y de EPCs $0,028 \pm 0,027$ cs/#mL. Teniendo en cuenta la desviación estándar se observó que los valores se distribuían en dos grupos que se estudiaron independientemente, un primer grupo con una media de EPCs $0,014 \pm 0,007$ cs/#mL y un segundo constituido por los pacientes que iban a ser intervenidos de prótesis de rodilla (probablemente con un componente inflamatorio) con una media de EPCs de $0,043 \pm 0,02$ cs/#mL. También observamos un valor extremo de 0,124 cs/#mL que correspondía a un paciente cardiópata con múltiples eventos vasculares que no los había referido en la anamnesis. En las EPCs analizadas en la "live gate" de 34 se observó la misma distribución con unas EPCs totales de $9,11 \pm 5,029\%$, en los pacientes de prótesis de rodilla $14,58 \pm 1,95\%$, en el cardiópata $20,74\%$ y en el resto $6,33 \pm 2,57\%$. No encontramos diferencias en cuanto al género, la hipercolesterolemia, la diabetes o el ser fumador aunque el tamaño muestral hace que los análisis no tenga suficiente potencia estadística.

Conclusión: La citometría de flujo parece ser un buen método de detección de EPCs. La aplicación de técnicas de citometría con mayor sensibilidad utilizadas para estudio de poblaciones menores de 0,05% podrían utilizarse en el campo de la medicina regenerativa. Múltiples factores influyen en la concentración de las EPCs como la inflamación o los eventos cardiovasculares aunque hacen falta estudios más amplios para confirmarlo. Las cifras observadas en nuestra serie coinciden con lo descrito en la literatura.