

## Endoteliální progenitorové buňky u pacientů na mimotělních očišťovacích metodách

Krieter DH, Fischer R, Merget K, Lemke HD, Morgenroth A, Canaud B, Wanner C. Endothelial progenitor cells in patients on extracorporeal maintenance dialysis therapy. *Nephrol Dial Transplant* 2010;25:4023–4031.

**C**hronická renální insuficience je spojena ze zvýšeným výskytem kardiovaskulárních onemocnění. Jednou z vyvolávajících příčin může být i nízký počet periferních endoteliálních progenitorových buněk (EPC), které navíc mohou mít porušenou funkci. Hypotézou studie je předpoklad, že úprava zvýšeného množství uremických toxinů u nemocných se selháním ledvin v pravidelné dialyzační léčbě bude spojena s úpravou počtu a funkce EPC.

V prospektivní randomizované zkřížené (cross-over) studii bylo sledováno 18 nemocných v dlouhodobém dialyzačním léčeni (průměrný věk  $60 \pm 14$  let, dialyzovaní třikrát týdně 4 h, min. 3 měsíce v dialyzačním programu, se stabilním krevním obrazem a hodnotou Ht při léčbě EPO a substitucí železem nad 30 %, s dobrým cévním přístupem a odpovídajícími hodnotami Kt/V, bez známek zánětlivého či nádorového onemocnění). Vylučovacími kritérii byly těhotenství, kardiovaskulární instabilita, životní prognóza kratší než 12 měsíců a koagulační problémy. Pokud jde o základní onemocnění, pět nemocných mělo hypertenzní nefropatii, tři diabetickou nefropatii, tři polycystickou chorobu ledvin, dva glomerulonefritidu, dva tubulointerstickální nefritidu, dva byli po bilaterální nefrektomii a jeden po akutním selhání ledvin. Průměrné trvání dialyzační léčby činilo  $456 \pm 29$  měsíců (11–114 měs.), BMI činilo v průměru  $27,8 \pm 4,3$ . V souboru bylo 17 hypertoniků, 12 mělo kardiovaskulární či periferní cévní onemocnění, šest bylo diabetiků a pět nemocných mělo hypercholesterolemii. Průměrná denní diuréza činila  $539 \pm 719$  ml včetně šesti nemocných zcela anurických. Všichni nemocní dostávali EPO subkutánně v průměrné týdenní dávce  $4\,500 \pm 3\,400$  U. Kardiovaskulární medikace zahrnovala diuretika, inhibitory ACE, beta-blokátory, blokátory receptorů  $AT_1$  pro angiotensin II, blokátory kalciového kanálu a statiny.

Počínaje druhou dialýzou v týdnu byli nemocní randomizovaně rozděleni do tří skupin, v nichž byli vždy po čtyřech týdnech na různé modalitě dialyzační léčby: čtyři týdny low-flux HD, čtyři týdny high-flux HD a čtyři týdny hemodiafiltrace. Na začátku a na konci každé čtyřtýdenní periody byly stanoveny EPC. Kontrolní skupinu tvořilo 16 zdravých dobrovolníků odpovídajícího věku.

Endoteliální progenitorové buňky byly stanoveny v periferní krvi průtokovou cytometrií jako CD34, CD45, VEGFR2-KDR. Dialyzovaní měli bazálně nižší počet EPC ve srovnání se zdravými kontrolami ( $p < 0,001$ ) a také redukovanou frakční vitalitu ( $p < 0,05$ ), zatímco tvorba endoteliálních buněčných kolonií byla lehce zvýšena ( $p < 0,05$ ). Odstranění středně molekulárních toxinů však nemělo ani v jedné dialyzační modifikaci významný vliv na počet EPC či jejich funkci. Nebyly zjištěny žádné meziskupinové či intraindividuální rozdíly během léčby. Počet stanovených EPC (CD34+/VEGFR2-KDR+/CD45-ECFC) se u pacientů ani u kontrol nezměnil. V souboru dialyzovaných byla zjištěna pozitivní korelace s CRP.

Počet endoteliálních progenitorových buněk v periferní krvi se používá jako biologický marker pro posouzení funkce cévní stěny, integrity jejího endotelu a kumulativního kardiovaskulárního rizika. U pacientů s ischemickou chorobou srdeční predikuje nízký počet EPC výskyt kardiovaskulárních komplikací a úmrtí.

Kardiovaskulární onemocnění jsou velmi častá u nemocných v chronickém dialyzačním programu a představují nejčastější příčinu úmrtí v této populaci. Proto nález sníženého počtu cirkulujících buněk CD34+ může být významně spojen s kardiovaskulárním rizikem, a tedy i mortalitou u chronických dialyzovaných nemocných.

Uremické toxiny inhibují *in vitro* diferenciaci a funkční aktivity EPC a ve srovnání s běžnou populací mají nemocní se selháním ledvin snížený počet a funkci cirkulujících EPC. Tyto abnormality zesilují s pokročilostí chronického onemocnění ledvin. Naopak zahájení pravidelné dialyzační léčby s úpravou metabolických poruch bývá spojeno se zvýšením počtu EPC. Nabízí se otázka, zda kvalita dialyzační léčby může EPC významně ovlivnit, a to jak ve vztahu k počtu, tak k jejich funkci. Rozdíl by mohl být zjištěn mezi dialýzami užívajícími nízkopropustné dialyzátory (low-flux), vysokopropustné dialyzátory (high-flux)

a hemodiafiltraci (online postdiluční). Tyto metodiky různou měrou odstraňují především středně molekulární látky, a tím také mohou ovlivnit EPC.

Ze závěru komentované studie však vyplývá, že ani jedna z uvedených modifikací léčby výrazně neovlivnila počty a funkci EPC buněk, a to jak meziskupinově, tak ve srovnání všech nemocných se zdravými dobrovolníky.

## ■ KOMENTÁŘ

**Prof. MUDr. Vladimír Teplan, DrSc.**

*Je nepochybné, že chronické onemocnění ledvin je spojeno s významně zvýšeným rizikem kardiovaskulární morbidity a mortality. Je výsledkem i dalších přídatných faktorů, jako je hypertenze, retence tekutin, postižení cév zánětlivým procesem a srdečním selháním. Současně však může významnou roli hrát i zvýšený oxidační stres a dysfunkce endoteliálních progenitorových buněk. Koncept významné role EPC jakožto buněk derivovaných z kostní dřeni s potenciálem reparace poškozeného endotelu poprvé přednesl Asahara v roce 1999. V řadě studií byly prokázány rozdílné počty i funkce EPC v souvislosti s různými formami projevu endoteliální dysfunkce. Přesný mechanismus, jímž tyto buňky mohou ovlivnit integritu endotelu, však dosud plně objasněn není. V modelových studiích se předpokládá, že ischemie (více akutní, méně chronická) aktivují řadu interferujících faktorů (růstové faktory, enzymy, ligandy a povrchové markery), které ovlivňují aktivitu atrakce EPC z kostní dřeni a jejich strukturální modifikaci. Z tohoto hlediska se uvádí především aktivace na ischemii dependentních proangiogenních cytokinů, jako je SDF-1 (stroma cell-derived faktor-1) nebo VEGF (vaskulární endoteliální růstový faktor). Dalšími jsou placentární růstový faktor, G-CSF a GM-CSF. Přímo v kostní dřeni se pak významně účastní metaloproteáza-9. Pro její aktivaci je zřejmě klíčový účinek NO při aktivitě eNOS. Endoteliální progenitorové buňky se mohou významně podílet na integritě endotelu cév. Podle původní představy se mohou diferencovat do podoby endoteliálních buněk, a tím zacelit defekt v endotelu. Nověji se předpokládá, že jsou integrovány do endoteliálních buněk mechanismem „cell-cell fusion“. Je však možné, že se uplatňují oba mechanismy. EPC jsou mobilizovány a aktivovány z kostní dřeni do periferní cirkulace. Tento proces je regulován řadou růstových faktorů, enzymů, ligandů a receptorů buněčných povrchů, jakož i přímým účinkem zvýšeného průtoku krve v kostní dřeni.*

*Je zřejmé, že významnou roli může hrát též koncentrace asymetrického dimethylargininu, který je u nemocných s poškozením ledvin také významně zvýšen. V komentované studii, která je přínosná svojí metodikou (prospektivní, randomizovaná, cross over studie), autoři hledali odpověď na otázku, zda forma dialyzační léčby může ovlivnit počet a funkci EPC u dialyzovaných nemocných. Nebyl prokázán pozitivní efekt, a to ani u hemodiafiltrační metody. Otázkou zůstává, zda lze teoreticky předpokládat, že po čtyřech týdnech může dojít k významné změně EPC u dlouhodobě dialyzovaných nemocných. Navíc každý nemocný byl sice sám sobě kontrolou, ale jednotlivé metodiky následovaly bezprostředně za sebou, což při malém počtu nemocných (18 pacientů) mohlo vést k nestejněměrnému ovlivnění, a tedy následné statistické nevýznamnosti. Je zřejmé, že velmi významnou negativní roli může hrát délka dialyzační léčby. Naproti tomu pozitivní vliv může mít úprava krevního obrazu, dobrá nutrice a také – jak ukazují některé studie – tělesné cvičení. Režimová opatření tedy mohou významně ovlivnit prognózu nemocných, aniž se mění taktika dialyzační léčby.*

## Literatura

- Asahara T, Murohara T, Sullivan A, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science* 1997;275:964–967.
- Hull JM, Zalos G, Halcox JP, et al. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function and cardiovascular risk. *N Engl J Med* 2003;348:593–600.
- Krenning G, Dangers PY, Drouven JW, et al. Endothelial progenitor cell dysfunction in patient with progressive chronic kidney disease. *Am J Physiol Renal Physiol* 2009;296:F1314–F1322.