



EDITORIALES

El factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF). Su papel en la fisiopatología peritoneal

R. Selgas*, G. del Peso, M. A. Bajo**, A. Cirugeda*, J. A. Sánchez-Tomero* y V. Álvarez**

«Grupo de Estudios Peritoneales de Madrid». Instituto Reina Sofía de Investigaciones Nefrológicas de la Fundación Renal Íñigo Álvarez de Toledo. *Hospital Universitario de La Princesa. **Hospital Universitario La Paz.

Algunos pacientes en diálisis peritoneal (DP) crónica desarrollan a largo plazo un fracaso de la capacidad de ultrafiltración peritoneal¹, que está causado por la proliferación de capilares peritoneales y cambios esclerosantes en el peritoneo². La neoformación vascular al nivel del peritoneo ha sido relacionada con la presencia del factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) tanto en efluente³ como en tejido peritoneal⁴, a consecuencia de la propia DP. El VEGF es una citoquina, cuyo gen está situado en el brazo corto del cromosoma 6, sintetizada por diferentes tipos de células, entre otras células endoteliales y macrófagos⁵. Su acción es ejercida a través de su unión a receptores tipo tirosin-kinasa, siendo la célula endotelial su principal célula diana. Está considerado como uno de los más potentes reguladores de la angiogénesis, tanto normal como patológica, así como un inductor de permeabilidad vascular. El origen del VEGF aislado de efluente peritoneal (EP) puede ser el propio peritoneo, pues los altos niveles de VEGF encontrados en efluente respecto al plasma sugieren una producción local. Además, nuestros estudios han demostrado la capacidad de producción *ex vivo* de VEGF por células mesoteliales peritoneales cultivadas de pacientes en DP⁶.

Esta editorial pretende resaltar la importancia de esta molécula en la génesis de los cambios anatómofuncionales del peritoneo en DP a largo plazo. Su exacta definición permitirá el planteamiento de alternativas terapéuticas eficaces basadas en sus mecanismos de acción y receptores en el ámbito peritoneal.

NIVELES DE VEGF EN EFLUENTE PERITONEAL Y PERITONEO

Los hallazgos de dos laboratorios diferentes^{3,7} han confirmado la presencia de VEGF en efluente peritoneal. Recientes estudios^{4,8} han demostrado además la presencia de este factor en el tejido peritoneal de pacientes con largas estancias en DP, co-localizado con productos de glicosilación avanzada, tanto en el mesotelio como en el endotelio. Estos datos son demostrativos de su fuerte presencia en este entorno, aunque no es fácil establecer una relación causa-efecto con los trastornos de función peritoneal a largo plazo.

Los altos niveles de VEGF encontrados en efluente han sido relacionados con un aumento de la permeabilidad peritoneal a pequeñas moléculas³. Para confirmar estos hallazgos, nuestro grupo estudió mediante enzoinmunoensayo (ELISA) los niveles de VEGF en efluente de pacientes activos en DP⁷. Los niveles fueron determinados en plasma y EP concentrado tras 8 ó 15 h de permanencia. Los niveles medios de VEGF en EP fueron $58,6 \pm 33,7$ pg/ml, con una D/P ratio de $0,45 \pm 0,29$ (rango 0,06-0,93). Los niveles de VEGF en EP, y consecuentemente sus ratios, dependieron del tiempo de permanencia peritoneal, ya que fueron mayores en efluentes de 15 h que de 8 h. Los niveles de VEGF en EP y la D/P ratio no fueron diferentes de forma significativa en pacientes bajos transportadores ($n = 7$) o pacientes con alto o medio-alto promedio ($n = 5$) ($0,48 \pm 0,3$ vs $0,41 \pm 0,1$, respectivamente, NS). El análisis de regresión lineal mostró correlación directa de los niveles de VEGF en EP con los tiempos de permanencia ($r: 0,57$, $p = 0,03$) y con las proteínas en el EP ($r: 0,57$, $p = 0,03$). Los niveles de VEGF en EP no se correlacionaron con las otras variables estudiadas. La D/P ratio de VEGF no mostró correlación

Correspondencia: Dr. Rafael Selgas
Servicio de Nefrología
Hospital de La Princesa
C/ Diego de León, 62
28006 Madrid

con ninguna de las variables independientes incluidas en el estudio: edad, tiempo en DP, días de peritonitis, MTCs de urea y creatinina, capacidad de ultrafiltración, o dosis de glucosa acumulada.

Las diferencias de nuestro estudio y el de Zweers³ son atribuibles al uso de distintas metodologías y a interpretaciones alternativas. En primer lugar, debemos señalar que ambos grupos detectamos muy bajas cantidades de VEGF en efluente, precisándose en ambos casos la concentración del mismo para entrar en rango de detección del método utilizado. Esto supone una limitación intrínseca adicional para cualquier interpretación de dichos niveles, que inevitablemente dependerían de la capacidad de ultrafiltración (UF). El estudio de Zweers sugiere la producción local del VEGF en función de una extrapolación basada en su peso molecular, en relación con el transporte peritoneal de otras proteínas de similar tamaño. Nuestra impresión es que esta aproximación simplifica demasiado un proceso que nos parece más complejo. Como prueba de ello está la relación inversa que observan entre los niveles de VEGF y la UF: mayores cantidades de VEGF suponen más neovascularización y por ello menor mantenimiento de gradiente y menor UF. Nuestra interpretación en este caso es más sencilla. Si la capacidad de UF es menor, se transfiere menos agua en el mismo período de tiempo y se concentra más cualquier agente presente en el efluente, entre otros el VEGF. Este fenómeno fue descrito por nuestro grupo hace tiempo para otros factores mitogénicos presentes en efluente⁹. Otro hallazgo del estudio de Zweers que nos genera dudas es la relación que encuentran entre los niveles del VEGF en EP y la transferencia de creatinina, pero no con la urea. Ambas moléculas, próximas en tamaño molecular y por tanto en grado de transporte, deberían seguir caminos paralelos en su relación con el VEGF. El hecho de que no lo hagan refuerza la idea de su relación con la UF, que está mucho más fuertemente asociada al transporte de la creatinina que al de urea. Esto apoya la idea de que sea la UF el verdadero determinante del nivel de VEGF en efluente, a través de un mecanismo de concentración-dilución.

Datos procedentes del estudio de la neoangiogénesis presente en la retinopatía diabética, modelo en el que se basó el estudio del VEGF al nivel del peritoneo, son sugestivos de un sistema más complejo, formado tanto por factores angiogénicos (VEGF) como anti-angiogénicos¹⁰. Creemos que un sistema similar pudiera estar también actuando en el peritoneo. El hallazgo de la producción *ex vivo* de VEGF por las células mesoteliales de pacientes en DP puede contribuir a desenmascarar este complejo sistema.

PRODUCCIÓN DEL FACTOR DE CRECIMIENTO ENDOTELIAL VASCULAR (VEGF) POR CÉLULAS MESOTELIALES HUMANAS PERITONEALES CULTIVADAS *EX VIVO*

La producción de VEGF por células mesoteliales fue demostrada por su presencia en el sobrenadante de células crecidas en cultivo, procedentes de 21 pacientes estables en DP⁶. El VEGF fue detectado en el sobrenadante de todos los cultivos, con valores siempre dentro del rango de detección del método empleado (ELISA): 548 ± 518 pg/ml (rango 59-1.747). Debido al amplio rango de valores obtenido se diseñó una distribución por cuartiles para el análisis de datos. El conteo de células mesoteliales en el día 13^o de la siembra, día de máximo crecimiento celular¹¹, en los dos cuartiles extremos no mostró diferencias significativas, y no se relacionó significativamente con los niveles de VEGF en sobrenadante ($r: -0.33$, $p = 0,13$). La ausencia de relación encontrada entre la capacidad de producción y la morfología de las células no apoya la idea de que cambios fenotípicos de las mismas estén regulados por este factor, o viceversa. Tampoco encontramos correlación entre los niveles de VEGF en sobrenadante y la edad, sexo, tiempo en DP, características de transporte de solutos, UF, proteínas en efluente o dosis acumulada de glucosa. Sin embargo, observamos una relación inversa entre la cantidad de VEGF encontrado en sobrenadante y el número de células mesoteliales en cultivo, lo que sugiere que este factor pueda ser un regulador de su proliferación. Posteriormente hemos confirmado que las células mesoteliales peritoneales de cualquier origen, como las del epiplón sano, son también productoras de VEGF (datos no publicados).

Recientemente, un estudio en ratas ha confirmado la capacidad de las células mesoteliales para producir VEGF tras ser estimuladas con productos de degradación de la glucosa⁸. No hay que olvidar que las soluciones de glucosa que utilizaban nuestros pacientes contienen estos productos. Por ello, nuevas investigaciones deben ir dirigidas a la evaluación de los factores que regulan la producción de VEGF.

En conclusión, nuestros estudios confirman la presencia de VEGF en efluente peritoneal fresco, en niveles que sugieren tanto transporte desde el plasma como producción local. Los niveles de VEGF encontrados no se correlacionan con los parámetros de función peritoneal ni con los antecedentes peritoneales. Creemos que su papel en la fisiopatología de la neoangiogénesis peritoneal debe estar integrado en un complejo sistema, en el que participarían otros múltiples factores. Hemos demostrado la capacidad de las células mesoteliales peritoneales cultivadas *ex vivo* para producir VEGF. Este dato podría implicar a estas células en el

proceso de neoangiogénesis local detectado en pacientes con fracaso de UF tipo 1, y explicaría los elevados niveles de VEGF encontrados en efluente peritoneal de algunos pacientes. Queda por establecer el nexo completo de unión entre todos estos elementos.

Futuro inmediato: Las nuevas investigaciones deberán ir, encaminadas a abordar el conocimiento de este complejo sistema. Éstas deben incluir el estudio de los receptores de VEGF en el tejido peritoneal y sus mecanismos de regulación intracelular, así como su papel patogénico en la regeneración mesotelial.

Igualmente, se deberá determinar el papel de las nuevas soluciones para diálisis peritoneal, carentes de productos de degradación de la glucosa, en la regulación de este sistema y sus posibles efectos sobre la fisiopatología peritoneal.

BIBLIOGRAFÍA

1. Selgas R, Fernández-Reyes MJ, Bosque E, Bajo MA, Borrego F, Jiménez C, Del Peso G, De Álvaro F: Functional longevity of the human peritoneum: how long is continuous peritoneal dialysis possible? Results of a prospective medium long-term study. *Am J Kidney Dis* 23: 64-73, 1994.
2. Mateijsen MAM, Van der Wal A, Hendriks PMEM, Zweers MM, Mulder J, Struijk DG, Krediet RT: Vascular and Interstitial changes in the peritoneum of CAPD patients with peritoneal sclerosis. *Perit Dial Int* 19: 517-525, 1999.
3. Zweers MM, Waart DR, Smit W, Struijk DG, Krediet RT: Growth factors VIEW and TGF-beta1 in peritoneal dialysis. *J Lab Clin Med* 134: 124-132, 1999.
4. Combet S, Miyata T, Moulin P, Pouthier D, Goffin E, Devuyst O: Vascular proliferation and enhanced expression of endothelial Nitric Oxide synthase in human peritoneum exposed to long-term peritoneal dialysis. *J Am Soc Nephrol* 11: 717-728, 2000.
5. Ferrara N, Davis/Smyth: The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocrin Rev* 18: 3-22, 1997.
6. Selgas R, Del Peso G, Bajo MA, Castro MA, Molina S, Cirugeda A, Sánchez-Tomero JA, Castro MJ, Álvarez V, Corbi A, Vara F: Spontaneous VIEW production by cultured peritoneal mesothelial cells from patients on peritoneal dialysis (PD). *Perit Dial Int* 20: 798-800, 2000.
7. Selgas R, Del Peso G, Bajo MA, Molina S, Cirugeda A, Sánchez-Tomero JA, Castro MJ, Castro MA, Vara F: Vascular endothelial growth factor (VEGF) levels in effluent from peritoneal dialysis patients. *J Nephrol* 14: 270-274, 2001.
8. Inagi R, Miyata T, Yamamoto T y cols.: Glucose degradation product methylglyoxal enhances the production of vascular endothelial growth factor in peritoneal cells: role of the functional and morphological alteration of peritoneal membranes in peritoneal dialysis. *FEBS Lett* 463: 260-264, 1999.
9. Selgas R, López Rivas A, Miranda B, Muñoz J, Riñón C, Borrego F, Molina S, Sánchez Sicilia L: Characterization of the Mitogenic-induced capacity of peritoneal effluent on Human and Mice fibroblasts in culture. *Nephrol Dial Transplant* 6: 44-50, 1991.
10. Aiello LP, Avery RL, Arrigg PG, Keyt BA, Jampel HD, Shah ST, Pasquale LR, Thieme H, Iwamoto MA, Park JE: Vascular endothelial growth factor in ocular fluid of patients with diabetic retinopathy and other retinal disorders. *N Engl J Med* 331: 1480-1487, 1994.
11. Díaz C, Selgas R, Castro MA, Bajo MA, Fernández de Castro M, Molina S, Jiménez C, Ortiz A, Vara F: *Ex vivo* proliferation of mesothelial cells directly obtained from peritoneal effluent: its relationship with peritoneal antecedents and functional parameters. *Adv Per Dial* 14: 19-24, 1998.