



Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  http://cat.creativecommons.org/?page_id=184

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

TESI DOCTORAL

**DETERMINACIÓ DE CÈL·LULES PROGENITORES
ENDOTELIALS, MALALTIA RENAL CRÒNICA I
FACTORS DE RISC CARDIOVASCULAR**

Autora: Laura Cañas Solé

Directors de Tesi Doctoral:

Prof. Ramón Romero González

Dra. Beatriz E. Bayés Genís

PROGRAMA DE DOCTORAT EN MEDICINA

DEPARTAMENT DE MEDICINA

UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA

ANY 2016



Universitat Autònoma
de Barcelona

TESI DOCTORAL

**DETERMINACIÓ DE CÈL·LULES PROGENITORES
ENDOTELIALS, MALALTIA RENAL CRÒNICA I
FACTORS DE RISC CARDIOVASCULAR**

Autora: Laura Cañas Solé

Directors de Tesi Doctoral:

Prof. Ramón Romero González

Dra. Beatriz E. Bayés Genís

PROGRAMA DE DOCTORAT EN MEDICINA

DEPARTAMENT DE MEDICINA

UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA

ANY 2016

El Dr. Ramón Romero González, Professor Titular de Medicina de l'Universitat Autònoma de Barcelona.

La Dra. Beatriz E. Bayés Genís, Doctora en Medicina del Departament de Medicina de l'Universitat Autònoma de Barcelona.

Certifiquen:

Que aquesta tesi titulada: "Cèl·lules progenitores endotelials, malaltia renal crònica i factors de risc cardiovascular" que presenta la Laura Cañas Solé pel grau de Doctor per l'Universitat Autònoma de Barcelona, ha estat realitzada sota la nostra direcció.

Perquè així consti als efectes que corresponguin, firmem la present



Dr. Ramón Romero González



Dra. Beatriz E. Bayés Genís

Badalona, 11 de juliol de 2016

Als meus avis i pares pel seu amor incondicional, per tot el que m'han ensenyat en el camí de la vida. Gràcies a ells, senzillament sóc qui sóc.

A la meva germana, per ser el millor regal de la meva vida.

Al meu cunyat, per estimar a qui més estimo.

A les meves grans amigues, Meri i Isa, —~~Les~~ 3 Maries”, per estar sempre al meu costat.

AGRAÏMENTS

M'agradaria expressar el meu agraïment a totes les persones que han format part d'aquest treball d'investigació des del seu inici:

Al Prof. Ramón Romero González, Professor Titular de Nefrologia de la Universitat Autònoma de Barcelona i director d'aquesta tesi doctoral, per la seva ajuda i els seus valuosos consells.

A la Dra Beatriz E. Bayés Genís, Directora d'aquesta tesi doctoral, per tot el temps dedicat, els seus consells i per encoratjar-me i animar-me en tot moment.

Al Servei de Nefrologia de l'Hospital Germans Trias i Pujol, a qui dec els meus coneixements com a metge. Als meus companys, i especialment a la Dra. Troya, per ajudar-me sempre.

Al Dr. Lauzurica, perquè gràcies a ell he pogut endinsar-me en el meravellós món del trasplantament renal.

Al Dr. Bonal, per estar sempre animant-me en molts dels quilòmetres correguts els últims anys de la meva vida.

Al Marco, Cap de la Unitat de Citometria de Flux, per haver-me introduït en el coneixement de la tècnica de laboratori, i per estar sempre disposat a ensenyar i aconsellar. A l'Ester Viñets, gràcies a la seva dedicació i constància en tot el treball de laboratori.

A l'Anna Vázquez i Anna Espinal per tota la seva paciència i tot el seu suport estadístic.

A tots els voluntaris sans i pacients que de forma desinteressada han acceptat participar en aquest estudi.

ÍNDEX

1. ABREVIATURES	23
2. INTRODUCCIÓ	27
2.1. Malaltia cardiovascular en pacients amb malaltia renal crònica ..	29
2.1.1. Factors de risc cardiovascular clàssics	32
2.1.2. Factors de risc cardiovascular no tradicionals	36
2.1.3. Factors de risc propis de la urèmia	40
2.2. Endoteli vascular i disfunció endotelial	42
2.3. Cèl·lules progenitores endotelials	46
2.3.1. Caracterització de les cèl·lules progenitores endotelials. Marcadors de superfície	46
2.3.2. Factors que poden modificar el nombre de cèl·lules progenitores endotelials	49
2.4. Cèl·lules progenitores endotelials en adults sans	52
2.5. Cèl·lules progenitores endotelials i malaltia renal crònica	54
2.5.1. Cèl·lules progenitores endotelials i hemodiàlisi	57
2.5.2. Cèl·lules progenitores endotelials i trasplantament renal ...	60
2.6. Cèl·lules progenitores endotelials i malaltia cardiovascular en la malaltia renal crònica	63
3. HIPÒTESI	65

4. OBJECTIUS	69
4.1. Objectius principals	71
4.2. Objectius secundaris	71
5. PACIENTS I MÈTODES	73
5.1. Població a estudi	75
5.2. Definició de les variables antropomètriques i factors de risc cardiovascular clàssics	77
5.3. Metodologia per a l'obtenció de mostres per a laboratori	78
5.4. Determinació dels paràmetres d'hematimetria i bioquímica	79
5.5. Quantificació de les cèl·lules CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL mitjançant citometria de flux	81
5.5.1. Determinació i quantificació de les cèl·lules CD34 ⁺	81
5.5.2. Determinació i quantificació de les cèl·lules CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR2 ⁺	83
5.6. Consentiment informat	92
5.7. Anàlisi estadístic	92
5.7.1. Anàlisi descriptiu de les variables	92
5.7.2. Anàlisi bivariat	93
5.7.3. Anàlisi longitudinal	93

6. RESULTATS	95
6.1. Característiques basals de la població	97
6.1.1. Població control sana	97
6.1.1.1. Característiques antropomètriques	97
6.1.1.2. Quantificació de les cèl·lules CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR2 ⁺ /mL	97
6.1.1.3. Característiques analítiques	98
6.1.1.4. Mortalitat	99
6.1.2. Pacients amb malaltia renal crònica	99
6.1.2.1. Característiques antropomètriques	99
6.1.2.2. Etiologia de la malaltia renal crònica	100
6.1.2.3. Quantificació de les cèl·lules CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR2 ⁺ /mL	101
6.1.2.4. Característiques analítiques	101
6.1.2.5. Mortalitat	102
6.1.3. Pacients trasplantats	102
6.1.3.1. Característiques antropomètriques	103
6.1.3.2. Quantificació de les cèl·lules CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR2 ⁺ /mL en el moment basal	103
6.1.3.3. Característiques analítiques en el moment basal ..	104
6.1.3.4. Mortalitat	105
6.2. Cèl·lules CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL. Anàlisi dels factors que influeixen en la seva quantificació	105

6.2.1. Cèl·lules CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL en la població sana	105
6.2.1.1. Correlacions entre variables antropomètriques, bioquímiques i cèl·lules CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL	105
6.2.1.2. Estudi comparatiu del grup control sa en funció de la categorització de les cèl·lules CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL	107
6.2.2. Cèl·lules CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL en els pacients amb malaltia renal crònica	111
6.2.2.1. Correlacions entre variables antropomètriques, bioquímiques i cèl·lules CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL	111
6.2.2.2. Estudi comparatiu dels pacients amb malaltia renal crònica en funció de la categorització de les cèl·lules CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL	115
6.3. Característiques dels pacients amb malaltia renal crònica comparat amb el grup control	120
6.3.1. Diferències en la quantificació de cèl·lules CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL	120
6.3.2. Diferències antropomètriques	121
6.3.3. Diferències bioquímiques	122
6.4. Pacients amb malaltia renal crònica en hemodiàlisi. Diferències en funció de l'accés vascular	124
6.4.1. Quantificació de les cèl·lules CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL en funció de l'accés vascular	124
6.4.2. Quantificació de les cèl·lules CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL en funció de l'accés vascular en comparació als controls sans ..	126

6.4.3. Diferències antropomètriques dels pacients en hemodiàlisi en funció de l'accés vascular	127
6.4.4. Correlació entre el temps en hemodiàlisi i la quantificació de les cèl·lules CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL	129
6.4.5. Diferències bioquímiques dels pacients en hemodiàlisi en funció de l'accés vascular	129
6.4.6. Relació entre l'aparició d'un episodi cardiovascular i les cèl·lules CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL en els pacients en hemodiàlisi	133
6.4.7. Relació entre l'aparició d'un episodi cardiovascular i la mortalitat dels pacients en hemodiàlisi en relació a l'accés vascular	134
6.4.8. Relació entre cèl·lules CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL, accés vascular i la mortalitat	135
6.5. Pacients trasplantats renals	137
6.5.1. Evolució als 6 mesos i 12 mesos posttrasplantament renal	137
6.5.1.1. Quantificació de les cèl·lules CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL i evolució de la funció renal durant el primer any posttrasplantament renal	137
6.5.1.2. Evolució dels paràmetres antropomètrics als 6 mesos i 12 mesos posttrasplantament renal	140
6.5.1.3. Evolució dels paràmetres bioquímics als 6 mesos i 12 mesos posttrasplantament renal	141
6.5.2. Comparació dels pacients trasplantats renals respecte els pacients en hemodiàlisi	142

6.5.2.1. Quantificació de les cèl·lules CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL dels pacients trasplantats renals respecte els pacients en hemodiàlisi	142
6.5.2.2. Paràmetres antropomètrics dels pacients trasplantats renals respecte els pacients en hemodiàlisi ..	144
6.5.2.3. Anèmia, metabolisme de la glucosa i metabolisme del calci-fòsfor dels pacients trasplantats respecte els pacients en hemodiàlisi	145
6.5.2.4. Paràmetres nutricionals i metabolisme lipídic dels pacients trasplantats respecte els pacients en hemodiàlisi	146
6.5.2.5. Paràmetres inflamatoris i paràmetres de risc cardiovascular dels pacients trasplantats respecte els pacients en hemodiàlisi	147
6.5.3. Influència del rebuig agut i la infecció per citomegalovirus en el nombre de cèl·lules CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL	148
7. DISCUSSIÓ	149
8. LIMITACIONS DE L'ESTUDI	163
9. CONCLUSIONS	167
10. BIBLIOGRAFIA	171

11. ÍNDEX DE TAULES	205
12. ÍNDEX DE FIGURES	211

1. ABREVIATURES

ACC	Antagonistes dels canals del calci
ACV	Accident cerebrovascular
ARA-II	Antagonista dels receptors de l'angiotensina II
AV	Accés vascular
CE	Cèl·lules endotelials
CPE	Cèl·lules progenitores endotelials
DE	Disfunció endotelial
DL	Dislipèmia
DM	Diabetes mellitus
ECV	Episodi cardiovascular
EPO	Eritropoetina
FAVI	Fístula arteriovenosa interna
FRCV	Factors de risc cardiovascular
HD	Hemodiàlisi
HTA	Hipertensió arterial
HVE	Hipertròfia ventricular esquerra
IAM	Infart agut de miocardi
IECAS	Inhibidors de l'enzim convertidor de l'angiotensina
IMC	Índex de massa corporal
IS	Immunosupressor
MCV	Malaltia cardiovascular
MRC	Malaltia renal crònica
PAD	Pressió arterial diastòlica

PAS	Pressió arterial sistòlica
PCR	Proteïna C reactiva
POSTTR	Posttrasplantament renal
PTH	Hormona paratiroïdal
SRAA	Sistema renina-angiotensina-aldosterona
TR	Trasplantament renal
TRDV	Trasplantament renal de donant viu
TRS	Tractament renal substitutiu
VEGFR-2	Receptor 2 del factor de creixement endotelial vascular

2. INTRODUCCIÓ

La malaltia renal crònica (MRC) constitueix un problema de salut pública a nivell mundial, amb un increment progressiu del nombre de pacients subsidiaris a tractament renal substitutiu (TRS). Segons l'últim Registre de Malalts Renals de Catalunya, la incidència de la MRC l'any 2013 es va incrementar, amb un total de 145 casos per milió de població¹. La MRC afecta per tant, a un percentatge important de la població i està relacionada amb malalties d'elevada prevalença com l'envelliment, la hipertensió arterial (HTA), la diabetes mellitus (DM) o la malaltia cardiovascular (MCV)².

La manifestació més avançada de la MRC, la insuficiència renal crònica terminal, i la posterior necessitat de TRS de la funció renal mitjançant diàlisi o trasplantament renal (TR), presenten també una incidència i una prevalença creixents durant les últimes dècades.

2.1. Malaltia cardiovascular en pacients amb malaltia renal crònica

Els pacients amb MRC tenen des d'estadis inicials de la malaltia, una taxa de morbimortalitat de causa cardiovascular superior a la població general, podent arribar a multiplicar-se aquesta taxa per 1.000 en estadis avançats³.

La patologia cardiovascular representa per tant, la principal causa de mortalitat dels pacients amb MRC, essent la taxa de mortalitat cardiovascular en els pacients en hemodiàlisi (HD) entre 10 i 30 vegades superior a la de la població general⁴ i superior a la d'altres grups de pacients reconeguts com a pacients d'alt risc cardiovascular (per exemple, diabètics, hipertensos o amb història d'infart agut de miocardi previ)^{4,5}.

Tot i que el risc cardiovascular dels pacients trasplantats renals és inferior a la dels pacients en HD inclosos en llista d'espera de TR⁶, diversos estudis

observacionals han demostrat com aquest risc segueix sent superior al de la població general de similar edat i sexe^{7,8} ; de manera que la patologia cardiovascular, és també la principal causa de mortalitat en aquest grup de pacients⁹, representant més del 50% de la mortalitat⁸.

La major prevalença dels *factors de risc cardiovascular (FRCV) clàssics* en els pacients urèmics (DM, HTA, tabaquisme, hipercolesterolèmia, edat, etc) no expliquen totalment l'augment de la mortalitat cardiovascular en aquests pacients¹⁰; fins i tot, diferents estudis han demostrat que el *score* de Framingham infaestima el risc cardiovascular en els pacients amb MRC^{11,12}. Per aquest motiu, en múltiples estudis, es considera com la presència de *FRCV nous o no tradicionals* (hiperhomocisteïnèmia, microinflamació crònica, l'augment de l'estrès oxidatiu, la disfunció endotelial, etc.)¹³ o la presència de *factors de risc propis de la urèmia* (malnutrició, alteració del metabolisme del calci-fòsfor, la calcificació valvular, hipervolemia, anèmia, etc.), jugarien un paper important en el desenvolupament de l'aterosclerosi accelerada i arterioesclerosi que presenten aquests pacients; i per tant, en el desenvolupament de les complicacions cardiovasculars^{14,15,16} (Taula 1).

Taula 1. Factors de risc cardiovascular en la malaltia renal crònica.

Factors de risc cardiovascular en la malaltia renal crònica		
FR clàssics	FR no tradicionals	FR propis de la urèmia
Edat	Hiperhomocisteïnèmia	Metabolisme calci-fòsfor
Sexe masculí	<i>Lipoproteïna (a)</i>	Anèmia
Hipertensió arterial	Inflamació crònica	Hipervolemia
Diabetes mellitus	Malnutrició	Calcificació valvular
Tabaquisme	Estrés oxidatiu	Accés vascular
Hipercolesterolèmia	Disfunció endotelial	Líquid de diàlisi
Sedentarisme		Menopausa precoç
Obesitat		Immunosupressió
HVE		Disfunció crònica empelt
Cardiopatia prèvia		

FR (factor de risc); HVE (hipertrofia ventricle esquerra)

En els pacients en HD, l'accés vascular (AV) juga també un paper molt important en relació a la mortalitat, de manera que està descrit com, en una població de 4.802 pacients incidents en HD, l'ús de catèter com a AV per a realitzar HD s'associa de forma significativa a un augment de la mortalitat ja durant els 120 primers dies d'HD¹⁷.

Els pacients trasplantats renals tenen també uns factors de risc propis del TR que augmenten el seu risc cardiovascular: el tractament immunosupressor (IS), les infeccions víriques, la proteïnúria i la disfunció crònica de l'empelt¹⁸. Apart d'aquest factors, l'edat del receptor i la DM posttrasplantament renal (postTR) són considerats també factors de risc de cardiopatia isquèmica en el postTR.

El tractament IS amb anticalcineurínics (tacrolimus o ciclosporina) estimula el sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) i la producció d'endotelina-1, substàncies involucrades en el desenvolupament del dany endotelial, ateromatosis i malaltia isquèmica cardíaca¹⁹. La coexistència d'una ateromatosis

accelerada i el desenvolupament d'alteracions estructurals i funcionals cardíaques inherents al TR, poden justificar aquesta elevada morbi-mortalitat en el marc del tractament IS.

La malaltia isquèmica cardíaca segueix sent molt prevalent després del TR, situant-se al voltant del 10% als 3 anys del trasplantament, fet que incrementa en 2,7 vegades el risc de mort i de pèrdua de l'empelt renal, especialment després del primer any postTR²⁰. En un estudi publicat per Arias M.²¹ on analitzaven la prevalença de MCV en un grup de 532 trasplantats renals, la MCV estava present en un 27,6% dels casos, sobretot en forma de malaltia isquèmica del cor, apareixent com a mitjana als 3,5 anys postTR.

2.1.1. Factors de risc cardiovascular clàssics

a) Edat.

L'augment progressiu de l'edat és un factor important, no modificable, i relacionat amb l'augment del risc cardiovascular.

Actualment l'edat dels pacients que inicien HD, així com l'edat dels pacients que reben un TR ha anat augmentant progressivament. Això fa que molts d'aquests pacients ja tinguin patologia cardiovascular associada en el moment de rebre el TRS, fet que incrementa la taxa de mortalitat cardiovascular i el mal pronòstic d'aquests pacients, que ja tenen MCV prèvia.

b) Tabaquisme.

El tabaquisme és un FRCV reconegut en la població general i és un evident predictor d'aterosclerosi. La prevalença del tabaquisme en els pacients amb MRC és similar a la de la població general; tot i així cal tenir en compte però, que en la insuficiència renal, l'acúmul que es produeix de nicotina és més elevat²².

Dades dels USRDS Wave 2 Study²³ indiquen com el tabaquisme s'associa a major risc de desenvolupar insuficiència cardíaca *de novo*, infart agut de miocardi (IAM), vasculopatia perifèrica i s'associa també a major risc de mortalitat, en els pacients en HD. El tabaquisme s'ha descrit que afavoreix l'augment de la rigidesa arterial²⁴ i el desenvolupament d'hipertrofia ventricular esquerra (HVE)²⁵ en els pacients en HD.

La prevalença de fumadors després del TR és d'un 35-40% a la població europea²⁶. En estudis prospectius publicats a la literatura, el tabac és un factor de risc d'aparició d'episodis coronaris en els pacients trasplantats²⁷; i en estudis retrospectius, el tabaquisme s'associa a un major risc d'episodis cardiovasculars i mort²⁶; essent aquest risc dosi-depenent. També s'ha demostrat que el tabaquisme s'associa a una disminució de la supervivència i de pèrdua de l'empelt renal^{28,29}.

c) *Hipertensió arterial.*

La HTA és un factor de risc d'isquèmia miocàrdica, aterogènesi, calcificació coronària arterial i d'HVE³⁰.

En un estudi retrospectiu de 13.792 pacients de EE.UU. incidents en HD amb un període de seguiment mitjà de 569 dies, Tentori F et al.³¹ van poder observar com la presència d'uns valors de pressió arterial dins dels valors objectiu fixats en l'estudi (pressió arterial < 140/90mmHg), s'associaven a un increment de la mortalitat, independentment que els pacients tinguessin o no antecedents de DM. Cal tenir en compte que, donada la complexa fisiopatologia de la insuficiència renal crònica, és possible que els nivells objectiu de la pressió arterial dels pacients en HD puguin diferir de la població general.

La HTA és molt prevalent en el postTR, afectant entre un 50-90% dels pacients segons les sèries^{32,33}, i contribueix de forma independent a la pèrdua de l'empelt renal i a la morbi-mortalitat cardiovascular³⁴.

L'etiologia de la HTA en el postTR és multifactorial, però cal tenir en compte que els fàrmacs anticalcineurínics (ciclosporina i tacrolimus) i els esteroides hi juguen un paper molt important. Tot i que s'ha demostrat que un bon control de la pressió arterial ha aconseguit reduir la incidència d'accidents cerebrovasculars (ACV), el seu efecte sobre la malaltia cardíaca no és tan evident³².

d) *Dislipèmia*

En els pacients amb MRC estadi 5, l'alteració lipídica depèn de la modalitat de diàlisi; de manera que els pacients en HD presenten un colesterol total i un colesterol –LDL més baix i una hipertrigliceridèmia.

La dislipèmia (DL) és molt freqüent en el postTR, afectant a un 40-60% dels pacients trasplantats renals en els 3-6 primers mesos del trasplantament^{35,36} i és considerada un factor de risc de desenvolupament de MCV i pèrdua de l'empelt renal.

El patró dislipèmic característic en el postTR és: increment del colesterol total, increment dels triglicèrids, increment de la lipoproteïna de baixa densitat i un increment de l'apolipoproteïna B (apoB). La seva etiologia també és multifactorial, tot i que cal tenir en compte que el tractament IS juga un paper clau en la DL del pacient trasplantat³⁷.

e) *Diabetes Mellitus*

La DM és la causa més freqüent de MRC terminal, i s'associa a HTA, hipertrigliceridèmia, hipercolesterolèmia, HVE i hiperfibrinogenèmia. La MRC s'associa també, independentment de la diabetes, a resistència a la insulina i a intolerància a la glucosa³⁸. Tots aquests factors, junt amb la inflamació i l'estrès oxidatiu, afavoreixen la presència de dany endotelial a través de l'acúmul de productes finals de la glicosilació, i per tant, acceleren l'aterogènesi en els pacients amb nefropatia diabètica³⁹.

En un estudi prospectiu on es van incloure 131 pacients en HD que rebien un TR, Morales-Indiano C. et al.⁴⁰ van observar com els pacients que eren diabètics abans del TR, tenien un major estat inflamatori i un major estrès oxidatiu en el postTR, fet que probablement justificaria que aquests pacients, tinguessin una pitjor funció renal a l'any del TR, en comparació als pacients que no eren diabètics abans del trasplantament.

La DM i altres alteracions prediabètiques són freqüents en el postTR (afectant al voltant del 30% dels pacients)⁴¹, i tenen un impacte negatiu en relació a la supervivència tant de l'empelt renal com del pacient trasplantat.

Els pacients trasplantats tenen en general, un pitjor perfil metabòlic i vascular, el que condiciona un major risc de cardiopatia isquèmica, malaltia vascular cerebral i pèrdua de l'injert⁴². No existeixen clares evidències a la literatura que demostrin que la tècnica de diàlisi prèvia al TR sigui un factor de risc per a l'aparició de diabetes *de novo* postTR⁴³.

f) *Obesitat.*

Existeix una clara relació entre l'obesitat i la mortalitat global i cardiovascular en la població general sense MRC, però l'efecte de l'obesitat en els pacients amb MRC és incert⁴⁴.

L'obesitat és un FRCV i factor de risc renal modificable, que desencadena una cascada d'alteracions que inclouen: resistència a la insulina, intolerància a la glucosa, DL, aterosclerosi i HTA⁴⁵. També indueix inflamació, amb augment de citokines proinflamatòries i de l'estrès oxidatiu.

En els pacients en HD, la majoria d'estudis descriuen una relació inversa entre l'índex de massa corporal (IMC) i la mortalitat total o cardiovascular^{44,46}, tot i que existeix algun estudi que descriu una associació directa entre l'IMC i la mortalitat⁴⁷. Aquesta diferència amb la població general, podria ser deguda a que els pacients en HD tenen un major grau d'inflamació i malnutrició que la població general. Aquests dos factors, s'associen a un menor IMC i són uns potents predictors de mortalitat⁴⁸.

En els pacients trasplantats renals, l'obesitat s'associa a una major prevalença d'altres FRCV, sobretot DL⁴⁹ i DM⁵⁰. També s'associa a major mortalitat sobretot de causa cardiovascular i a una menor supervivència de l'empelt⁵¹, encara que en la literatura existeixen algunes discrepàncies en relació a aquest aspecte⁵².

2.1.2. Factors de risc cardiovascular no tradicionals

a) Inflamació.

De tots els reactants de fase aguda i marcadors d'inflamació vascular del plasma, la proteïna C reactiva (PCR) és el marcador de risc cardiovascular més utilitzat, gràcies a la seva reproductibilitat, baix cost i disponibilitat a la clínica. La PCR es produeix per part dels hepatocits, com a resposta a nivells elevats de IL-6, que s'eleva ràpidament després d'un estímul inflamatori.

La inflamació (definida com la presència de nivells elevats de PCR o citoquines inflamatòries) és un fenomen crític en la fisiopatologia de l'aterosclerosi⁵³. Les concentracions de PCR van ser identificades per primer cop per Ridker P. et al.⁵⁴, com un factor predictor independent de futurs episodis cardiovasculars (ECV) en homes sans. Posteriorment, estudis realitzats en més de 20 cohorts de poblacions diferents, han confirmat com nivells elevats de PCR són predictors independents d'IAM, ACV i mortalitat cardiovascular^{55,56}.

Els pacients amb MRC presenten un estat inflamatori que augmenta a mesura que evoluciona la malaltia renal⁵⁷, essent els pacients en HD els pacients que presenten un major estat inflamatori.

Diversos estudis han demostrat com la PCR és un predictor independent de risc de mortalitat en la població en HD, independentment d'altres factors, inclús en estudis amb un període de seguiment de fins a 4 anys^{58,59}.

Bayés B. et al.⁶⁰ van demostrar com en una cohort de 94 pacients en HD, l'estrès oxidatiu, mesurat a partir dels nivells d'anti-lipoproteïna oxidada

(oxLDL) eren el principal factor de mortalitat cardiovascular en pacients en HD crònica als 4 anys de seguiment. Al contrari d'altres estudis, el nivells de PCR eren un factor predictor de mortalitat global en els pacients en HD als 2 anys de seguiment, però no eren un paràmetre útil per predir la mortalitat cardiovascular als 4 anys de seguiment⁶¹.

Les principals causes descrites d'aquest estat inflamatori en els pacients amb MRC serien: la presència d'un aclariment renal disminuït de citoquines proinflamatòries, el propi estat urèmic, l'estrès oxidatiu, la presència d'altres comorbilitats, la malaltia renal de base o les infeccions persistents. En els pacients en HD la presència de cossos estranys (catèters, pròtesis de PTFE) també incrementen l'estat inflamatori. En els pacients trasplantats renals, la insuficiència renal, els empelts renals no funcionants o el rebuig de l'empelt renal també poden contribuir a incrementar el grau d'inflamació.

L'estat de microinflamació crònica present en la urèmia té, en el moment actual, un paper molt rellevant en l'aparició del dany endotelial dels pacients amb MRC. Existeixen múltiples treballs a la literatura on es descriu l'associació que existeix entre l'estat de microinflamació i l'aparició de disfunció endotelial (DE) des d'estadis inicials de la MRC; però tot i així, encara no està totalment clar quin és el mecanisme a través del qual l'estat de microinflamació dels pacients urèmics produeix dany endotelial. És l'aparició de dany i/o DE el primer pas pel posterior desenvolupament de l'aterosclerosi. Aquest fet podria ajudar a explicar en part, l'elevada taxa de MCV dels pacients amb MRC^{62,63,64}.

En els pacients trasplantats, s'ha demostrat com la inflamació s'ha associat a una pitjor funció renal, a un increment de la MCV i a la pèrdua de l'empelt renal a llarg termini. Entre d'altres factors, la inflamació pot determinar l'aparició de nefropatia crònica de l'empelt, diagnosticada per biòpsia renal⁶⁵.

En relació a les estratègies terapèutiques per tal de disminuir la inflamació i per tant, reduir el risc cardiovascular o la mortalitat en els pacients amb patologia renal, els inhibidors de l'enzim conversiu de l'angiotensina (IECAS) i els antagonistes dels receptors d'angiotensina II (ARA II) han demostrat tenir efectes antiinflamatoris i capacitat per a reduir les citoquines en els pacients amb insuficiència renal⁶⁶; i les estatines s'ha demostrat que disminueixen els

nivells de PCR en els pacients en HD, independentment dels seus efectes sobre els lípids⁶⁷.

b) *Malnutrició.*

La malnutrició en els pacients en HD té una prevalença al voltant del 18-75%⁶⁸. Entre els paràmeters bioquímics utilitzats, la prealbúmina (proteïna transportadora de tiroxina/proteïna lligada al retinol), al tenir una vida mitja més curta que l'albumina, és un indicador més precoç de desnutrició proteica, que es recupera ràpidament a l'inici de les teràpies de suplementació⁶⁹. Tant l'albumina com la prealbúmina es consideren bons biomarcadors de malnutrició i s'han relacionat amb la mortalitat en la població en HD⁷⁰. Estudis publicats a la literatura des de fa anys demostren com la hipoalbuminèmia és un potent factor de risc independent de mortalitat en els pacients en HD^{71,72,73}.

A l'Estudi DOPPS¹⁷, nivells baixos d'albumina (<3,5g/dl) es van associar de manera significativa a un augment de la mortalitat en una població de 4.802 pacients incidents en HD, durant els primers 120 dies de tractament.

En un estudi retrospectiu de 13.792 pacients de EE.UU. incidents en HD amb un període de seguiment mitjà de 569 dies³¹, es va poder observar com un increment dels nivells d'albumina superiors a 4g/dl s'associaven de forma significativa a una reducció de la mortalitat³¹.

Cal tenir en compte però, que els nivells d'albumina en sèrum poden estar influïts per factors no nutricionals, i que alhora aquests factors, poden afectar l'estat nutricional, com per exemple l'edat, la pèrdua de proteïnes a través de la diàlisi, la sobrecàrrega de líquids, la inflamació i/o la infecció⁷⁴.

En els últims anys ha crescut l'interès per la relació que existeix entre la diàlisi, la inflamació, la malnutrició i la baixa resposta a la eritropoetina (EPO). La presència d'alts nivells de marcadors inflamatoris i de paràmetres bioquímics de malnutrició en sang (albumina i prealbúmina baixos) s'associa amb baixa resposta a la EPO, i per tant, amb un pitjor control de l'anèmia en els pacients en HD⁷⁵.

c) *Homocisteïna.*

L'homocisteïna és un aminoàcid sulfurat derivat de la conversió de la metionina en cisteïna, essent necessàries la participació de la vitamina B₁₂ i àcid fòlic per la seva metabolització⁷⁶.

L'associació entre homocisteïna i MCV ha estat descrita varis estudis epidemiològics en la població general⁷⁷, de manera que, nivells moderadament elevats d'homocisteïna (> 15µmol/l) s'associen a malaltia oclusiva arterial i venosa, i a un increment de la mortalitat i dels ECV¹³ (donat que pot danyar la funció de la cèl·lula endotelial a través del dany oxidatiu)⁷⁸; essent aquesta relació dosi-depenent⁷⁹.

Els pacients amb patologia renal presenten hiperhomocisteïnèmia des de les fases inicials de la MRC. Tot i que els mecanismes a través dels quals es produeix l'hiperhomocisteïnèmia en els pacients amb MRC no es coneixen del tot (l'excreció renal d'homocisteïna és <1% de tota la seva eliminació), i no s'expliquen només per una reducció de l'eliminació renal, s'ha postulat que podria ser com a conseqüència d'un retard en l'eliminació i una alteració de la seva metabolització (per dèficit o alteració de la metabolització de vitamines B₆, folats i B₁₂)⁸⁰. Mentre que la prevalença de nivells elevats d'homocisteïna (nivells d'homocisteïna en plasma > 15µmol/L) en la població general és d'aproximadament el 5%, en els pacients en HD, arriba al 80-90%.

En pacients en HD, el paper de l'homocisteïna com a marcador de mal pronòstic és controvertit. Estudis prospectius han demostrat una associació positiva entre els nivells d'homocisteïna i ECV fatals i no fatals en els pacients en HD^{81,82}, encara que altres estudis han observat absència de relació^{60,83}, o inclús una relació negativa⁸⁴.

Suliman i cols.⁸⁵ van descriure en un estudi, on van incloure un total de 317 pacients en HD, una associació inversa entre nivells baixos d'homocisteïna i una major mortalitat. En l'estudi de supervivència sense ajustar, un nivell baix d'homocisteïna en plasma s'associava a totes les causes de mortalitat i mortalitat cardiovascular. Al ajustar pels diferents FRCV clàssics, persistia

aquesta relació inversa entre homocisteïna i mortalitat, però la significació estadística es perdia i s'invertia al ajustar per paràmetres d'inflamació i nutrició; de manera que, nivells més elevats d'homocisteïna es van associar a major mortalitat i menor supervivència. Aquest fet suggereix que l'associació inversa entre homocisteïna i mortalitat en els pacients renals pot ser atribuïda, almenys en part, per la coexistència amb altres factors de confusió⁴⁸, com poden ser els marcadors de desnutrició i inflamació. Aquest fet cal tenir-ho en compte a l'hora d'avaluar el paper de l'homocisteïna com a factor de risc.

Malgrat després del TR els nivells d'homocisteïna disminueixen, la prevalença en aquest grup de pacients és també elevada⁸⁶, situant-se al voltant del 50-75%.

En els pacients trasplantats renals, varis estudis han determinat una associació entre els nivells d'homocisteïna i la MCV postTR, així com una associació amb la HVE⁸⁷, però no han establert una clara relació amb la mortalitat⁸⁸. Tot i així, no existeixen evidències que confirmin que la reducció dels nivells d'homocisteïna disminueixi la incidència de MCV en el TR.

2.1.3. Factors de risc propis de la urèmia

a) Anèmia.

L'anèmia és una complicació freqüent en els pacients amb MRC. Es produeix com a conseqüència d'una disminució de la producció i secreció d'EPO i una alteració del metabolisme del ferro⁸⁹. L'anèmia implica una disminució de l'aport d'oxigen i un increment tant de la freqüència cardíaca com del gast cardíac, i per tant, de l'augment de la pressió arterial i de la HVE (important predictor de mortalitat cardiovascular). La correcció de l'anèmia amb EPO disminueix la massa ventricular esquerra i millora la funció ventricular⁹⁰.

Foley RN et al.⁹¹ van observar com uns nivells d'hemoglobina inferiors a 8,8g/dl eren un factor de risc per a totes les causes de mortalitat, i s'associaven a dilatació del ventricle esquerra, insuficiència cardíaca i mort.

Diversos estudis en la literatura suggereixen que l'anèmia en el pacient amb MRC cal tractar-la precoçment, abans que els pacients arribin a necessitar HD⁹². L'introducció dels agents estimulants de l'eritropoesi pel tractament de l'anèmia en els pacients en HD i inclús en els pacients en fase prediàlisi, va permetre disminuir el número de transfusions sanguínees i millorar la qualitat de vida d'aquests tipus de pacients⁹³.

Les guies KDOQI⁹⁴ publicades l'any 2007 sobre el maneig de l'anèmia en la MRC, recomanen que els pacients amb MRC estadi 5 que reben tractament amb agents estimulants de l'eritropoesi (tant en HD com sense diàlisi) mantinguin uns nivells d'hemoglobina entre 11-12g/d, essent sempre inferiors a 13g/dl.

En el pacient trasplantat renal, l'anèmia està associada sobretot a l'ús actualment de fàrmacs IS com el micofenolat sòdic i els inhibidors dels m-TOR. L'anèmia es considera un factor de risc de mortalitat i de pèrdua de l'empelt renal⁹⁵. Tal i com s'ha comentat anteriorment, es considera també un factor de risc vascular en el pacient trasplantat per la seva acció sobre la massa ventricular i el gast cardíac⁹⁶. Valors d'hemoglobina superiors a 12,5g/dl en el pacient trasplantat renal s'ha descrit que poden incrementar la mortalitat en el postTR⁹⁷.

b) Metabolisme calci-fòsfor.

L'augment dels nivells de hormona paratiroidal (PTH), la disminució de la vitamina D i la hiperfosfatèmia juguen un paper important en la patogènesi de la MCV⁹⁸.

La PTH i la vitamina D augmenten la concentració de calci en el múscul vascular llis i miocardiocits, alteren el metabolisme oxidatiu del miocardi i afecten la pressió arterial i la contractilitat cardíaca, fent que el cor sigui més susceptible a la isquèmia. El dèficit de vitamina D junt amb l'hiperparatiroidisme (característic dels pacients amb MRC) pot produir calcificacions coronàries, valvulars i per tant, incrementar la MCV⁹⁹.

L'hiperparatiroidisme també altera el metabolisme de les lipoproteïnes i produeix resistència a la insulina i intolerància a la glucosa.

En una població de 4.802 pacients incidents en HD, la presència d'un nivells de fòsfor inferiors a 3,5mg/dl es van associar de manera significativa a un augment de la mortalitat, efecte que es va poder observar durant els primers 120 dies de tractament¹⁷.

En pacients ja en programa d'HD, la hiperfosfatèmia s'ha relacionat amb un augment de la mortalitat. Un estudi publicat molt recentment¹⁰⁰ demostra com valors tant de fòsfor com de PTH fora dels valors recomanats a les guies KDIGO¹⁰¹, s'associen de forma significativa a un augment de la mortalitat.

2.2. Endoteli vascular i disfunció endotelial

L'endoteli vascular era considerat fins al voltant de l'any 1990 un teixi inactiu que cobria l'interior dels vasos sanguinis. En cas d'un traumatisme, es produïa la reparació de l'endoteli a partir de les cèl·lules endotelials (CE) que proliferaven des dels marges de la ferida endotelial cap al centre, cobrint finalment, tota la zona defectuosa¹⁰².

El concepte de la reparació endotelial ha canviat de forma important en els últims 20 anys, quan els investigadors han descobert com l'endoteli vascular representa una barrera funcional i dinàmica entre la sang circulant i el teixit circumdant, i que té múltiples funcions: juga un paper important en la modulació i regulació del to vascular (controlant l'activitat de les cèl·lules musculars llises de la capa mitja), regula el creixement cel·lular local i el dipòsit de matriu extracel·lular, té un efecte protector dels vasos davant la presència de substàncies tòxiques circulants a la sang, té funcions antitrombòtiques (inhibeix l'adhesió plaquetària i la coagulació, i regula els sistema fibrinolític) i participa en la resposta immune i en la resposta reparadora a les lesions locals¹⁰³.

La monocapa de CE que recobreix l'endoteli actua com a superfície no adhesiva per a leucòcits i plaquetes, i produeix una important varietat de factors reguladors del to vascular com són les prostaglandines i l'òxid nítric^{64,104}. L'òxid nítric regula un gran nombre de processos homeostàtics locals: té efecte vasodilatador, inhibeix l'adhesió i agregació plaquetària, inhibeix la proliferació de les cèl.lules del múscul llis i té efecte antioxidant¹⁰⁵.

Els pacients amb MRC tenen un dèficit d'òxid nítric des d'estadis inicials de la malaltia, fet que comporta que apareguin dades de DE per alteració de la vasodilatació dependent de l'endoteli, afavorint el desenvolupament d'aterosclerosi, la HTA i la posterior aparició d'esdeveniments cardiovasculars^{62,106}.

La presència de qualsevol FRCV ocasiona una alteració de les funcions normals de l'endoteli i l'aparició d'una cascada d'events proinflamatoris que va seguida moltes vegades de la mort programada o apoptosi de les cèl.lules endotelials. Aquest fet comporta la pèrdua de les propietats antitrombòtiques de la pared vascular i l'alteració del nombre i funcionalitat de les CE¹⁰⁷. També l'exposició perllongada i repetida de l'endoteli a l'estrès oxidatiu, associat als FRCV, comporta l'esgotament dels seus mecanismes protectors antioxidants i antiinflamatoris¹⁰⁸.

La DE pot definir-se per tant, com el desequilibri en la biodisponibilitat de substàncies actives d'origen endotelial, que predisposa a la inflamació, vasoconstricció i a l'increment de la permeabilitat vascular, i que pot facilitar el desenvolupament de l'arteriosclerosi, l'agregació plaquetària i la trombosi¹⁰⁹. És per tant, la disfunció de les CE l'esdeveniment crític que promou l'inici de la formació de la placa ateroscleròtica i el desenvolupament de malalties com l'aterosclerosi⁵³. A les últimes dècades s'ha demostrat com els FRCV clàssics i els FRCV emergents produeixen DE¹⁰⁹.

La raó per la qual els pacients amb MRC tenen DE no es coneixen completament, però es suggereix que l'etiologia pot ser multifactorial¹⁰³, tal i com es pot observar a la taula 2.

Taula 2. Etiologia de la disfunció endotelial en la malaltia renal crònica

Disfunció endotelial en la malaltia renal crònica	
Inflamació	Dislipèmia
Retenció d'inhibidors de l-arginina (ADMA)	Hiperglucèmia
Estrés oxidatiu	Hipertensió arterial
Hiperhomocisteïnèmia	

Annuk et al.¹¹⁰ van demostrar com la presència només dels FRCV clàssics (HTA, DM i hipercolesterolèmia) no podien explicar el deteriorament de la funció endotelial en els pacients amb insuficiència renal moderada, de manera que van demostrar que existia una correlació entre l'aclariment de creatinina i la funció endotelial, conclouent que la funció renal *per se* es relacionava directament amb la presència de DE.

Basant-se en aquestes troballes, Stenvinkel P.¹⁰³ va suggerir que la presència de FRCV no tradicionals (inflamació, hiperhomocisteïnèmia, etc.) presents en la MRC, podien afectar també de forma negativa a la funció endotelial.

Estudis realitzats en pacients sense patologia renal^{111,112} han demostrat que la inflamació s'associa a DE; de manera que es podria suggerir que la DE seria un important intermediari en la relació entre la inflamació i la MCV en els pacients amb MRC.

Un factor molt important per tal de disminuir el risc d'aparició de malalties cardiovasculars radica en el manteniment del balanç entre la disfunció i la regeneració d'aquest endoteli vascular, essent aquesta regeneració de l'endoteli danyat d'extrema importància¹⁰⁷. La reparació de l'endoteli vascular es pot produir per la migració i la proliferació de les CE madures del voltant de la zona danyada, procés també involucrat en l'angiogènesi dels adults¹¹³. Aquestes CE madures són cèl·lules definitivament diferenciades amb un baix potencial proliferatiu, amb una capacitat per substituir l'endoteli danyat i per

crear nous vasos limitada. Per aquest motiu serà necessari, tant per reparar l'endoteli com per l'angiogènesi, el suport d'altres tipus cel·lulars¹¹⁴.

És molt important el treball publicat per part d' Ashara et al. ¹¹⁵, basat en la hipòtesi que la sang perifèrica contenia cèl·lules progenitores que es podien diferenciar en CE madures.

Ashara va demostrar la presència de cèl·lules mononuclears positives per al marcador de superfície CD34⁺ que després de sembrar-se durant 7 dies en una superfície coberta de fibronectina, era capaç d'expressar també els marcadors de superfície CD31 i/o VEGFR. Aquestes cèl·lules també expressaven òxid nítric sintasa endotelial mRNA i produïen òxid nítric després de l'estimulació amb VEGF o acetilcolina depenent de la dosi. Aquestes cèl·lules cultivades i enriquides amb CD34⁺ expressaven múltiples propietats funcionals i antigèniques similars a les CE. Aquestes cèl·lules, es van anomenar cèl·lules progenitores endotelials (CPE).

Les CPE són per tant, cèl·lules derivades del moll de l'os, presents en sang perifèrica, amb propietats similars als angioblastes embrionaris, i que tenen la capacitat de proliferar i diferenciar-se en CE madures, contribuint a processos de reendotelització i neovascularització¹¹⁴. Probablement aquestes cèl·lules progenitores tinguin un precursor comú denominat hemagioblaste, la persistència del qual en l'adult, contribueixi al creixement i reparació tant de la línia hematopoiètica com endotelial¹¹⁶.

Estudis en animals i humans suggereixen que les CPE tenen l'habilitat de millorar la funció d'òrgans isquèmics probablement gràcies a la inducció i modulació de la vasculogènesi i angiogènesi en àrees amb baix aport d'oxigen o a través de l'estimulació de la reendotelització dels vasos sanguinis danyats¹⁰⁷.

2.3. Cèl·lules progenitores endotelials

2.3.1. Caracterització de les cèl·lules progenitores endotelials. Marcadors de superfície

Les CPE s'aïllen principalment de la mèdulla òssia i sang perifèrica, tot i que també s'han identificat en sang procedent de cordó umbilical. La presència tant de les CE madures com de les CPE és molt poc freqüent en la sang perifèrica de l'adult, representant entre un 0,01 i 0,001% de les cèl·lules mononuclears de la sang, respectivament¹¹⁷. S'estima que els adults sans tenen només un total de 100-200 CPE/ml¹¹⁸. Aquest fet ha contribuït a la manca de mètodes suficientment precisos per a la seva definició i aïllament.

Actualment les CPE s'identifiquen mitjançant cultius cel·lulars o tècniques de citometria de flux, gràcies al descobriment dels anticossos monoclonals i a la utilització de la immunoselecció per microesferes magnètiques i/o FACS (*fluorescence-activated cell sorting*)¹¹⁷, que han possibilitat l'aïllament, quantificació directa en mostres de sang perifèrica i caracterització de les cèl·lules circulants. Utilitzant anticossos monoclonals Peichev M et al.¹¹⁹ van demostrar com el $2 \pm 0,5\%$ de les cèl·lules CD34⁺ de la sang perifèrica eren també VEGFR-2⁺.

A partir del descobriment de les cèl·lules CD34⁺/VEGFR-2⁺ per part d'Asahara et al.¹¹⁵ varis estudis posteriors es van realitzar amb l'objectiu d'identificar i caracteritzar les CPE amb l'objectiu de trobar un únic marcador que identificués aquestes CPE. Múltiples estudis van coincidir en afirmar que les CE madures també podien coexpressar CD34 i VEGFR-2, pel que eren necessaris marcadors més específics per a poder diferenciar les CE madures de les CPE. Un d'aquests marcadors va ser el CD133 (AC 133), que a diferència del CD34, no s'expressa en les CE madures i per tant, la seva expressió sembla definir una població de cèl·lules amb propietats de cèl·lules mare hematopoiètiques pluripotencials¹²⁰.

Per tant, els 3 marcadors que caracteritzen les CPE circulants precoces són el CD34, CD133 i el receptor 2 del factor de creixement endotelial vascular (VEGFR-2, també denominat Flk-1 o KDR)^{119,121}.

Aquestes CPE es localitzen predominantment a la mèdul·la òssia o a la circulació sistèmica, immediatament després de la seva migració a la circulació sistèmica, i juguen un paper important en la neo-angiogènesi¹¹⁴. El percentatge de cèl·lules CD34⁺ que expressa també CD133⁺ i VEGFR-2⁺ representa només el 2% de les cèl·lules CD34⁺ circulants¹¹⁹. (Figura 1).

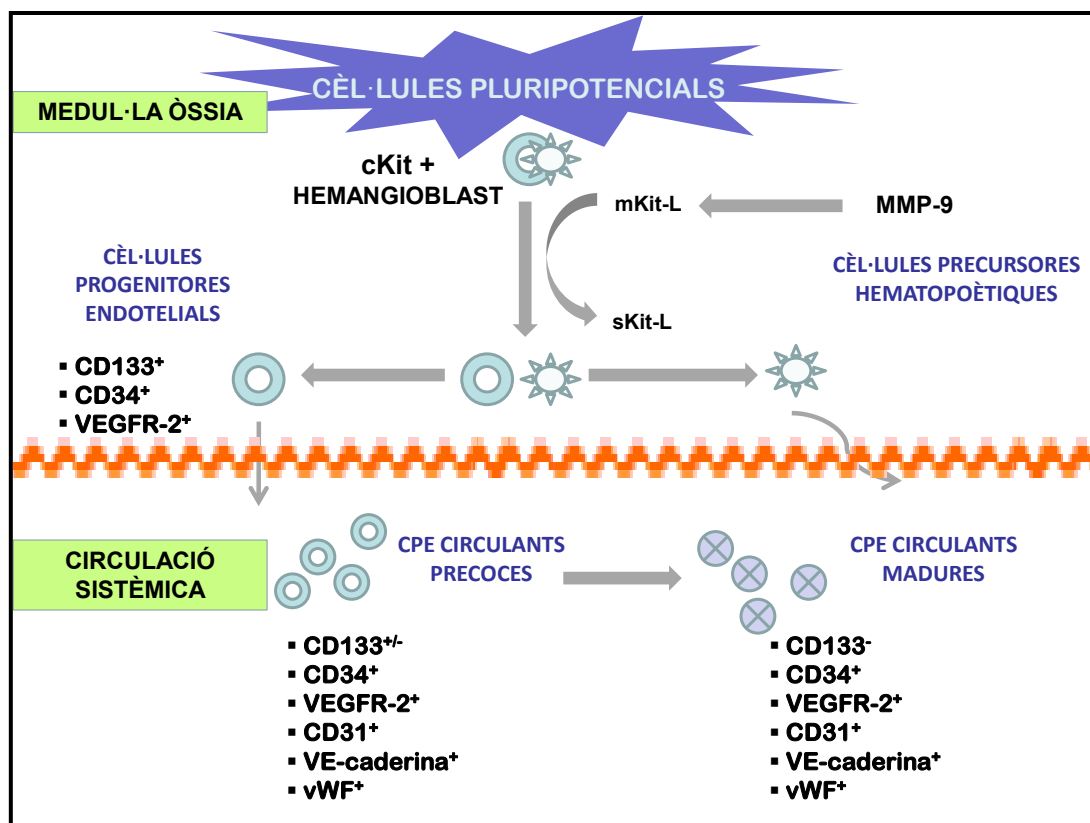


Figura 1. Mobilització, reclutament, i diferenciació de les cèl·lules progenitores endotelials des de la mèdul·la òssia a la circulació sistèmica.

Modificat de Hristov. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003. (Cortesia de la Dra. Anna Oliveras).

CPE = cèl·lules progenitores endotelials; **MMP-9** = metaloproteïnasa-9 de matriu; **mKit-L** = Ligando Kit de membrana; **sKit-L** = Ligando Kit soluble; **VEGFR-2** = receptor tipus 2 del factor de creixement endotelial vascular; **vWF** = factor de von Willebrand.

La mobilització de les CPE des de la mèdul·la òssia al torrent sanguini és un procés complex, regulat per una varietat d'enzims, factors de creixement i receptors de superfície. Aquesta mobilització es produeix en resposta a la hipòxia, isquèmia tissular i dany tissular endotelial. L'òrgan isquèmic a través de l'alliberació de citoquines i factors de creixement estimula l'alliberació de les CPE per part de la mèdul·la òssia. Aquestes cèl·lules alhora es localitzen de forma específica en els llocs danyats mitjançant l'expressió de receptors de quimoquines i finalment estimulen el creixement de nous vasos¹²².

El VEGF endògen sembla ser un dels factors angiogènics més importants que actua com a mediador de la mobilització de les CPE a la circulació perifèrica, tant en la vasculogènesi embrionària com en el desenvolupament vascular de l'adult. S'ha descrit com els nivells de VEGF en sang perifèrica s'incrementen de manera paral·lela a l'increment del número de CPE circulants que té lloc quan es produeix la isquèmia d'una extremitat o el dany de la pared vascular que es produeix després de trombosis coronàries o de cirurgia de by-pass coronari¹²³.

Els factors que mobilitzen les cèl·lules mare, per exemple el VEGF, activen la metaloproteïnasa-9 (MMP-9) en les cèl·lules hematopoiètiques, promovent la transformació del lligant kit unit a la membrana cap al lligant kit soluble¹²⁴, fet que permet que aquestes cèl·lules proliferin, es diferenciïn i passin a la zona vascular de la mèdul·la òssia i posteriorment a la circulació sistèmica¹¹⁴. Estudis experimentals han demostrat com en aquelles situacions en què existeix un dèficit d'òxid nítric sintasa endotelial, existeix una incapacitat per a mobilitzar les CPE en relació a una insuficient regulació de la MMP-9. Així, els pacients amb una insuficient biodisponibilitat de l'òxid nítric, per exemple, els pacients amb MRC, pot tenir un dèficit en el reclutament de les CPE¹¹⁵. El VEGF s'uneix al seu receptor VEGFR-2, activant així la posterior maduració de l'eix —angioblaste de mèdul·la òssia – CPE precoç – CPE tardana”¹²⁶.

Existeixen diverses qüestions encara per resoldre en tot aquest complex procés. La cascada de diferenciació exacte de les CPE *in vivo* encara no és ben coneguda, existeixen també interrogants sobre el temps de vida mitjana de les CPE circulants o en relació al destí finals de les CPE no consumides. Estudis

experimentas *in vitro* han suggerit la possibilitat que els cossos apoptòtics de les CE madures siguin l'estímul per a la proliferació i diferenciació de les CPE¹¹⁴.

2.3.2. Factors que poden modificar el nombre de cèl·lules progenitores endotelials

Peichev M et al.¹¹⁹ van establir que el nombre de CPE postnatsals circulants precoces CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺ representaven aproximadament el 0,002% del total de cèl·lules mononuclears en sang perifèrica, corresponent a unes 70-210 cèl./ml.

S'han descrit múltiples situacions que poden fer variar el nombre de les CPE en sang perifèrica. (Taula 3).

Taula 3. Factors que influeixen en el nombre de cèl·lules progenitores endotelials en sang perifèrica.

Increment del número de CPE	Disminució del número de CPE
Exercici físic	Edat
Estrògens (sexe femení)	Hipertensió arterial
Cardiopatia isquèmica	Dislipèmia
Isquèmia de les extremitats	Diabetes mellitus tipus I i tipus II
Trauma vascular (<i>by-pass</i> coronari)	Insuficiència renal
Eritropoetina	Tabaquisme
Estatines	Homocisteïna
Inhibidors SRAA	β-bloquejants
Tractament renal substitutiu	Obesitat
	PCR

CPE (cèl·lules progenitores endotelials)

Existeixen diverses situacions fisiològiques que poden fer variar el nombre de CPE, com per exemple l'exercici físic^{118,127}, els estrògens^{128,129} i l'edat^{130,131}. Varis autors han demostrat com el procés d'envelliment és un factor que afecta de manera negativa a les CPE, de manera que l'edat no només redueix la mobilització de les CPE desde el moll de l'os, sinó que també afecta la seva funcionalitat i clarament redueix la supervivència de les cèl·lules¹³². L'efecte de l'edat sobre les CPE sembla que influeix més en les característiques funcionals que en el nombre total de cèl·lules en sang perifèrica¹³³.

Hill JM, et al.¹³⁴ van descriure una clara associació entre les CPE i els factors de risc d'aterosclerosi. Per tant, el nombre de CPE i la seva activitat migratòria s'ha vist que està disminuïda en els pacients que tenen una predisposició genètica a patir una malaltia isquèmica cardiovascular o en els pacients fumadors (pacients amb alt risc de malaltia coronària)¹³⁵.

Kondo et al.¹³⁶ van observar com en els fumadors crònics, la deshabitació tabàquica incrementava de nou el nombre de CPE i que reprendre de nou el tabaquisme provocava una nova disminució en el nombre de CPE. L'efecte del tabac sobre les CPE s'explica a través de l'increment de l'estrès oxidatiu i la reducció de la biodisponibilitat de l'òxid nítric que provoca el tabaquisme, provocant per tant, una reducció en els nivells de CPE en sang perifèrica.

Alguns estudis han descrit la influència de determinades condicions patològiques en el nombre de CPE *in vivo*. Oliveras A, et al.¹⁰⁸ van determinar que existia una relació independent entre la presència de HTA i els nivells circulants de CPE en pacients amb HTA refractària. En relació a la DL, tant en individus sans amb nivells de colesterol elevats com en pacients amb coronariopatia, s'ha demostrat una correlació inversa entre el nombre de CPE circulants i els nivells plasmàtics de colesterol-LDL¹³⁷.

Els pacients amb DM tipus 1 i tipus 2, tenen un menor nombre de CPE, així com una disminució de la seva capacitat proliferativa, de la seva capacitat migratòria i de l'habilitat de formar nous vasos^{138,139}.

Chen et al.¹³⁰ van observar com el nombre de CPE era aproximadament un 50% inferior en les persones que tenien sobrepès i obesitat, en comparació a les persones amb un IMC normal. Aquestes mateixes troballes van ser descrites per Müller-Ehmsen et al.¹⁴⁰. Aquest grup va anar més enllà i va demostrar com una reducció en el pes, conduïa a un increment en el nombre de CPE. D'aquesta manera, es pot afirmar com la DE és essencial en la patogènesi de les complicacions cardiovasculars associades a l'obesitat¹⁴¹.

En relació a la MCV, en pacients que presenten un IAM s'ha observat com els nivells de les cèl·lules CD34⁺ s'incrementen a la setmana posterior a l'infart, i aquesta elevació és paral·lela a l'increment agut dels nivells sèrics de VEGF¹⁴².

Determinats tractaments farmacològics també tenen un efecte directe en el nombre de CPE. El tractament amb inhibidors de la HMG-CoA reductasa (estatinas)¹⁴³ s'ha descrit que incrementen el nombre de CPE *in vivo*, probablement a través de l'activació de la mobilització des de la medul·la òssia, i també estimulen la seva incorporació en els llocs on existeix dany endotelial a través de l'augment de l'expressió de les molècules d'adhesió de la superfície de les CPE¹⁴⁴.

El tractament amb IECAS, tant ramipril¹⁴⁵ com enalapril¹⁴⁶ incrementen el nombre de CPE tant en estudis experimentals com en pacients, probablement a l'interferir amb el sistema CD26/dipeptidilpeptidasa IV. Resultats similars s'han descrit amb els ARA-II, com ara l'olmesartan¹⁴⁷, irbesartan¹⁴⁸, losartan¹⁴⁹, valsartan¹⁵⁰ o telmisartan¹⁵¹, fàrmacs que incrementen el nombre de CPE, independentment del control de la pressió arterial; al contrari que el tractament amb β -bloquejants.

L'administració d'EPO recombinant humana (rhEPO) o el seu anàleg darbepoetina en els pacients amb MRC, s'ha demostrat que incrementa tant el nombre com la capacitat funcional de les CPE *in vitro* i *in vivo*, estimulants la seva mobilització a través de la via d'activació intracel·lular de la proteïna quinasa Akt¹⁵².

2.4. Cèl·lules progenitores endotelials en adults sans

Les CPE constitueixen el 1-5% de les cèl·lules del moll de l'os, i al voltant de 0.0001-0.001% de les cèl·lules mononuclears de sang perifèrica¹¹⁷. S'estima que en la població adulta sana la quantificació de CPE es situa al voltant de 100-200 cèl·lules/ml^{114,153}.

Tot i així, la quantificació exacta d'aquestes cèl·lules varia en funció dels estudis i dels marcadors de superfície que es tinguin en compte a l'hora de realitzar la quantificació d'aquestes cèl·lules en sang perifèrica. Ruszkowska-Ciastek B, et al.¹¹⁸ va determinar el nombre de CPE en un grup control sa sense cap MCV, essent la mitjana de CPE en aquest grup poblacional de 0.41 cèl·lules/ μ L.

En la població general, al igual que succeeix amb pacients amb malaltia coronària, el nombre de CPE es correlaciona de manera significativa amb els FRCV clàssics, com per exemple la HTA^{134,154}. El grup de Hill et al.¹³⁴ van demostrar com en els homes sans, els nivells de CPE podien ser un marcador biològic substituït de la funció vascular i del risc cardiovascular. Per aquest motiu van mesurar l'activitat de les CPE en relació als FRCV i la funció endotelial en un grup de 45 homes sans. La càrrega total dels factors de risc va ser calculada a través del *score* de Framingham¹⁵⁵, de manera que els *scores* més alts indicaven un major risc cardiovascular. Aquest grup va observar com existia una correlació inversa estadísticament significativa entre el *score* de Framingham i el nombre de CPE; de manera que els pacients amb *score* més elevat presentaven un menor nombre de CPE.

En relació als factors de risc que es relacionen amb l'aparició d'aterosclerosi en els individus sans, l'edat és un factor predictor de deteriorament de l'endoteli vascular¹⁵⁶. Estudis tant experimentals com clínics han demostrat un increment del risc de malaltia ateroscleròtica en pacients de major edat en comparació als pacients més joves¹⁵⁷. A més a més, s'ha suggerit com canvis senescents en el sistema cardiovascular podien predisposar als individus més anyosos a patir un increment de la patologia cardiovascular. Tots aquests factors fan pensar que

l'edat s'associa a una alteració endògena de la paret vascular que promou tant l'aterosclerosi com la disfunció vascular¹⁵⁸.

Heiss C., et al.¹³³ van analitzar per primer cop en la literatura l'efecte de l'edat en el nombre de CPE (determinades per citometria de flux), en la supervivència i diferenciació de les CPE (mitjançant cultius cel·lulars), així com la funcionalitat d'aquestes CPE (a través de la dilatació dependent de l'endoteli de l'artèria braquial mesurada per ecografia d'alta resolució). Amb aquest objectiu, van comparar dos grups de 20 persones sanes d'una edat mitjana de 25 anys i un grup de 20 persones d'una edat mitjana de 61 anys, sense evidència de cap altra FRCV. No van observar diferències estadísticament significatives en relació al nombre de cèl·lules CD34⁺/VEGFR2⁺ i CD133⁺/VEGFR2⁺ entre els dos grups d'edat, però sí que van observar com en el grup de més edat, aquestes cèl·lules tenien de manera significativa una pitjor funcionalitat, una menor capacitat migratòria i una menor supervivència, en relació al grup més jove.

En canvi, Tao J. et al.¹³¹ sí que descriuen una disminució clarament significativa de les CPE en relació a l'edat. Aquest grup demostra com l'elasticitat de les artèries disminueix amb l'edat, paral·lelament al nombre de CPE; de manera que, una disminució de les CPE condueix a una alteració de la reparació de l'endoteli vascular, i en conseqüència a un deteriorament de l'elasticitat de les artèries.

En relació al sexe, és ben conegut com els homes sans entre els 45 i els 65 anys d'edat, tenen un risc significativament més elevat d'IAM i ACV que les dones sanes de la mateixa edat, en absència d'unes diferències associades al gènere en relació a la prevalença dels FRCV tradicionals com són la HTA, el tabaquisme, la obesitat, la DM, el sedentarisme i la DL¹⁵⁹.

Stauffer et al. et al.¹⁶⁰ van publicar el primer article on descriuen que no existeixen diferències en el nombre de CPE entre els homes i les dones sanes de mitjana edat. Malgrat les CPE són un predictor de morbiditat i mortalitat cardiovascular en un gran nombre de poblacions^{134,161}, el seu estudi suggereix com el nombre de CPE no contribueix a les diferències en la taxa d'esdeveniments cardiovasculars entre els homes i les dones de mitjana edat.

Ruszkowska-Ciastek B. et al.¹¹⁸ també van demostrar com en individus sans, el gènere no tenia un efecte directe en relació al nombre de CPE.

En relació a l'estat inflamatori, Fasing K.A. et al.¹⁶² van analitzar per primer cop en la literatura, com una elevació de la concentració de la PCR en una cohort de 75 individus sans, no s'associava a disfunció de les CPE. No van observar que existissin diferències significatives en relació a l'habilitat de formar col·lònies per part de les CPE, de migrar, d'alliberar factors de creixement angiogènics i de resistir a l'apoptosi, entre els pacients, en funció de si tenien nivells baixos (PCR inferior a 1mg/L), moderats (PCR entre 1-3mg/L) o alts (PCR superior a 3mg/L) de PCR.

2.5. Cèl·lules progenitores endotelials i malaltia renal crònica

La MRC representa un estat de DE que s'associa amb un increment de la morbiditat cardiovascular, a una progressió accelerada de l'aterosclerosi i a un alt risc cardiovascular, independentment de la MCV preexistent^{163,164}.

En els diferents estudis clínics pilot que existeixen a la literatura que intenten estimar la quantitat de CPE i/o la seva funcionalitat, en funció dels estadis de la insuficiència renal, hi ha una observació comú en tots ells, i és el fet que els pacients amb MRC presenten una disminució del nombre de CPE circulats en sang perifèrica comparats amb un grup control sa, disminució que a vegades es situa en un 4-30%^{165,166,167}. A més a més, els pacients amb MRC tenen no només una alteració en el nombre de les CPE, sinó també una alteració de la funcionalitat d'aquestes cèl·lules progenitores^{166,167,168}. Un filtrat glomerular estimat inferior a 60ml/min/1.73m² es va descriure fa anys com un important factor predictor d'ECV, de manera que l'increment de risc cardiovascular apareix ja en els subjectes amb una funció renal lleugerament deprimida, situant aquest grup poblacional com a grup d'alt risc¹⁶⁷.

Surdacki A. et al.¹⁶⁹ van avaluar la relació que existia entre el filtrat glomerular i les CPE (CD34⁺/KDR⁺) en un grup de pacients amb un episodi d'angina estable i amb funció ventricular sistòlica normal. És aquest el primer estudi on descriuen com es produeix una disminució del nombre de cèl·lules CD34⁺/KDR⁺ en sang perifèrica de manera paral·lela a la disminució del filtrat glomerular, evolucionant d'una insuficiència renal lleu a moderada, en pacients amb malaltia arterial coronària.

En relació al grau d'insuficiència renal, alguns estudis en pacients trasplantats renals mostren una correlació negativa entre el grau de disminució del filtrat glomerular i el nombre de CPE^{170,171}, mentre que altres estudis mostren resultats contraris¹⁷². Aquest fet és interessant, donat que varis autors han demostrat posteriorment com el nombre i la funcionalitat de les CPE poden ser restaurades i per tant, incrementar de forma paral·lela a la millora de la urèmia, després de l'inici del tractament amb HD¹⁷³ o després de rebre un TR^{166,170,172,174}.

Múltiples factors i malalties concomitants presents en la MRC poden tenir un impacte negatiu tant en el nombre com en la funcionalitat de les CPE: HTA, DL, intolerància a la glucosa (inclús en absència de DM), microinflamació i elevació de la PCR, estrès oxidatiu, nivells d'EPO, i toxines urèmiques encara no identificades¹⁶⁵. Això fa que moltes vegades sigui impossible separar els possibles efectes de tots aquests factors del de la pròpia urèmia *per se*.

En estudis experimentals més recents, els investigadors han intentat determinar els possibles mecanismes responsables de la disfunció urèmica de les CPE. Estudis *in vitro* han demostrat un efecte del serum urèmic *per se* com a causant de la disfunció de les CPE¹⁷⁵. Això ha fet que s'intentin determinar toxines urèmiques involucrades de forma individual, entre elles la PTH, homocisteïna, IL-6, la PCR, etc.

En relació al hiperparatiroidisme, Kotzmann H et al.¹⁷⁶ van demostrar com en els pacients amb hiperparatiroidisme primari, una disminució dels nivells de PTH es relacionava directament amb un increment dels precursors hematopoiètics. En pacients amb hiperparatiroidisme secundari, també s'ha descrit com la paratiroidectomia exitosa incrementa els nivells d'EPO¹⁷⁷.

Finalment, Rao DS. et al.¹⁷⁸ van descriure com un excés de PTH podia induir fibrosi de la mèdulla òssia i per tant, podia disminuir l'espai disponible per a l'eritropoesi. Un estudi més recent¹⁷⁹ ha demostrat una relació inversa en pacients amb MRC entre el nombre de cèl·lules CD34+ i els nivells de fòsfor i PTH.

L'homocisteïna és una toxina urèmica que contribueix a l'aterosclerosi a través de l'inducció de dany a nivel de les CE. Chen JZ., et al.¹⁸⁰ van analitzar la influència de l'homocisteïna en el nombre i activitat de les CPE. Per això van aïllar cèl·lules mononuclears totals a partir de sang perifèrica a través de centrifugació en gradient de densitat de Ficoll i després van sembrar les cèl·lules en plaques de cultiu recobertes de fibronectina. Després de 7 dies d'incubació, van estimular les cèl·lules amb homocisteïna i van observar com l'homocisteïna tenia propietats inhibidores en relació a la diferenciació de les CPE, de manera que l'homocisteïna induïa una reducció de les CPE amb una disminució de la seva activitat funcional.

La PCR és un factor pro-aterogènic que està involucrat en l'inici i la progressió de la malaltia vascular ateroscleròtica. Tot i que el mecanisme exacte a través del qual la PCR promou l'aterotrombosi no és del tot conegut, sí que es creu que la PCR promou de forma directa el remodelat vascular, la inestabilitat de la placa ateroscleròtica i la disfunció de les CE¹⁸¹. Per tant, la disfunció de les CPE s'ha suggerit que pot ser un factor que contribueixi a l'efecte aterogènic de la PCR.

Existeixen estudis que demostren com en determinades malalties inflamatòries com l'artritis reumatoide¹⁸², la presència de citoquines proinflamatòries es correlaciona de manera inversa amb el nombre de CPE, i alhora, aquestes citoquines proinflamatòries produeixen també una alteració tant la funcionalitat com la diferenciació de les CPE¹⁸¹.

2.5.1. Cèl·lules progenitores endotelials i hemodiàlisi

En els pacients en HD, l'endoteli vascular és el primer òrgan que pateix els estímuls mecànics (pressió arterial, etc.) i immunològics (efectes hormonals, substàncies vasoactives, citoquines, etc.) que es produeixen durant una sessió d'HD. Una única sessió de diàlisi determina variacions en el balanç del sistema vascular¹⁸³. En la urèmia, les pròpies toxines com ja s'ha comentat prèviament, juguen un paper molt important en l'empitjorament de la funció endotelial, i l'estrès hemodinàmic intermitent contribueix també a l'aparició de la DE precoç¹⁸⁴.

Sturiale A. et al.¹⁸⁵ van publicar el primer estudi on analitzaven el comportament de les CPE durant una sessió d'HD. Aquest grup va confirmar que l'estrès immediat induït per la diàlisi provoca, a partir de la segona hora de diàlisi, un increment significatiu en el nombre de CPE respecte el moment basal, tornant als nivells basals just abans de la següent sessió de diàlisi. En segon lloc, confirmen també com els diferents FRCV tenen una influència directa en el nombre de CPE en sang perifèrica. Una única sessió de diàlisi per ella mateixa provocava per tant, un estrès agut cardiovascular amb múltiples efectes en el pacient, sobretot incrementant el risc de presentar algun episodi cardíac o alguna alteració del ritme cardíac. També podia ocasionar canvis sobtats de la pressió arterial en relació a variacions en el to vascular i alliberament de citoquines per part de les cèl·lules circulants que entraven en contacte amb les circulació extracorpòrea¹⁸⁶.

En un estudi publicat per Maruyama S. et al.¹⁸⁷, una disminució dels nivells de CPE en sang perifèrica, eren un factor independent de presentar qualsevol esdeveniment cardiovascular i s'associava a totes les causes de mortalitat en els pacients amb MRC en HD. Per aquest motiu, aquest grup suggeria com una única determinació de cèl·lules CD34⁺ en sang perifèrica podia ser útil per identificar els pacients en HD crònica que tinguessin un alt risc cardiovascular. Recentment s'ha publicat el primer estudi per part de Lu CL., et al.¹⁸⁸ on demostren que el nombre de CPE prediu la mortalitat per qualsevol causa i per causa cardiovascular en els pacients en HD.

Basant-se en la hipòtesi que la millora de l'estat urèmic, per tant, l'eliminació de les toxines urèmiques, millora el nombre i la funcionalitat de les CPE, Chan et al.¹⁸⁹ van demostrar a través de citometria de flux i de cultius cel·lulars, com els pacients que realitzaven HD nocturna més perllongada i més freqüentment (per exemple 6-8 hores a la nit, 5 o 6 nits a la setmana), tenien un nombre més elevat de CPE respecte els pacients que realitzaven HD convencional, probablement perquè eren pacients amb menys estrès hemodinàmic. A més a més, Choi et al.¹⁶⁷ van descriure una associació positiva entre la dosi de diàlisi (Kt/V) i la funcionalitat de les CPE, suggerint com un tractament en HD més intensiu milloraria tant el nombre com la funcionalitat de les CPE d'aquests pacients.

En relació al tipus d'HD, un estudi publicat per Ueno H. et al.¹⁹⁰ comparava 67 pacients en programa de diàlisi peritoneal i 142 pacients en HD. El nombre de CPE era significativament superior en els pacients en diàlisi peritoneal en comparació als pacients en HD, fins i tot després d'ajustar per varis factors de confusió com l'edat, la pressió arterial, el tractament amb fàrmacs que poden estimular les CPE, etc.

Si bé la majoria d'articles de la literatura demostren com existeix una disminució de les CPE en els pacients en HD respecte un grup control sa, existeixen dos estudis^{175,191} que descriuen un increment o nivells similars de CPE en els pacients urèmics, en comparació a pacients amb funció renal normal. Probablement aquesta incongruència en els resultats sigui conseqüència de diferències en el mètode per quantificar les CPE i/o la dosi de EPO.

Herbrig K. et al.¹⁷⁵ al contrari d'estudis descrits anteriorment, observen com els pacients en HD tenen en medis de cultiu *in vitro* uns nivells de CPE més elevats. Aquests resultats discrepen amb la resta d'estudis publicats a la literatura. Aquest autor justificar els seus resultats en primer lloc, tenint en compte que en el seu estudi van ser exclosos pacients amb altres malalties subjacents (que no fos la pròpia insuficiència renal crònica) que s'associaven a un nombre reduït de CPE o amb una funcionalitat reduïda; i en segon lloc, perquè la majoria dels seus pacients estaven en tractament amb EPO i tenien

nivells elevats de VEGF, factors que està descrit que estimulen la mobilització i la diferenciació de les CPE.

En relació a l'AV, la fístula arteriovenosa interna (FAVI) és l'AV d'elecció per a realitzar HD, ja que s'associa a menys complicacions infeccioses¹⁹², trombosis i estenosis de vasos centrals¹⁹³ i a menys morbiditat i mortalitat, en comparació al catèter¹⁹⁴. La realització d'una FAVI implica una anastomosi directa de l'artèria radial/braquial i la vena cefàlica, i per tant, l'exposició de l'endoteli vascular a un estrès constant¹⁹⁵.

Estudis histopatològics recents, han demostrat com en el procés de maduració de la FAVI i en el manteniment d'un adequat flux de sang a través d'ella, hi juguen un paper molt important, tant la hiperplàssia de la neoíntima com l'activació de l'endoteli vascular¹⁹⁶. L'estrès constant a nivel de l'endoteli, implicarà l'activació i la mobilització de les CPE.

En aquest sentit, el grup de Roan JN. et al.¹⁹⁷ van demostrar com la realització d'una FAVI incrementava el nombre de CPE en els pacients amb MRC. Un increment del nombre de CPE als 30 dies de la realització de la FAVI es va associar amb un increment significatiu de la taxa d'estenosis o amb una immaduració de la FAVI. Tot i així els autors no van arribar a determinar el mecanisme i el significat biològic de l'increment de les CPE que es produeix després de la realització d'una FAVI.

Recentment s'ha publicat el primer estudi per part de Eroglu E. et al.¹⁹⁸ que avalua la relació entre els marcadors de CPE i la maduració de la FAVI en els pacients amb MRC. Aquest grup demostra com la presència de DM i un major IMC s'associa de manera negativa amb la maduració de la FAVI. Així mateix, els pacients a qui se'ls hi realitza una FAVI i que presenta una bona maduració, presenten de forma significativa un major nombre de CPE en relació als pacients que tenen una alteració en la maduració de la FAVI.

2.5.2. Cèl·lules progenitores endotelials i trasplantament renal

De Groot K. et al.¹⁶⁶ i Choi JH. et al.¹⁶⁷ van demostrar com els pacients amb insuficiència renal avançada tenien una disminució significativa del nombre i funcionalitat de les CPE respecte un grup control sa. Aquest fet podia millorar de manera significativa amb l'inici de l'HD, l'administració d'EPO¹⁵² o amb el TR, donat que el trasplantament suposa una millora de la funció renal, de l'estat urèmic i per tant, de la DE associada a la urèmia. Tot i així, la DE en el pacients trasplantats és un fet comú i és una diana terapèutica per tal de disminuir el risc cardiovascular en aquest grup de pacients.

La disfunció crònica de l'empelt renal és una de les principals causes de pèrdua de l'empelt a llarg plaç i es caracteritza per la presència de forma patològica d'una hiperplàsia neointimal que pot induir una oclusió vascular. Les CPE juguen un paper crucial en aquest procés de reendotelització per tal de millorar la formació de la neoíntima i el manteniment de la permeabilitat de les artèries intrarenals¹⁰⁷.

El TR s'associa amb una millora de molts dels FRCV associats a la insuficiència renal, i sembla que s'associa a una millora de la DE tot i que aquesta es manté alterada; amb una millora per tant, de la funció de les CPE fins a nivells normals^{199,200}.

La millora de la funció endotelial després del TR es creu que pot ser deguda en primer lloc a una reducció de les toxines urèmiques circulants, les quals incrementen l'estrès oxidatiu. A més a més, la millora d'altres factors de risc com l'anèmia, l'excés de volum, la diselectrolitèmia i l'estat protrombòtic, també contribueixen a la millora de la funció endotelial.

Donat que el risc de mort per causa cardiovascular disminueix després del TR, és possible que la millora de la funció endotelial que acompanya el TR jugui un paper important en aquesta reducció del risc cardiovascular²⁰¹.

Hi ha pocs estudis a la literatura que determinin el recompte de les CPE i la funcionalitat de les CPE en els pacients trasplantats, i els pocs estudis que

existeixen presenten certes discrepàncies en relació als resultats. Passauer J. et al.^{202,203} van estudiar la funció endotelial de 8 pacients abans i després del TR, en comparació a 8 controls sans. Aquest estudi va corroborar com després del TR existia una millora de la funció endotelial, malgrat encara es mantenia alterada. Aquest grup també va comparar pacients amb HTA postTR amb subjectes sans i amb trasplantats renals sense HTA; demostrant com els pacients trasplantats hipertensos tenien DE en comparació als pacients trasplantats normotensos²⁰².

Seguint aquesta línia d'investigació, de Groot K. et al.²⁰⁴ van demostrar també com el nombre de CPE després d'un TR de donant cadàver era comparable a un grup de subjectes sans i significativament superior als pacients urèmics. En l'anàlisi univariant, la funció renal es correlacionava de manera significativa amb les CPE, i en l'anàlisi de regressió múltiple, la funció de l'empelt renal era un potent factor predictor independent del nombre de CPE en els pacients trasplantats. De la mateixa manera, Herbrig K. et al.¹⁷⁴ van observar una millora de la funcionalitat de les CPE després del TR, en comparació als controls.

Contràriament, Soler MJ. et al.¹⁷¹ van determinar com els pacients trasplantats renals tenien una disminució tant de la quantitat com de la funcionalitat de les CPE en comparació a un grup control sa. Aquests resultats contradictoris podrien estar relacionats amb l'ús d'una metodologia diferent per a determinar les CPE i amb l'ús de marcadors de CPE utilitzats per a la seva caracterització.

Di Marco. et al.²⁰⁵ van quantificar el nombre de CPE en un grup de 52 pacients trasplantats renals en fase estable en comparació amb 16 controls sans amb HTA i funció renal normal, i van analitzar l'efecte del tractament IS en el recompte de CPE. Van observar com els trasplantats tenien un recompte superior de CPE respecte els individus controls i com els pacients tractats amb un règim basat amb anticalcineurínic tenien una quantificació de cèl.lules CD34⁺VEGFR-2⁺/ml superior a la població control, en comparació als trasplantats renals sense anticalcineurínic.

S'ha demostrat com la funció renal determina el nombre i funcionalitat de les CPE en els trasplantats renals, és a dir, l'eliminació de l'estat urèmic contribueix a millorar el recompte de les CPE^{174,204}.

Townamchai N. et al.²⁰⁶ van demostrar en primer lloc que existia una disminució significativa de la quantitat de CPE en els pacients trasplantats respecte controls i en segon lloc una correlació significativa entre les CPE i la funció de l'empelt renal. Al dividir els pacients trasplantats renals en funció del filtrat glomerular, van observar com aquells trasplantats renals que tenien una funció renal estable, tenien una quantificació de CPE significativament superior als trasplantats amb un descens del filtrat glomerular.

D'altra banda, els tractaments IS juguen un paper clau en el desenvolupament de la DE i en el risc cardiovascular dels pacients trasplantats²⁰⁷. El paper que juguen els fàrmacs immunosupressors en la DE del pacient trasplantat també s'ha analitzat en múltiples articles de la literatura^{208,209} amb resultats contradictoris.

Estudis realitzats *in vitro* pel grup de de Groot. et al.²⁰⁴ van demostrar com el nombre de CPE disminuïa més d'un 40% al afegir prednisolona o ciclosporina A a un media de cultiu cel·lular. Van interpretar la normalització del nombre de CPE després del TR com l'eliminació de l'efecte IS propi de l'urèmia a nivell del moll de l'os. A la llarga, aquest fet és més important que el propi efecte dels fàrmacs immunosupressors en la diferenciació i proliferació de les CPE. El tacrolimus també s'ha descrit que provoca deteriorament de la funció de l'endoteli vascular al reduir la producció i interferir en la biodisponibilitat de l'òxid nítric^{210,211,212}.

En un estudi publicat per Soler MJ. et al.¹⁷¹ els pacients trasplantats renals que rebien tractament amb micofenolat mofetil tenien una concentració més elevada de CPE que els trasplantats renal que no rebien aquest tractament. En aquest estudi no van trobar diferències significatives en la quantificació de CPE entre els pacients que rebien tractament amb corticoesteroides i el que no. Buztal M. et al.²¹³ van demostrar com la rapamicina disminuïa el nombre, inhibia la proliferació i la diferenciació de les CPE humanes *in vitro*, així com la seva apoptosi. També existeixen estudis *in vitro*^{214,215} que han demostrat un efecte antiproliferatiu del micofenolat a nivell de les cèl·lules musculars llises dels vasos.

2.6. Cèl·lules progenitores endotelials i malaltia cardiovascular en la malaltia renal crònica

Les CPE intervenen en els processos de reparació del sistema cardiovascular²¹⁶, de manera que qualsevol dany a nivell de la cèl·lula endotelial, serà l'estímul per al desenvolupament de la placa d'ateroma²¹⁷.

A partir dels resultats comentats anteriorment pel grup de Hill et al.¹⁷³ que demostraven com el nombre de CPE eren un millor predictor per a mesurar de manera no invasiva la funció endotelial en homes sans que la combinació de Framingham score risk, han aparegut estudis prospectius que afirmen que un nombre reduït de CPE són un factor predictor independent de futurs ECV i un factor independent de pitjor pronòstic, inclús després d'ajustar pels FRCV clàssics^{137,161}.

L'any 2005 Schmidt-Lucke C. et al.¹⁶¹ van publicar el primer estudi que demostrava com una reducció del nombre de CPE predeia de manera independent la progressió de la malaltia ateroscleròtica, i com el nombre de CPE era un predictor independent d'aparició de futurs ECV.

Donat que els pacients amb MRC representen una població d'alt risc pel que fa a l'aparició d'ECV²¹⁸, el grup de Lorenzen J. et al.²¹⁹ van analitzar si el nombre de CPE es correlacionava amb els FRCV clàssics en una cohort de 265 pacients amb MRC estadi 5 en HD i van analitzar també l'associació entre les CPE, l'aparició de nous ECV i la supervivència. Aquest grup va descriure una relació estadísticament significativa entre el nombre de CPE i l'aparició de nous ECV en els 265 pacients en HD després d'un període de seguiment de 36 mesos. En l'anàlisi de regressió logística per passos, on van incloure tots els FRCV clàssics, les CPE eren la única variable independent que s'associava a l'aparició de nous ECV.

3. HIPÒTESI

Les cèl·lules progenitores $CD34^+CD133^+VEGFR-2^+$ són un marcador de DE tant en la població sana com en els pacients amb MRC.

Aquestes cèl·lules presenten una alteració en la quantificació en sang perifèrica, fet que implica en aquests pacients, un augment del risc de complicacions cardiovasculars i un pitjor pronòstic.

4. OBJECTIUS

4.1. Objectius principals

1. Determinar la quantificació de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL dels pacients amb MRC en comparació a la població sana.
2. Analitzar en els pacients en HD crònica, la influència de l'AV en la quantificació de les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL.
3. Analitzar l'evolució de les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en el trasplantament renal de donant viu (TRDV).

4.2. Objectius secundaris

1. Identificar tots aquells factors que poden augmentar o disminuir les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en sang perifèrica tant en els pacients amb MRC com en la població sana.
2. Analitzar l'associació del tractament farmacològic dels principals FRCV i el nombre de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL.
3. Determinar si la quantificació de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺ /mL en els pacients amb MRC s'associa a la presència d'algun ECV.
4. Analitzar l'evolució de les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL als 6 mesos i 12 mesos després d'un TRDV en comparació als pacients que segueixen en HD crònica.
5. Analitzar la relació entre el nombre de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL amb l'aparició de rebuig agut o infecció per citomegalovirus en els pacients amb un TRDV.

5. PACIENTS I MÈTODES

5.1. Població a estudi

Els criteris d'inclusió i exclusió que es van aplicar per a realitzar la selecció de la població d'estudi van ser els següents:

Els criteris d'inclusió a l'estudi per a tots els grups van ser: edat major de 18 anys i acceptar participar en l'estudi a través de la firma del consentiment informat.

Posteriorment com a criteris d'inclusió específics per a cada grup, es van aplicar els següents:

1. Per al grup de pacients amb MRC en *HD*: pacients en HD crònica tres dies a la setmana i que havien iniciat HD com a mínim 12 mesos abans de la seva inclusió en l'estudi.
2. Per al grup de pacients amb MRC que es *trasplanten*: receptors d'un primer TR, en aquest cas de donant viu ABO compatible (donant també major de 18 anys) i que no havien iniciat cap tractament IS els dies previs al TR. Tots els trasplantats renals van rebre la mateixa pauta de tractament IS d'inducció segons el protocol del nostre hospital amb basiliximab, metilprednisolona, tacrolimus retard i àcid micofenòlic.

Els criteris d'exclusió a l'estudi per a tots els grups van ser: antecedents d'infecció activa, neoplàsia o haver presentat un ECV 6 mesos previs a la seva inclusió en l'estudi.

Els ECV es van definir com a malaltia isquèmica del cor (en forma d'IAM o angina de pit), ACV i vasculopatia perifèrica severa (amputació o simpatectomia).

Com a criteris d'exclusió específics de cada grup es van aplicar els següents:

1. En el *grup HD* es van excloure també els pacients que haguessin necessitat una reparació de l'AV (en cas que realitzessin HD a través

d'una FAVI) o un recanvi de l'AV (en cas que realitzessin HD a través d'un catèter tunelitzat) els 6 mesos previs a la seva inclusió en l'estudi.

2. En el grup de *TR* es van excloure els receptors d'un segon TR, receptors d'un TRDV creuat o receptors d'un TR de donant cadàver.
3. Del grup de *voluntaris sans* inclosos inicialment en l'estudi, es van excloure aquells que tenien antecedents d'algun FRCV clàssic: tabaquisme (n= 14), HTA (n= 2), DL (n= 9). Cap voluntari sa inclòs inicialment en l'estudi tenia antecedent de DM o cardiopatia isquèmica. Es va excloure també 1 voluntari sa que rebia tractament antihipertensiu (IECAS) i 7 que rebien tractament amb estatines.

Després d'aplicar els criteris d'inclusió i exclusió comentats prèviament, finalment es van seleccionar els següents grups d'individus:

1. Un grup de pacients amb MRC (n = 86), dels quals:
 - a. 73 pacients presentaven una MRC estadi 5 en tractament amb HD crònica en el nostre hospital o en un centre de diàlisi perifèric que depenia del nostre hospital.
 - b. 13 pacients amb MRC estadi 5 que ingressaven a la Unitat de Trasplantament Renal del nostre hospital per a rebre un TRDV.
2. Un grup de voluntaris sans (n = 62), format per personal sanitari del nostre hospital o parelles dels pacients inclosos en el grup d'estudi anterior. Segons els criteris d'inclusió i exclusió que s'han explicat anteriorment, finalment la població sana inclosa en l'estudi va ser de 39 controls sans.

La inclusió dels pacients en HD es va realitzar durant els anys 2012 i 2013. El seguiment per a l'anàlisi de la mortalitat i de la presència d'algun ECV es va realitzar durant un període de 24 mesos.

La inclusió dels pacients del grup TR es va realitzar durant l'any 2013, amb un seguiment de 12 mesos. Es va realitzar un anàlisi als 6 mesos i 12 mesos postTR.

Dels 86 pacients amb MRC, 44 eren fumadors (51,16%), 75 tenien HTA (87,21%), 44 tenien DL (51,16%), 22 tenien antecedents de DM (25,58%) i 24 tenien antecedents de cardiopatia isquèmica (27,91%).

En relació al tractament farmacològic dels 86 pacients amb MRC: 24 prenen inhibidors del SRAA (28,24%) (dels quals 11 prenen IECAS i 13 prenen ARA-II), 15 prenen antagonistes dels canals del calci (ACC) (17,65%), 29 prenen betebloquejants (34,12%), 41 prenen estatines (48,24%) i 56 prenen EPO (65,12%).

De tots els pacients amb MRC i els voluntaris sans inclosos en l'estudi es van recollir les dades antropomètriques, paràmetres d'hematimetria i bioquímica.

A través de citometria de flux es van quantificar les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL. L'obtenció de mostres per a la determinació de totes aquestes dades s'explica posteriorment en l'apartat 5.5 (Quantificació de les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL de sang perifèrica mitjançant citometria de flux).

5.2. Definició de les variables antropomètriques i factors de risc cardiovascular clàssics

L' IMC es va calcular segons la següent fórmula: pes (Kg) / talla (m²).

En relació al tabaquisme, el criteri per a no fumador va ser: no haver fumat mai en el passat; i el criteri de fumador va ser: fumar com a mínim 10-15 cigarretes al dia¹¹⁸.

La pressió arterial va ser mesurada segons les recomanacions de la Societat Europea d'Hipertensió (ESH) i la Societat Europea de Cardiologia (ESC) per a la mesura de la pressió arterial a la consulta: el pacient assegut, amb uns 3- 5 minuts de descans abans de determinar la pressió arterial. Es va utilitzar un manegot de tamany estàndard (12-13 cm d'ample) en tots els casos excepte els pacients amb una circumferència del braç > 32cm. El puny del braç del manegot es va col·locar a nivell del cor.

La pressió arterial es va considerar elevada si el valor de pressió arterial sistòlica (PAS) era ≥ 140 mmHg i la pressió arterial diastòlica (PAD) ≥ 90 mmHg en dues determinacions diferents, respectivament²²⁰.

La hipercolesterolèmia i la hipertrigliceridèmia es van definir com a concentracions plasmàtiques de colesterol total > 200mg/dL i concentracions de triglicèrids plasmàtics > 150mg/dl segons el Document del National Cholesterol Education Program – Adult Treatment Panel III (NCEP- ATP III)²²¹.

La DM es va definir com la presència de nivells de glucèmia sèrica en dejú > 126mg/dl en dues determinacions segons els criteris de la ADA²²².

5.3. Metodologia per a l'obtenció de mostres per a laboratori

Per a la quantificació de les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL així com per a realització de les analítiques per a hematimetria i bioquímica, les mostres de sang es va extreure per a tots els grups entre les 8:00h i les 9:00h del matí, després d'un mínim de 12 hores de dejuni.

Les mostres de sang del *grup HD* es van cursar el dia interdiàlisi (dimecres, en cas que els pacients realitzessin HD en torn de dilluns – dimecres – divendres; i el dijous, en cas que els pacients realitzessin HD en torn de dimarts – dijous – dissabte), prèviament a l'inici de la sessió de diàlisi.

Les mostres de sang del *grup TR* es van extreure el dia del TR, abans de baixar a quiròfan (mostra basal) i abans que de rebre qualsevol tipus de tractament IS.

Del grup TR es van obtenir també mostres de sang als 6 mesos i als 12 mesos postTR per tal de valorar la seva evolució durant el primer any postTR i també per comparar l'evolució dels pacients als 6 mesos i 12 mesos postTR respecte els pacients en programa d'HD.

Les mostres que corresponen als 6 mesos i 12 mesos postTR es van extreure qualsevol dia de la setmana entre les 7:00h i les 8:00h de matí, amb un dejuni també de com a mínim 12 hores i prèvia a la presa del tractament IS del dia que correspon a l'anàlisi.

Totes les extraccions analítiques van consistir en extreure dues mostres de sang venosa heparinitzada amb àcid etilen diamonió tetracètic (EDTA) i una mostra de sang sense anticoagulant, per tal d'obtenir sang total i sèrum respectivament.

Per a l'anàlisi inicialment de les cèl·lules CD34⁺ i a partir d'aquestes, les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺ es va extreure també un tub EDTA que posteriorment es va processar segons s'explica a l'apartat 5.5 (Quantificació de les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL de sang perifèrica mitjançant citometria de flux).

De tots els pacients es van emmagatzemar mostres per a seroteca i plasmateca per a futures determinacions.

5.4. Determinació dels paràmetres d'hematimetria i bioquímica

L'estudi de l'hemograma, incloent la determinació de l'hemoglobina, hematòcrit i leucòcits es va realitzar mitjançant l'anàlitzador Beckman Coulter, Hialeah SL, FL, USA.

Els paràmetres de glucèmia basal, les concentracions de calci i fòsfor, el colesterol total, colesterol HDL i triglicèrids es van determinar mitjançant l'analitzador de bioquímica COBAS c711, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany. Les concentracions de colesterol LDL es van calcular amb la fórmula de Friedewald ($LDLc = CT - (HDLc + TG/5)$ en mg/dl).

Per a la mesura de l'hemoglobina glicosilada (HbA1C) es va utilitzar una mostra de sang en un tub EDTA per cromatografia líquida a alta pressió, utilitzant un analitzador automatitzat Menarini ADAMS A_{1c} – HA – 8160 d'Arkray (Kyoto, Japó) amb un coeficient de variació interassaig (CV) de 1,9% i 1,2% de nivells de HbA1C de 4,8% i 9% respectivament (rang de referència: 4,0 – 5,8%).

La determinació de la creatinina del grup trasplantament renal es va realitzar mitjançant el mètode de Jaffé compensat, amb un coeficient de variació (CV) interassaig de 2,2 - 3,5%. Aquest mètode està automatitzat en un COBAS c711 de Roche.

La determinació de la prealbúmina es va realitzar per turbidimetria, Roche Diagnostics, amb un coeficient de variació interassaig (CV) de 3,4 – 4,6%. La determinació de l'albumina es va dur a terme mitjançant verd de Bromocresol (BCG) Modular analytics DP, Roche Diagnostics, amb un coeficient de variació interassaig (CV) de 1,8 – 2,5%.

La PCR es va determinar mitjançant immunoturbidimetria en el COBAS c711 (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany).

Les concentracions de PTH es van determinar mitjançant un immunoassaig immunomètric electroquimioluminiscent (ECLIA) a l'analitzador Modular Analytics E 170, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany. El límit de detecció és de 1,2 pg/mL i la imprecisió total de 5,0 – 5,4% a concentracions de 17,1pg/mL i 74,4pg/mL, respectivament.

Les concentracions de 25-hidroxivitamina D es van determinar mitjançant un immunoassaig per quimioluminiscència amb l'analitzador LIAISON de DiaSorin, MN; EE.UU. El límit de detecció és de 4ng/mL i la imprecisió total de 3,7% i de 7,7% a concentracions de 60ng/mL i 7,9ng/mL, respectivament.

Les concentracions de beta-2 microglobulina es van determinar per immunoassaig immunomètric quimioluminiscent amb l'analitzador Immulite 2000, Siemens Medical Solutions Diagnostics, LA, USA. El límit de detecció és de 4ug/L i la imprecisió total de 6,7% i 5,2% a concentracions de 24,3ng/mL i 68ng/mL, respectivament.

La determinació de la homocisteïna es va realitzar mitjançant un mètode d'immunoassaig immunomètric quimioluminiscent automatitzat en l'analitzador Immulite 2000XPi; Siemens Medical Solutions Diagnostics, LA, USA, IMMULITE. El límit de detecció és de 1,2µmol/L i la imprecisió total de 4,9% i 8,7% a concentracions de 23µmol/L i 8µmol/L, respectivament.

5.5. Quantificació de les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL mitjançant citometria de flux

Per tal de poder obtenir la quantificació de les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGR-2⁺ en sang perifèrica, primer de tot es van quantificar les cèl·lules que expressaven el marcador CD34⁺ i posteriorment, a partir d'aquestes cèl·lules, es va analitzar la freqüència i valor absolut de CD34⁺ que presentaven els següents marcadors: CD133⁺ i VEGFR-2⁺; tal i com s'explica a continuació.

5.5.1. Determinació i quantificació de les cèl·lules CD34⁺

La quantificació de les cèl·lules CD34⁺ en sang perifèrica es va realitzar a partir de mostres obtingudes de pacients, que van estar col·lectades en tubs EDTA amb 3ml de sang perifèrica. Les mostres van ser processades durant les primeres dues hores desde la venopunció¹³⁴.

Determinació del fenotip de les cèl·lules CD34⁺

De cada mostra obtinguda de sang perifèrica es van preparar dos tubs per a cada pacient.

El primer tub contenia 10µl d'anticòs monoclonal CD34PE (BD Biosciences) i 5µl d'anticòs monoclonal anti-CD45FITC (BD Biosciences). Mitjançant pipeteig revers es van afegir 100µl de sang perifèrica del pacient. El tub número 2 (tub control) contenia 10µl de control d'isotip-PE i 5µl de CD45 FITC, i s'hi van afegir 50µl de sang perifèrica. Aquest tub es va utilitzar com control negatiu per a la detecció de les cèl·lules CD34⁺.

Els dos tubs es van incubar durant 15 minuts a temperatura ambient i fosc. Posteriorment, s'hi van afegir 0.5ml de solució de lisis (concentració: una part de solució de lisis 10X i nou parts d'aigua destilada; PharmLyse, BD PharmingenTM). Es va barrejar novament mitjançant vòrtex i es va deixar incubant durant 10 minuts a temperatura ambient i fosc.

Finalment, i amb l'objectiu d'eliminar les cèl·lules no viables pel posterior anàlisi, es va afegir als dos tubs, 5µl de solució 7-ADD (7-amino-actinomicina, BD PharmingenTM).

Comptatge absolut de les cèl·lules CD34⁺

Per a la quantificació de les cèl·lules CD34⁺ es va utilitzar un sistema de beads de referència Perfect-Count MicroesferasTM (Cytogonos,SL).

Les microesferes (microbeads) Perfect-Count permeten un control intern de qualitat per assegurar la precisió dels resultats. El control de qualitat es basa en la presència de dos tipus de beads (tipus A i tipus B) seleccionades en funció de la seva diferent intensitat de fluorescència. La precisió de l'assaig es comprova verificant que la proporció dels dos tipus de beads, després de l'adquisició de la mostra coincideixen amb la indicada a cada lot (A:45-55%; B: 45-55%).

Al primer tub de determinació fenotípica s'hi van afegir mitjançant pipeteig revers 50µl de microesferes fluorescents, i es va realitzar una barreja posterior mitjançant vòrtex per a la seva posterior adquisició a través del citòmetre de flux. Finalment les mostres es van processar a través del citòmetre de flux (FACSCanto II, BD Biociències), adquirint un mínim de 100 cèl·lules CD34⁺. Per l'anàlisi i adquisició de les dades, es va utilitzar el Software BDFACSDiva (v.6.1.1).

Les cèl·lules CD34⁺ presenten el següent patró de tinció: CD34⁺, CD45 low, 7-ADD negatiu i dispersió de llum semblant als limfòcits – monòcits (Protocol ISHAGE)

Per a poder determinar el número absolut de cèl·lules CD34⁺ es va aplicar la fórmula descrita per la International Society of Hematotherapy and Graft Engineering (ISHAGE) guidelines^{223,224}.

$$\frac{\text{Nombre total de cèl·lules}}{\text{Nombre total de beads}} \times \text{Nombre de beads (fabricant)}$$

5.5.2. Determinació i quantificació de les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺

La determinació de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺ en sang perifèrica es va realitzar utilitzant dos tubs d'heparina sodi amb 8ml de sang perifèrica, amb gradient de densitat incorporat (Vacutainer CPT,BD). Les mostres es van processar en menys de dues hores des de la venopunció.

La mostra es va obtenir centrifugant els dos tubs d'heparina sodi a una velocitat de 1500g durant 15 minuts i una temperatura de 22°C. Posteriorment es va obtenir la fracció mononuclear amb una pipeta pasteur i es va resuspendre amb 14ml de PBS (solució buffer fosfat salina). Després es va centrifugar a una velocitat de 300g durant 10 minuts i una temperatura de 22°C. Un cop la mostra estava centrifugada, es decantava i es suspenia amb 1 ml de PBS-BSA (PBS+ BSA 0.5%). L'albumina bovina sérica, BSA, es va utilitzar per a la preservació de les cèl.lules durant el procés de separació cel.lular.

Posteriorment es van obtenir 50µl de la suspensió i es van col.locar en un tub de polipropilè junt amb 50µl de Perfect Count MicroesferesTM (Cytogenos S.L.) mitjançant pipeteig revers.

Les cèl.lules es van adquirir a través del citòmetre de flux (FACSCanto II, BD Biociències) sobre un comptatge total de 5000 beads Perfect Count.

Per a determinar el nombre total de cèl.lules/µl de sang perifèrica es va realitzar el següent càlcul:

$$\frac{\text{Nombre total de cèl.lules}}{\text{Nombre total de beads}} \times \text{Nombre de beads (fabricant)}$$

Mitjançant aquesta fórmula s'obté el nombre cèl.lules totals/µl de sang perifèrica, i cal ajustar posteriorment la concentració final a allò exigint pel CD34 MicroBead Kit.

La resta de mostra que queda es va centrifugar a una velocitat de 300g durant 5 minuts, una temperatura de 22°C i es va decantar fins que quedessin 300µl de la mostra. Posteriorment es va resuspendre bé i s'hi van afegir 100µl de FcR Blocking Reagent Human i 100 µl de CD34 MicroBead Kit Human, es va

barrejar mitjançant vòrtex i es va incubar durant 30 minuts a la nevera. Un cop finalitzat el temps d'incubació, s'hi van afegir 5ml de PBSA (PBS + BSA 0.5%) i es va centrifugar a una velocitat de 300g durant 5 minuts i una temperatura de 22°C, es va decanta la mostra i es resuspendre amb 500µl de PBSA. Finalment es va passar la mostra pel sistema automatitzat de separació de columnes AUTOMACS (MiltenyiBiotec).

Sistema de sepració de columnes AUTOMACS (MiltenyiBiotec).

L'AUTOMACS es compon d'una columna, un sistema de fluids i imants, que permeten retenir les cèl·lules marcades amb anticossos que porten conjugats a la seva estructura partícules paramagnètiques. El CD34 MicroBead Kit Human, permet que les cèl·lules CD34 quedin separades de la resta de cèl·lules mononuclears, degut a la presència d'aquests anticossos monoclonals específics per a CD34.

S'utilitza el programa Possel_S (positive selection in sensitive mode) que té una durada d'un minut / ml + 220 segons. Això permet obtenir dos volums: un volum (N1) de 2ml + fracció cel·lular mononuclear no marcada amb l'anticòs, i un segon volum (P1) de 2ml amb la fracció cel·lular de CD34.

Un cop obtinguda la mostra per l'AUTOMACS, es va centrigufar a una velocitat de 300g durant 5 minuts i una temperatura de 22°C i es va decantar el tub.

Amb la mostra obtinguda es van preparar dos tubs de 5ml per a la realització del fenotip. El tub número 1 s'utilitzava per a la detecció de les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR2⁺, i el tub número 2 s'utilitzava com a tub control per a determinar els criteris de positivitat:

- En el tub número 1 de FACS es van pipetejar 100µl de mostra (cèl·lules aïllades mitjançant AUTOMACS) junt amb 10µl CD34 FITC (BD Biociences), 5µl V450 Mouse (Anti-Human CD45), 15µl Mouse Anti-Human CD309 (VEGFR2+) i 10µl CD133 PE (AC133).

- En el tub número 2 de FACS es van pipetejar 50µl de la mostra (cèl·lules separades per AUTOMACS) i s'hi van afegir 10µl CD34 FITC (BD Biociences) i 5µl V450 Mouse (Anti-Human CD45).

Es van barrejar mitjançant vòrtex a intensitat 5-6 i es van incubar els dos tubs de FACS durant 15 minuts a temperatura ambient i fosc. Posteriorment es van afegir a cada tub 3ml PBS i es van centrifugar a velocitat 300g durant 5 minuts i temperatura 22°C.

Un cop centrifugats els tubs, es van decantar, s'hi van afegir 300µl de PBS a cada tub, es van barrejar i es van adquirir a través del citòmetre de flux (FACS Canto II, BD Biociences), analitzant tota la mostra fins esgotar-la, amb l'objectiu d'obtenir el màxim número de cèl·lules possibles.

El software que es va utilitzar va ser BD FACS Diva (v.6.1.1).

El patró fenotípic que presenten les cèl·lules detectades és: CD34⁺, CD133⁺, CD309⁺.

Veure figures 2 - 6.

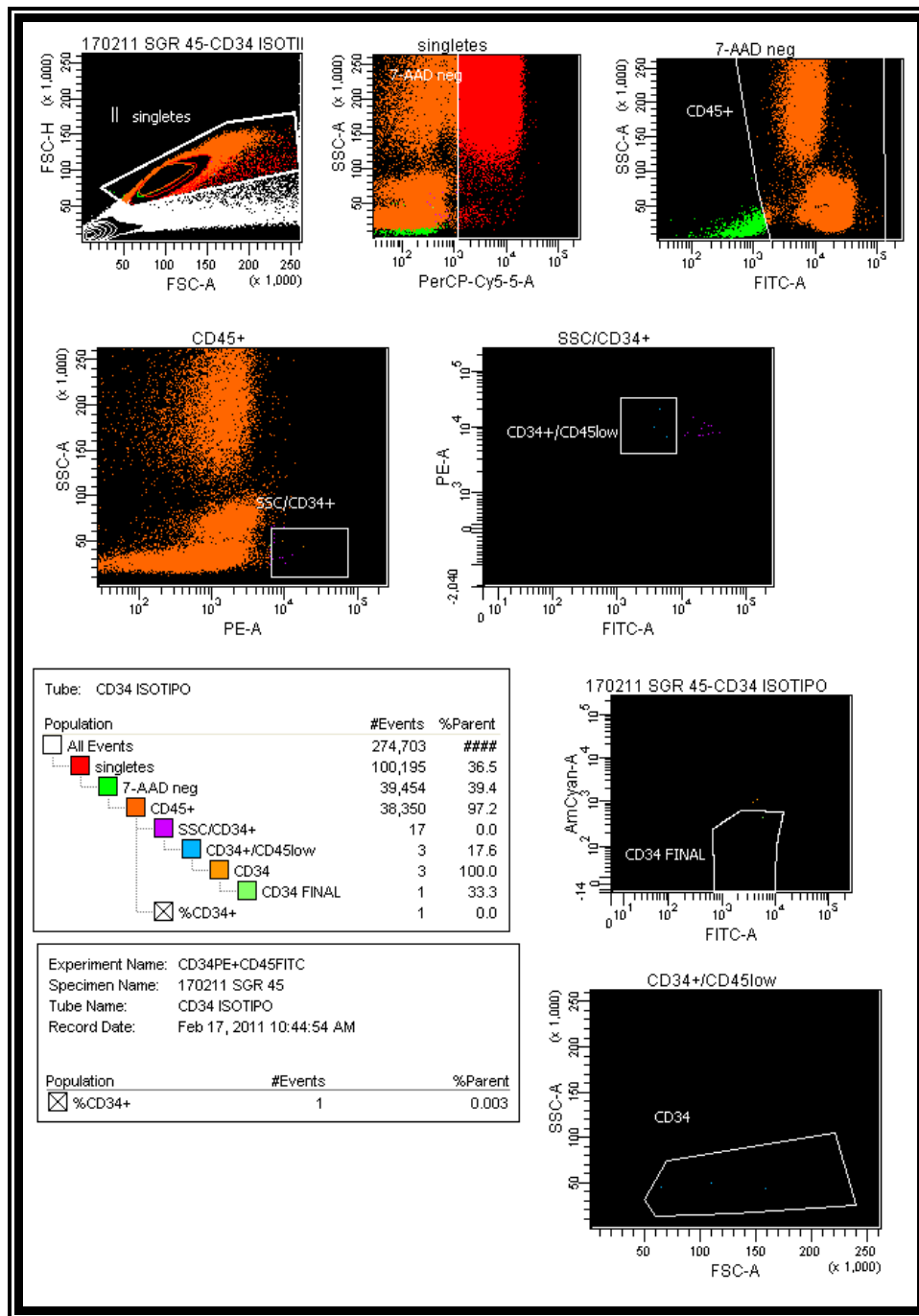


Figura 2. Esquema d'anàlisi del tub control, amb anticossos per CD45-FITC, isotip-PE i 7-AAD.

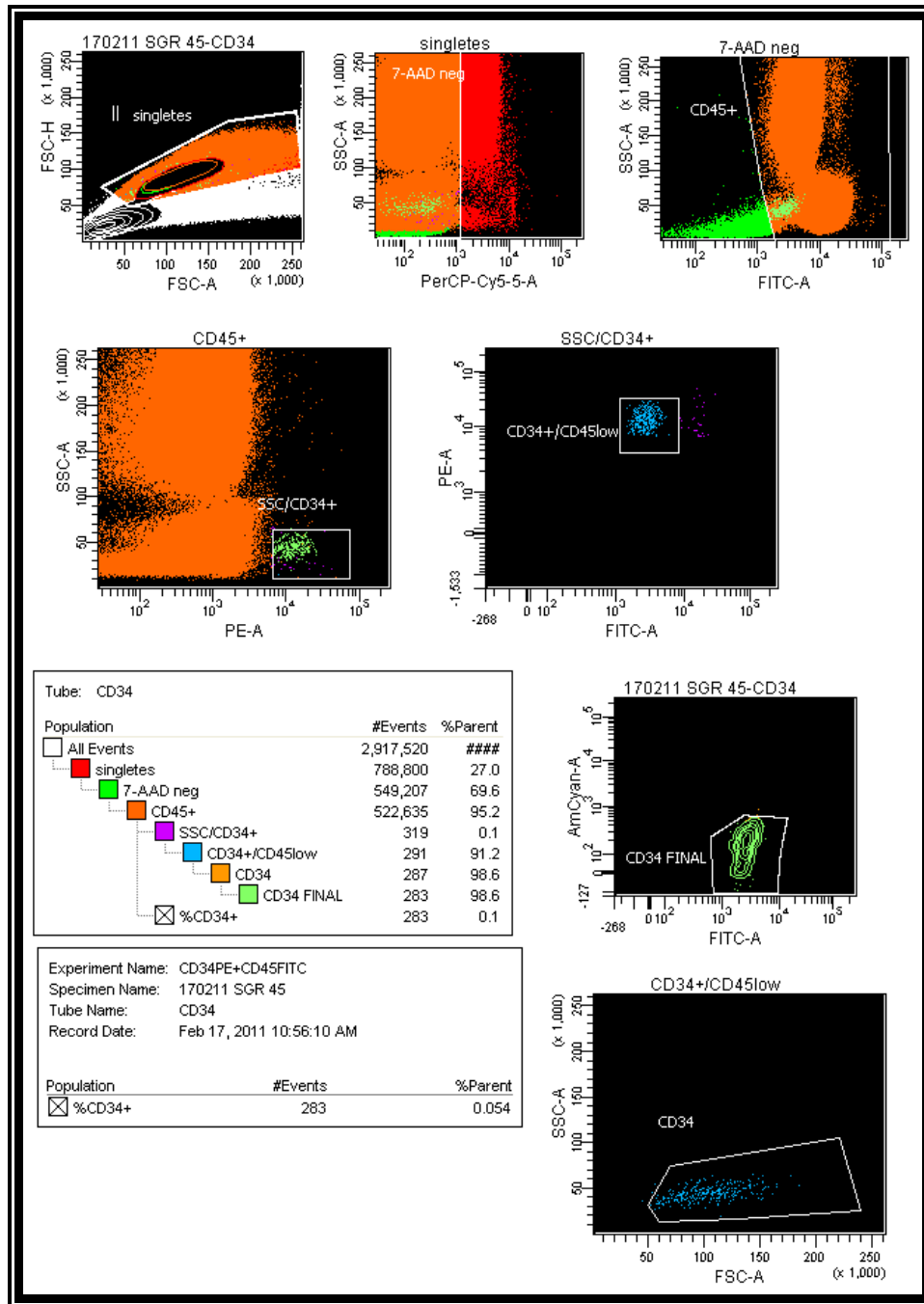


Figura 3. Esquema d'anàlisi de la mostra, amb anticossos per CD45-FITC, CD34-PE i 7-AAD (PerCP-Cy5.5).

Les cèl·lules CD34 tenen un patró fenotípic 7AAD negatiu, CD45 positiu (baixa expressió), CD34 positiu. Els dos últims gràfics (FITC vs AmCyan i FSC-A vs SSC-A) serveixen per excloure falsos positius.

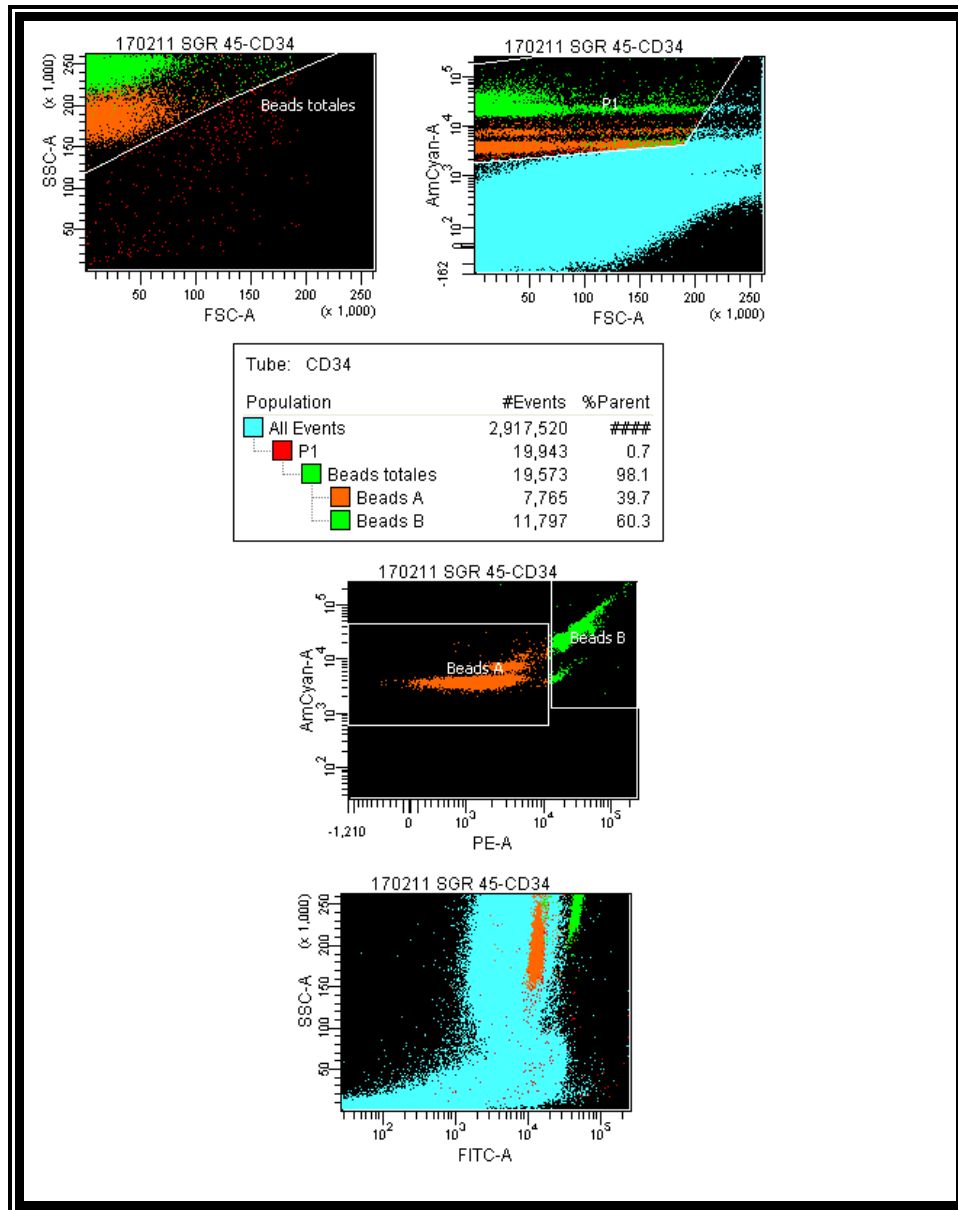


Figura 4. Anàlisi del valors absoluts amb beads PerfectCount.

Les beads es seleccionen amb dos gràfics (FSC-A vs SSC-A i FSC-A vs AmCyan-A) respecte la seva mida i fluorescència. El valor numèric de la finestra —Beads totales” serveix per calcular els valors absoluts de les poblacions CD34⁺.

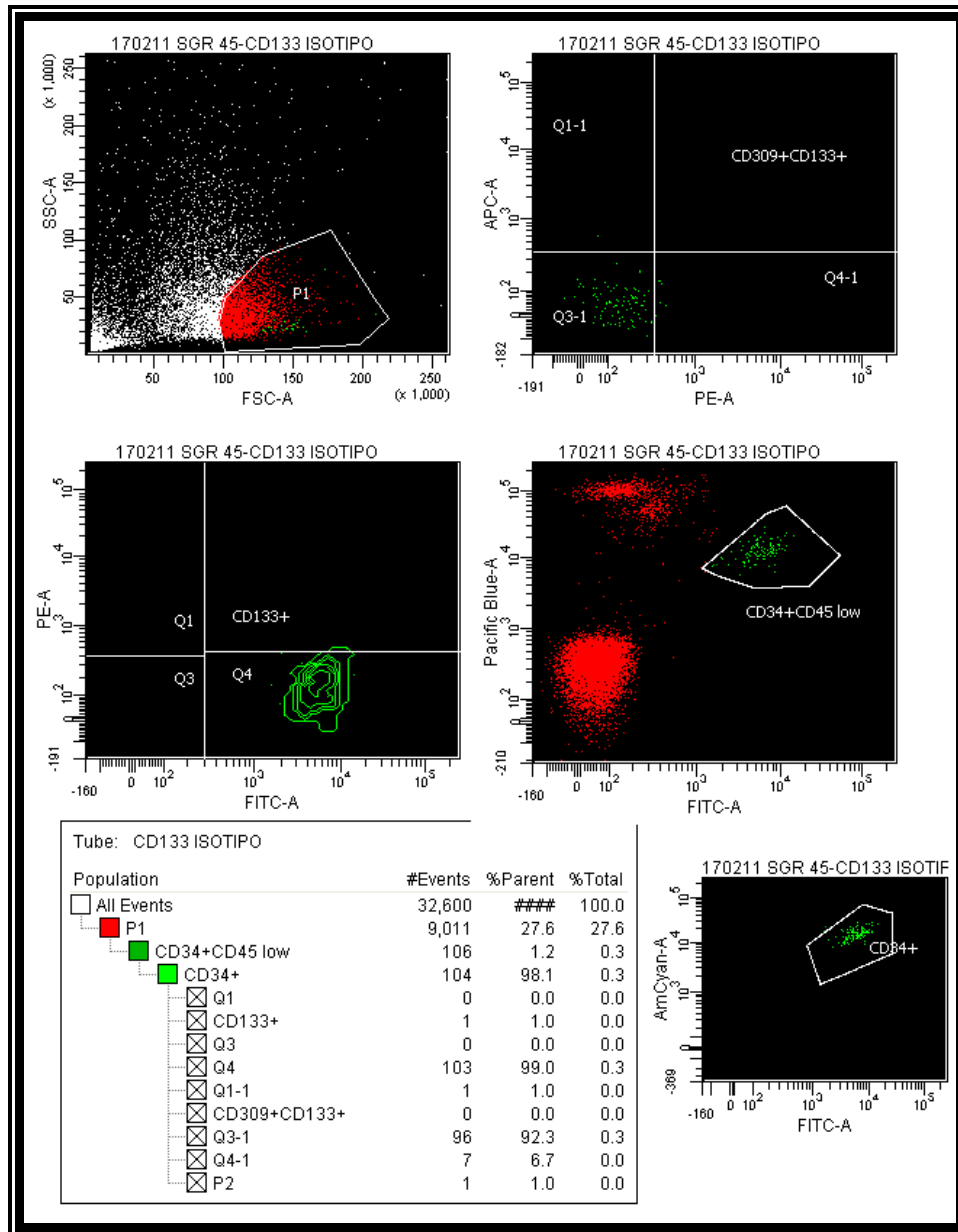


Figura 5. Anàlisi del tub control per l'antigen CD309 (APC-A) i CD133 (PE-A) de les cèl·lules CD34⁺ (FITC-A) i CD45⁺ (Pacific Blue-A).

Les cèl·lules CD34 es seleccionen en el gràfic FITC-A vs Pacific Blue-A.

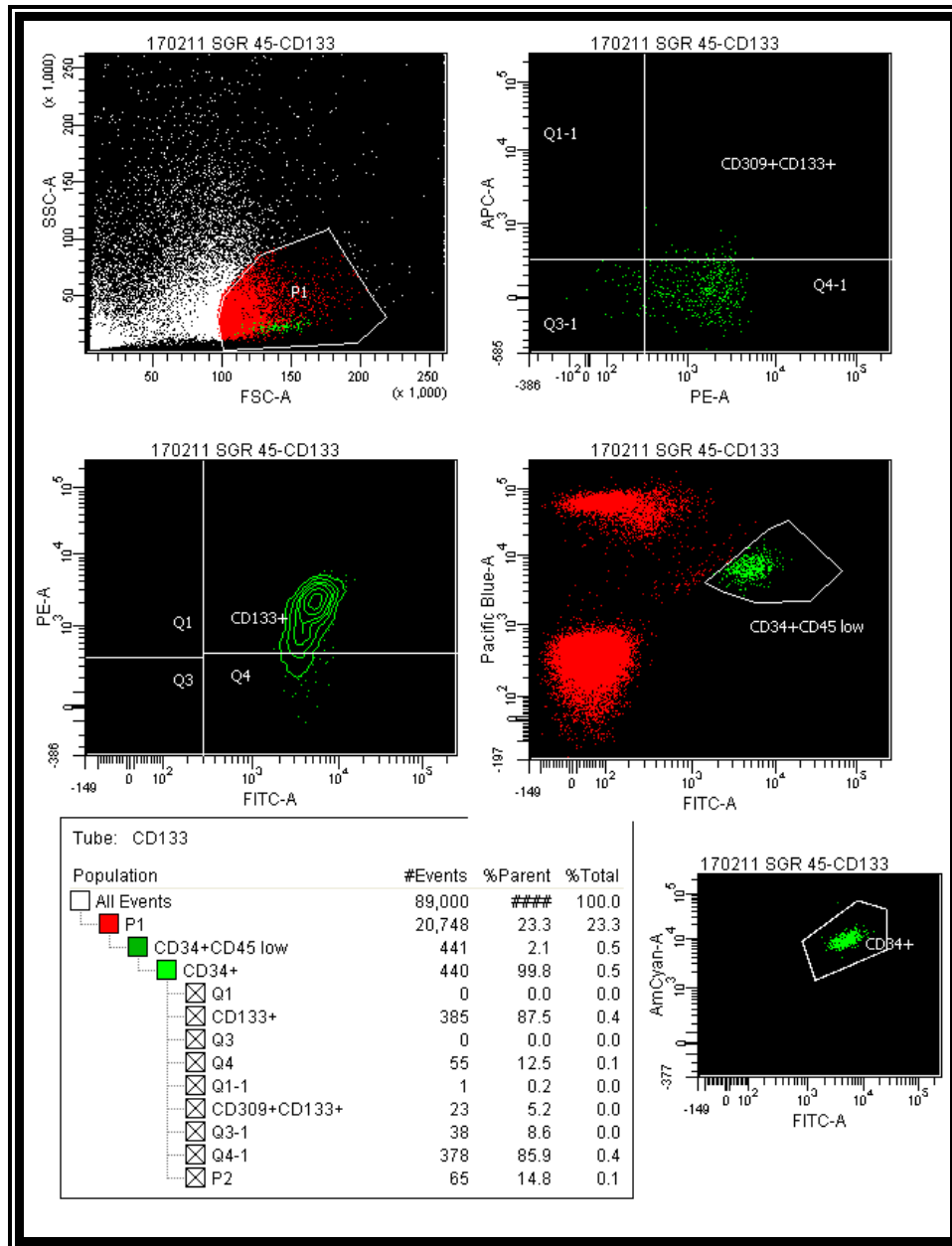


Figura 6. Anàlisi del tub per quantificar els antigens CD309 (APC-A) i CD133 (PE-A) de les cèl·lules CD34⁺ (FITC-A) i CD45⁺ (Pacific Blue-A).

Un cop quantificades les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL es van analitzar tots aquells factors que podien influir, incrementant o disminuint el seu nombre en sang perifèrica.

Posteriorment es van categoritzar les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en funció de la mediana de la població control i en funció de la mediana de la població amb MRC, per valorar les característiques dels diferents grups en funció de la quantificació de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en sang perifèrica.

5.6. Consentiment informat

Tots els voluntaris sans i tots els pacients van firmar el consentiment informat abans de ser inclosos en l'estudi.

5.7. Anàlisi estadístic

5.7.1. Anàlisi descriptiu de les variables

S'ha realitzat l'anàlisi descriptiu de les variables quantitatives i qualitatives. Els estadístics descriptius utilitzats són:

- a) Variables quantitatives: mitjana \pm desviació estàndard o mediana (rang interquartílic) segons el cas.
- b) Variables qualitatives: freqüències absolutes i relatives.

5.7.2.- Anàlisi bivariat

S'ha realitzat un anàlisi bivariat per comparar grups de pacients. Per a les comparacions entre grups es va realitzar, quan la variable fos quantitativa, la prova de normalitat de Kolmogorov-Smirnov per determinar la normalitat de la variable en cadascun dels grups a comparar.

Si la variable segueix una distribució normal es va realitzar la prova paramètrica t-test de comparació de mitjanes. En cas contrari, es va realitzar la prova no paramètrica de Mann-Whitney Wilcoxon de comparació de medianes.

En cas d'analitzar la relació entre dues variables qualitatives, es va realitzar la prova Chi-quadrat o test de Raó de versemblances segons els criteris d'aplicació.

5.7.3. Anàlisi longitudinal

Es va realitzar l'anàlisi longitudinal pel grup de pacients trasplantats renals.

Per a la comparació de les característiques quantitatives d'aquest grup de pacients en el moment basal, als 6 mesos i 12 mesos postTR, es va realitzar la prova paramètrica t-test per dades aparellades, si la variable seguia una distribució normal; o la prova no paramètrica dels rangs signats per dades aparellades, si la variable era quatitativa i no seguia una distribució normal.

Si la variable a comparar entre els instants de temps, era qualitativa es va realitzar el test de Mc Nemar.

Per a la comparació de les característiques quantitatives d'aquests pacients als 6 mesos i 12 mesos postTR respecte els pacients que es mantenien en hemodiàlisi, es va realitzar prova paramètrica t-test, si la variable seguia una distribució Normal; o la prova no paramètrica de Mann-Whitney Wilcoxon si la variable no seguia una distribució Normal.

Si la variable a comparar era qualitativa, es va realitzar el test Chi-quadrat o test de Raó de versemblances segons els criteris d'aplicació.

Per a les proves, s'ha fixat el nivell de significació al 0,05 (p valor $< 0,05$), tot i que també es presenten els resultats amb p valor $< 0,1$.

L'anàlisi de les dades s'ha realitzat mitjançant el software SAS, v9.3, SAS Institute Inc. NC, USA.

6. RESULTATS

6.1. Característiques basals de la població

6.1.1. Població control sana

6.1.1.1. Característiques antropomètriques

Dels 39 individus sans inclosos en l'estudi, el 76,92% eren dones i tenien una edat mitjana de $45,41 \pm 10,09$ anys. L'IMC, la PAS i la PAD estan expressades a la taula 4.

Taula 4. Característiques antropomètriques dels controls sans

CONTROLS (n=39)	
Gènere (n,% dones)	30 (76,92%)
Edat (anys)	$45,41 \pm 10,09$
IMC (Kg/m²)*	24,30 (22,57-26,39)
PAS (mmHg)	$114,36 \pm 10,02$
PAD (mmHg)	$69,64 \pm 6,97$

Mitjana \pm DE. * Mediana (primer quartil - tercer quartil).

IMC (Índex de massa corporal); PAS (pressió arterial sistòlica); PAD (pressió arterial diastòlica).

6.1.1.2. Quantificació de les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL

La mediana de la quantificació de les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en sang perifèrica dels controls sans s'expressa a la taula 5.

Taula 5. Quantificació de les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en els controls sans

CONTROLS (n=39)	
CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL	32,08 (17,26 – 66,41)

Mediana (primer quartil – tercer quartil).

6.1.1.3. Característiques analítiques

A la taula 6 s'expressen les principals dades analítiques de la població control sana.

Taula 6. Característiques bioquímiques basals de la població control sana.

CONTROLS (n=39)	
Hemoglobina (g/dl)	13,69 ± 1,29
Glucosa (mg/dl)*	87 (81-92)
HbA1C (%)*	5,4 (5,2-5,5)
Albúmina (g/dl)*	4,4 (4,2-4,5)
Prealbúmina (mg/dl)	22,65 ± 3,27
Calci (mg/dl)	9,33 ± 0,35
Fòsfor (mg/dl)	3,60 ± 0,48
Hormona paratiroidal (pg/mL)*	41,10 (29,4-51,6)
Colesterol total (mg/dL)	184,44 ± 37,78
Colesterol LDL (mg/dL)	108,01 ± 32,01
Colesterol HDL (mg/dL)*	61,73 (56,50-75,85)
Triglicèrids (mg/dL)*	61 (50-78)
Proteïna C reactiva (mg/L)*	0,84 (0,46-2,16)
Beta-2 microglobulina (mg/l)	1,4 (1,2-1,6)
Homocisteïna (umol/L)*	8,38 (6,57-9,43)

*Mitjana ± DE. * Mediana (primer quartil - tercer quartil).*

HbA1C (Hemoglobina glicosilada).

6.1.1.4. Mortalitat

Cap control sa va ser exitus durant el període d'estudi.

6.1.2. Pacients amb malaltia renal crònica

Es van seleccionar 86 pacients amb MRC, dels quals 73 estaven en programa d'HD i 13 rebien un TRDV.

6.1.2.1. Característiques antropomètriques

Dels pacients amb MRC, el 32,56% eren dones i tenien una edat mitjana de $60,53 \pm 15,19$ anys. Les característiques relacionades amb l'IMC, PAS i PAD estan expressades a la taula 7.

Taula 7. Característiques antropomètriques dels pacients amb malaltia renal crònica.

MRC (n=86)	
Gènere (n,% dones)	28 (32,56%)
Edat (anys)	60,53 \pm 15,19
IMC (Kg/m²)*	25,64 (22,10-28,48)
PAS (mmHg)	134,37 \pm 24,26
PAD (mmHg)	73,06 \pm 15,73

Mitjana \pm DE. * Mediana (primer quartil - tercer quartil).

MRC (malaltia renal crònica); IMC (index de massa corporal); PAS (pressió arterial sistòlica); PAD (pressió arterial diastòlica).

6.1.2.2. Etiologia de la malaltia renal crònica

En els pacients amb MRC en HD , les principals etiologies de la malaltia renal van ser: les glomerulonefritis (19,18%), la nefropatia diabètica (16,44%), la nefroangioesclerosi (10,96%), altres causes de MRC en un 10,96% dels casos (malaltia de Fabry, amiloïdosi, nefritis túbulo-intersticial, ús d'antiinflamatoris no esteroidals i fracàs renal agut secundari a procés sèptic), la poliquistosi renal (6,85%), les causes urològiques (6,85%), l'etiologia vascular (2,74%) i l'etiologia no filiada (26,03%).

Les principals etiologies de la MRC en els pacients que rebien un trasplantament renal van ser: les glomerulonefritis (61,54%), la nefroangioesclerosi (15,38%), altres causes de malaltia renal crònica (7,69%) i l'etiologia no filiada (15,38%). (Figura 7).

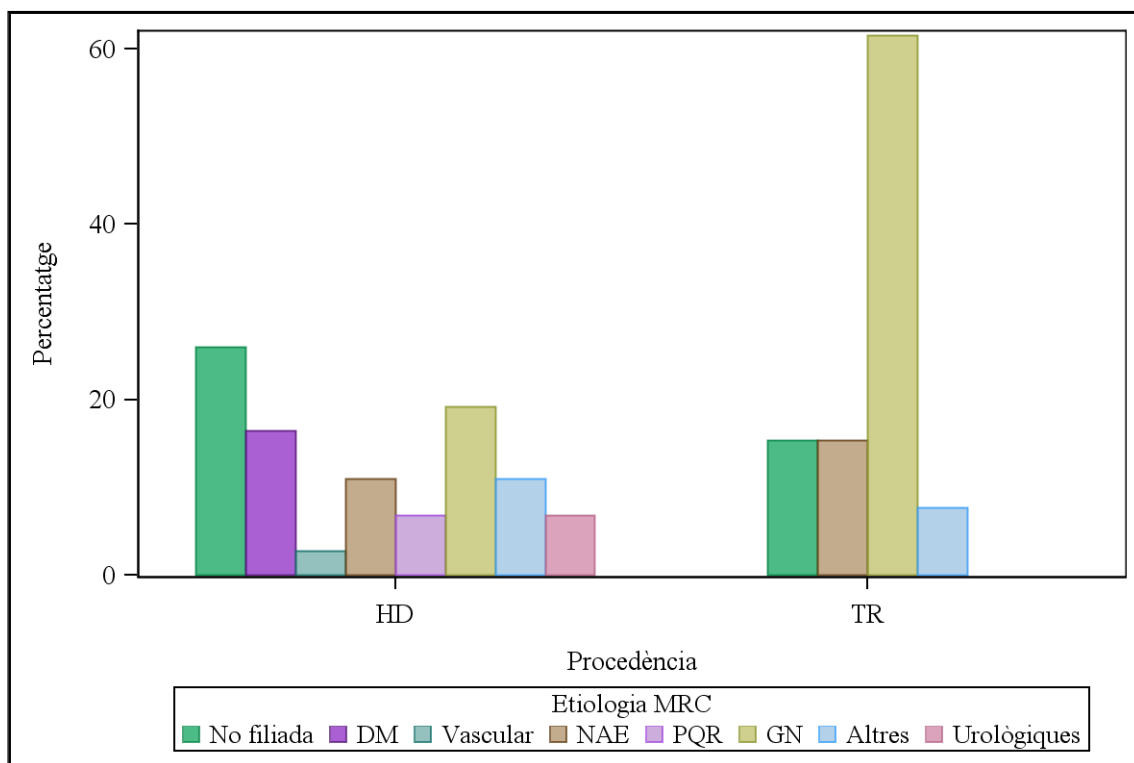


Figura 7. Etiologia de la malaltia renal crònica en els pacients en hemodiàlisi i trasplantats renals.

HD (hemodiàlisi); TR (trasplantament renal); DM (diabetes mellitus); NAE (nefroangioesclerosi); PQR (poliquistosi renal); GN (glomerulonefritis).

6.1.2.3. Quantificació de les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺

La mediana de la quantificació de les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en sang perifèrica dels pacients amb MRC s'expressa a la taula 8.

Taula 8. Quantificació de les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en la malaltia renal crònica.

MRC (n=86)	
CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL	27,96 (12,16 – 51,71)

Mediana (primer quartil – tercer quartil).

MRC (malaltia renal crònica).

6.1.2.4. Característiques analítiques

Les dades analítiques del grup de pacients amb MRC relacionades amb l'anèmia, metabolisme de la glucosa, paràmetres nutricionals, metabolisme del calci-fòsfor, metabolisme lipídic, marcadors inflamatoris i marcadors de risc cardiovascular, es poden observar a la taula 9.

Taula 9. Dades analítiques dels pacients amb malaltia renal crònica.

MRC (n=86)	
Hemoglobina (g/dl)	11,60 ± 1,47
Glucosa (mg/dl)*	96 (85-121)
HbA1C (%)*	5 (4,7-5,4)
Albúmina (g/dl)*	3,9 (3,7-4,4)
Prealbúmina (mg/dl)	27,77 ± 6,61
Calci (mg/dl)	9,21 ± 0,77

MRC (n=86)	
Fòsfor (mg/dl)	4,81 ± 1,35
Hormona paratiroidal (pg/mL)*	161 (106,5-258,8)
Colesterol total (mg/dL)	149,40 ± 32,65
Colesterol LDL (mg/dL)	78,33 ± 26,23
Colesterol HDL (mg/dL)*	45,09 (36,38-52,05)
Triglicèrids (mg/dL)*	99 (74-150)
Proteïna C reactiva (mg/L)*	5,03 (2,27-12,62)
Beta-2 microglobulina (mg/l)*	23,8 (14,85-34)
Homocisteïna (umol/L)*	18,7 (15,80-24,40)

Mitjana ± DE. * Mediana (primer quartil - tercer quartil).

MRC (malaltia renal crònica); HbA1C (Hemoglobina glicosilada).

6.1.2.5. Mortalitat

De tots els pacients amb MRC, 21 pacients van ser exitus durant el període d'estudi.

En un 58,3% dels pacients, la mort va ser de causa cardiovascular, mentre que la resta, el 41,7% dels pacients, la causa de la mort no va estar relacionada amb patologia cardiovascular.

6.1.3. Pacients trasplantats

Les dades antropomètriques, quantificació en sang perifèrica de les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL i les dades bioquímiques dels pacients en el moment del TR (dades basals) es descriuen a continuació.

6.1.3.1. Característiques antropomètriques

Dels 13 pacients que rebien un TR, el 38,46% eren dones i tenien una edat mitjana de $47,69 \pm 14,01$ anys. Les característiques relacionades amb l'IMC, PAS i PAD estan expressades a la taula 10.

Taula 10. Dades antropomètriques basals del grup trasplantament renal.

TR (n=13)	
Gènere (n,% dones)	5 (38,46 %)
Edat (anys)	$47,69 \pm 14,01$
IMC (Kg/m²)	$25,43 \pm 3,38$
PAS (mmHg)*	148 (146-162)
PAD (mmHg)	$86,69 \pm 14,17$

Mitjana \pm DE. * Mediana (primer quartil - tercer quartil).

TR (trasplantament renal); IMC (índex de massa corporal); PAS (pressió arterial sistòlica); PAD (pressió arterial diastòlica)

6.1.3.2. Quantificació de les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺ en el moment basal

La mediana de la quantificació de les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en sang perifèrica dels pacients previ TRDV s'expressa a la taula 11.

Taula 11. Quantificació de les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en el moment del trasplantament renal.

TR (n=13)	
CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL	33,87 (29,15 – 54,42)

Mediana (primer quartil – tercer quartil).

TR (trasplantament renal).

6.1.3.3. Característiques analítiques en el moment basal

Les dades analítiques basals dels 13 pacients en el moment de rebre el TR s'expressen a la taula 12.

Taula 12. Dades analítiques dels pacients trasplantats (dades basals)

TR (n=13)	
Hemoglobina (g/dl)	11,82 ± 1,22
Glucosa (mg/dl)*	85 (79-97)
HbA1C (%)*	5 (4,8-5,4)
Albúmina (g/dl)*	4,4 (3,8-4,7)
Prealbúmina (mg/dl)	34,42 ± 6,28
Calci (mg/dl)	9,28 ± 0,96
Fòsfor (mg/dl)	5,96 ± 1,07
Hormona paratiroidal (pg/mL)*	171,5 (130,8-304,4)
Colesterol total (mg/dL)	176,54 ± 36,06
Colesterol LDL (mg/dL)	101,58 ± 29,69
Colesterol HDL (mg/dL)*	48,92 (42,17-56,50)
Triglicèrids (mg/dL)*	99 (74-148)
Proteïna C reactiva (mg/L)*	1,42 (0,86-3,08)
Beta-2 microglobulina (mg/l)	14,25 ± 5,90
Homocisteïna (umol/L)*	25,4 (19,6-29,9)

Mitjana ± DE. * Mediana (primer quartil - tercer quartil).

TR (trasplantament renal); HbA1C (Hemoglobina glicosilada).

6.1.3.4. Mortalitat

Cap pacient trasplantat renal de donant viu va ser exitus durant el període d'estudi.

6.2. Cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺. Anàlisi dels factors que influeixen en la seva quantificació

6.2.1. Cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en la població sana

La mediana de la quantificació de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en el grup control sa tal i com s'ha expressat en el punt 6.1.1.2, va ser de 32,08 (17,26-66,41) cèl·lules/mL.

6.2.1.1. Correlacions entre variables antropomètriques, bioquímiques i les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL

a) Correlació entre edat i cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en els controls sans

L'edat no es correlacionava amb les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en els controls sans ($r = -0,018$; $p = 0,91$). (Figura 8).

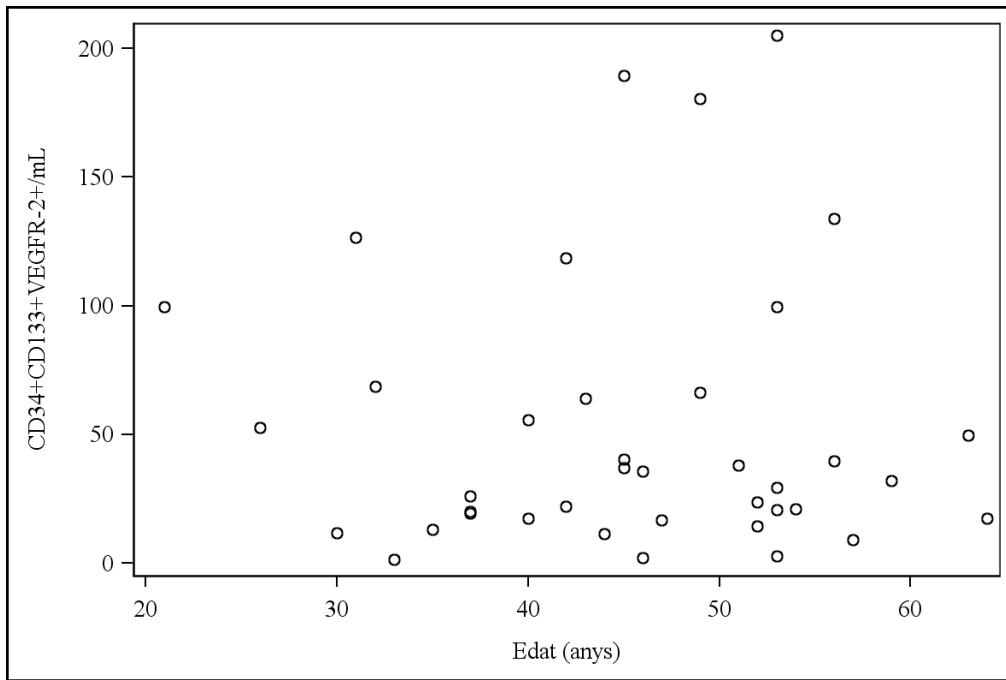


Figura 8. Gràfica de dispersió entre l'edat i les cèl·lules CD34⁺CD133⁺ VEGFR-2⁺/mL en els controls sans.

b) Associació entre el gènere i les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en els controls sans

Al analitzar l'efecte del gènere en el recompte de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en la població control sana, vam poder observar tal i com s'expressa a la taula 13 com, si bé les dones tenien una quantificació inferior de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL, aquestes diferències no eren estadísticament significatives (p=0,15).

Taula 13. Associació entre el gènere i cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL.

	CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL	p valor*
Dones	24,93 (14,48 – 66,41)	0,15
Homes	49,52 (39,66 – 64,11)	

Mediana (primer quartil - tercer quartil) * Test U Mann-Whitney

c) Correlacions entre dades antropomètriques i cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en els controls sans

La quantitat de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL de sang perifèrica no es correlacionava amb l'IMC ($r = -0.201$; $p=0,25$), la PAS ($r = -0,017$; $p = 0,93$) ni la PAD ($r = 0,021$; $p=0,91$) en la població control sana.

d) Correlacions de les dades bioquímiques i les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en els controls sans

Les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL no es correlacionaven amb els nivells d'hemoglobina ($r = 0,119$; $p=0,47$), glucosa ($r = -0,170$; $p=0,30$), HbA1C ($r=0,167$; $p=0,31$), albúmina ($r=0,022$; $p=0,89$), prealbúmina ($r = 0,308$; $p=0,06$), calci ($r = 0,057$; $p = 0,73$), fòsfor ($r = 0,144$; $p = 0,38$), PTH ($r = -0,016$; $p = 0,92$), colesterol total ($r = -0,015$; $p = 0,93$), colesterol-LDL ($r = -0,089$; $p = 0,59$), colesterol-HDL ($r = 0,007$; $p = 0,97$), triglicèrids ($r = 0,122$; $p = 0,46$), PCR ($r = -0,268$; $p = 0,10$), beta-2 microglobulina ($r = -0,294$; $p = 0,07$) ni homocisteïna ($r = -0,076$; $p = 0,65$) en el grup d'individus sans.

6.2.1.2. Estudi comparatiu del grup control sa en funció de la categorització de les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL

A partir del valor de la mediana de les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL del grup control sa es van dividir els controls sans en dos grups (inferior o superior a la mediana de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL) per valorar les principals diferències entre tenir menys o més quantitat de cèl·lules en sang perifèrica.

a) Dades antropomètriques en funció de la quantificació de les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en els controls sans

El 90% dels individus sans que tenien una quantificació de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL \leq 32,08/mL eren dones.

L'IMC dels controls sans era superior en el grup amb menys cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL.

No vam observar, tal i com s'expressa a la taula 14, diferències estadísticament significatives entre la resta de variables antropomètriques i el fet de tenir menys o més cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en sang perifèrica.

Taula 14. Dades antropomètriques dels controls sans en funció de la quantificació de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL categoritzada per la mediana.

	CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL		p valor
	\leq 32,08/mL (n=20)	$>$ 32,08/mL (n=19)	
Gènere(n,%dones)	18 (90%)	12 (63,16%)	0,065 **
Edat (anys)	46,25 \pm 9,57	44,53 \pm 10,80	0,601 ***
IMC (Kg/m²)	25,21 \pm 2,72	23,36 \pm 2,85	0,063 **
PAS (mmHg)*	110 (110-123)	116,5 (106-120)	0,957 ^
PAD (mmHg)	68,88 \pm 6,20	70,44 \pm 7,82	0,530 **

Mitjana \pm DE. *Mediana (primer quartil - tercer quartil). ** Test X2. *** t-test. ^ Test U Mann-Whitney.

IMC (índex de massa corporal); PAS (pressió arterial sistòlica); PAD (pressió arterial diastòlica)

b) Dades bioquímiques en funció de la quantificació de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en els controls sans

Al dividir els controls sans en funció de la mediana de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL vam observar com la PCR era de forma significativa més alta en els controls amb un número més baix de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL, tal i com podem observar a la taula 15 i a la figura 9.

La PTH i la beta-2 microglobulina també eren més elevades en els controls sans amb una quantificació de cèl·lules inferior a la mediana poblacional, essent també les diferències estadísticament significatives.

No vam observar diferències amb la resta de paràmetres bioquímics analitzats i tenir menys o més cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL.

Taula 15. Dades bioquímiques dels controls sans en funció de la quantificació de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL categoritzada per la mediana.

	CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR2 ⁺ /mL		p valor
	≤ 32,08/mL	> 32,08/mL	
Hemoglobina (g/dl)	13,31 ± 0,91	14,07 ± 1,53	0,073**
Glucosa (mg/dl)	87,05 ± 9,56	84,95 ± 9,63	0,498**
HbA1C (%)	5,39 ± 0,17	5,38 ± 0,22	0,924**
Albúmina (g/dl)*	4,3 (4,2-4,45)	4,4 (4,2-4,6)	0,553 [^]
Prealbúmina (mg/dl)	21,83 ± 2,42	23,48 ± 3,84	0,121**
Calci (mg/dl)	9,32 ± 0,38	9,33 ± 0,34	0,920**
Fòsfor (mg/dl)	3,60 ± 0,51	3,60 ± 0,46	0,953**
Hormona paratiroidal (pg/mL)	45,10 ± 13,61	36,50 ± 14,41	0,063**

CD34⁺CD133⁺VEGFR2⁺/mL			
	≤ 32,08/mL	> 32,08/mL	p valor
Colesterol total (mg/dL)	186,30 ± 43,66	182,47 ± 31,51	0,757**
Colesterol LDL (mg/dL)	114,66 ± 35,76	101,35 ± 27,08	0,204**
Colesterol HDL (mg/dL)	62,10 ± 10,65	66,46 ± 15,81	0,325**
Triglicèrids (mg/dL)*	63 (49,5-73,5)	61 (52-87)	0,513 [^]
Proteïna C reactiva (mg/L)*	1,32 (0,66-2,35)	0,52 (0,45-0,98)	0,040 [^]
Beta-2 microglobulina (mg/l)*	1,55 (1,35-1,7)	1,3 (1,2-1,5)	0,064 [^]
Homocisteïna (umol/L)*	8,42 (6,41-9,2)	7,98 (6,7-9,43)	0,933 [^]

Mitjana ± DE. *Mediana (primer quartil-tercer quartil). ** t-test. [^] Test U Mann-Whitney.

HbA1C (Hemoglobina glicosilada)

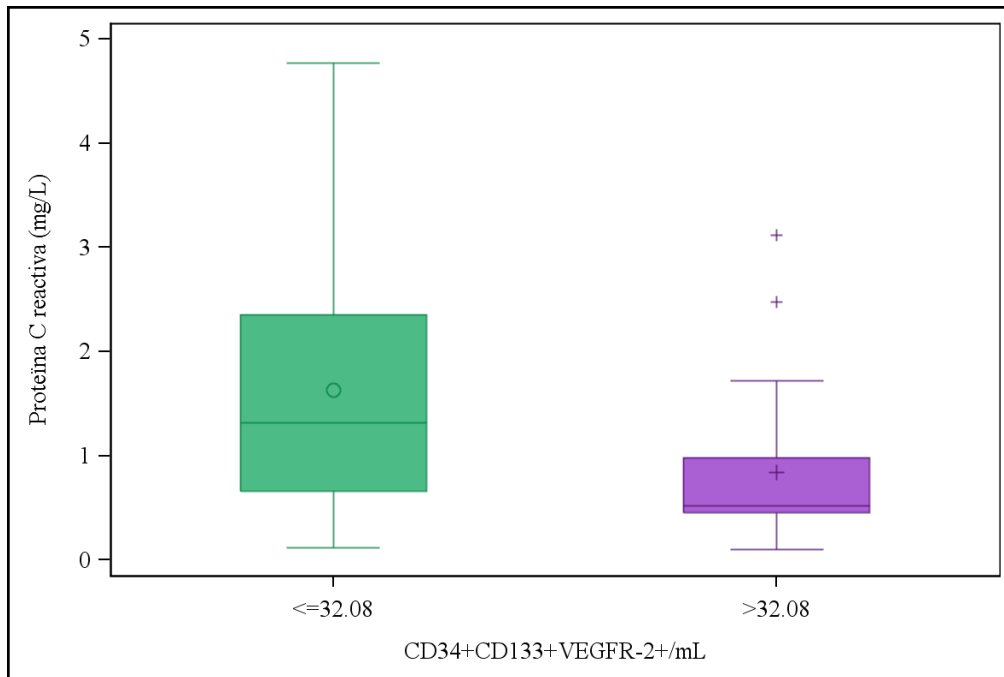


Figura 9. PCR en funció de les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL categoritzat segons la mediana pel grup control sa.

6.2.2. Cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en els pacients amb malaltia renal crònica

La mediana de la quantificació de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en els pacients amb MRC tal i com s'ha expressat en el punt 6.1.2.3, va ser de 27,96 (12,16 – 51,71) cèl·lules/mL.

6.2.2.1. Correlacions entre variables antropomètriques, bioquímiques i cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL

a) Correlació entre l'edat i les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en els malalts renals crònics

L'edat no es correlacionava amb les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺ en els pacients amb MRC ($r = -0,098$; $p = 0,37$). (Figura 10).

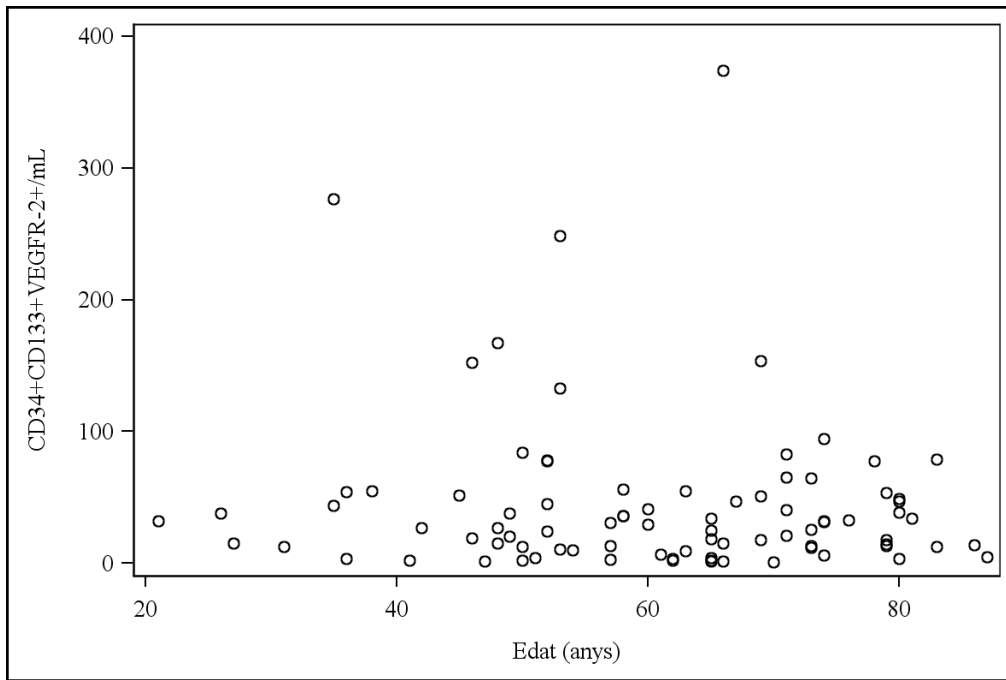


Figura 10. Gràfica de dispersió entre l'edat i les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en els pacients amb malaltia renal crònica.

b) Associació entre el gènere i les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en els malalts renals

Al analitzar l'efecte del gènere en el recompte de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en els pacients amb MRC, vam poder observar tal i com s'expressa a la taula 16 com les dones tenien una quantificació inferior de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL respecte els homes, tot i que les diferències no eren estadísticament significatives (p=0,79).

Taula 16. Associació entre el gènere i les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL.

	CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL	p valor*
Dones	26,63 (13,12 – 42,23)	0,79
Homes	30,07 (9,7 – 54,05)	

* Test U Mann-Whitney

c) Correlacions entre les dades antropomètriques i les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en els pacients amb malaltia renal crònica

No vam observar associacions entre l'IMC ($r = 0,155$; $p=0,17$), la PAS ($r = -0,032$; $p = 0,77$) i la PAD ($r = 0,064$; $p=0,56$) amb el recompte de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en sang perifèrica en els pacients amb MRC.

d) Associacions entre els factors de risc cardiovascular clàssics i les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL

Els pacients amb MRC i diabètics tenien de forma estadísticament significativa menys cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL respecte els pacients amb MRC no diabètics, tal i com podem observar a la taula 17 i figura 11.

No vam observar cap associació significativa amb el recompte de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL i la resta de FRCV clàssics.

Taula 17. Relació entre diabetes mellitus i cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en pacients amb malaltia renal crònica.

	CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL	p valor*
MRC i diabetes	13,35 (3,97 – 33,73)	0,024
MRC sense diabetes	32,48 (14,24-54,45)	

*Mediana (primer quartil - tercer quartil) * Test U Mann-Whitney*

MRC (malaltia renal crònica)

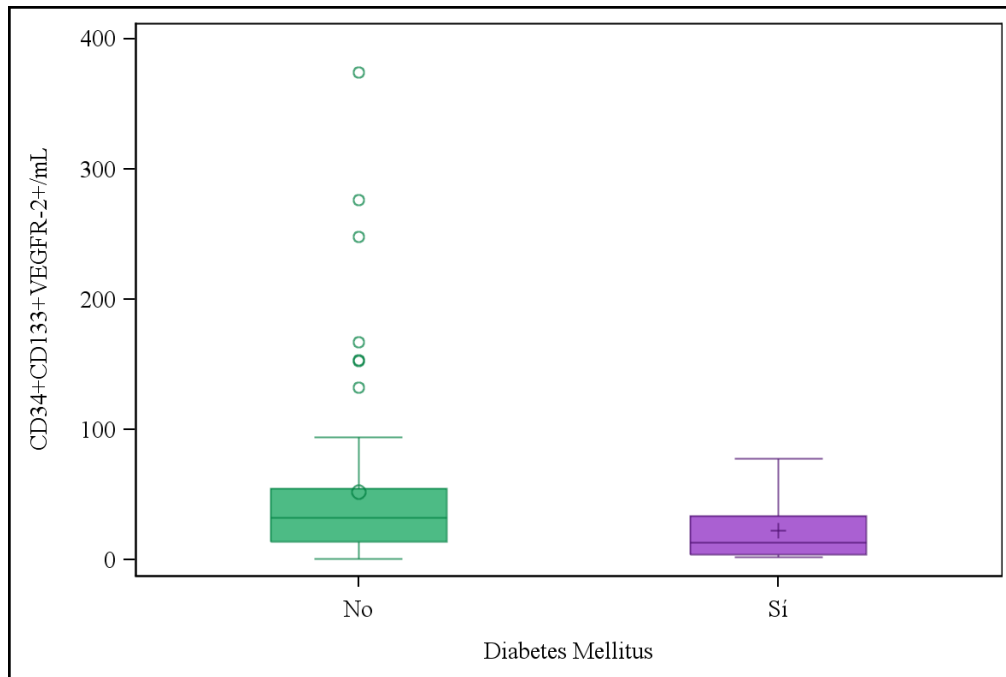


Figura 11. Diagrama de caixa entre diabetes mellitus i cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en pacients amb malaltia renal crònica.

e) Associacions entre els tractament farmacològics i les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL

No vam observar associacions entre els diferents tractament antihipertensius i les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL: SRAA ($p= 0,576$), ACC ($p= 0,169$), betabloquejants ($p= 0,524$) ni entre el tractament amb les estatines i les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL ($p= 0,307$).

En relació al tractament de l'anèmia associada a la MRC, vam observar que no existien diferències estadísticament significatives en funció de si els pacients rebien o no tractament amb EPO i la quantitat de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en sang perifèrica ($p=0,331$).

f) Correlacions de les dades analítiques i les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en els malalts renals crònics

No vam observar correlacions entre l'hemoglobina ($r = -0,050$; $p = 0,65$), glucosa basal ($r = -0,173$; $p = 0,11$), HbA1C ($r = -0,156$; $p = 0,15$), albúmina ($r = 0,112$; $p = 0,31$), prealbúmina ($r = 0,212$; $p = 0,06$), calci ($r = 0,097$; $p = 0,37$), fòsfor ($r = 0,164$; $p = 0,13$), PTH ($r = -0,098$; $p = 0,37$), colesterol total ($r = 0,114$; $p = 0,29$), colesterol-LDL ($r = 0,132$; $p = 0,24$), colesterol-HDL ($r = -0,141$; $p = 0,20$), triglicèrids ($r = 0,205$; $p = 0,06$), PTH ($r = 0,027$; $p = 0,81$), beta2microglobulina ($r = -0,031$; $p = 0,78$), homocisteïna ($r = 0,026$; $p = 0,81$) i la quantificació de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en sang perifèrica.

g) Mortalitat i cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL

Els pacients que van ser exitus tenien una quantificació de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL inferior (25,51 (13,27-48,60)) respecte els pacients que no van ser exitus (29,15 (12,13-51,71)), tot i que les diferències no van ser estadísticament significatives ($p = 0,768$).

6.2.2.2. Estudi comparatiu dels pacients amb malaltia renal crònica en funció de la categorització de les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL

A partir de la mediana de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL dels pacients amb MRC, es va dividir la població en dos grups, en funció de si tenien menys o més cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL.

a) Dades antropomètriques dels malalts renals crònics en funció de la quantificació de les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL categoritzada per la mediana

No vam observar diferències estadísticament significatives en relació a les variables antropomètriques en funció de la mediana de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en el grup de pacients amb MRC. (Taula 18).

Taula 18. Dades antropomètriques dels malalts renal en funció de la quantificació de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL categoritzada per la mediana.

	CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL		p valor
	≤ 27,96/mL (n=43)	> 27,96/mL (n=43)	
Sexe (n,%dones)	15 (34,88%)	13 (30,23%)	0,645 **
Edat (anys)	60,93 ± 14,65	60,14 ± 15,88	0,811 ***
IMC (Kg/m²)	26,00 ± 5,45	26,01 ± 4,96	0,992 ***
PAS (mmHg)*	132 (114-148)	135 (119-153)	0,447 [^]
PAD (mmHg)	70,28 ± 16,84	75,84 ± 14,15	0,102 **

Mitjana ± DE. *Mediana (primer quartil - tercer quartil). ** Test X². *** t-test. [^] Test U Mann-Whitney.

IMC (índex de massa corporal); PAS (pressió arterial sistòlica); PAD (pressió arterial diastòlica)

b) Factors de risc cardiovascular i tractament farmacològic en funció de la mediana de CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en els malalts renals crònics

El percentatge de pacients diabètics amb MRC (34,88%) era significativament superior en el grup de pacients amb una quantificació inferior de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL respecte els pacients diabètics amb MRC (16,28%) que tenien una quantitat superior de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL. (Figura 12).

No vam observar diferències significatives en relació als altres FRCV.

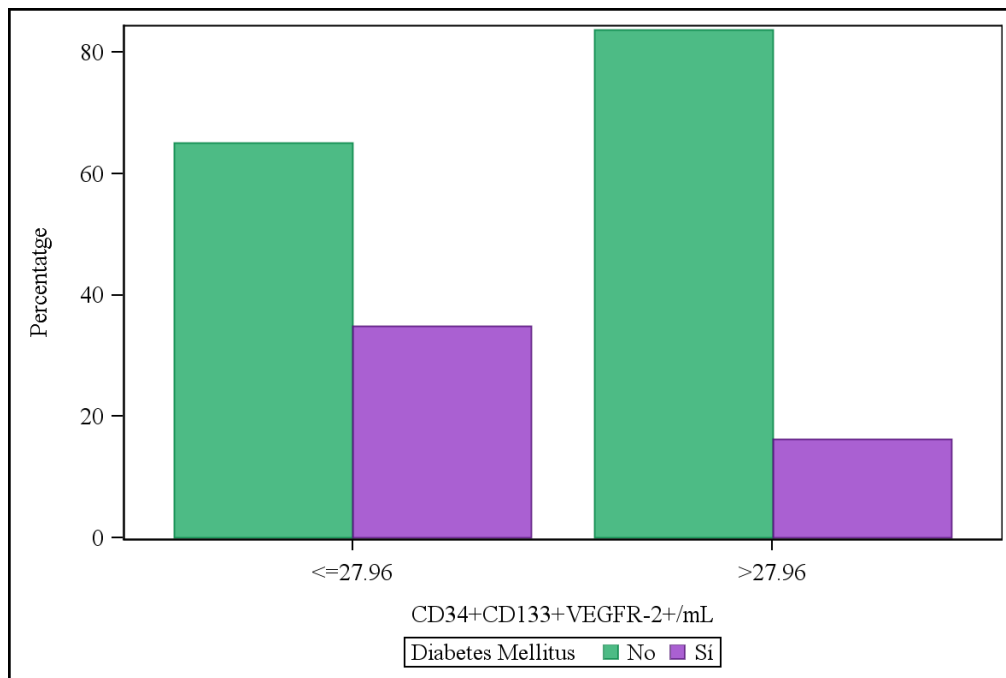


Figura 12. Distribució dels pacients amb malaltia renal crònica i diabetes respecte la variable CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL categoritzada en funció de la mediana.

En relació al tractament farmacològic, vam observar com el 27,91% dels pacients que prenen ACC tenien un recompte de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL superior a la mediana poblacional, en relació al 7,14% dels pacients que prenen ACC i tenen un recompte inferior, essent les diferències estadísticament significatives ($p=0,018$). (Figura 13).

No vam poder observar diferències estadísticament significatives amb la resta de tractament farmacològics.

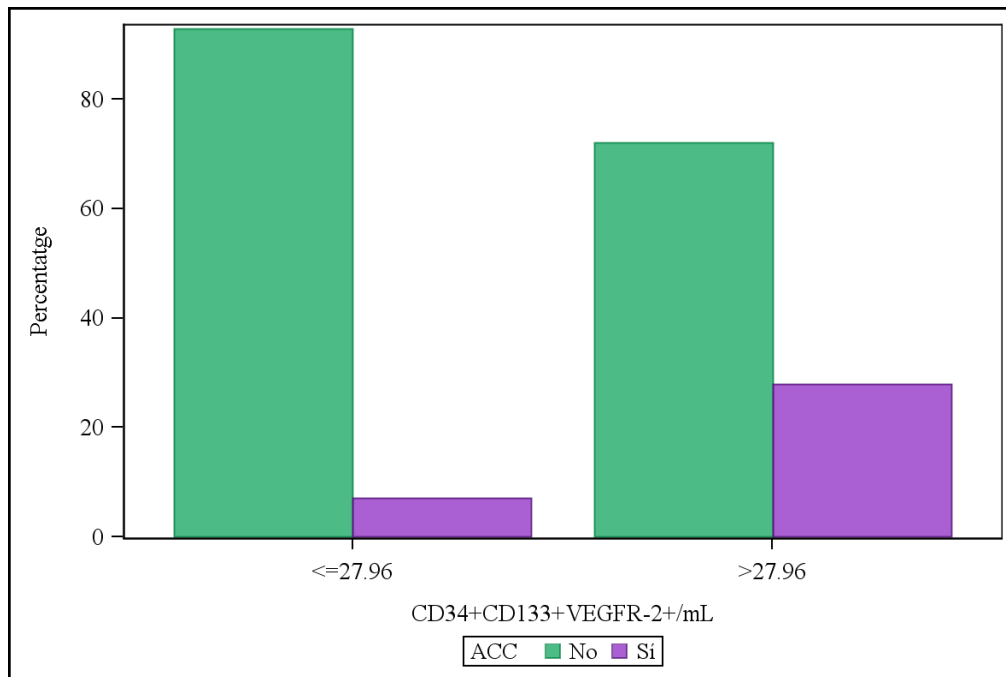


Figura 13. Distribució de pacients en tractament amb antagonistes dels canals del calci respecte la variable $CD34^+CD133^+VEGFR-2^+/mL$ categoritzada en funció de la mediana.

c) Dades bioquímiques en funció de la quantificació de cèl·lules $CD34^+CD133^+VEGFR-2^+/mL$ categoritzada per la mediana en els pacients amb malaltia renal crònica

Els pacients amb MRC que presenten valors de $CD34^+CD133^+VEGFR-2^+/mL$ inferior a la mediana poblacional, són pacients que presenten uns nivells de prealbúmina més baixos ($p= 0,059$), una PTH més elevada ($p= 0,064$) i uns valors d'homocisteïna més baixos ($p=0,020$) en relació als pacients amb valors de $CD34^+CD133^+VEGFR-2^+/mL$ superiors a la mediana poblacional, tal i com podem observar a la taula 19.

No vam observar diferències estadísticament significatives amb la resta de paràmetres bioquímics al categoritzar el $CD34^+CD133^+VEGFR-2^+/mL$ per la mediana.

Taula 19. Dades bioquímiques dels malalts renals en funció de la quantificació de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL categoritzada per la mediana.

CD34⁺CD133⁺VEGFR2⁺/mL			
	≤ 27,96mL (n=43)	> 27,96/mL (n=43)	p valor
Hemoglobina (g/dl)	11,68 ± 1,51	11,52 ± 1,44	0,610**
Glucosa (mg/dl)*	96 (83-121)	96 (87-121)	0,907 ^
HbA1C (%)*	5 (4,8-5,6)	5 (4,7-5,3)	0,802 ^
Albúmina (g/dl)*	3,9 (3,7-4,2)	3,9 (3,8-4,4)	0,354 ^
Prealbúmina (mg/dl)	26,37 ± 5,86	29,13 ± 7,06	0,059 **
Calci (mg/dl)	9,13 ± 0,84	9,28 ± 0,70	0,372 **
Fòsfor (mg/dl)	4,63 ± 1,12	4,99 ± 1,54	0,222 **
Hormona paratiroidal (pg/mL)*	197,45 (122,4-297,3)	139,1 (101,40-225,60)	0,064 ^
Colesterol total (mg/dL)	143,95 ± 31,34	154,84 ± 33,39	0,123 **
Colesterol LDL (mg/dL)	73,82 ± 26,85	83,07 ± 25,02	0,111 **
Colesterol HDL (mg/dL)*	44,89 (39,00–51,00)	45,28 (35,60-52,63)	0,782 ^
Triglicèrids (mg/dL)*	95 (71-139)	99 (76-164)	0,486 ^
Proteïna C reactiva (mg/L)*	5,18 (2,27-13,54)	5,01 (1,91-11,14)	0,705 ^
Beta-2 microglobulina (mg/l)*	24,15 (15-33,80)	23,45 (14,7-34,1)	0,605 ^
Homocisteïna (umol/L)*	17,2 (14,9-23,1)	21,4 (17,2-27,4)	0,020 ^

Mitjana ± DE. *Mediana (primer quartil - tercer quartil). ** t-test. ^ Test U Mann-Whitney.

HbA1C (Hemoglobina glicosilada)

c) Mortalitat en funció dels valors de CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL i malaltia renal crònica

No vam observar diferències estadísticament significatives en relació a la mortalitat en els pacients amb MRC i la quantificació de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL categoritzada per la mediana (p= 0,802).

6.3. Característiques dels pacients amb malaltia renal crònica comparat amb els controls sans

6.3.1. Diferències en la quantificació de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL

Els pacients amb MRC tenen un nombre inferior de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en sang perifèrica respecte la població d'individus sans, tot i que les diferències no són estadísticament significatives (p=0,23). (Taula 20 i figura 14).

Taula 20. Quantificació de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL dels malalts renals crònics en comparació amb els controls sans.

	MRC (N= 86)	CONTROL (N = 39)	p valor
CD34 ⁺ CD133 ⁺	27,96	32,08	0,23 *
VEGFR-2 ⁺ /mL	(12,16-51,71)	(17,26-66,41)	

Mediana (primer quartil - tercer quartil). * Test U Mann-Whitney

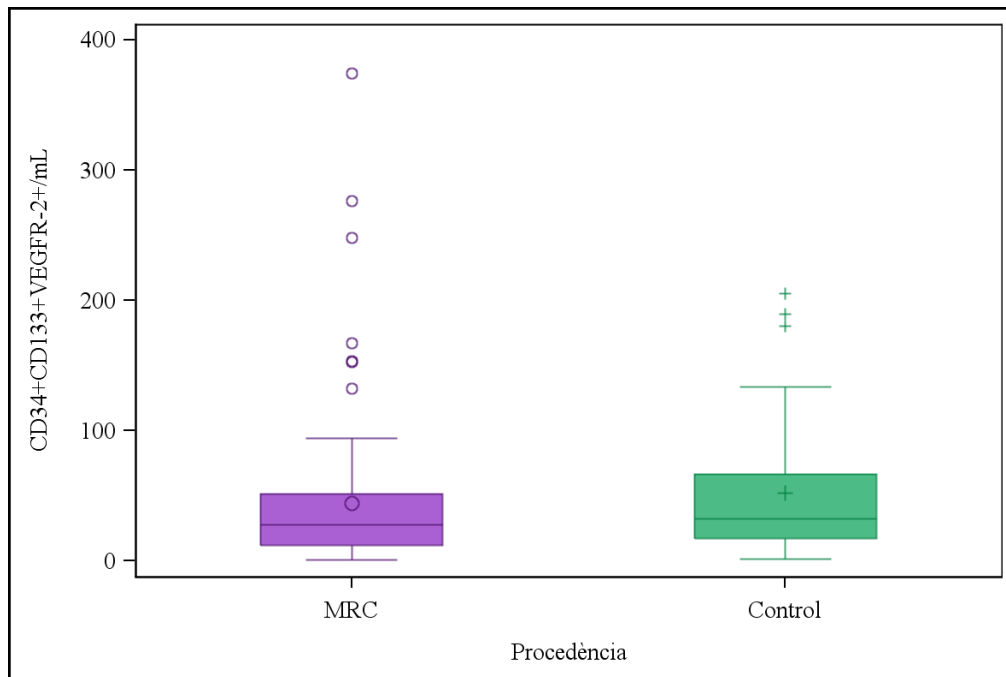


Figura 14. Diagrama de caixa de la variable $CD34^+CD133^+VEGFR-2^+/mL$ per a malaltia renal crònica i control.

6.3.2. Diferències antropomètriques

Vam observar diferències estadísticament significatives entre els pacients amb MRC i els controls sans en relació al gènere ($p < 0,001$), edat ($p < 0,001$) i valors de PAS ($p < 0,001$), tal i com s'expressa a la taula 21; no existint diferències estadísticament significatives en relació a l'IMC i en relació als nivells de PAD.

Taula 21. Diferències antropomètriques entre els pacients amb malaltia renal crònica i el grup control.

	MRC (N = 86)	CONTROLS (N = 39)	p valor
Gènere(n,%dones)	28 (32,56%)	30 (76,92%)	< 0,001 **
Edat (anys)	60,53 ± 15,19	45,41 ± 10,09	< 0,001 ***
IMC (Kg/m²)*	25,64 (22,10-28,48)	24,30 (22,57-26,39)	0,112 ^
PAS (mmHg)	134,37 ± 24,26	114,36 ± 10,02	< 0,001 ***
PAD (mmHg)	73,06 ± 15,73	69,64 ± 6,97	0,104 ***

Mitjana ± DE. *Mediana (primer quartil - tercer quartil). ** Test X2. *** t-test. ^ Test U Mann-Whitney.

MRC (malaltia renal crònica); IMC (index de massa corporal); PAS (pressió arterial sistòlica); PAD (pressió arterial diastòlica)

6.3.3. Diferències bioquímiques

Vam observar diferències estadísticament significatives entre els pacients amb MRC i els controls sans en totes les variables bioquímiques analitzades ($p < 0,001$) i que es poden observar a la taula 22, a excepció dels nivells de calcèmia, que no eren diferents entre els dos grups.

Taula 22. Diferències bioquímiques entre els malalts renals crònics i el grup control sa.

	MRC (N = 86)	CONTROL (N = 39)	p valor
Hemoglobina (g/dl)	11,60 ± 1,47	13,69 ± 1,29	< 0,001 **
Glucosa (mg/dl)*	96 (85-121)	87 (81-92)	< 0,001 ^
HbA1C (%)*	5 (4,7-5,4)	5,4 (5,2-5,5)	< 0,001 ^

	MRC (N = 86)	CONTROL (N = 39)	p valor
Albúmina (g/dl)*	3,9 (3,7-4,4)	4,4 (4,2-4,5)	< 0,001 ^
Prealbúmina (mg/dl)	22,65 ± 3,27	27,77 ± 6,61	< 0,001 **
Calci (mg/dl)	9,21 ± 0,77	9,33 ± 0,35	0,241 **
Fòsfor (mg/dl)	4,81 ± 1,35	3,60 ± 0,48	< 0,001 **
Hormona paratiroidal (pg/mL)*	161 (106,5-258,8)	41,10 (29,4-51,6)	< 0,001 ^
Colesterol total (mg/dL)	149,40 ± 32,65	184,44 ± 37,78	< 0,001 **
Colesterol LDL (mg/dL)	78,33 ± 26,23	108,01 ± 32,01	< 0,001 **
Colesterol HDL (mg/dL)*	45,09 (36,38-52,05)	61,73 (56,50-75,85)	< 0,001 ^
Triglicèrids (mg/dL)*	99 (74-150)	61 (50-78)	< 0,001 ^
Proteïna C reactiva (mg/L)*	5,03 (2,27-12,62)	0,84 (0,46-2,16)	< 0,001 ^
Beta-2 microglobulina (mg/l)*	23,8 (14,85-34)	1,4 (1,2-1,6)	< 0,001 ^
Homocisteïna (umol/L)*	18,7 (15,80-24,40)	8,38 (6,57-9,43)	< 0,001 ^

Mitjana ± DE. *Mediana (primer quartil - tercer quartil). ** t-test. ^ Test U Mann-Whitney.

MRC (malaltia renal crònica); HbA1C (Hemoglobina glicosilada).

6.4. Pacients amb malaltia renal crònica en hemodiàlisi. Diferències en funció de l'accés vascular

Per analitzar el grup de pacients en HD vam agrupar els 73 pacients en HD crònica i els 7 pacients que estan en programa d'HD previ trasplantament renal.

L'AV utilitzat per a realitzar l'HD era la FAVI en un 73,75% dels casos (n=59) i el catéter tunelitzat jugular en el 26,25% dels casos (n=21).

6.4.1.- Quantificació de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en funció de l'accés vascular

Els pacients que realitzaven HD a través d'un catéter tunelitzat tenien un recompte de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL inferior respecte els pacients que realitzaven HD a través d'una FAVI; tot i que les diferències no eren estadísticament significatives (p=0,191). (Taula 23 i figura 15).

Taula 23. Diferències en el nombre de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en funció de l'accés vascular.

	FAVI (N = 59)	CATÉTER (N= 21)	p valor
CD34⁺ CD133⁺ VEGFR-2⁺/mL	32,90 (9,7–54,49)	17,50(12,41–30,98)	0,191 *

*Mediana (primer quartil - tercer quartil) * Test U Mann- Whitney*

FAVI (fistula arteriovenosa interna)

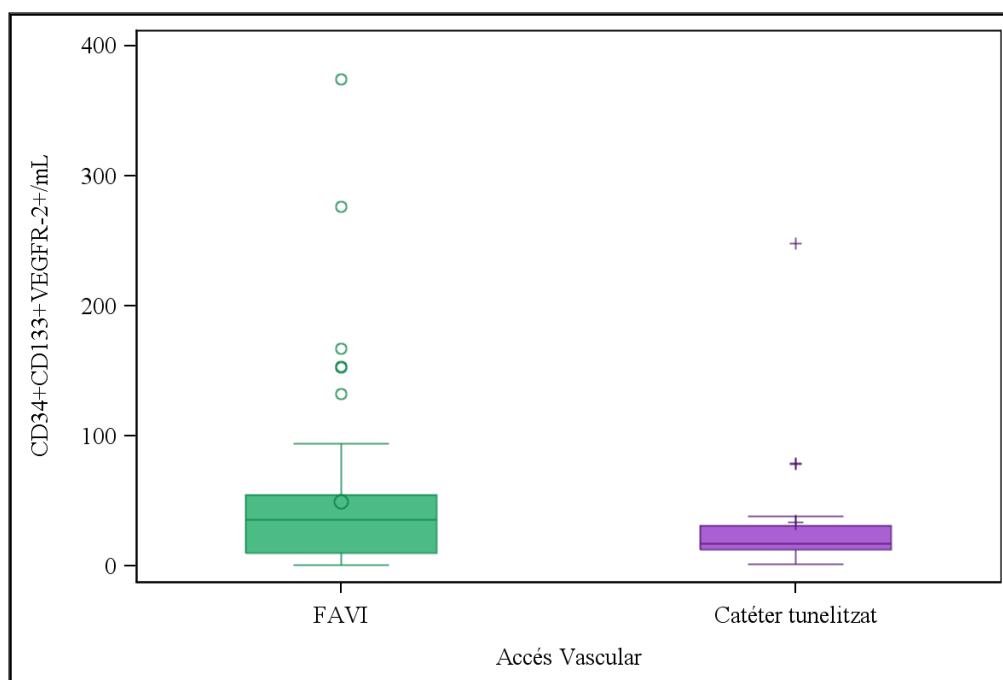


Figura 15. Diagrama de caixa del patró de la variable CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL, per a fístula arteriovenosa interna i catèter.

El 27,5% dels pacients en HD eren diabètics. Al analitzar si la presència de DM tenia algun efecte sobre el nombre de cèl·lules en funció de l'AV utilitzat, vam observar com els pacients diabètics que realitzaven HD a través d'un catèter tunelitzat (n = 8) tenien menys cèl·lules CD34+CD133+VEGFR-2+/mL que els pacients diabètics que realitzaven HD a través d'una FAVI (n= 21), però aquestes diferències no eren estadísticament significatives (p = 0,546). (Taula 24).

Taula 24. Quantificació de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en funció de l'accés vascular i la presència de diabetes mellitus.

	Accés vascular i DM		p valor
	FAVI (n = 14)	CATÉTER (n = 8)	
CD34 ⁺ CD133 ⁺	15,18	13,35	0,546 *
VEGFR-2 ⁺ /mL	(3,97-40,87)	(7,73-21,57)	

Mediana (primer quartil - tercer quartil) * Test U Mann-Whitney

DM (diabetes mellitus); FAVI (fístula arteriovenosa interna)

6.4.2. Quantificació de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en funció de l'accés vascular en comparació als controls sans

Al comparar els pacients en HD en funció de l'AV amb els controls sans, vam observar com la quantificació de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL dels pacients que realitzaven HD a través de catèter tunelitzat era significativament més baixa respecte els controls sans (p=0,054), tal i com podem s'aprecia a la taula 25. En canvi, no vam observar diferències estadísticament significatives en la quantificació de les cèl·lules entre els pacients que realitzaven HD a través de FAVI en comparació als controls sans (p=0,513).

Taula 25. Quantificació de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL dels pacients en hemodiàlisi en funció de l'accés vascular respecte els controls sans.

	Controls	HD-FAVI	p valor [^]	HD catèter	p valor ^{^^}
CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL	32,08(17,26-66,41)	35,90(9,70-54,49)	0,513*	17,50(12,41-30,98)	0,054*

*Mediana (primer quartil – tercer quartil) * Test U Mann-Whitney*

HD-FAVI (pacients en hemodiàlisi a través de fístula arteriovenosa interna); HD-catèter (pacients en hemodiàlisi a través de catèter).

^ Valor p dels pacients en hemodiàlisi a través de FAVI respecte el grup control; ^^ Valor p dels pacients en hemodiàlisi a través de catèter respecte el grup control.

En el següents diagrames de caixes (Figura 16) hi ha el patró de la variable CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL dels pacients en hemodiàlisi en funció de l'accés vascular respecte el grup control.

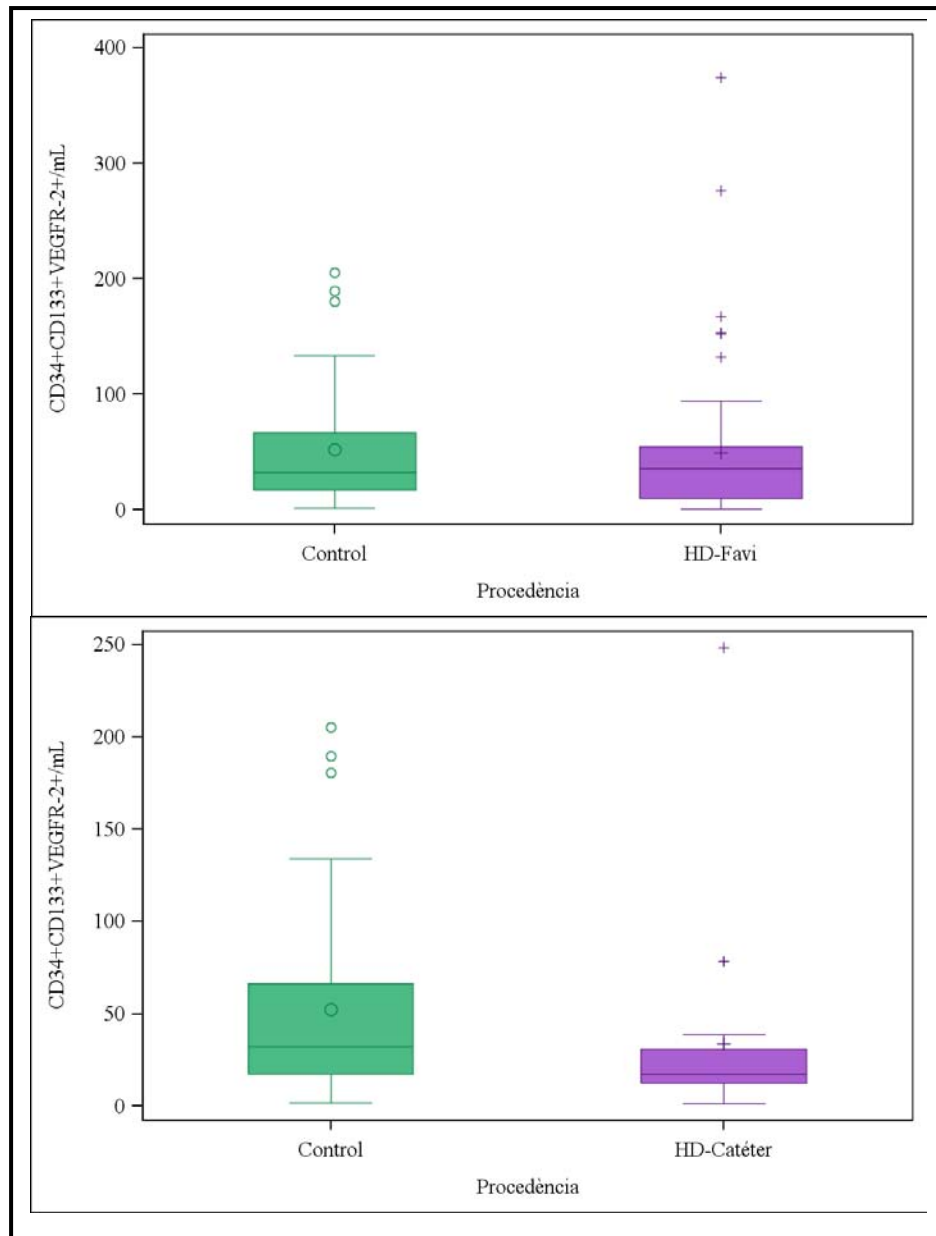


Figura 16. Diagrama de caixa del patró de la variable $CD34^+CD133^+VEGFR-2^+/mL$ pels controls sans i els pacients en hemodiàlisi segons l'accés vascular.

6.4.3. Diferències antropomètriques dels pacients en hemodiàlisi en funció de l'accés vascular

Tot i que no vam observar diferències estadísticament significatives en relació a les dades antropomètriques entre els pacients en HD en funció de l'AV, sí que cal destacar, tal i com podem observar a la taula 26, com els pacients en HD a

través de catéter eren pacients de més edat ($p = 0,084$), amb predomini de dones respecte els pacients en HD a través de FAVI ($p = 0,346$) i amb un percentatge de pacients diabètics també superior als pacients que es dialitzaven a través d'una FAVI ($p = 0.205$).

Taula 26. Dades basals dels pacients en hemodiàlisi a través de FAVI en comparació als pacients en hemodiàlisi a través de catéter.

	FAVI (N = 59)	CATÉTER (N = 21)	p valor
Gènere (%dones)	16 (27,12%)	8 (38,10%)	0,346 **
Edat (anys)	60,12 ± 14,42	66,43 ± 13,49	0,084 ***
IMC (Kg/m²)*	26,04 (22,10-28,70)	24,35 (21,51-28,41)	0,312 ^
PAS (mmHg)	132,54 ± 22,22	135,62 ± 29,10	0,618 ***
PAD (mmHg)	73,46 ± 12,63	66,67 ± 18,64	0,133 ***
DM (sí)	14 (23,73%)	8 (38,10%)	0,205 **
Temps HD (mesos)*	30 (15 – 51)	30 (12 – 48)	0,710 ^

* Mediana (primer quartil – tercer quartil); ** Test X^2 , *** t-test, ^ Test U Mann-Whitney

FAVI (fístula arteriovenosa interna); IMC (índex de massa corporal); PAS (pressió arterial sistòlica); PAD (pressió arterial diastòlica; DM (diabetes mellitus); temps HD (temps en hemodiàlisi).

6.4.4. Correlació entre el temps en hemodiàlisi i la quantificació de les cèl·lules CD34+CD133+VEGFR-2+/mL

Vam analitzar si el temps desde l'inici del tractament en HD podia influir en la quantitat de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL i vam observar que no existia cap correlació entre aquests dos factors ($r = -0,086$; $p = 0,478$).

6.4.5. Diferències bioquímiques dels pacients en hemodiàlisi en funció de l'accés vascular

Els pacients amb MRC en HD a través d'un catèter tunelitzat, tenien de forma significativa un pitjor metabolisme de la glucosa (nivells de glucèmia basal ($p = 0,047$) i HbA1C ($p = 0,047$) més elevats), un pitjor estat nutricional (nivells d'albumina ($p = 0,020$) i prealbumina ($p = 0,013$) inferiors), uns nivells de fòsfor més baixos ($p = 0,064$) i tenien una elevació dels paràmetres inflamatoris (PCR) ($p = 0,081$) respecte els pacients amb MRC que realitzaven HD a través d'una FAVI. (Figures 17 – 18).

No existien diferències amb la resta de variables bioquímiques analitzades entre els dos grups, tal i com podem observar a la taula 27.

Taula 27. Dades bioquímiques dels pacients en hemodiàlisi a través de FAVI en comparació als pacients en hemodiàlisi a través de catèter tunelitzat.

	FAVI (N = 59)	CATÉTER (N = 21)	p valor
Hemoglobina (g/dl)	11,61 ± 1,51	11,76 ± 1,43	0,683 **
Glucosa (mg/dl)*	92 (85-115)	110 (94-132)	0,047 ^
HbA1C (%)*	4,90 (4,7-5,2)	5,30 (4,9-5,5)	0,047 ^
Albumina (g/dl)*	3,90 (3,8-4,4)	3,70 (3,6-3,9)	0,020 ^

	FAVI (N = 59)	CATÉTER (N = 21)	p valor
Prealbúmina (mg/dl)	28,27 ± 5,75	23,82 ± 7,99	0,013 **
Calci (mg/dl)	9,23 ± 0,70	9,08 ± 0,90	0,440 **
Fòsfor (mg/dl)	4,88 ± 1,33	4,26 ± 1,24	0,064 **
Hormona paratiroidal (pg/mL)*	153,50 (108,70- 256,80)	157,30 (80,50- 246,05)	0,770 ^
Colesterol total (mg/dL)	146,20 ± 27,78	146,38 ± 37,10	0,982 **
Colesterol LDL (mg/dL)	75,64 ± 23,73	77,61 ± 27,60	0,768 **
Colesterol HDL (mg/dL)*	44,50 (35,60- 51,08)	45,28 (39,47- 53,41)	0,528 ^
Triglicèrids (mg/dL)*	102 (78-153)	88 (71-115)	0,204 ^
Proteïna C reactiva (mg/L)*	4,70 (2,42-10,1)	9,21 (4,6-17,40)	0,081 ^
Beta-2 microglobulina (mg/l)*	24,55 (17,60- 34,90)	24,35 (17,10- 35,15)	0,905 ^
Homocisteïna (umol/L)*	19,5 (15,60-24,30)	17 (14,50-19,10)	0,110 ^

Mitjana ± DE. *Mediana (primer quartil - tercer quartil). ** t-test. ^ Test U Mann-Whitney.

FAVI (fistula arteriovenosa interna); HbA1C (Hemoglobina glicosilada).

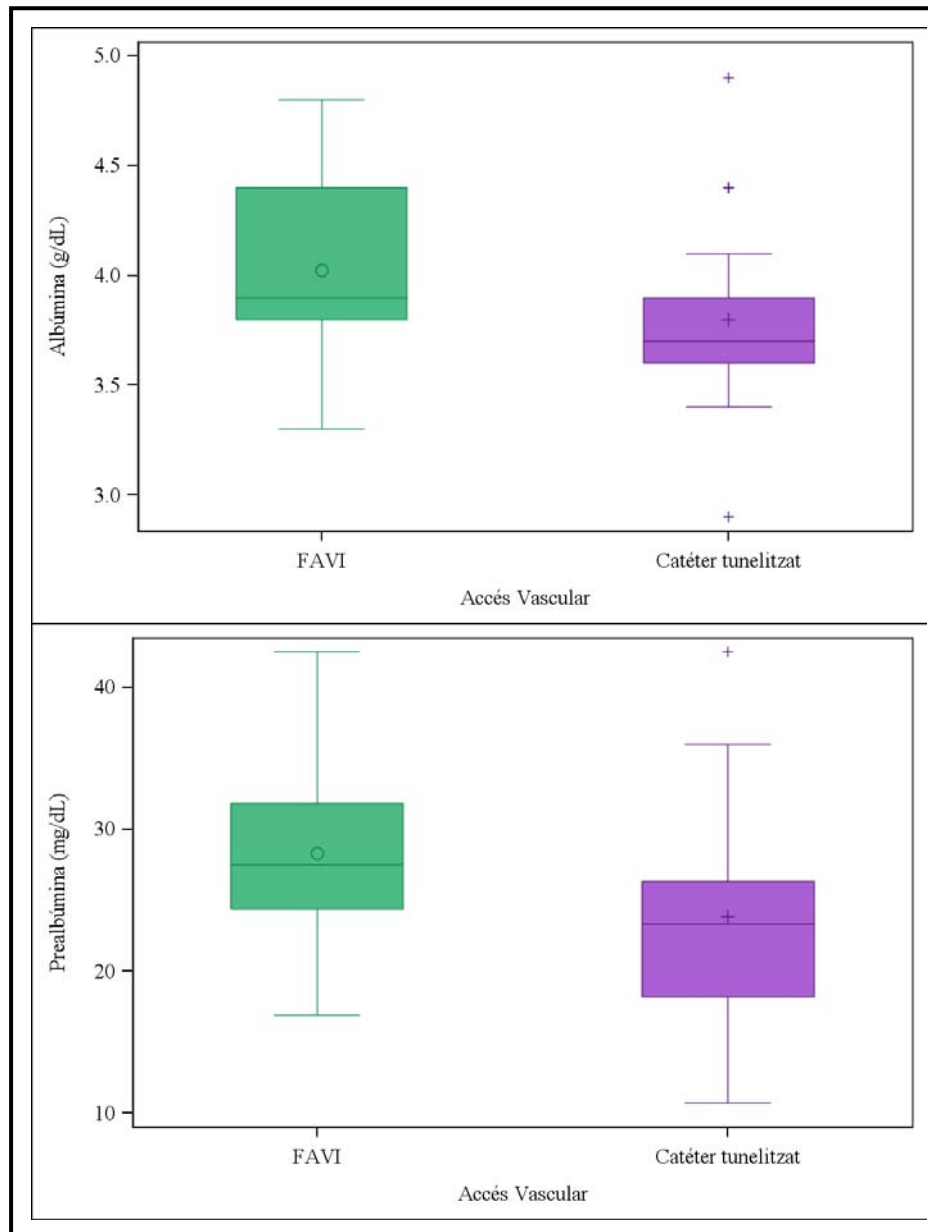


Figura 17. Diagrama de caixes del patró de l'albúmina i prealbúmina dels pacients en hemodiàlisi en funció de l'accés vascular.

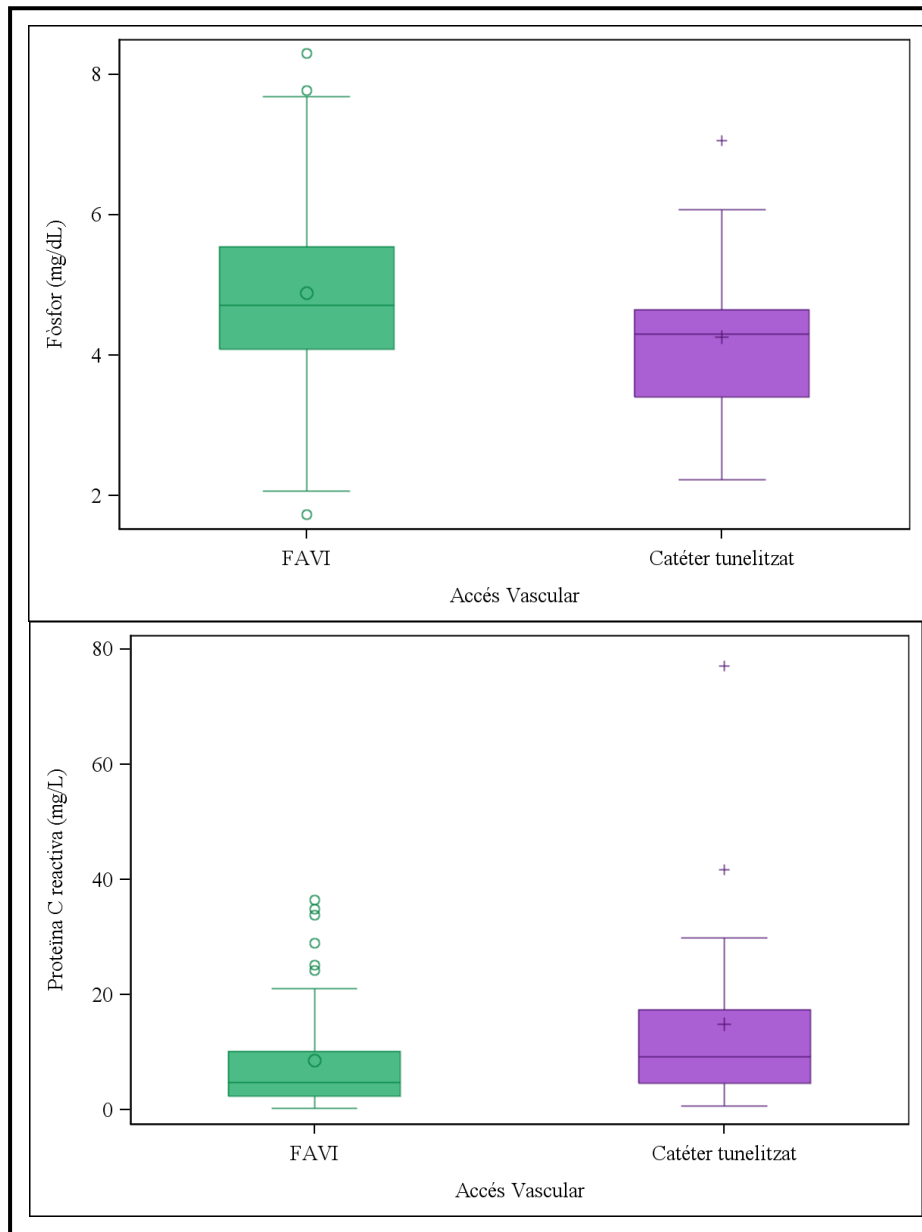


Figura 18. Diagrama de caixes del patró del fòsfor i proteïna C reactiva dels pacients en hemodiàlisi en funció de l'accés vascular.

6.4.6. Relació entre l'aparició d'un episodi cardiovascular i les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en els pacients en hemodiàlisi

Dels 80 pacients en HD crònica, el 57,50% (n=46) van presentar algun ECV. El 38,75% va presentar un episodi de cardiopatia isquèmica (n=31) i el 18,75% dels pacients (n= 15) un episodi vascular no cardíac (12 pacients un ACV i 3 pacients vasculopatia perifèrica) durant el període d'estudi.

El número de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL dels pacients que van presentar un ECV eren inferiors als pacients que no van presentar un ECV, però les diferències no eren estadísticament significatives (p=0,858).

Al analitzar en funció del tipus d'ECV, vam observar com la quantificació de les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL no presentava diferències estadísticament significatives entre els pacients que van presentar algun episodi de cardiopatia isquèmica dels que no van tenir cap complicació cardíaca (p=0,709).

Tampoc vam observar diferències entre la quantificació de les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL i l'aparició d'ictus en els pacients en HD (p=0,825).

Si teníem en compte el 27,5% de pacients diabètics amb MRC en HD i analitzàvem el risc de presentar algun ECV, sí que vam observar diferències estadísticament significatives en aquest subgrup de pacients.

Tal i com podem observem a la figura 19, els pacients diabètics (n=22) tenien de manera estadísticament significativa més cardiopatia isquèmica (59,09%) en relació als pacients no diabètics (31,03%) (p=0,021). En canvi, no vam observar diferències estadísticament significatives en relació a la diabetes i presentar un ictus (13,64%) o no (15,52%), (p=0,832).

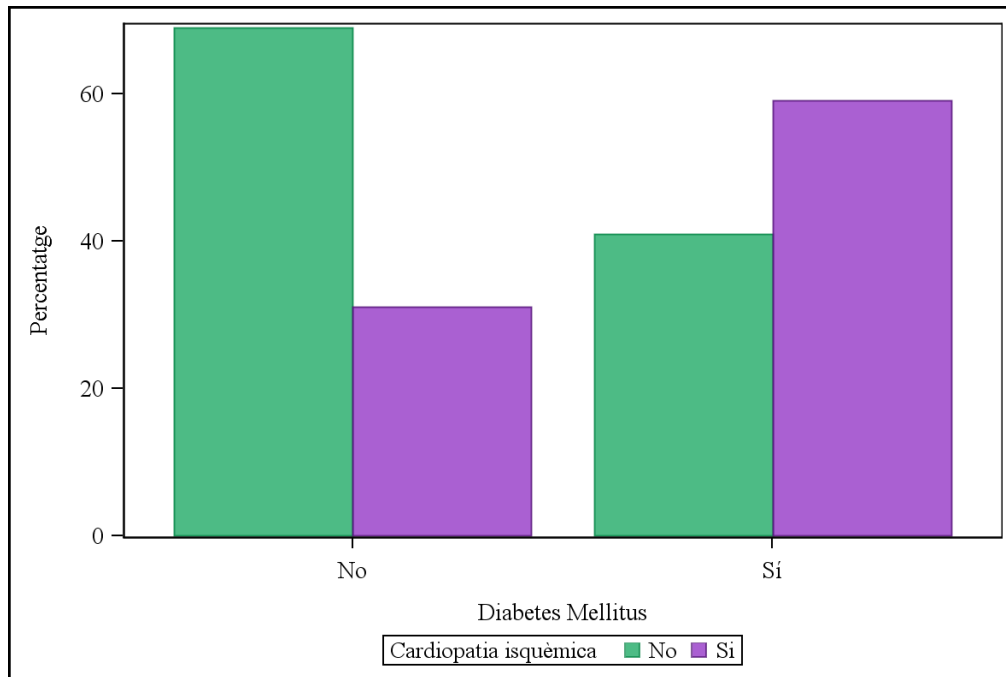


Figura 19. Distribució de pacients diabètics en hemodiàlisi i risc de cardiopatia isquèmica.

6.4.7. Relació entre l'aparició d'un episodi cardiovascular i la mortalitat dels pacients en hemodiàlisi en relació a l'accés vascular

En relació a l'AV utilitzat per a realitzar l'HD, no vam observar que realitzar HD a través d'una FAVI o un catèter s'associés a presència de cardiopatia isquèmica ($p=0,550$) o ictus ($p=0,554$).

Dels 80 pacients en HD, 21 pacients van ser exitus durant el període d'estudi (26,25%).

Dels 59 pacients que realitzaven HD a través de FAVI, 13 van ser exitus (22,03%), mentre que dels 21 pacients que realitzaven HD a través d'un catèter tunelitzat, 8 van ser exitus (38,10%).

Els pacients que realitzaven HD a través d'un catèter tunelitzat eren pacients amb una mortalitat superior respecte els pacients que es dialitzaven a través d'una FAVI, tot i que les diferències no eren estadísticament significatives ($p=0,151$). (Figura 20).

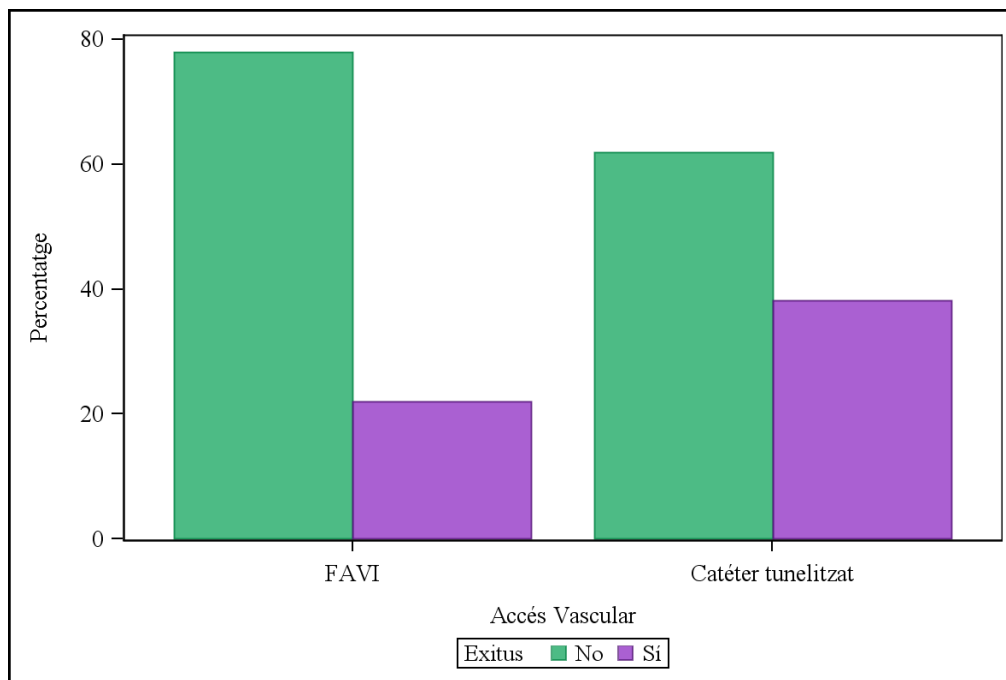


Figura 20. Mortalitat dels pacients en hemodiàlisi en funció de l'accés vascular.

6.4.8. Relació entre cèl·lules $CD34^+CD133^+VEGFR-2^+/mL$, accés vascular i la mortalitat

A la taula 28 podem observar la quantificació de cèl·lules $CD34^+CD133^+VEGFR-2^+/mL$ en funció de l'AV utilitzat per a realitzar HD i en relació a si els pacients eren exitus o no als 24 mesos de seguiment.

En tots els casos, vam observar com els pacients que realitzaven HD a través de catèter tenien sempre un recompte de cèl·lules inferior als pacients que es dialitzaven a través de FAVI.

No vam poder establir diferències estadísticament significatives en el nombre de cèl·lules $CD34^+CD133^+VEGFR-2^+/mL$ en funció de l'AV i la mortalitat.

Taula 28. Relació entre les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL, l'accés vascular i la mortalitat dels pacients en hemodiàlisi.

	CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL	p valor *
FAVI – exitus	36 (12,77-53,30)	0,592
FAVI – no exitus	33,78 (6-54,59)	
Catéter – exitus	17,65 (13,35-32,04)	0,695
Catéter – no exitus	17,50 (12,16-30,98)	
FAVi exitus	36 (12,77-53,30)	0,415
Catéter exitus	17,65 (13,35-32,04)	
FAVI no exitus	33,78 (6-54,59)	0,323
Catéter no exitus	17,50 (12,16-30,98)	
FAVI no exitus	33,78 (6-54,59)	0,498
Catéter exitus	17,65 (13,35-32,04)	

Mediana (primer quartil - tercer quartil). * Test U Mann-Whitney.

FAVI (fistula arteriovenosa interna)

Tot i que el número de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en sang perifèrica dels pacients que feien HD i es morien no eren estadísticament diferents en funció de l'AV, sí que vam observar com els pacients que es morien i feien HD a través d'un catéter tunelitzat, tenien menys cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL que els pacients que es morien i feien HD a través de FAVI. (Figura 21)

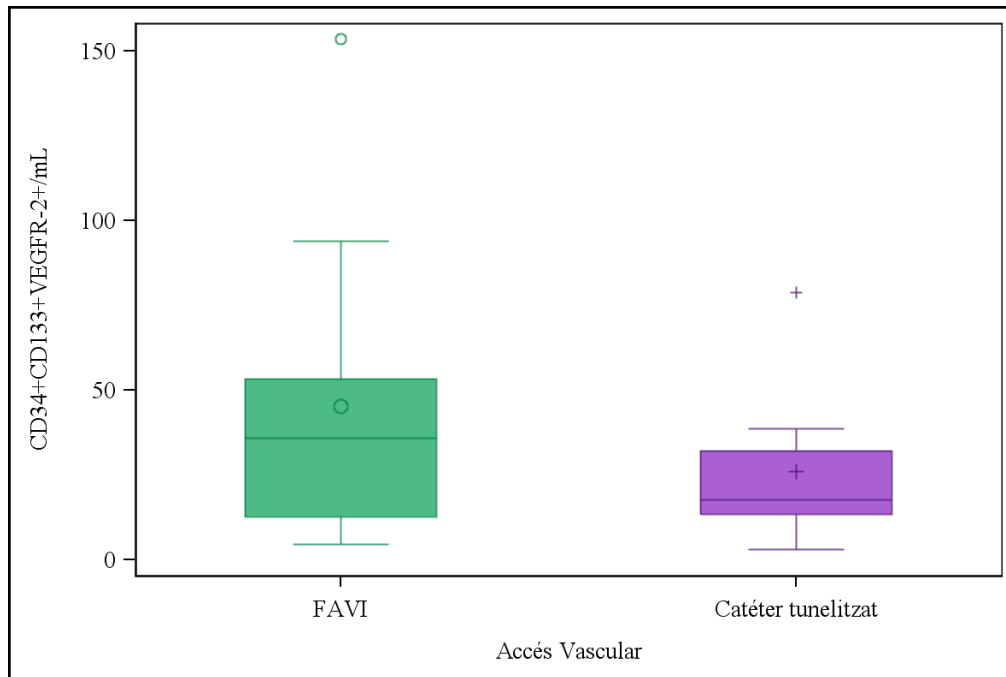


Figura 21. Diagrama de caixa del patró de la variable $CD34^+CD133^+VEGFR-2^+/mL$ en funció de l'accés vascular dels pacients que són exitus durant l'estudi.

6.5. Pacients trasplantats renals

En l'estudi es van incloure 13 pacients que van ingressar per a rebre un TR.

6.5.1. Evolució als 6 mesos i 12 mesos posttrasplantament renal

6.5.1.1 Quantificació de les cèl·lules $CD34^+CD133^+VEGFR-2^+/mL$ i evolució de la funció renal durant el primer any posttrasplantament renal

Al analitzar l'evolució dels 13 pacients trasplantats renals als 6 i 12 mesos postTR renal respecte el moment basal, vam observar com les cèl·lules $CD34^+CD133^+VEGFR-2^+/mL$ als 6 mesos postTR presentaven un augment de gairebé el doble respecte el seu valor basal, i aquest augment de les cèl·lules

en sang perifèrica es mantenia als 12 mesos postTR; si bé les diferències no eren estadísticament significatives ($p = 0,213$ i $p = 0,651$; respectivament).

Paral·lelament a l'augment de la quantitat de cèl·lules $CD34^+CD133^+VEGFR-2^+/mL$ vam poder observar un descens estadísticament significatiu de la creatinina en els 6 primers mesos postTR, que també es mantenia a l'any del TR ($p < 0,001$). (Taula 29 i figura 22).

Taula 29. Quantificació de les cèl·lules $CD34^+CD133^+VEGFR-2^+/mL$ i funció renal dels pacients trasplantats als 6 i 12 mesos posttrasplantament renal.

	TRb (n=13)	TR6m (n=13)	p valor [^]	TR12m (n=13)	p valor ^{^^}
CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL	33,87 (29,15- 54,42)	63,35 (43,40- 139,39)	0,213**	62,62 (25,30- 72,54)	0,651**
Creatinina (mg/dl)*	6,86±2,16	1,39±0,28	<0,001***	1,29±0,24	<0,001***

Mediana (primer quartil – tercer quartil); * Mitjana ± DE

TRb (trasplantament en el moment basal); TR6m (6 mesos posttrasplantament); TR12m (12 mesos posttrasplantament)

[^] Valor p dels pacients als 6 mesos posttrasplantament respecte el trasplantament en el moment basal; ^{^^} Valor p dels pacients als 12 mesos posttrasplantament respecte en trasplantament en el moment basal.

** prova no paramètrica dels rangs signats de comparació de medianes per a dades aparellades; *** prova paramètrica t-test de comparació de mitjanes per dades aparellades.

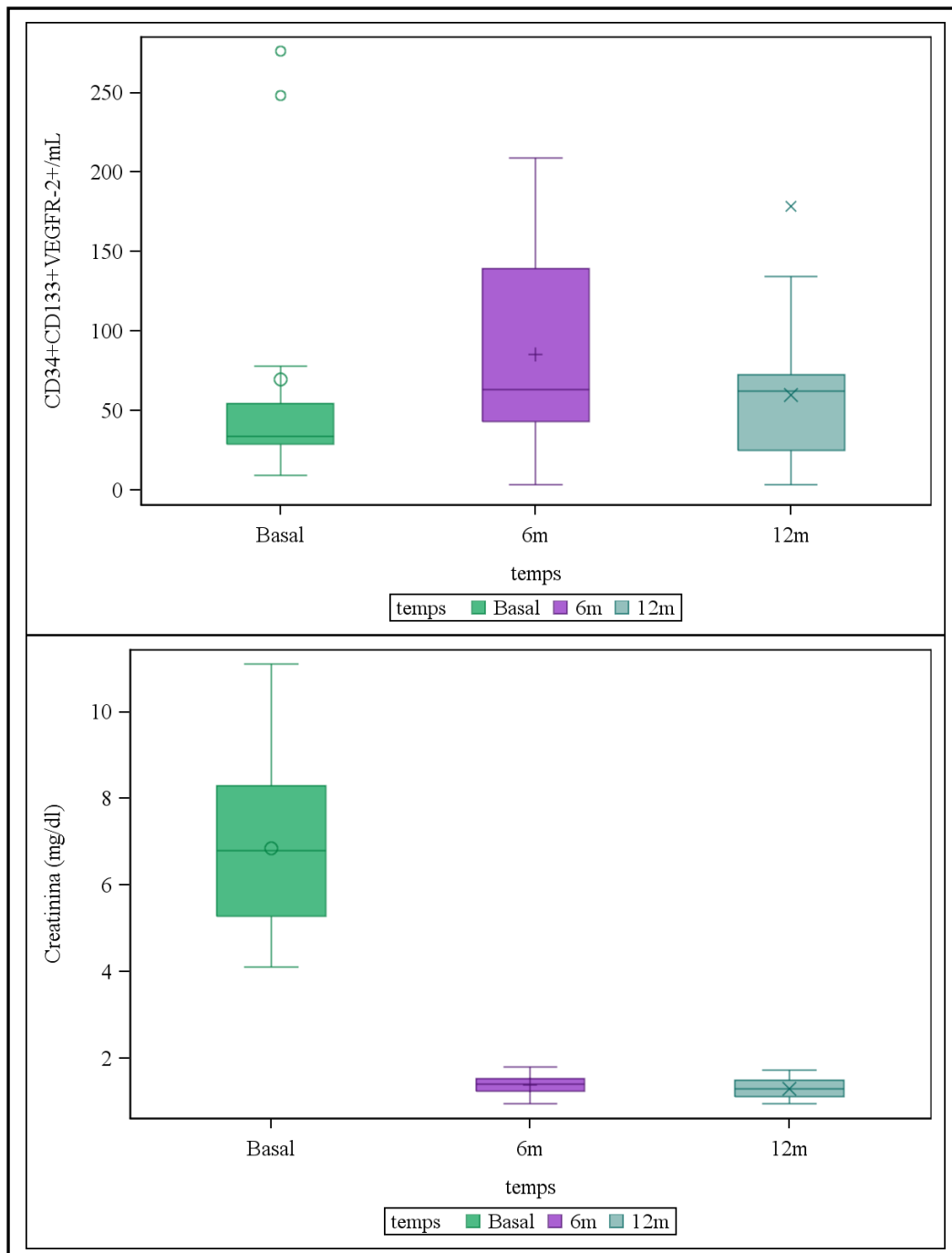


Figura 22. Diagrama de caixa del patró de la variable CD34+CD133+VEGFR-2+/mL i de la variable creatinina en funció del temps posttrasplantament renal.

Si bé existia durant el primer any del TR un increment de les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL i una millora de la funció renal, no vam poder establir una correlació directa entre aquests dos paràmetres en el moment

basal ($r = 0,274$; $p = 0,37$), als 6 mesos ($r = 0,122$; $p = 0,69$) i als 12 mesos postTR ($r = 0,155$; $p = 0,61$).

6.5.1.2. Evolució dels paràmetres antropomètrics als 6 mesos i 12 mesos posttrasplantament renal

L'IMC s'incrementava als 12 mesos postTR, si bé les diferències no eren estadísticament significatives ($p = 0,090$).

En relació al control de la pressió arterial, els pacients trasplantats presentaven ja durant els 6 primers mesos postTR un descens significatiu tant de la PAS ($p < 0,001$) com de la PAD ($p < 0,001$), que es mantenia als 12 mesos postTR. (Taula 30).

Taula 30. Evolució dels paràmetres antropomètrics als 6 i 12 mesos posttrasplantament respecte el moment basal.

	TRb	TR6m	p valor [^]	TR12m	p valor ^{^^}
IMC (Kg/m²)	25,43±3,38	25,32±3,87	0,750*	26,37±5,00	0,090*
PAS(mmHg)^{&}	148(146-162)	122(120-128)	<0,001**	120(118-127)	<0,001*
PAD(mmHg)	82,06±46,47	78,69±12,83	0,005*	76,15±14,48	<0,001*

Mitjana ± DE, [&]Mediana (primer quartil – tercer quartil).

TRb (trasplantament en el moment basal); TR6m (6 mesos posttrasplantament); TR12m (12 mesos posttrasplantament); IMC (índex de massa corporal); PAS (pressió arterial sistòlica); PAD (pressió arterial diastòlica).

[^] Valor p dels pacients als 6 mesos posttrasplantament respecte el trasplantament en el moment basal; ^{^^} Valor p dels pacients als 12 mesos posttrasplantament respecte en trasplantament en el moment basal.

* prova paramètrica t-test de comparació de mitjanes per dades aparellades; ** prova no paramètrica dels rangs signats de comparació de medianes per a dades aparellades

6.5.1.3. Evolució dels paràmetres bioquímics als 6 i 12 mesos posttrasplantament renal

A la taula 31 podem observar l'evolució de tots els paràmetres bioquímics analitzats als 6 i 12 mesos postTR respecte el moment basal.

Vam poder observar com a partir dels 6 mesos postTR i durant tot el primer any postTR, existia una milloria dels nivells d'hemoglobina, de la glucosa, de l'albumina i prealbumina, el fòsfor i la PTH així com de la beta-2 microglobulina i la PCR; essent en tots els casos les diferències estadísticament significatives excepte la glucosa i la beta-2 microglobulina.

Contràriament es produïa un empitjorament dels nivells de HbA1C, així com del perfil lipídic (a excepció dels nivells de colesterol-HDL) i de l'homocisteïna, de manera estadísticament significativa.

Taula 31. Evolució dels paràmetres bioquímics als 6 i 12 mesos posttrasplantament respecte el moment basal.

	TRb	TR6m	p valor [^]	TR12m	p valor ^{^^}
Hemoglobina (g/dl)	11,82 ± 1,22	13,05 ± 0,84	<0,001*	13,48 ± 0,83	<0,001*
Glucosa (mg/dl)^{&}	85 (79-97)	97 (87-101)	0,003**	92 (85-103)	0,352**
HbA1C (%)^{&}	5 (4,8-5,4)	5,7 (5,5-6,2)	<0,001**	5,9 (5,7-6,1)	<0,001**
Albumina (g/dl)	4,32±0,45	4,50±0,26	0,002*	4,48±0,31	0,019*
Prealbumina (mg/dl)	26,75±4,37	27,51±4,82	<0,001*	34,42±6,28	<0,001*
Calci (mg/dl)	9,28±0,96	9,68±0,29	0,006*	9,46±0,29	0,279
Fòsfor (mg/dl)	5,96±1,07	3,16±0,53	<0,001*	3,33±0,53	<0,001*
Hormona paratiroidal (pg/mL)^{&}	171,50(130,80-304,4)	102,10(76,70-106,20)	<0,001**	79,30(65-111,50)	<0,001**

	TRb	TR6m	p valor [^]	TR12m	p valor ^{^^}
Colesterol total (mg/dL)	176,54±36,06	202,38±50,06	0,002*	194,15±37,30	0,008*
Colesterol LDL (mg/dL)	101,58±29,69	120,53±45,46	0,003*	106,38±38,30	0,310*
Colesterol HDL (mg/dL)	53,83±20,24	55,59±10,92	0,164*	54,23±15,55	0,442*
Triglicèrids (mg/dL)	114,85±53,73	126,77±46,59	0,123*	154,69±83,66	0,002*
Proteïna C reactiva (mg/L)	14,25±5,90	3,05±1,03	<0,001*	2,48±0,65	<0,001*
Beta-2 microglobulina (mg/l)^{&}	1,42(0,86-3,08)	3,21(0,69-4,65)	0,742**	1,25(0,69-3,38)	0,170**
Homocisteïna (umol/L)^{&}	25,40(19,60-29,90)	14,00(11,90-20,20)	<0,001**	15,20(11,65-17,50)	<0,001**

Mitjana±DE, [&]Mediana (primer quartil – tercer quartil).

TRb (trasplantament en el moment basal); TR6m (6 mesos posttrasplantament); TR12m (12 mesos posttrasplantament); HbA1C (Hemoglobina glicosilada)

[^] Valor p dels pacients als 6 mesos posttrasplantament respecte el trasplantament en el moment basal; ^{^^} Valor p dels pacients als 12 mesos posttrasplantament respecte en trasplantament en el moment basal.

* prova paramètrica t-test de comparació de mitjanes per dades aparellades; ** prova no paramètrica dels rangs signats de comparació de medianes per a dades aparellades.

6.5.2.- Comparació dels pacients trasplantats renals respecte els pacients en hemodiàlisi crònica

6.5.2.1. Quantificació de les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL dels pacients trasplantats respecte els pacients en hemodiàlisi

Els pacients trasplantats renals als 6 mesos postTR renal tenien de forma estadísticament significativa una increment de gairebé tres vegades de la

quantificació de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL respecte els pacients que segueixen en programa d'HD i no es trasplanten durant el període d'estudi.

Als 12 mesos postTR, aquestes diferències segueixen sent estadísticament significatives. (Taula 32).

Taula 32. Cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL dels pacients trasplantats renals als 6 i 12 mesos en comparació als pacients en hemodiàlisi.

	HD (n=73)	TR6m (n=13)	p valor [#]	TR12m (n=13)	p valor ^{&}
CD34⁺CD133⁺ VEGFR-2⁺/mL	23,96 (10,54-50,89)	63,35 (43,40-139,39)	0,008*	62,63 (25,30-72,54)	0,065*

Mediana (primer quartil - tercer quartil)* Test U Mann-Whitney

[#] Valor p als 6 mesos posttrasplantament respecte grup hemodiàlisi; [&] Valor p als 12 mesos posttrasplantament respecte grup hemodiàlisi

Al següent diagrama de caixa (Fig 23) hi ha el patró de la variable CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en el grup HD i als 6 mesos i 12 mesos postTR.

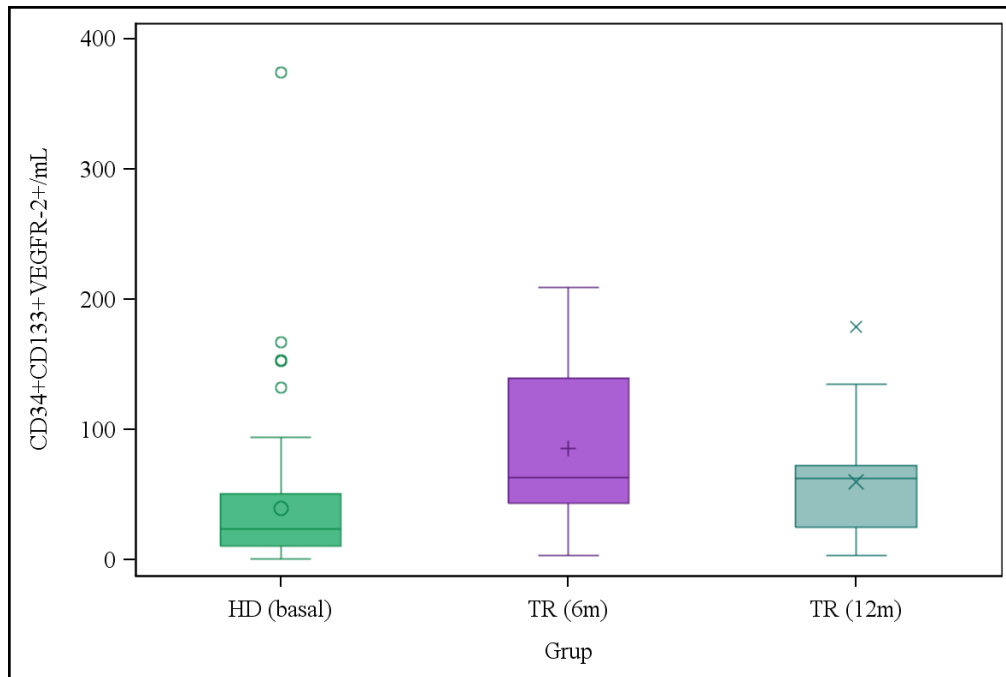


Figura 23. Diagrama de caixa del patró de la variable $CD34^+CD133^+VEGFR-2^+/mL$ en el grup hemodiàlisi i posttrasplantament renal.

6.5.2.2. Paràmetres antropomètrics dels pacients trasplantats respecte els pacients en hemodiàlisi

No vam observar diferències estadísticament significatives en relació als valors de PAS ni en l'IMC entre els pacients trasplantats renals als 6 i 12 mesos del trasplantament renal en comparació als pacients en HD.

La PAD als 6 mesos postTR era lleugerament més elevada respecte els pacients en HD, però aquesta diferència no es mantenia als 12 mesos postTR. (Taula 33).

Taula 33. Comparació dels paràmetres antropomètrics als 6 i 12 mesos posttrasplantament respecte els pacients en hemodiàlisi.

	HD (n=73)	TR6m (n=13)	p valor [#]	TR12m (n=13)	p valor [§]
IMC (Kg/m²)	26,12 ± 5,47	25,32±3,87	0,618 **	26,37± 5,00	0,552 **
PAS (mmHg)*	127(114-146)	122(120-128)	0,763 &	120(118-127)	0,337 &
PAD (mmHg)	70,63 ± 14,80	78,69± 2,83	0,069 **	76,15± 4,48	0,217 **

Mitjana±DE. * Mediana (primer quartil - tercer quartil)

[#] Valor p als 6 mesos posttrasplantament respecte grup hemodiàlisi; [§] Valor p als 12 mesos posttrasplantament respecte grup hemodiàlisi

** t-test, & Test U Mann-Whitney

6.5.2.3. Anèmia, metabolisme de la glucosa i metabolisme del calci-fòsfor dels pacients trasplantats respecte els pacients en hemodiàlisi

Els pacients trasplantats presentaven una milloria significativa de l'anèmia, amb un augment dels valors d'hemoglobina als 6 i als 12 mesos postTR respecte els pacients en HD ($p < 0,001$).

Tot i que no vam detectar diferències estadísticament significatives amb els valors de glucèmia basal, els pacients trasplantats tant als 6 mesos com als 12 mesos tenien un augment significatiu dels valors d'HbA1C respecte la població en HD, és a dir, un pitjor control glucèmic ($p < 0,001$).

En relació al metabolisme del calci-fòsfor, vam poder observar com existia en el postTR una millora significativa, a expenses d'un increment dels valors de calci i descens tant del fòsfor com de la PTH tant als 6 com als 12 mesos postTR. (Taula 34).

Taula 34. Evolució de l'anèmia, metabolisme de la glucosa i metabolisme del calci-fòsfor en el posttrasplantament en comparació als pacients en hemodiàlisi.

	HD (n=73)	TR6m (n=13)	p valor [#]	TR12m (n=13)	p valor [§]
Hemoglobina (g/dl)	11,56 ± 1,51	13,05 ± 0,84	< 0,001**	13,48 ± 0,83	< 0,001**
Glucosa (mg/dl)*	97 (87-121)	97 (87-101)	0,674 ^{&}	92 (85-103)	0,252 ^{&}
HbA1C (%)*	5 (4,7-5,4)	5,7 (5,5-6,2)	< 0,001 ^{&}	5,9 (5,7-6,1)	< 0,001 ^{&}
Calci (mg/dl)	9,19 ± 0,74	9,68 ± 0,41	0,002 **	9,46 ± 0,29	0,030 **
Fòsfor (mg/dl)	4,61 ± 1,30	3,16 ± 0,53	< 0,001 **	3,33 ± 0,53	< 0,001 **
Hormona paratiroidal (pg/mL)*	157,25 (103,95- 254,95)	102,1 (76,7-106,2)	0,029 ^{&}	79,3 (65-111,5)	0,008 ^{&}

Mitjana ± DE. * Mediana (primer quartil - tercer quartil)

[#] Valor p als 6 mesos posttrasplantament respecte grup hemodiàlisi; [§] Valor p als 12 mesos posttrasplantament respecte grup hemodiàlisi

** t-test, [&] Test U Mann-Whitney

6.5.2.4. Paràmetres nutricionals i metabolisme lipídic dels pacients trasplantats respecte els pacients en hemodiàlisi

Els pacients trasplantats renals, ja en els 6 mesos postTR presentaven una milloria de l'estat nutricional que es mantenia als 12 mesos postTR, a expenses d'un increment significatiu dels valors d'albumina ($p < 0,001$). No vam detectar diferències estadísticament significatives en els nivells de prealbumina.

Aquesta milloria nutricional s'acompanyava d'un increment també significatiu dels valors de colesterol total, colesterol-LDL i colesterol-HDL, no apreciànt-se canvis significatius en relació als nivells de triglicèrids. (Taula 35).

Taula 35. Evolució dels paràmetres nutricionals i del metabolisme lipídic en el posttrasplantament en comparació als pacients en hemodiàlisi.

	HD (n=73)	TR6m (n=13)	p valor [#]	TR12m (n=13)	p valor [§]
Albúmina (g/dl)*	3,9 (3,7-4,2)	4,6 (4,3-4,7)	< 0,001 ^{&}	4,5 (4,2-4,72)	< 0,001 ^{&}
Prealbúmina (mg/dl)	26,50 ± 5,90	25,51 ± 4,82	0,610 **	26,75 ± 4,37	0,894 **
Colesterol total (mg/dL)	144,56±29,75	202,38±50,06	0,001 **	194,15±37,30	< 0,001 **
Colesterol LDL (mg/dL)	74,73 ± 23,92	120,53±45,46	0,004 **	106,38±38,30	0,012 **
Colesterol HDL (mg/dL)	44,70(35,6- 51,08)	55(51-61)	0,005 ^{&}	54(41-56)	0,030 ^{&}
Triglicèrids (mg/dL)*	99 (76-150)	113 (93-157)	0,294 ^{&}	135(103-182)	0,136 ^{&}

Mitjana ± DE. * Mediana (primer quartil - tercer quartil)

[#] Valor p als 6 mesos posttrasplantament respecte grup hemodiàlisi; [§] Valor p als 12 mesos posttrasplantament respecte grup hemodiàlisi

** t-test, [&] Test U Mann-Whitney

6.5.2.5. Paràmetres inflamatoris i paràmetres de risc cardiovascular dels pacients trasplantats respecte els pacients en hemodiàlisi

Els pacients trasplantats, ja en els 6 primers mesos postTR presentaven un descens significatiu de la PCR, de la beta-2 microglobulina i l'homocisteïna

respecte els pacients en HD; descens que es mantenia als 12 mesos postTR. (Taula 36).

Taula 36. Comparació dels paràmetres inflamatoris i de risc cardiovascular en el posttrasplantament respecte la població en hemodiàlisi.

	HD (n=73)	TR6m (n=13)	p valor [#]	TR12m (n=13)	p valor [§]
Beta-2 microglobulina (mg/l)	26,2 (17,3-36,5)	3 (2,1-3,3)	< 0,001 *	2,55 (2,1-3)	< 0,001 *
Proteïna C reactiva (mg/L)	5,91(3,35- 13,54)	3,21 (0,69- 4,65)	0,025 *	1,25(0,81- 3,38)	< 0,001 *
Homocisteïna (umol/l)	18,3(15- 23,4)	14(11,9-20,2)	0,019 *	15,2(11,65- 17,5)	0,007 *

Mediana (primer quartil - tercer quartil)

[#] Valor p als 6 mesos posttrasplantament respecte grup hemodiàlisi; [§] Valor p als 12 mesos posttrasplantament respecte grup hemodiàlisi

*Test U Mann-Whitney

6.5.3.- Influència del rebuig agut i la infecció per citomegalovirus en el nombre de cèl·lules CD34+CD133+VEGFR-2+/mL

Desde l'inci de l'estudi fins el moment actual només 3 pacients van presentar complicacions en el postTR: 2 episodis de rebuig agut (15,38%) i 2 primoinfeccions per citomegalovirus (15,38%).

No es pot fer una interpretació estadística dels resultats.

7. DISCUSSIÓ

La DE que presenten els pacients amb MRC és un factor de mal pronòstic que contribueix a l'aterosclerosi i a l'increment de risc cardiovascular.

En aquest estudi hem determinat els tres marcadors que caracteritzen les CPE circulants més precoces: CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺ en els pacients amb MRC (inclosos pacients en HD i receptors d'un TRDV), així com en una població control sana.

La determinació d'aquestes cèl·lules en sang perifèrica s'ha realitzat a través de citometria de flux. La citometria és una tècnica sensible, reproducible i un sistema ràpid que permet quantificar les CPE. Això fa que ens permeti veure si la freqüència de CPE és estadísticament significativa entre els pacients i en relació als controls sans, per tant, es consideraria un bon biomarcador relacionat amb malaltia renal.

7.1. Malaltia cardiovascular en els pacients amb malaltia renal crònica

La MCV és la principal causa de mortalitat dels pacients amb MRC²²⁵. En aquest estudi on s'inclouen un total de 86 pacients amb MRC destaca l'elevada prevalença de FRCV (51,16% tabaquisme, 87,21% HTA, 44% DL, 22% DM) i de MCV (27,91% cardiopatia isquèmica), dades que són molt similars a l'estudi multicèntric i transversal de 265 pacients prevalents amb MRC en HD, descrit per Collado S. et al.⁵.

El tractament farmacològic d'aquests FRCV ha demostrat un paper protector a nivell cardiovascular en pacients sans sense patologia renal, però cal tenir en compte que els resultats d'aquests estudis no es poden extrapolar a pacients amb MRC, donat que són pacients d'alt risc cardiovascular i normalment són exclosos dels principals estudis.

En relació al tractament de la HTA en la MRC, el tractament amb IECAS (Lisinopril) s'associa a una disminució dels ECV²²⁶. En canvi, estudis realitzats

amb inhibidors del SRAA pel tractament de la HTA en els pacients en HD, no han descrit una clara associació amb la disminució dels ECV en aquests tipus de pacients²²⁷.

En relació al tractament de la DL, les estatines s'ha vist que milloren la DE i redueixen el risc de MCV en la població general, però no han demostrat una eficàcia comparable en els pacients amb MRC sense diàlisi²²⁸ o pacients amb MRC en hemodiàlisi²²⁹. Noves dades de seguiment publicades recentment de l'Estudi 4D als 7,4 anys del període de randomització, no han observat una clara reducció dels ECV en pacients diabètics tipus 2 en HD tractats amb atorvastatina, en comparació a placebo²³⁰.

En el nostre estudi, el 28,24% dels pacients està en tractament amb inhibidors del SRAA, el 17,65% dels pacients pren ACC i un 34,12% dels pacients estan en tractament amb betabloquejants. En relació al tractament de la DL, menys de la meitat dels pacients (48,24%) estan en tractament amb estatines.

La presència d'algun ECV dels pacients en HD en el nostre estudi és elevada, afectant un 57,50% dels pacients, dades també molt similars a les descrites per Collado S. et al⁵.

7.2. Cèl·lules progenitores endotelials en població sana

A la literatura no existeixen estudis sistemàtics que estableixin quin és el nombre exacte de CPE en adults sans, i tampoc hi ha dades publicades en relació al temps de vida de les CPE circulants *in vivo* sota determinades condicions fisiològiques i patològiques^{118,119,130,231}.

En el nostre estudi, la mediana de les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺ en sang perifèrica en la població sana és de 31,08 cèl·lules/mL.

Aquesta quantificació de CPE no és sempre la mateixa, sinó que pot variar en funció de determinades situacions fisiològiques, situacions clíniques i en context de determinats tractament farmacològics¹¹⁴.

Malgrat hi ha estudis que demostren com els estrògens poden incrementar el nombre de CPE d'una manera fisiològica²³² en relació al cicle menstrual²³³, Stauffer BL. et al.¹⁶⁰ publiquen el primer estudi on no detecten diferències estadísticament significatives en el nombre de CPE (determinades per citometria de flux) entre homes i dones. En el present estudi, hem pogut observar com les dones tenen una quantificació de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL disminuïda respecte els homes, tot i que les diferències no són estadísticament significatives.

En relació a l'edat, s'ha descrit en varis estudis^{131,234} com existeix una correlació inversa entre l'edat i els nivells de CPE, fet que indicaria que tant la integritat de l'endoteli com la seva capacitat de regeneració disminueixen amb l'edat. Tot i així, en el nostre estudi, tal i com també confirmen els estudis de Ruszkowska-Ciastek B. et al.¹¹⁸ i de Heiss C. et al.¹³³ no hem pogut establir una correlació entre l'edat i la resta de variables antropomètriques amb les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺, en la població sana.

Al dividir als controls sans en funció de la mediana de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL, hem observat com existeix una relació entre el nombre de cèl·lules i la PCR. D'aquesta manera, els controls sans que tenen un nombre de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL inferior a la mediana, tenen uns nivells de PCR superiors, tot i que es mantenen dins els rang de la normalitat.

Cleland S, et al.¹¹² descriuen com l'existència d'un petit grau d'inflamació, expressat com petites elevacions de la PCR dins del rang normal, s'associa a DE (expressada com el descens de la generació d'òxid nítric), inclús en població sana. Contràriament, els resultats de Fasing K.A. et al.¹⁶², no estableixen una associació entre l'elevació de la PCR en adults de mitjana edat i l'alteració de la funcionalitat de les CPE en medis de cultiu.

7.3. Cèl·lules progenitores endotelials i malaltia renal crònica

Els pacients amb MRC tenen una quantificació de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL inferior als controls sans, tot i que les diferències no són estadísticament significatives. Els nostres resultats donen suport a estudis publicats prèviament a la literatura on es confirma que la urèmia s'associa a una reducció de l'hematopoesi^{134,166,167,235,236}.

Probablement la causa d'aquest menor nombre de CPE en els pacients amb MRC té el seu origen en la disminució de la mobilització de les CPE de la mèdulla òssia i/o l'alteració en la diferenciació de les CPE que es produeix en la urèmia. Estudis *in vitro* han demostrat com el sèrum urèmic té un efecte inhibitori sobre la capacitat de diferenciació de les CPE. A més, s'ha descrit com es produeix un increment significatiu en el nombre de CPE de forma paral·lela a la millora de la urèmia després d'iniciar tractament renal substitutiu¹⁶⁶.

Només hi ha un estudi publicat per Herbig K, et al. amb resultats contradictoris, on descriuen *in vitro*, un increment de les CPE en pacients en HD en comparació a un grup de voluntaris sans¹⁷⁵, tot i que l'activitat migratòria i la capacitat d'adhesió a la matriu extracel·lular per part d'aquestes cèl·lules està disminuïda. Els nivells en sang del VEGF dels pacients en HD són 2 vegades més elevats que els controls, probablement perquè la majoria dels pacients estan en tractament amb EPO, fàrmac que incrementa els nivells de VEGF.

Tal i com hem comentat prèviament en el grup de controls sans, en els pacients amb MRC, no hem observat que l'edat es correlacioni amb el nombre de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL; resultats que coincideixen amb els publicats per de Groot, et al.¹⁶⁶. Tampoc hem observat diferències en relació al gènere i el nombre de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en els pacients amb MRC.

Hem comprovat com, en relació al tractament farmacològic, els pacients hipertensos que reben tractament amb ACC presenten un major nombre de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en sang perifèrica. Schulman IH, et al.²³⁷

suggereixen com una multiteràpia antihipertensiva que inclogui inhibidors del SRAA i ACC, podria disminuir el risc cardiovascular al millorar la funció endotelial, independentment del seu efecte sobre el control de la pressió arterial. En el nostre estudi no hem pogut establir cap altra correlació entre el número de CPE i la resta de tractaments antihipertensius.

Tot i que en el nostre estudi no hem observat que existeixi una relació entre el tractament amb estatines i la quantificació de CPE, hi ha estudis que descriuen com les estatines, a través dels seus efectes pleiotròpics, incrementen el nombre de CPE, aportant d'aquesta manera, beneficis a nivel vascular, independentment de l'efecte de les estatines en la reducció del colesterol-LDL^{137,238}.

En relació al tractament amb EPO per a l'anèmia associada a la insuficiència renal crònica i l'efecte en el nombre de CPE, en el nostre estudi no hem observat diferències estadísticament significatives en el nombre de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en funció de si els pacients rebien EPO o no. Altres estudis descriuen com el tractament amb EPO incrementa el nombre de CPE en els pacients amb MRC^{239,240}.

Els pacients diabètics amb MRC tenen de manera estadísticament significativa, una quantificació de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL inferior respecte els pacients amb MRC no diabètics. Aquestes dades donarien suport a les troballes de Tepper OM. et al.¹³⁸, on els pacients amb DM tipus 2, *in vitro*, presenten una disminució de la capacitat de mobilització des del moll de l'os, una disminució de la capacitat de proliferació i una disminució del temps de vida mitja de les CPE. Estudis publicats posteriorment^{134,241,242} també demostren com els pacients amb DM tipus 2 tenen una quantificació de CPE inferior respecte un grup control sa.

Existeix una estreta relació entre la DM i la MCV, essent la MCV la causa més freqüent de mortalitat i morbiditat en la població diabètica²⁴³. Els pacients diabètics, en comparació a la població no diabètica, independentment de si presenten o no patologia renal, s'ha descrit que tenen un major risc de presentar algun ECV²⁴⁴.

En relació a l'aparició d'algun ECV durant el període d'estudi, sí que hem observat com els pacients diabètics en HD (pacients amb un nombre inferior de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL), presenten de manera estadísticament significativa, més cardiopatia isquèmica en relació als pacients no diabètics. No hem observat diferències en els pacients diabètics i el risc de presentar un ictus.

Al dividir la població amb MRC en funció de la mediana de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL, hem pogut observar com els pacients que tenen una quantificació de cèl·lules inferior a la mediana, són pacients amb uns nivells de prealbúmina més baixos i amb uns valors de PTH superiors (independentment dels valors de calci i fòsfor), respecte els pacients amb un recompte cel·lular superior a la mediana. No existeixen diferències en relació als nivells d'albumina, podent-se justificar aquest fet, perquè el descens de la prealbúmina és anterior al descens de l'albumina, essent la prealbúmina un marcador més precoç de malnutrició⁷⁵.

En relació a la PTH, els nostres resultats coincideixen amb els publicats per Lomonte C. et al.¹⁷⁹, on analitzen l'efecte de la PTH en la urèmia, observant com aquells pacients que tenen nivells més elevats de PTH, tenen de manera significativa menys cèl·lules CD34⁺ circulants, probablement perquè la PTH podria induir fibrosi del moll de l'os, disminuint així, l'espai disponible per a l'eritropoesi¹⁷⁸. Donat que els eritròcits i les CPE comparteixen els mateixos precursors, és concebible que la PTH tindrà uns efectes negatius en l'alliberament de les CPE des de la mèdulla òssia¹⁷⁸.

En relació a la mortalitat durant un període mitjà de seguiment de 24 mesos, 21 pacients amb MRC (26,25%) han estat exitus, dels quals el 58,3% dels pacients, per causa cardiovascular. Lu CL. et al.¹⁸⁸ en una població en HD als 4 anys de seguiment, descriuen una taxa de mortalitat per qualsevol causa del 51,3%.

Lee HJ. et al.²⁴⁵ en un estudi realitzat en un període de seguiment de 20 mesos, analitzen una població de 70 pacients en HD, determinen el nombre de CPE i divideixen els pacients en funció dels tercils de CPE. Observen com els pacients que tenen el nombre de CPE en el tercil inferior, presenten de manera

significativa més ECV, però la mortalitat és similar amb els pacients amb un nombre de CPE superior.

7.4. Cèl·lules progenitores endotelials i accés vascular

Dels estudis que existeixen a la literatura en relació a les CPE en els pacients amb MRC en HD^{185,188,225,246}, aquest és el primer estudi on s'analitzen les diferències que existeixen en la quantificació de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en els pacients en programa d'HD crònica en funció de l'accés vascular utilitzat per a realitzar l'HD: FAVI o o catéter.

Hem pogut observar com els pacients que realitzen HD a través d'un catéter tunelitzat, presenten una quantificació de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL inferior als pacients que realitzen HD a través de FAVI.

L'estrès que ocasiona a nivell de l'endoteli vascular la realització d'una FAVI, sí que s'ha descrit anteriorment a la literatura pel grup de Roan JN. et al.¹⁹⁷ com un factor que activa la mobilització de les CPE en el moment de la realització de la FAVI, i per tant, el seu increment en sang perifèrica. Inclús estudis més recents relacionen la correcta maduració de la FAVI amb un increment del nombre de CPE en comparació als pacients que presenten alteracions de la maduració de la FAVI¹⁹⁸.

Els pacients que realitzen HD a través d'una catéter tunelitzat tenen de manera significativa, una quantificació de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL inferior, en comparació amb la població sana. Aquestes diferències no són estadísticament significatives entre els pacients que realitzen HD a través de FAVI, en comparació als controls sans.

Els pacients en HD presenten en general, un major grau d'inflamació i de malnutrició que la població general, essent aquests dos factors potents predictors de mortalitat²⁴⁷. Entre les possibles causes d'aquest estat inflamatori en els pacients amb MRC, la presència de cossos estranys com per exemple un catéter (que a més a més incrementa el risc d'infeccions)²⁴⁸, juga un paper

molt important, ja que s'associa a un increment de la morbiditat i de la mortalitat, en comparació a la FAVI^{249,250}.

L'estudi ANSWER²⁵¹, un estudi multicèntric, prospectiu i observacional d'una població en aquest cas, incident en HD, ja va demostrar com els pacients que tenien més edat, un pitjor estat nutricional i amb més comorbiditats, iniciaven HD a través d'un catéter.

Varis estudis observacionals han demostrat com l'ús de la FAVI com AV s'associa a una major supervivència i menys risc de complicacions, fins i tot en la població de més edat^{252,253}.

Segons els resultats del present estudi, els pacients que realitzen HD a través de catéter tunelitzat, els podem definir com un grup de pacients de més edat, amb un major percentatge de DM, amb un pitjor estat nutricional (menor nivells d'albumina, prealbumina i fòsfor sèric) i amb un major grau d'inflamació (nivells superiors de PCR), en comparació als pacients que realitzen HD a través de FAVI. No hem establert diferències entre els dos grups de pacients en funció del temps en HD. La combinació d'aquests tres factors: DM, malnutrició i inflamació, ja implica per sí mateix un increment de la mortalitat en els pacients urèmics⁴⁸.

Hem observat com els pacients que realitzen HD a través de catéter són pacients amb una menor quantificació de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL i són pacients amb un pitjor estat nutricional i inflamatori. Tot i que les diferències no són estadísticament significatives, els pacients que realitzen HD a través de catéter tunelitzat tenen una mortalitat superior respecte els pacients que realitzen HD a través de FAVI.

Paral·lelament, els pacients que durant l'estudi han estat exitus i realitzaven HD a través de catéter, tenien menys cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL que els pacients que han estat exitus i realitzaven HD a través de FAVI.

D'aquesta manera, la relació entre la mortalitat i l'AV dels pacients en HD, reforça el paper de la FAVi com a AV d'elecció per a realitzar HD, inclús en la gent gran; dades que es confirmen a la literatura²⁵⁴.

7.4. Cèl·lules progenitores endotelials i trasplantament renal

Aquest és l'únic estudi on tots els pacients que s'han inclòs són receptors d'un TRDV. Hem analitzat de manera prospectiva els canvis que es produeixen en la quantificació de les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en el moment basal (pretrasplantament renal), als 6 mesos i als 12 mesos postTR. Fins a l'actualitat tots els estudis previs estaven realitzats principalment amb pacients que rebien un trasplantament renal de donant cadàver.

En segon lloc, hem comparat les dades d'aquest grup de pacients als 6 i 12 mesos postTR, en relació a pacients que feien HD.

En el nostre estudi hem pogut observar com en el postTR existeix un increment de les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL, increment que s'observa ja durant els 6 primers mesos postTR i que es manté durant els 12 mesos postTR. Aquestes dades confirmen els resultats d'estudis previs publicats a la literatura^{174,205}.

Aquest increment en la quantificació de les CPE és paral·lel a la millora de la creatinina que presenten els pacients durant els 6 primers mesos postTR. Tot i així no hem pogut determinar una correlació estadísticament significativa entre la funció renal i les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺, probablement perquè la mida mostral del grup de pacients trasplantats és molt petita.

Varis estudis publicats prèviament a la literatura sí que demostren una correlació entre la funció renal i el nombre de CPE; és a dir, la millora de la funció renal sembla influir tant en el nombre com en la funcionalitat de les CPE^{170,172,174}.

Al dividir els pacients trasplantats renal en relació a la funció renal, expressada pel filtrat gomerular, Soler MJ., et al.¹⁷¹ van observar com els trasplantats renals amb un filtrat glomerular > 30mL/min tenien unes concentracions de CPE significativament més elevades que els trasplantats amb un filtrat glomerular < 30mL/min. En l'anàlisi univariant cap dels FRCV clàssics (edat, gènere, HTA,

DM i tabaquisme) es van associar amb la concentració de CPE. En l'anàlisi de regressió lineal múltiple, el filtrat glomerular, el colesterol HDL i LDL i el pes eren predictors independents de la concentració de CPE en sang perifèrica. Aquesta disminució de les CPE, especialment en els pacients amb un filtrat glomerular més baix, justificaria l'increment del risc cardiovascular en els pacients trasplantats renals.

Al comparar la quantificació de les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺ en relació tant als 6 mesos com als 12 mesos postTR en relació al grup de pacients que realitzen HD, observem com durant els 6 primers mesos després del trasplantament renal, l'increment en el nombre de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺ arriba a ser gairebé 3 vegades superior als pacients que segueixen en HD. Al comparar amb la població control sana, observem com el nombre de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺ dels pacients trasplantats als 12 mesos postTR és comparable, i inclús superior als controls sans. Aquestes coincideixen amb l'estudi de de Groot K. et al.¹⁷⁰ on demostra que la quantificació de les CPE en pacients en fase estable és similar a la quantificació de les CPE de les persones sanes.

La HTA, la DL i la DM són complicacions molt freqüentment relacionades amb el tractament IS i que sabem són situacions que poden alterar la quantitat i la funcionalitat de les CPE^{138,202,255}.

En relació al tractament farmacològic de les complicacions secundàries al propi tractament IS, la majoria de pacients trasplantats reben tractament antihipertensiu amb ACC i inhibidors del SRAA (un cop la funció renal està estabilitzada), tots ells fàrmacs que s'associen a una millora de la DE^{256,257}, així com tractament amb estatines per a la DL^{258,259}. En el nostre estudi, els pacients trasplantats presenten una normalització de les xifres de pressió arterial, tant sistòlica com diastòlica (dades similars a l'estudi de Di Marco. et al.²⁰⁵), i un increment especialment de les xifres de colesterol total o triglicèrids.

Herbrig K. et al.¹⁷⁴ van observar com les estatines, utilitzades per al tractament de la DL, i la DM, no jugaven un paper significatiu en la resposta que es produïa per part de les CPE en el postTR, sinó que, aquesta resposta de les

CPE era bàsicament, secundària a la millora de la urèmia que es produïa després del trasplantament renal.

Resultats similars s'han descrit en relació a la HTA. Malgrat Steiner S. et al.¹⁷² afirmen que un increment de la pressió arterial s'associa a un descens en la quantificació de les CPE en grup de pacients trasplantats renals, en altres estudis^{219,260,261}, la HTA per ella mateixa sembla que no influeix de manera directa en el nombre o en la funcionalitat de les CPE.

Contràriament a aquestes alteracions, sí que hem observat una clara millora de l'hiperparatiroidisme secundari a la insuficiència renal crònica, una millora de l'anèmia, dels paràmetres nutricionals (increment de l'albumina i la prealbumina), així com una disminució de l'estat inflamatori (descens de la PCR), millores observades ja en els 6 primers mesos postTR.

És a dir, podem afirmar amb els resultats del nostre estudi com, la millora de la DE (increment de les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en sang perifèrica) s'acompanya d'una millora de la funció renal, i alhora de la HTA, de l'anèmia, dels paràmetres nutricionals i inflamatoris.

Existeixen varis estudis a la literatura que analitzen l'efecte del tractament immunosupressor en relació a les CPE^{262,263,264,265}. En el nostre estudi no hem analitzat l'efecte de la immunosupressió en relació a les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL, donat que tots els pacients van rebre la mateixa pauta de tractament IS amb basiliximab, prednisona, tacrolimus retard i àcid micofenòlic.

8. LIMITACIONS DE L'ESTUDI

L'estudi que hem presentat té algunes limitacions:

En primer lloc, cal tenir en compte que donat que especialment en el grup de pacients trasplantats renals, la mida mostral és petita, els resultats obtinguts són de difícil valoració.

En segon lloc, en els pacients amb malaltia renal crònica, la interpretació dels resultats en relació als factors de risc cardiovascular i la mortalitat s'ha de realitzar amb prudència, donada la colinealitat que existeix entre ells.

En tercer lloc, la tècnica de citometria de flux té unes limitacions: el nombre reduït de cèl·lules progenitores endotelials i la incertesa que envolta l'especificitat i aplicabilitat dels marcadors de superfície.

Per últim, en el nostre estudi s'ha realitzat la determinació de les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺ per citometria de flux. Creiem necessari realitzar en un futur estudis funcionals amb cultius cel·lulars.

9. CONCLUSIONS

1. Els pacients amb malaltia renal crònica tenen una quantificació de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL inferior en comparació als individus sans.
2. Les dones tenen una menor quantificació de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en sang perifèrica, tant en els pacients amb malaltia renal crònica com en la població sana, tot i que les diferències no són estadísticament significatives.
3. L'edat no sembla interferir en la quantificació de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL ni en els pacients amb malaltia renal crònica ni en la població sana.
4. Els pacients en tractament antihipertensiu amb antagonistes dels canals del calci tenen un nombre de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL en sang perifèrica superior als pacients que no reben aquest tractament. Cap altra fàrmac presenta correlació amb les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL.
5. Els pacients amb malaltia renal crònica i diabetes mellitus tenen una menor quantificació de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL i un major risc de cardiopatia isquèmica.
6. Els pacients que realitzen hemodiàlisi a través d'un catéter tunelitzat tenen menys cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL que la població sana. Aquestes diferències no s'observen en els pacients amb FAVI.
7. La quantificació de les cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL dels pacients que realitzen hemodiàlisi a través de catéter, és inferior als pacients que realitzen hemodiàlisi a través d'una FAVI, essent aquestes diferències estadísticament significatives.
8. Els pacients trasplantats renals presenten als 6 mesos posttrasplantament renal un increment del nombre de cèl·lules CD34⁺CD133⁺VEGFR-2⁺/mL, que es manté als 12 mesos posttrasplantament.

9. Els pacients trasplantats renals tenen als 6 mesos posttrasplantament renal un increment de quasibé tres vegades de la quantificació de cèl·lules $CD34^+CD133^+VEGFR-2^+/mL$ respecte els pacients en programa d'hemodiàlisi. Als 12 mesos posttrasplantament renal, aquestes diferències segueixen sent estadísticament significatives.
10. No vam poder establir cap associació entre la quantificació de les cèl·lules $CD34^+CD133^+VEGFR-2^+/mL$ i el risc de presentar un episodi de rebuig agut o infecció per citomegalovirus.

En resum, els pacients amb malaltia renal crònica tenen una menor quantificació de cèl·lules $CD34^+CD133^+VEGFR-2^+/mL$, especialment els pacients diabètics. Els pacients que realitzen hemodiàlisi a través de catèter tunelitzat tenen una menor quantificació de cèl·lules $CD34^+CD133^+VEGFR-2^+/mL$, un pitjor estat nutricional, un pitjor estat inflamatori i un augment de la mortalitat respecte els pacients que realitzen hemodiàlisi a través d'una FAVI.

Els pacients que reben un trasplantament renal presenten un increment significatiu de la quantificació de les cèl·lules $CD34^+CD133^+VEGFR-2^+/mL$ durant els 6 primers mesos posttrasplantament renal, que es manté durant el primer any i que és superior als pacients que segueixen en hemodiàlisi i similar a la població general. Aquest increment cel·lular s'acompanya d'una millora de l'estat nutricional, inflamatori i de la funció renal.

La monitorització de la quantitat de cèl·lules $CD34^+CD133^+VEGFR-2^+/mL$ en sang perifèrica és útil com a marcador pronòstic de risc cardiovascular en els pacients amb malaltia renal crònica. És important actuar de forma precoç sobre els factors que poden fer modificar el nombre de cèl·lules, amb l'objectiu d'incrementar el seu nombre en sang perifèrica, millorar la disfunció endotelial i en conseqüència, enlentir la progressió de l'aterosclerosi i la malaltia cardiovascular que tenen aquest grup de pacients.

10. BIBLIOGRAFIA

1. Registre de Malalties Renals de Catalunya. Informe estadístic 2013.
2. Gorostidi M., et al. Documento de la Sociedad Española de Nefrología sobre las guías KDIGO para la evaluación y el tratamiento de la enfermedad renal crónica. *Nefrología* 2014; 34(3):302-16.
3. Schiffrin EL., et al. Chronic kidney disease: effects on the cardiovascular system. *Circulation* 2007;116(1):85-97).
4. Sarnak MJ., et al. Kidney disease as a risk factor for development of cardiovascular disease: a statement from the American Heart Association Councils on Kidney in Cardiovascular Disease, High Blood Pressure Research, Clinical Cardiology, and Epidemiology and Prevention. *Hypertension* 2003; 42(5):1050-65.
5. Collado S., et al. Prevalencia de la enfermedad cardiovascular en la uremia y relevancia de los factores de riesgo cardiovascular. *Nefrología* 2010; 30(3): 342-8.
6. Foley RN. and Collins AJ. End-stage renal disease in the United States: an update from the United States Renal Data System. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18(10):2644-8
7. Rigatto C. Clinical epidemiology of cardiac disease in renal transplant recipients. *Semin Dial* 2003; 16(2):106-10.
8. Kasiske BL., et al. Cardiovascular disease after renal transplantation. *J Am Soc Nephrol* 1996; 7(1):158-65.
9. Vanrenterghem YF., et al. Risk factors for cardiovascular events after successful renal transplantation. *Transplantation* 2008; 85(2):209-16.

10. Zoccali C. Cardiovascular risk in uraemic patients-is it fully explained by classical risk factors? *Nephrol Dial Transplant* 2000;15(4):454-7.
11. Weiner DE., et al. The Framingham predictive instrument in chronic kidney disease. *J Am Coll Cardiol* 2007; 50(3):217-24.
12. Shah DS., et al. Are traditional risk factors valid for assessing cardiovascular risk in end-stage renal failure patients? *Nephrology (Carlton)* 2008; 13(8):667-71.
13. Arenas Jiménez MD. Actualizaciones en hemodiálisis. *Nefrología* 2008; 28(Suppl 5):71-76.
14. Chade AR., et al. Kidney in early atherosclerosis. *Hypertensions* 2005; 45(6):1042-9.
15. Stevinkel P. and Alvestrand A. Inflammation in end-stage renal disease: sources, consequences and therapy. *Semin Dial* 2002; 15(5):329-37.
16. Zoccali C. Cardiorenal risk as a new frontier of nephrology: research needs and areas for intervention. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17(Suppl 11): 50-4.
17. Bradbury BD., et al. Predictors of early mortality among incident US hemodialysis patients in the Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study (DOPPS). *Clin J Am Soc Nephrol* 2007; 2(1):89-99.
18. Jardine AG., et al. Prevention of cardiovascular disease in adult recipients of kidney transplant. *Lancet* 2011; 378(9800):1419-27.

19. Morales JM., et al. Renal transplantation in the modern immunosuppressive era in Spain: four-year results from a multicenter database focus on post-transplant cardiovascular disease. *Kidney Int Suppl* 2008; 111:S94-9.
20. Israni AK., et al. Predicting coronary heart disease after kidney transplantation: Patient Outcomes in Renal Transplantation (PORT) Study. *Am J Transplant* 2010; 10(2):338-53.
21. Arias M. and Fernández-Fresnedo G. Clinical markers and modifiable cardiovascular risk factors after kidney transplantation. *Transplant Proc* 2001; 33(7-8):3677-8.
22. Orth SR. Smoking and the kidney. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13(6):1663-72.
23. Foley RN., et al. Smoking and cardiovascular outcomes in dialysis patients: the United States Renal Data System Wave 2 study. *Kidney Int* 2003; 63(4):1462-7.
24. London GM., et al. Inflammation, arteriosclerosis, and cardiovascular therapy in hemodialysis patients. *Kidney Int Suppl* 2003; May (84): S88-93.
25. Stack AG. and Saran R. Clinical correlates and mortality impact of left ventricular hypertrophy among new ESRD patients in the United States. *Am J Kidney Dis.* 2002; 40(6): 1202-10.
26. Kasiske BL. and Klinger D. Cigarette smoking in renal transplant recipients. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11(4):753-9.

27. Ducloux D., et al. Predicting coronary heart disease in renal transplant recipients: a prospective study. *Kidney Int* 2004; 66(1):441-7.
28. Hegeman RL. and Hunsicker LG. Chronic rejection in renal allografts: importance of cardiovascular risk factors. *Clin Transplant* 1995; 9(2):135-9.
29. Cosio FG., et al. Patient survival after renal transplantation: The impact of dialysis pre-transplant. *Kidney Int* 1998; 53(3):767-72.
30. Jardine AG. and McLaughlin K. Cardiovascular complications of renal disease. *Heart* 2001; 86(4):459-66.
31. Tentori F., et al. Which targets in clinical practice guidelines are associated with improved survival in a large dialysis organization? *J Am Soc Nephrol* 2007; 18(8):2377-84.
32. Paul LC. Treatment of posttransplant hypertension: too little, too late? *Transplantation* 2003; 76(11):1645-6.
33. First MR, et al. Hypertension after renal transplantation. *J Am Soc Nephrol* 1994; 4(Suppl8): 30-6.
34. Kasiske BL., et al. Hypertension after kidney transplantation. *Am J Kidney Dis* 2004; 43(6):1071-81.
35. Miller LW. Cardiovascular toxicities of immunosuppressive agents. *Am J Transplant* 2002; 2(9):807-18.

36. Fernández Fresnedo G., et al. Factores de riesgo cardiovascular en el trasplante renal: marcadores clínicos. *Nefrología* 2002; 22(Suppl4): 27-34.
37. Cañas L., et al. Lípidos y riesgo cardiovascular postrasplante renal. *Nefrología Sup Ext* 2013; 4(4): 28-34.
38. Goicoechea MA. Enfermedad cardiovascular en pacientes con estadios 4 y 5 de enfermedad renal crónica. Pacientes en diálisis crónica. *Nefrología* 2004; 24(Suppl 6):142-60.
39. Hojs R., et al. Markers of inflammation and oxidative stress in the development and progression of renal disease in diabetic patients. *Nephron* 2016. Jun 25. Epub ahead of print.
40. Morales-Indiano C., et al. Greater posttransplant inflammation and oxidation are associated with worsening renal function in patients with pretransplant diabetes mellitus. *Transplant Proc* 2009; 41(6):2126-8.
41. Bayés B., et al. Obesity, adiponectin and inflammation as predictors of new-onset diabetes mellitus after kidney transplantation. *Am J Transplant* 2007; 7(2):416-22.
42. Pimentel AL., et al. Renal posttransplantation diabetes mellitus: An overview. *Clin Chim Acta* 2015 (23); 450:327-32.
43. Bayés B., et al. Diabetes mellitus postrasplante según técnica de diálisis previa al trasplante. *Nefrología* 2008; 28 (Suppl 6):97-102.
44. Ladhani M., et al. Obesity and the risk of cardiovascular and all-cause mortality in chronic kidney disease: a systematic review and meta-analysis. *Nephrol Dial Transplant* 2016 May 4. Epub ahead of print.

45. Navarro-Díaz M., et al. Obesity, inflammation, and kidney disease. *Kidney Int Suppl* 2008(111):S15-8.
46. Stack AG., et al. Survival differences between peritoneal dialysis and hemodialysis among "large" ESRD patients in the United States. *Kidney Int* 2004; 65(6):2398-408.
47. Chow FY., et al. Cardiovascular risk in dialysis patients: a comparison of risk factors and cardioprotective therapy between 1996 and 2001. *Nephrology (Carlton)* 2003; 8(4):177-83.
48. Cases A. Otros factores de riesgo cardiovascular y renal. Hipertrofia del ventrículo izquierdo. Fibrilación auricular. Tabaquismo. Obesidad. Factores emergentes de riesgo cardiovascular: Homocisteína. Proteína C reactiva. Fibrinógeno. *Nefrología* 2004; 24(Suppl 6):62-72.
49. Phillips S. and Heuberger R. Metabolic disorders following kidney transplantation. *J Ren Nutr* 2012; 22(5):451-60.
50. Kasiske BL., et al. Diabetes mellitus after kidney transplantation in the United States. *Am J Transplant* 2003; 3(2):178-85.
51. Meier-Kriesche HU., et al. The impact of body mass index in renal transplant outcomes: a significant independent risk factor for graft failure and patient death. *Transplantation* 2002; 73(1):70-4.
52. Howard RJ., et al. Obesity does not portend a bad outcome for kidney transplant recipients. *Transplantation* 2002; 73(1):53-5.

53. Ross R. Atherosclerosis –an inflammatory disease. *N Eng J Med* 1999; 340(2):115-126.
54. Ridker PM. C-reactive protein and the prediction of cardiovascular events among those at intermediate risk: moving an inflammatory hypothesis toward consensus. *J Am Coll Cardiol.* 2007; 49(21):2129-38.
55. Ridker PM. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation* 2003; 107(3):363-9.
56. Ridker PM., et al. C-reactive protein, the metabolic syndrome, and risk of incident cardiovascular events: an 8-year follow-up of 14 719 initially healthy American women. *Circulation* 2003; 107(3):391-7.
57. Stenvinkel P. Inflammation in end-stage renal failure: could it be treated? *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17(suppl8):33-8.
58. Zoccali C., et al. Predictors of cardiovascular death in ESRD. *Semin Nephrol* 2005; 25(6):358-62.
59. Wanner C., et al. Inflammation and cardiovascular risk in dialysis patients. *Kidney Int* 2002; 80:99-102.
60. Bayés B., et al. Homocysteine, C-reactive protein, lipid peroxidation and mortality in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18(1):106-12.
61. Bayés B., et al. Oxidative stress, inflammation and cardiovascular mortality in haemodialysis—role of seniority and intravenous ferrotherapy: analysis at 4 years of follow-up. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21(4):984-90.

62. Ojeda R. and Aljama PA. Microinflamación crónica y daño endotelial en la uremia. *Nefrología* 2008; 28(6):583-6.
63. Merino A., et al. Microinflammation and endothelial damage in hemodialysis. *Contrib Nephrol* 2008; 161:83-8.
64. Davignon J . and Ganz P. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation* 2004; 109(23 Suppl1):III27-32.
65. Sancho A. Posttransplant inflammation associated with onset of chronic kidney disease. *Transplant Proc* 2010; 42(8):2896-8.
66. Stenvinkel P., et al. Do ACE-inhibitors suppress tumour necrosis factor-alpha production in advanced chronic renal failure? *J Int Med* 1999; 246(5):503-7.
67. Vernaglione L., et al. Does atorvastatin influence serum C-reactive protein levels in patients on long-term hemodialysis? *Am J Kidney Dis* 2004; 43(3):471-8.
68. Leinig CE., et al. Predictive value of malnutrition markers for mortality in peritoneal dialysis patients. *J Ren Nutr* 2011; 21(2):176-83.
69. Friedman AN. and Fadem SZ. Reassessment of albumin as a nutritional marker in kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2010; 21(2):223-30.
70. Devoto G., et al. Prealbumin serum concentrations as a useful tool in the assessment of malnutrition in hospitalized patients. *Clin Chem* 2006; 52(12): 2281-5.

71. Kaysen GA. Biological basis of hypoalbuminemia in ESRD. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9(12):2368-76.
72. Marcén R., et al. The impact of malnutrition in morbidity and mortality in stable haemodialysis patients. Spanish Cooperative Study of Nutrition in Hemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12(11):2324-31.
73. Santos NS., et al. Is serum albumin a marker of nutritional status in hemodialysis patients without evidence of inflammation? *Artif Organs* 2003;27(8):681-6.
74. Suliman ME., et al. Hyperhomocysteinemia and its relationship to cardiovascular disease in ESRD: Influence of hypoalbuminemia, malnutrition, inflammation, and diabetes mellitus. *Am J Kidney Dis* 2003; 41(3 Suppl 1):S89-95.
75. Gracia-Iguacel C., et al. Prevalencia del síndrome de desgaste proteico-energético y su asociación con mortalidad en pacientes en hemodiálisis en un centro de España. *Nefrología* 2013; 33(4):495-505.
76. Bayés B., et al. —~~low~~” cardiovascular risk factors in patients with chronic kidney disease: Role of the folic acid treatment. *Kidney Int Suppl* 2005: 93:S39-S43.
77. Wald DS., et al. Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from a meta-analysis. *BMJ* 2002; 325(7374):1202.
78. Kanani PM., et al. Role of oxidant stress in endothelial dysfunction produced by experimental hyperhomocyst(e)inemia in humans. *Circulation* 1999; 100(11):1161-8.

79. Christen WG., et al. Blood levels of homocysteine and increased risks of cardiovascular disease: causal or casual? *Arch Intern Med* 2000; 160(4):422-34.
80. Suliman ME., et al. Hyperhomocysteinemia, nutritional status and cardiovascular disease in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2000; 57(4):1727-35.
81. Mallamaci F., et al. Hyperhomocysteinemia predicts cardiovascular outcomes in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2002; 61(2):609-14.
82. Haraki T., et al. Hyperhomocysteinemia, diabetes mellitus and carotid atherosclerosis independently increase atherosclerotic vascular disease outcome in Japanese patients with end-stage renal disease. *Clin Nephrol* 2001; 56(2):132-9.
83. Koulouridis E., et al. Homocysteine and C-reactive protein levels in hemodialysis patients. *Int Urol Nephrol* 2001; 33(2):207-15.
84. Kalantar-Zadeh K., et al. A low, rather than a high, total plasma homocysteine is an indicator of poor outcome in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15(2):442-53.
85. Suliman M., et al. The reverse epidemiology of plasma total homocysteine as a mortality risk factor is related to the impact of wasting and inflammation. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22(1):209-17.
86. Bostom AG., et al. Prevalence of mild fasting hyperhomocysteinemia in renal transplant versus coronary artery disease patients after fortification of cereal grain flour with folic acid. *Atherosclerosis* 1999; 145(1):221-4.

87. Franke S., et al. Serum levels of total homocysteine, homocysteine metabolites and of advanced glycation end-products (AGEs) in patients after renal transplantation. *Clin Nephrol* 2003; 59(2):88-97.
88. Hagen W., et al. The effect of MTHFR genotypes and hyperhomocysteinemia on patients and graft survival in kidney transplant recipients. *Kidney Int Suppl* 2001; 78:S253-7.
89. Zadrazil J. and Horak P. Pathophysiology of anemia in chronic kidney diseases: a review. *Biomedical papers* 2015; 159(2):197-202.
90. Metivier F., et al. Pathophysiology of anaemia: focus on the heart and blood vessels. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15(Suppl 3):14-8.
91. Foley RN., et al. The impact of anemia on cardiomyopathy, morbidity, and mortality in end-stage renal disease. *Am J Kidney Dis* 1996; 28(1):53-61.
92. Foley RN., et al. Effect of hemoglobin levels in hemodialysis patients with asymptomatic cardiomyopathy. *Kidney Int* 2000; 58(3): 1325-35.
93. Cody J., et al. Recombinant human erythropoietin for chronic renal failure anaemia in pre-dialysis patients. *Cochrane Database Sys Rev* 2005 (3):CD003266
94. KDOQI Clinical Practice Guideline and Clinical Practice Recommendations for anemia in chronic kidney disease: 2007 update of hemoglobin target. *Am J Kidney Dis* 2007;50(3): 471-530.
95. Ichimaru N., et al. Post-transplant anemia has strong influences on renal and patient outcomes in living kidney transplant patients. *Transplant Proc* 2016; 48(3):878-83.

96. Jones H., et al. Anemia after kidney transplantation; its prevalence, risk factors, and independent association with graft and patient survival: a time-varying analysis. *Transplantation* 2012; 93(9):923-8.
97. Heinze G., et al. Mortality in renal transplant recipients given erythropoietins to increase haemoglobin concentration: cohort study. *BMJ* 2009; 339:b4018.
98. Rostand SG. and Drüeke TB. Parathyroid hormone, vitamin D, and cardiovascular disease in chronic renal failure. *Kidney Int* 1999; 56(2):383-92.
99. Mozos I. and Marginean O. Links between vitamin D deficiency and cardiovascular diseases. *Biomed Res Int* 2015;2015:109275.
100. Djukanovic L., et al. Association between Hemodialysis Patient Outcomes and Compliance with KDOQI and KDIGO Targets for Mineral and Bone Metabolism. *Nephron* 2016; 132(3): 168-74.
101. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). *Kidney Int Suppl* 2009;113: S1-130.
102. Herbrig K., et al. Endothelial progenitor cells in chronic renal insufficiency. *Kidney Blood Press Res* 2006; 29(1):24-31.
103. Stenvinkel P. Endothelial dysfunction and inflammation-is there a link? *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16(10):1968-71.

104. Cines DB., et al. Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders. *Blood*. 1998; 91(10):3527-61.
105. Badimón L. et al. Disfunción endotelial. *Rev Esp Cardiol Supl*. 2006; 6:21A-30A
106. Mark PB., et al. Endothelial dysfunction in renal transplant recipients. *Transpl Proc* 2005; 37(9):3805-7.
107. Hristov M., et al. Endothelial progenitor cells: mobilization, differentiation, and homing. *Arterioscl Thromb Vasc Biol*.2003; 23(7):1185-9.
108. Oliveras A. Células progenitoras endoteliales y enfermedad cardiovascular. *Hipertensión (Madr)* 2008; 25(Supl2): 3-13.
109. Badimón L. and Martínez-González J. Endotelio en la protección vascular: nuevos conocimientos. *Rev Esp Cardiol* 2002; 55(Suppl1):17-26.
110. Annuk M., et al. Impaired endothelium-dependent vasodilatation in renal failure in humans. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16(2):302-6.
111. Sinisalo J., et al. Relation of inflammation to vascular function in patients with coronary heart disease. *Atherosclerosis* 2000; 149(2):403-11.
112. Cleland SJ., et al. Endothelial dysfunction as a possible link between C-reactive protein levels and cardiovascular disease. *Clin Sci (Lond.)* 2000; 98(5):531-5.

113. Carmeliet P. Angiogenesis in health and disease. *Nat Med* 2003; 9(6):653-60.
114. Hristov M. and Weber C. Endothelial progenitor cells: characterization, pathophysiology, and possible clinical relevance. *J.Cell.Mol.Med.* 2004; 8(4): 498-508.
115. Ashara T., et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science* 1997; 275(5302):964-7.
116. Szmitko PE., et al. Endothelial progenitor cells: new hope for a broken heart. *Circulation* 2003; 107(24):3093-100.
117. Khan SS., et al. Detection of circulating endothelial cells and endothelial progenitor cells by flow cytometry. *Cytometry B Clin Cytom* 2005; 64(1):1-8.
118. Ruszkowska-Ciastek B., et al. The number of circulating endothelial progenitor cells in healthy individuals -- effect of some anthropometric and environmental factors (a pilot study). *Adv Med Sci* 2015; 60(1):58-63.
119. Peichev M., et al. Expression of VEGFR-2 and AC133 by circulating human CD34(+) cells identifies a population of functional endothelial precursors. *Blood* 2000; 95(3):952-8.
120. Quirici N., et al. Differentiation and expansion of endothelial cells from human bone marrow CD133(+) cells. *Br J Haematol* 2001; 115(1):186-94.
121. Gehling UM., et al. In vitro differentiation of endothelial cells from AC133-positive progenitor cells. *Blood* 2000; 95(10):3106-12.

122. Fadini GP., et al. Endothelial progenitor cells in the natural history of atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2007; 194(1): 46-54.
123. Kalka C., et al. Vascular endothelial growth factor(165) gene transfer augments circulating endothelial progenitor cell in human subjects. *Cir Res.* 2000; 86(12):1198-202.
124. Heissig B., et al. Recruitment of stem cells and progenitor cells from the bone marrow niche requires MMP-9 mediated release of kit-ligand. *Cell* 2002; 109(5):625-37.
125. Aicher A., et al. Essential role of endothelial nitric oxide synthase for mobilization of stem and progenitor cells. *Nat Med.* 2003; 9(11):1370-6.
126. Oliveras A. Células progenitoras endoteliales y enfermedad cardiovascular. *Hipertensión (Madr.)* 2008; 25(Supl 2): 3-13.
127. Laufs U., et al. Running exercise of different duration and intensity: effect on endothelial progenitor cells in healthy subjects. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2005; 12(4):407-14.
128. Strehlow K., et al. Estrogen increases bone marrow-derived endothelial progenitor cell production and diminishes neointima formation. *Circulation* 2003; 107(24):3059-65.
129. Fadini GP., et al. Gender differences in endothelial progenitor cells and cardiovascular risk profile: the role of female estrogens. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 2008; 28(5):997-1004.

130. Chen CH, et al. Circulating level of endothelial progenitor cells in healthy Taiwanese. *Acta Cardiol Sin* 2010; 26:94-101.
131. Tao J., et al. Circulating endothelial progenitor cells deficiency contributes to impaired arterial elasticity in persons of advancing age. *J Hum Hypertens* 2006; 20(7):490-5.
132. Ji KT., et al. Danshen protects endothelial progenitor cells from oxidized low-density lipoprotein induced impairment. *J Zhejiang Univ Sci B* 2010; 11(8):618-26.
133. Heiss C., et al. Impaired progenitor cell activity in aged-related endothelial dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2005; 45(9):1441-8.
134. Hill JM., et al. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk. *N Engl J Med* 2003; 348(7):593-600
135. Michaud SE., et al. Circulating endothelial progenitor cells from healthy smokers exhibit impaired functional activities. *Atherosclerosis* 2006; 187(2):423-32.
136. Kondo T., et al. Smoking cessation rapidly increase circulating progenitor cells in peripheral blood in chronic smokers. *Arterioscl Thromb Vasc Biol.* 2004; 24(8):1442-7.
137. Werner N., et al. Circulating endothelial progenitor cells and cardiovascular outcomes. *N Engl J Med* 2005; 353(10):999-1007.
138. Tepper O.M., 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.

139. Loomans CJ., et al. Endothelial progenitor cell dysfunction: a novel concept in the pathogenesis of vascular complications of type I diabetes. *Diabetes* 2004; 53(1):195-9.
140. Müller-Ehmsen J., et al. Decreased number of circulating progenitor cells in obesity: beneficial effects of weight reduction. *Eur Heart J* 2008; 29(12):1560-8.
141. Mac Eneaney OJ., et al. Endothelial progenitor cell number and colony forming capacity in overweight and obese adults. *Int J Obes (Lond)* 2009; 33(2):219-25.
142. Shintani S., et al. Mobilization of endothelial progenitor cells in patients with acute myocardial infarction. *Circulation* 2001; 103(23):2776-9.
143. Vasa M., et al. Increase in circulating endothelial progenitor cells by statin therapy in patients with stable coronary artery disease. *Circulation* 2001; 103(24):2885-90.
144. Walter DH., et al. Statin therapy accelerates reendothelialization: a novel effect involving mobilization and incorporation of bone marrow-derived endothelial progenitor cells. *Circulation* 2002; 105(25):3017-24.
145. Min TQ., et al. Improvement in endothelial progenitor cells from peripheral blood by ramipril therapy in patients with stable coronary artery disease. *Cardiovasc Drugs Ther* 2004; 18(3):203-9.
146. Wang CH., et al. Enalapril increases ischemia-induced endothelial progenitor cell mobilization through manipulation of the CD26 system. *J Mol Cell Cardiol* 2006; 41(1):34-43.

147. Gong X., et al. Effects of olmesartan on endothelial progenitor cell mobilization and function in carotid atherosclerosis. *Med Sci Monit* 2015; 21:1189-93.
148. Bahlmann FH., et al. Stimulation of endothelial progenitor cells. A new putative therapeutic effect of angiotensin II receptor antagonists. *Hypertension* 2005; 45(4):526-9.
149. Yao EH., et al. Losartan improves the impaired function of endothelial progenitor cells in hypertension via an antioxidant effect. *Hypertens Res* 2007; 30(11):1119-1128.
150. Berezin AE., et al. The effect of angiotensin-2 receptor blocker valsartan on circulating level of endothelial progenitor cells in diabetic patients with asymptomatic coronary artery disease. *Diabetes Metab Syndr* 2015; 9(4):305-9.
151. Honda A., et al. Telmisartan induces proliferation of human endothelial progenitor cells via PPARgamma-dependent PI3K/Akt pathway. *Atherosclerosis* 2009; 205(2):376-84.
152. Bahlmann FH., et al. Erythropoietin regulates endothelial progenitor cells. *Blood* 2004; 103(3):921-6.
153. Sen S., et al. Endothelial progenitor cells: novel biomarker and promising cell therapy for cardiovascular disease. *Clin Sci (Lond)* 2011; 120(7):263-83.
154. Vasa M., et al. Number and migratory activity of circulating endothelial progenitor cells inversely correlate with risk factors for coronary artery disease. *Circ Res* 2001; 89(1):E1-7.

155. Wilson PW., et al. Coronary risk prediction in adults (the Framingham Heart Study). *Am J Cardiol* 1987; 59(14):91G-94G.
156. Weinsaft JW. and Edelberg JM. Aging-associated changes in vascular activity: a potential link to geriatric cardiovascular disease. *Am J Geriatr Cardiol* 2001; 10(6):348-54.
157. Kannel WB, Gordon T. Cardiovascular risk factors in the aged: the Framingham study. In: Haynes SG, Feinleib M, editors. *Epidemiology of aging*. Bethesda, MD: National Institutes of Health 1980:65-98.
158. Gerhard M., et al. Aging progressively impairs endothelium-dependent vasodilation in forearm resistance vessels of humans. *Hypertension* 1996; 27(4):849-53.
159. Thom T., et al. Heart disease and stroke statistics—2006 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation* 2006; 113(6):e85-151.
160. Stauffer BL., et al. Gender and endothelial progenitor cell number in middle-aged adults. *Artery Res* 2008; 2(4):156-60.
161. Schmidt-Lucke C., et al. Reduced number of circulating endothelial progenitor cells predicts future cardiovascular events: proof of concept for the clinical importance of endogenous vascular repair. *Circulation* 2005; 111(22): 2981-7.
162. Fasing KA., et al. Influence of elevated levels of C-reactive protein on circulating endothelial progenitor cell function. *Clin Transl Sci* 2014; 7(2):137-40.

163. Foley RN., et al. Epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9(12suppl):S16-23.
164. Weiner DE., et al. Cardiovascular outcomes and all-cause mortality: exploring the interaction between CKD and cardiovascular disease. *Am J Kidney Dis* 2006; 48(3):392-401.
165. Bahlmann FH., et al. Endothelial progenitor cells in chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25(2):341-6.
166. de Groot K., et al. Uremia causes endothelial progenitor cell deficiency. *Kidney Int* 2004; 66(2):641-6.
167. Choi JH., et al. Decreased number and impaired angiogenic function of endothelial progenitor cells in patients with chronic renal failure. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24(7):1246-52.
168. Jie KE., et al. Progenitor cells and vascular function are impaired in patients with chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25(6):1875-82.
169. Surdacki A., et al. Association between endothelial progenitor cell depletion in blood and mild-to-moderate renal insufficiency in stable angina. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23(7):2265-73.
170. de Groot K, et al. Kidney graft function determines endothelial progenitor cell number in renal transplant recipients. *Transplantation* 2005; 79(8):941-5.
171. Soler MJ., et al. Circulating endothelial progenitor cells after kidney transplantation. *Am J Transplant* 2005; 5(9):2154-9.

172. Steiner S., et al. Endothelial progenitor cells in kidney transplant recipients. *Transplantation* 2006; 81(4):599-606.
173. Koç M., et al. Circulating endothelial cells as potential markers of the state of the endothelium in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2003; 42(4):704-712.
174. Herbrig K., et al. Kidney transplantation substantially improves endothelial progenitor cell dysfunction in patients with end-stage renal disease. *Am J Transplant* 2006; 6(12):2922-8.
175. Herbrig K., et al. Increased total number but impaired migratory activity and adhesion of endothelial progenitor cells in patients on long-term hemodialysis. *Am J Kidney Dis* 2004; 44(5):840-9.
176. Kotzmann H., et al. Effect of successful parathyroidectomy on hematopoietic progenitor cells and parameters of red blood cells in patients with primary hyperparathyroidism. *Hormon Metabl Res* 1997(8); 29:387-92.
177. Ureña P., et al. Serum erythropoietin and erythropoiesis in primary and secondary hyperparathyroidism. Effect of parathyroidectomy. *Nephron* 1999; 59(3):384-93.
178. Rao DS., et al. Effect of serum parathyroid hormone and bone marrow fibrosis on the response to erythropoietin in uremia. *N Engl J Med* 1993; 328(3):171-5.
179. Lomonte C., et al. Serum parathyroid hormone and phosphate influence the levels of circulating CD34+ in uremia. *J Nephrol* 2010; 23(6):693-8.

180. Chen JZ., et al. Effects of homocysteine on number and activity of endothelial progenitor cells from peripheral blood. *J Mol Cell Cardiol* 2004; 36(2):233-9.
181. Verma S., et al. Is C-reactive protein an innocent bystander or proatherogenic culprit? C-reactive protein promotes atherosclerosis. *Circulation* 2006; 113(17):2135-50.
182. Herbrig K., et al. Endothelial dysfunction in patients with rheumatoid arthritis is associated with a reduced number and impaired function of endothelial progenitor cells. *Ann Rheum Dis* 2006; 65(2):157-63.
183. Buemi M., et al. The effect of two different protocols of potassium haemodiafiltration on QT dispersion. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20(6):1148-1154.
184. AnnuK M., et al. Endothelium-dependent vasodilation and oxidative stress in chronic renal failure: impact on cardiovascular disease. *Kidney Int Suppl* 2003; 84:S50-S3.
185. Sturiale A., et al. Effect of haemodialysis on circulating endothelial progenitor cell count. *Bloof Purif* 2007; 25(3):242-51.
186. Braunschweig F., et al. Dynamic changes in right ventricular pressures during haemodialysis recorded with an implantable haemodynamic monitor. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21(1):176-83.
187. Maruyama S., et al. Low circulating CD34 cell count is associated with poor prognosis in chronic hemodialysis patients. *Kidney Int* 2008; 74(12):1603-9.

188. Lu CL., et al. Endothelial progenitor cells predict long-term mortality in hemodialysis patients. *Int. J. Med. Sci* 2016; 13(3): 240-7.
189. Chan CT., et al. Nocturnal hemodialysis is associated with restoration of impaired endothelial progenitor cell biology in end-stage renal disease. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2005; 289(4):F679-84.
190. Ueno H., et al. Dialysis modality is independently associated with circulating endothelial progenitor cells in end-stage renal diseases patients. *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25(2):581-6.
191. Steiner S., et al. History of cardiovascular disease is associated with endothelial progenitor cells in peritoneal dialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2005; 46(3):520-8.
192. Gulati S., et al. Role of vascular access as a risk factor for infections in hemodialysis. *Ren Fail* 2003; 25(6):967-73.
193. Xue H., et al. Hemodialysis access usage patterns in the incident dialysis year and associated catheter-related complications. *Am J Kidney Dis* 2013; 61(1):123-130.
194. Allon M. and Robbin ML. Increasing arteriovenous fistulas in hemodialysis patients: problems and solutions. *Kidney Int* 2002; 62(4):1109-24.
195. Rajabi-Jagahrg E., et al. Influence of temporal variation in wall shear stress on intima-media thickening in arteriovenous fistulae. *Semin Dial* 2013; 26(4):511-9.
196. Roy-Chaudhury P., et al. Biology of arteriovenous fistula failure. *J Nephrol* 2007; 20(2):150-63.

197. Roan JN., et al. Mobilization of endothelial progenitor cells following creation of arteriovenous access in patients with end-stage renal disease. *Acta Cardiol Sin* 2015; 31(1):24-32.
198. Eroglu E., et al. The association of endothelial progenitor cell markers with arteriovenous fistula maturation in hemodialysis patients. *Int Urol Nephrol* 2016; 48(6):891-9.
199. Morris ST., et al. Impaired endothelial function in isolated human uraemic resistance arteries. *Kidney Int* 2001; 60(3):1077-82.
200. Kocak H., et al. Assessment and comparison of endothelial function between dialysis and kidney transplant patients. *Transplant Proc* 2006; 38(2):416-8.
201. Sharma J., et al. Assessment of endothelial dysfunction in Asian Indian patients with chronic kidney disease and changes following renal transplantation. *Clin Transplant* 2014; 28(8):889-96.
202. Passauer J., et al. Kidney transplantation improves endothelium-dependent vasodilation in patients with endstage renal disease. *Transplantation* 2003; 75(11):1907-10.
203. Passaeur J., et al. Reduced endothelin-1-and nitric oxide-mediated arteriolar tone in hypertensive renal transplant recipients. *Kidney Int* 2004; 65(5):1782-9.
204. de Groot K., et al. Kidney graft function determines endothelial progenitor cell number in renal transplant recipients. *Transplantation* 2005; 79(8): 941-5.

205. Di Marco GS, et al. Circulating endothelial progenitor cells in kidney transplant recipients. *PLoS One* 2011; 6(9): e24046.
206. Townamchai N., et al. Endothelial progenitor cells in Asian Kidney Transplant recipients. *Transplant Proc* 2010; 42(5):1690-4.
207. Jardine A. Assessing cardiovascular risk profile of immunosuppressive agents. *Transplantation* 2001; 72(12 Suppl): S81-8.
208. Nickel T., et al. Drugs modulating endothelial function after transplantation. *Transplantation* 2006; 82(1 Suppl): S41-6.
209. Trapp A. and Weiss M. The impact of immunosuppression on endothelial function. *J Cardiovasc Pharmacol* 2005; 45(1):81-7.
210. Ovuworie CA., et al. Vascular endothelial function in cyclosporine and tacrolimus treated renal transplant recipients. *Transplantation* 2001; 72(8):1385-8.
211. Hausberg M., et al. Flow-mediated vasodilation and distensibility of the brachial artery in renal allograft recipients. *Kidney Int* 1999; 55(3):1104-10.
212. Kosch M., et al. Studies on effects of calcineurin inhibitor withdrawal on arterial distensibility and endothelial function in renal transplant recipients. *Transplantation* 2003; 76(10):1516-9.
213. Butzal M., et al. Rapamycin inhibits proliferation and differentiation of human endothelial progenitor cells in vitro. *Exp Cell Res* 2004; 300(1):65-71.

214. Gregory CR., et al. Effects of treatment with cyclosporine, FK 506, rapamycin, mycophenolic acid, or deoxyspergualin on vascular muscle proliferation in vitro and in vivo. *Transplant Proc* 1993; 25:770-1.
215. Hauser IA., et al. Mycophenolate mofetil inhibits rat and human mesangial cell proliferation by guanosine depletion. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14(1):58-63.
216. Dzau VJ., et al. Therapeutic potential of endothelial progenitor cells in cardiovascular disease. *Hypertensions*. 2005; 46(1):7-18.
217. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993; 362(6423):801-9.
218. Ritz E. Atherosclerosis in dialyzed patients. *Blood Purif* 2004; 22(1):28-37.
219. Lorenzen J., et al. Endothelial progenitor cells and cardiovascular events in patients with chronic kidney disease – a prospective follow-up study. *Plos One* 2010; 5(7):e11477.
220. Guía de práctica clínica de la ESH/ESC para el manejo de la hipertensión arterial (2013). *Hipertens riesgo vasc* 2013; 30 (supl 3) :4-91.
221. Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult treatment Panel III). *JAMA* 2001; 285(19): 2486 – 97.

222. American Diabetes Association. Standards of medical care in Diabetes – 2014. *Diabetes Care* 2014; 37(Suppl 1): S14-80.
223. Sutherland DR., et al. The ISHAGE guidelines for CD34+ cell determination by flow cytometry. *International Society of Hematotherapy and Graft Engineering. J Hematother* 1996; 5(3):213-26.
224. Keeney M., et al; Single Platform Flow Cytometric Absolute CD34+ Cell Counts Based on the ISHAGE Guidelines. *Cytometry* 1998; 34(2):61-70.
225. Schlieper G., et al. Predictors of low circulating endothelial progenitor cells number in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23(8):2611-8.
226. Zannad F., et al. Prevention of cardiovascular events in end-stage renal disease: results of randomized trial of fosinopril and implications for future studies. *Kidney Int* 2006; 70(7):1318-24.
227. Sinha AD. and Agarwal R. Should all hypertensive dialysis patients receive a blocker of the Renin-Angiotensin system? *Curr Hypertens Rep* 2010; 12(5):356-63.
228. Wu-Wong JR. Endothelial dysfunction and chronic kidney disease: treatment options. *Curr Opin Investig Drugs* 2008; 9(9):970-82.
229. Fellström BC., et al. Rosuvastatin and cardiovascular events in patients undergoing hemodialysis. *N Eng J Med* 2009; 360(14):1395-407.

230. Wheeler DC. and Kasisbe BL. Statins for hemodialysis patients with diabetes? Long-term follow-up endorses the original conclusions of the 4D Study. *Kidney Int* 2016; 89(6):1189-91.
231. Dignat-George F. and Sampol J. Circulating endothelial cells in vascular disorders: new insights into an old concept. *Eur J Haematol* 2000; 65(4):215-20.
232. Strehlow K., et al. Estrogen increase bone marrow-derived endothelial progenitor cell production and diminishes neointima formation. *Circulation* 2003; 107(24):3059-65.
233. Tanaka S., et al. Alterations of circulating endothelial cell and endothelial progenitor cell counts around the ovulation. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97(11):4182-92.
234. Jie KE., et al. Circulating endothelial progenitor cells levels are higher during childhood than in adult life. *Atherosclerosis* 2009; 202(2):345-7.
235. Hickson LJ., et al. Challenges and opportunities for stem cell therapy in patients with chronic kidney disease. *Kidney Int* 2016; 89(4):767-78.
236. Eizawa T., et al. Circulating endothelial progenitor cells are reduced in hemodialysis patients. *Curr Med Res Opin* 2003; 19(7):627-33.
237. Schulman IH., et al. Calcium channel blockers, endothelial dysfunction, and combination therapy. *Aging Clin Exp Res* 2005; 17(4Suppl):40-5.

238. Landmesser U., et al. Simvastatin versus ezetimibe: pleiotropic and lipid-lowering effects on endothelial function in humans. *Circulation* 2005; 111(18):2356-63.
239. Heeschen C., et al. Erythropoietin is a potent physiologic stimulus for endothelial progenitor cell mobilization. *Blood* 2003; 102(4):1340-6.
240. Bahlmann FH., et al. Endothelial progenitor cell proliferation and differentiation is regulated by erythropoietin. *Kidney Int* 2003; 64(5):1648-52.
241. Kusuyama T., et al. Effects of treatment for diabetes mellitus on circulating vascular progenitor cells.. *J Pharmacol Sci* 2006;102(1):96-102.
242. Egan CG., et al. Generalised reduction of putative endothelial progenitors and CXCR4-positive peripheral blood cells in type 2 diabetes. *Diabetologia* 2008; 51(7):1296-305.
243. Matheus AS., et al., Impact of diabetes on cardiovascular disease: an update. *Int J Hypertens* 2013: 673789.
244. Hu G., et al. Joint effects of history of hypertension at baseline and type 2 diabetes at baseline and during follow-up on the risk of coronary heart disease. *Eur Heart J*, 2007; 28(24):3059-66.
245. Lee HJ., et al. Circulating endothelial progenitor cells levels predict cardiovascular events in end-stage renal disease patients on maintenance hemodialysis. *Nephron* 2015; 130(3):151-8.

246. Ozkok A., et al. Decrease in endothelial progenitor cells associated with inflammation, but not with endothelial dysfunction in chronic hemodialysis patients. *Clin Nephrol* 2013; 79(1):21-30.
247. Stenvinkel P., et al. Strong association between malnutrition, inflammation, and atherosclerosis in chronic kidney failure. *Kidney Int* 1999; 55(5):1899-911.
248. Kaysen GA. and Eiserich JP. Characteristics and effects of inflammation in end-stage renal disease. *Sem Dial* 2003; 16(6):438-46.
249. Vascular Access Work Group. Clinical practice guidelines for vascular Access. *Am J Kidney Dis* 2006; 48(Suppl 1):S248-73.
250. Ravani P., et al. Associations between hemodialysis access type and clinical outcomes: a systematic review. *J Am Soc Nephrol* 2013; 24(3):465-73.
251. Pérez-García R., et al. Baseline characteristics of an incident hemodialysis population in Spain: results from ANSWER – a multicentre, prospective, observational cohort study. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24(2):578-88.
252. DeSilva RN., et al. Association between initial type of hemodialysis Access used in the elderly and mortality. *Hemodial Int* 2012; 16(2):233-41.
253. Xue JL., et al. The association of initial hemodialysis access type with mortality outcomes in elderly Medicare ESRD patients. *Am J Kidney Dis* 2003; 42(5):1013-9.

254. Grubbs V, et al. Health status as a potential mediator of the association between hemodialysis vascular Access and mortality. *Nephrol Dial Transplant* 2014; 29(4):892-8.
255. Chen JZ., et al. Number and activity of endothelial progenitor cells from peripheral blood in patients with hypercholesterolemia. *Clin Sci (Lon)* 2004; 107(3):273-80.
256. Mark PB., et al. Endothelial dysfunction in renal transplant recipients. *Transplant Proc* 2005; 37(9):3805-7.
257. Su JB. Vascular endothelial dysfunction and pharmacological treatment. *World J Cardiol* 2015; 7(11):719-41.
258. Satoh M., et al. Cellular and molecular mechanisms of statins: an update on pleiotropic effects. *Clin Sci (Lond)* 2015; 129(2): 93-105.
259. Asberg A., et al. Effect of cholesterol lowering on endothelial function in renal transplant recipients. *Clin Transplant* 2003; 17(4):385-90.
260. Coppolino G., et al. Circulating progenitor cells after cold pressor test in hypertensive and uremic patients. *Hypertens Res* 2008; 31(4):717-24.
261. Delva P., et al. Endothelial progenitor cells in patients with essential hypertension. *J Hypertens* 2007; 25(1):127-32.
262. Macunluoglu B., et al. Effects of rapamycin and tacrolimus on mature endothelial cells and endothelial progenitor cells. *J Pak Med Assoc* 2012; 62(8):822-5.

263. Miriuka SG., et al. mTOR inhibition induces endothelial progenitor cell death. *Am J Transplant* 2006; 6(9):2069-79.
264. Riegersperger M., et al. Effect of conversion from ciclosporin to tacrolimus on endothelial progenitor cells in stable long-term kidney transplant recipients. *Transplantation* 2013; 95(11):1338-45.
265. Hernández GL., et al. Selective inhibition of vascular endothelial growth factor-mediated angiogenesis by cyclosporine A: Roles of the nuclear factor of activated T cells and cyclooxygenase 2. *J Exp Med* 2001; 193(5):607-20.

11. ÍNDEX DE TAULES

Taula 1. Factors de risc cardiovascular en la malaltia renal crònica	31
Taula 2. Etiologia de la disfunció endotelial en la malaltia renal crònica	44
Taula 3. Factors que influeixen en el nombre de cèl·lules progenitores endotelials en sang perifèrica	49
Taula 4. Característiques antropomètriques dels controls sans	97
Taula 5. Quantificació de les cèl·lules CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL en els controls sans	98
Taula 6. Característiques bioquímiques basals de la població control sana	98
Taula 7. Característiques antropomètriques dels pacients amb malaltia renal crònica	99
Taula 8. Quantificació de les cèl·lules CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL en la malaltia renal crònica	101
Taula 9. Dades analítiques dels pacients amb malaltia renal crònica	101
Taula 10. Dades antropomètriques basals del grup trasplantament renal	103
Taula 11. Quantificació de les cèl·lules CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL en el moment del trasplantament renal	103
Taula 12. Dades analítiques dels pacients trasplantats (dades basals)	104
Taula 13. Associació entre el gènere i cèl·lules CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL	106
Taula 14. Dades antropomètriques dels controls sans en funció de la quantificació de cèl·lules CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL categoritzada per la mediana	104
Taula 15. Dades bioquímiques dels controls sans en funció de la quantificació de cèl·lules CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL categoritzada per la mediana	109

Taula 16. Associació entre el gènere i les cèl·lules CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL	112
Taula 17. Relació entre diabetes mellitus i cèl·lules CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL en pacients amb malaltia renal crònica	113
Taula 18. Dades antropomètriques dels malalts renal en funció de la quantificació de cèl·lules CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL categoritzada per la mediana	116
Taula 19. Dades bioquímiques dels malalts renals en funció de la quantificació de cèl·lules CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL categoritzada per la mediana	119
Taula 20. Quantificació de cèl·lules CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL dels malalts renals crònics en comparació amb els controls sans	120
Taula 21. Diferències antropomètriques entre els pacients amb malaltia renal crònica i el grup control	122
Taula 22. Diferències bioquímiques entre els malalts renals crònics i el grup control sa	122
Taula 23. Diferències en el nombre de cèl·lules CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL en funció de l'accés vascular	124
Taula 24. Quantificació de cèl·lules CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL en funció de l'accés vascular i la presència de diabetes mellitus	125
Taula 25. Quantificació de cèl·lules CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL dels pacients en hemodiàlisi en funció de l'accés vascular respecte els controls sans	126
Taula 26. Dades basals dels pacients en hemodiàlisi a través de FAVI en comparació als pacients en hemodiàlisi a través de catèter	128
Taula 27. Dades bioquímiques dels pacients en hemodiàlisi a través de FAVI en comparació als pacients en hemodiàlisi a través de catèter tunelitzat	129

Taula 28. Relació entre les cèl·lules CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL, l'accés vascular i la mortalitat dels pacients en hemodiàlisi	136
Taula 29. Quantificació de les cèl·lules CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL i funció renal dels pacients trasplantats als 6 i 12 mesos posttrasplantament renal	138
Taula 30. Evolució dels paràmetres antropomètrics als 6 i 12 mesos posttrasplantament respecte el moment basal	140
Taula 31. Evolució dels paràmetres bioquímics als 6 i 12 mesos posttrasplantament respecte el moment basal	141
Taula 32. Cèl·lules CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL dels pacients trasplantats renals als 6 i 12 mesos en comparació als pacients en hemodiàlisi	143
Taula 33. Comparació dels paràmetres antropomètrics als 6 i 12 mesos posttrasplantament respecte els pacients en hemodiàlisi	145
Taula 34. Evolució de l'anèmia, metabolisme de la glucosa i metabolisme del calci-fòsfor en el posttrasplantament en comparació als pacients en hemodiàlisi	146
Taula 35. Evolució dels paràmetres nutricionals i del metabolisme lipídic en el posttrasplantament en comparació als pacients en hemodiàlisi	147
Taula 36. Comparació dels paràmetres inflamatoris i de risc cardiovascular en el posttrasplantament respecte la població en hemodiàlisi	148

12. ÍNDEX DE FIGURES

Figura 1. Mobilització, reclutament, i diferenciació de les cèl·lules progenitores endotelials des de la mèdula òssia a la circulació sistèmica	47
Figura 2. Esquema d'anàlisi del tub control, amb anticossos per CD45-FITC, isotip-PE i 7-AAD	87
Figura 3. Esquema d'anàlisi de la mostra, amb anticossos per CD45-FITC, CD34-PE i 7-AAD (PerCP-Cy5.5)	88
Figura 4. Anàlisi dels valors absoluts amb beads PerfectCount	89
Figura 5. Anàlisi del tub control per l'antigen CD309 (APC-A) i CD133 (PE-A) de les cèl·lules CD34 ⁺ (FITC-A) i CD45 ⁺ (Pacific Blue-A)	90
Figura 6. Anàlisi del tub per quantificar els antigens CD309 (APC-A) i CD133 (PE-A) de les cèl·lules CD34 ⁺ (FITC-A) i CD45 ⁺ (Pacific Blue-A)	91
Figura 7. Etiologia de la malaltia renal crònica en els pacients en hemodiàlisi i trasplantats renals	100
Figura 8. Gràfica de dispersió entre l'edat i les cèl·lules CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL en els controls sans	106
Figura 9. PCR en funció de les cèl·lules CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL categoritzat segons la mediana pel grup control sa	111
Figura 10. Gràfica de dispersió entre l'edat i les cèl·lules CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL en els pacients amb malaltia renal crònica	112
Figura 11. Diagrama de caixa entre diabetes mellitus i cèl·lules CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL en pacients amb malaltia renal crònica	114
Figura 12. Distribució dels pacients amb malaltia renal crònica i diabetes respecte la variable CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL categoritzada en funció de la mediana	117
Figura 13. Distribució de pacients en tractament amb antagonistes dels canals del calci respecte la variable CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL categoritzada en funció de la mediana	118

Figura 14. Diagrama de caixa de la variable CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL per a malaltia renal crònica i control	121
Figura 15. Diagrama de caixa del patró de la variable CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL, per a fistula arteriovenbosa interna i catéter	125
Figura 16. Diagrama de caixa del patró de la variable CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL pels controls sans i els pacients en hemodiàlisi segons l'accés vascular	127
Figura 17. Diagrama de caixes del patró de l'albumina i prealbumina dels pacients en hemodiàlisi en funció de l'accés vascular	131
Figura 18. Diagrama de caixes del patró del fòsfor i proteïna C reactiva dels pacients en hemodiàlisi en funció de l'accés vascular	132
Figura 19. Distribució de pacients diabètics en hemodiàlisi i risc de cardiopatia isquèmica	134
Figura 20. Mortalitat dels pacients en hemodiàlisi en funció de l'accés vascular	135
Figura 21. Diagrama de caixa del patró de la variable CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL en funció de l'accés vascular dels pacients que són exitus durant l'estudi	137
Figura 22. Diagrama de caixa del patró de la variable CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL i de la variable creatinina en funció del temps posttrasplantament renal	139
Figura 23. Diagrama de caixa del patró de la variable CD34 ⁺ CD133 ⁺ VEGFR-2 ⁺ /mL en el grup hemodiàlisi i posttrasplantament renal	144

