



Consideraciones sobre los pericitos como reguladores de la proliferación y función microvascular. Su papel en las enfermedades cardiovasculares

Leticia Graciela Hamana Zorrilla¹.

¹Anatomía Patológica Mamalety2002@yahoo.com

Correspondencia: Instituto de Medicina Tropical - Facultad de Medicina - Universidad Central de Venezuela.

Consignado el 31 de Diciembre del 2000 a la Revista Vitae Academia Biomédica Digital.

RESUMEN

Las células que forman la microcirculación (células endoteliales, células musculares lisas y pericitos) representan la masa celular predominante del sistema cardiovascular. Las células murales o pericitos son células multipotenciales de origen mesequimático, implicadas en una variedad de alteraciones microvasculares, con actividades multifuncionales, las cuales están siendo aclaradas. Los pericitos extienden largos procesos citoplasmáticos sobre la superficie de las células endoteliales, haciendo contactos interdigitantes, y estas interacciones son importantes para la maduración, remodelamiento y mantenimiento del sistema vascular. Los pericitos pueden jugar un papel antiangiogénico en vivo. Ellos son capaces de transformarse en

otras células derivadas del mesodermo, incluyendo células musculares lisas, fibroblastos, condroblastos, adipocitos y células microgliales, y son ahora considerados fagocíticos a menos en el sistema nervioso central. Existe también evidencia de que los pericitos están involucrados en el transporte a través de la barrera hemato-encefálica y la regulación de la permeabilidad vascular. Estudios recientes han sugerido que estas células pueden ser responsables al menos en parte de mediar la calcificación comúnmente asociada con la aterosclerosis. Los pericitos han sido implicados en una variedad de enfermedades cardiovasculares, diabetes y parecen contraerse durante los procesos inflamatorios. El papel definitivo de los pericitos no ha sido totalmente establecido, aunque hay muchas líneas de investigación que probablemente aclaran otras funciones de los pericitos.

PALABRAS CLAVE: pericitos, microcirculación, células endoteliales, angiogenesis, capilar.

CONSIDERATIONS ABOUT PERICYTES HOW REGULATORS OF THE MICROVASCULAR PROLIFERATION AND FUNCTION. HIS ROLE IN THE CARDIOVASCULAR DISEASES.

SUMMARY

The cells forming the microcirculation (endothelial cells, smooth muscle cells and pericytes) represent the predominant cellular mass of the cardiovascular system. The mural cells or pericytes are multipotent cells of mesenchymal origin, implicated in a variety of microvascular alterations, with multifunctional activities which are now being elucidated. Pericytes extending long cytoplasmic processes over the surface of endothelial cells, making interdigitating contacts, and these interactions are important for the maturation, remodelling and maintenance of the vascular system. Pericytes, may play an anti angiogenic role in vivo. They are capable of changing into other mesodermally derived cells types, including smooth muscle cells, fibroblasts, chondroblast, adipocytes and microglial cells and are now considered phagocytic, at least in the central nervous system. There is also evidence that pericytes are involved in the transport across the blood-brain barrier and the regulation of vascular permeability. Recent studies have suggested that these cells may be responsible, at least in part, for mediating the calcification commonly associated with atherosclerosis. Pericytes have been implicated in a variety of cardiovascular diseases, diabetes, and appear to be contractile during inflammatory conditions. Definitive roles for pericytes are not yet completely established, although there are many lines of research that will probably elucidate further functions for the pericytes.

KEY WORDS: pericytes, microcirculation, endothelial cells, angiogenesis, capillary

INTRODUCCIÓN

Los pericitos, también conocidos como “Rouget cells” o células murales son células multipotenciales, que surgen de células mesenquimáticas, y por lo tanto, derivan del mesodermo.¹ Ellos rodean a la célula endotelial de arteriolas pequeñas, capilares y vénulas y se encuentran prácticamente en toda la microvasculatura de los vertebrados, exhibiendo diferencias en número y morfología, así como en especies y tejidos específicos.² Los pericitos típicos están ausentes en las vénulas del recto, médula renal, y en sinusoides hepáticos, esplénicos y de la médula ósea.^{3, 4}

La primera descripción como células perivasculares en asociación con capilares, fue hecha por Eberth (1871) y Rouget (1873), quienes describieron células muy ramificadas en la superficie de los capilares, en una amplia variedad de especies. Como “elementos musculares” fueron identificados en capilares del intestino delgado de ratones (Mayer, 1902). Krogh (1919), introdujo el término “Rouget cell” para describir esta célula perivascular. Marchand (1898) y Herzog (1914) las describieron como células adventiciales y consideraron su papel fagocítico. Aschoff y Kiyono (1913) se refirieron a ellas como histiocitos y las incluyeron en el sistema retículo endotelial. Fue Zimmerman quién introdujo el término “pericito” en 1923 y demostró que estas células están presentes alrededor de los capilares en un amplio rango de especies, en continuidad con células musculares lisas de las arterias y venas y son altamente ramificadas con procesos citoplasmáticos distintivos dentro de cada lecho capilar. Esto fue después confirmado por Clark y Clark (1925) y por Benninghoff (1930). Zimmerman opinaba que los pericitos eran células musculares lisas modificadas capaces de estrechar el diámetro capilar y fue el primero en demostrar la transición desde la célula muscular al pericito en el lado arterial del capilar, y su regreso a la célula muscular lisa en el lado venular. Plenck (1927) demostró que los pericitos estaban dentro de la membrana basal del capilar.⁵

MORFOLOGÍA

Los pericitos son células elongadas que se enrollan alrededor y a lo largo de las células endoteliales; están rodeados por una membrana basal y emiten prolongaciones que se extienden paralelas al eje mayor del capilar, así como procesos laterales que envuelven al capilar (Figura 1). Contienen bandas de miofilamentos contráctiles que frecuentemente se concentran en el lado endotelial de la célula, en los procesos laterales y pueden fusionarse formando cuerpos densos como los existentes en las células musculares lisas.^{4, 5} Los pericitos producen componentes de la membrana basal y exhiben muchas vesículas plasmalemales. El núcleo usualmente contiene heterocromatina hacia la periferia y ocasionalmente nucleolo. Cerca del núcleo, hay varias cisternas de Golgy, moderada cantidad de retículo endoplasmático rugoso (RER) y escasas mitocondrias. En el citoplasma pueden verse pocos lisosomas pequeños, excepto en el sistema nervioso central, donde son numerosos. Típicamente, los pericitos contienen depósitos de glucógeno y ocasionalmente gotas de lípidos. La interfase de los pericitos tiene un par de centríolos adyacentes al núcleo que actúan como foco organizador de microtúbulos. Con poca frecuencia se ven cilios entre la célula endotelial y el pericito y se presume que son de origen pericítico, siendo su papel desconocido.

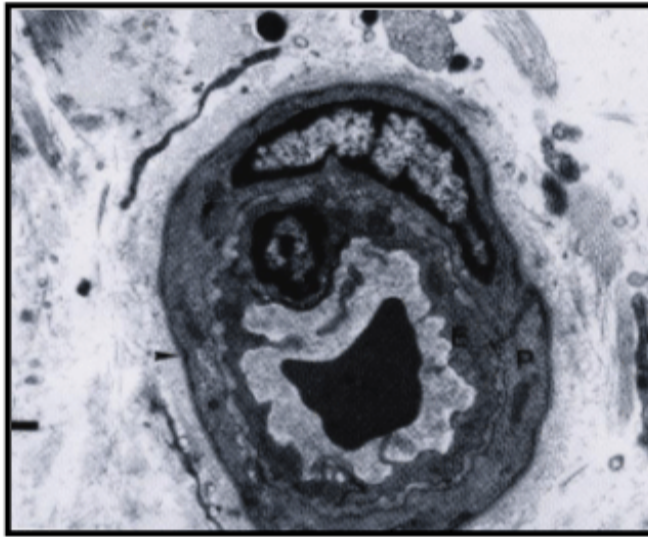


Figura 1
Micrografía donde se reconoce al pericito
enrollado alrededor de la célula endotelial.
Cortesía del prof. Hector Finol. UCV

Los pericitos están a una distancia variable de la célula endotelial. La capa más interna de los procesos pericíticos está frecuentemente tan cerca de la célula endotelial como para prevenir la interposición de la membrana basal, excepto en algunos sitios como en la microvasculatura de la dermis humana, en la cual los pericitos más internos pueden estar separados de la célula endotelial por espacios amplios con tejido colágeno. En las vénulas, los pericitos se superponen y adoptan una configuración en múltiples capas, de las cuales la capa más interna está en contacto con la célula endotelial y la más externa o periférica presumiblemente tiene como función la producción de material de membrana basal, y se presume que por su mayor concentración en vénulas pueden tener un efecto más pronunciado.² Zimmerman introdujo el término “pericito transicional” para distinguir entre el pericito de los capilares y de los vasos pre y post capilares, observando que los pericitos capilares son elongados con procesos largos orientados longitudinalmente a la dirección del vaso y los transicionales tienen extensiones cortas y gruesas que rodean al vaso perpendicularmente al eje mayor.³

In vitro, los pericitos conservan muchas de sus características, tales como los depósitos de glucógeno y la presencia de microfilamentos; adoptando fenotipos reversibles tales como irregulares, estrellados, delgados, elongados o nódulos “clusters”, los cuales pueden contener cientos de pericitos.²

IMPLICACIONES FUNCIONALES

La variabilidad en la forma, frecuencia y distribución dentro del lecho capilar y la relación entre pericitos y endotelio en diferentes tejidos, ha hecho que se interprete a los pericitos como una familia heterogénea de células, y ha sugerido funciones tisulares específicas.¹ Se ha propuesto que se trate en general de células mesenquimáticas primitivas multipotenciales, capaces de diferenciarse de acuerdo a las circunstancias, ejerciendo diferentes funciones tales como: soporte estructural para la pared capilar, síntesis de membrana basal vascular, fagocitosis, regulación del

crecimiento de nuevos capilares, regulación de la permeabilidad capilar, presentador de antígenos y contracción vascular entre otras funciones.^{6,7}

Igualmente, el pericito ha sido considerado como célula precursora de diferentes líneas celulares tales como células musculares lisas, fagocitos, células de la microglía, osteoblastos, condroblastos y adipocitos, entre otros. También se ha observado una transición gradual entre pericitos y células musculares lisas en arteriolas terminales y vénulas.^{1, 6, 8} Existen estudios que indican que el endotelio primordial puede reclutar células mesenquimáticas indiferenciadas y dirigir su diferenciación a pericitos en la microvasculatura y a células musculares lisas en vasos grandes. Para tal proceso se han implicado factores solubles tales como el factor de crecimiento derivado de las plaquetas y el factor beta de crecimiento transformante.¹ Los pericitos también son conocidos como células contráctiles capaces de modular el flujo sanguíneo microvascular. Esta función se le ha atribuido tomando en cuenta su localización y la presencia de actina en el lado abluminal de los procesos citoplasmáticos, así como estructuras similares a los cuerpos densos.⁵ Joyce y colaboradores demostraron la presencia de proteína-quinasa dependiente de GMP-cíclico (con función en la regulación de la contracción), así como de tropomiosina en los pericitos.⁵ La contracción de los pericitos resulta en el plegamiento de los sustratos, ellos producen 8-10 veces más TxA₂ y PG F₂ que la célula muscular lisa, e igual cantidad de PGI₂.⁸ En las vénulas, los pericitos se concentran sobre y alrededor de las uniones de las células endoteliales y una disminución en la cobertura de la célula endotelial por el pericito durante la inflamación inducida por histaminas, indica que éste se contrajo. La contracción del pericito, así como su localización sobre o cerca de las uniones “gap”, tendría una acción protectora, previniendo la laceración del endotelio y controlando la extravasación de macromoléculas o elementos formes. La posición de los pericitos cerca y sobre las uniones “gap” durante la angiogénesis ha sido descrito como “cell umbrella”.

La función fagocítica de los pericitos, ha sido estudiada y demostrada en el sistema nervioso central, donde son mucho más fagocíticos que en otros órganos y se ha referido que representan células de la microglía, donde juegan un importante papel para mantener la barrera hematoencefálica. Ha sido demostrado, incluso, que los pericitos cerebrales humanos son exclusivamente granulares lo cual soporta su rol fagocítico.⁵

Existen factores que sugieren que el pericito coordina la función de la célula endotelial y por lo tanto regula la proliferación y función microvascular.⁹

La angiogénesis es el proceso por el cual nuevos vasos sanguíneos se originan y se diferencian de los vasos sanguíneos preexistentes como resultado de una cascada de eventos que incluye la activación de varios factores de crecimiento en respuesta a diferentes estímulos ambientales.¹⁰ Aunque el mecanismo exacto no es bien conocido, la angiogénesis incluye una serie de eventos, tales como:

- Activación de la célula endotelial y del pericito con aumento de los organelos intracelulares y del tamaño nuclear.
- Degradación de la membrana basal por proteasas (incluyendo colagenasas y activador del plasminógeno).

- Migración de células endoteliales dirigidas por factores quimiotácticos liberados por múltiples líneas celulares, incluyendo fibroblastos, monocitos, plaquetas, mastocitos y neutrófilos.
- Proliferación de células endoteliales.
- Diferenciación de las células endoteliales con reestablecimiento de los contactos célula-célula y formación del túbulo.
- Migración de pericitos.
- Formación de una nueva membrana basal por las células endoteliales neoformadas y los pericitos.
- Remodelación de la nueva red capilar llevando a la maduración y estabilización de los vasos sanguíneos.

Para entender una serie de eventos que ocurren en la microcirculación, hay que conocer cómo es la relación entre la célula endotelial y los pericitos, entre las cuales hay numerosos contactos. Los pericitos liberan factores solubles que son potentes inhibidores del crecimiento de las células endoteliales, ejerciendo por lo tanto un efecto inhibitorio de la angiogénesis. Los pericitos también promueven la constricción de la microvasculatura por la estimulación de la producción de endotelina-1 (potente vasoconstrictor) y la inhibición de la producción de sintetasa óxido nítrico inducible (vasodilatador) por la célula endotelial.¹¹ Es conocido que los vasos sanguíneos tempranamente formados en el embrión están constituidos enteramente por células endoteliales y que el reclutamiento de los pericitos de soporte es esencial para la supervivencia, maduración y estabilidad vascular.¹²

Dentro de los factores que sugieren la función de los pericitos sobre la célula endotelial, existe la demostración de uniones “gap” entre pericitos y endotelio y la degeneración de pericitos en retinas de diabéticos, previo a la neovascularización. Por otra parte, los hemangiomas que son tumores vasculares que se caracterizan por la proliferación de células endoteliales, cursan con muy pocos pericitos, así mismo, el cese del crecimiento de células endoteliales en los capilares neoformados por el arribo de los pericitos y por último, los capilares de la retina los cuales poseen un alto rango de cobertura por los pericitos cursan con una baja tasa de proliferación endotelial.^{2,}

⁵ Algunos investigadores encontraron en el músculo esquelético de ratas, sometidos a inducción de crecimiento capilar, una significativa reducción en el área relativa de contacto entre los pericitos y la superficie abluminal capilar. La separación de los procesos periciticos coincidía con un incremento en la densidad capilar. Estos hallazgos indican que los pericitos pueden tener un papel anti-angiogénesis “in vivo” en tejido adulto normal similar al propuesto en modelos “in Vitro” donde se ha demostrado una retracción durante la actividad muscular el cual libera a la célula endotelial de su contacto inhibitorio.¹³

Otros investigadores obtuvieron resultados similares al inducir angiogénesis fisiológica en el músculo esquelético de conejos, encontrando un aumento en el flujo sanguíneo arterial y tisular, asociado a un aumento en la densidad capilar entre los 7 y los 14 días de inducción. Notaron que este aumento era causado por la formación de gemaciones capilares que comienzan como protrusiones citoplasmáticas endoteliales, que posteriormente hacen contacto con otros capilares en división formando una red.¹⁴ La estabilización de los vasos neoformados por los pericitos reclutados en el paso final de la angiogénesis, está bajo la influencia del factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) y angiopoietinas 1, 2 y 4.^{12, 15} El reclutamiento de

pericitos es esencial para la maduración de la vasculatura y el contacto físico mediado por las moléculas de adhesión, integrinas y uniones "gap" parece contribuir al control de la función y crecimiento vascular.

El Soporte mecánico de la pared capilar por el pericito se basa en la evidencia de que los pericitos rodean al capilar, haciendo numerosos contactos con el endotelio, revestidos por membrana basal y colágeno en continuidad con la membrana basal del capilar. Autores sugieren que el mayor número de pericitos en el lado venoso del lecho vascular puede prevenir el colapso de los mismos a baja presión.^{3, 5} También se cree que la pérdida selectiva de pericitos en los diabéticos debilita focalmente la pared capilar llevando a la formación de aneurismas e igualmente, la mayor resistencia de los vasos de la retina en hipertensos, se ha atribuido a un mayor número de procesos pericíticos.³

En lo que respecta a la Síntesis de matriz extracelular capilar, hay reportes que indican que el pericito en cultivo produce colágeno de tipo IV y glicosaminoglicanos. Existe también la opinión de que el pericito sintetiza agentes vasoactivos que puedan actuar en la célula endotelial y muscular lisa para modular la función microvascular lo cual explicaría la presencia de aparato de Golgy y RER en su citoplasma.

Otra de las funciones atribuidas al pericito es la modulación de la permeabilidad capilar, lo cual ha sido estudiado mayormente en la barrera hematoencefálica como se ha referido anteriormente.

Estudios más recientes sugieren que los pericitos pueden ser responsables, al menos en parte, de mediar la calcificación distrófica tisular comúnmente asociada con la aterosclerosis, sugiriendo que "in Vitro", los pericitos depositan en la microvasculatura, una matriz mineralizada similar al tejido óseo ya que producen hidroxapatita, tenascina y colágeno, todos ellos implicados en este proceso. "In vivo", también se ha demostrado que los pericitos microvasculares depositan una matriz bien organizada de tejido fibroso, óseo y cartilaginoso.⁸

MARCADORES MOLECULARES

Las proteínas y filamentos intermedios de los pericitos muestran diferencias tisulares y en las distintas especies, expresando vimentina sola o en combinación con desmina. Los pericitos también expresan proteínas típicas de células contráctiles tales como: isoformas músculo liso específicas de actina y miosina, GMPc-protein kinasa y tropomiosina.⁶ Otros marcadores que pueden ser positivos en el citoplasma de los pericitos son la proteína 140 Kda, gangliósido de superficie y antígeno asociado a melanosoma de alto peso molecular.

Contactos entre célula endotelial y pericito

Los pericitos mantienen con las células endoteliales tres tipos de uniones:

1. **Contactos de adhesión:** Son áreas ricas en fibronectina, la cual es una proteína adhesiva en los sitios de aproximación de las membranas plasmáticas de ambas células. Están desprovistos de vesículas plasmalemales y de membrana basal.

2. En algunos tejidos, los pericitos y las células endoteliales se interdigitan formando uniones "*peg and socket*", a través de las cuales una célula puede formar una extensión citoplasmática dentro de la otra. Este proceso ocurre en las vénulas postcapilares de la dermis humana normal y patológica y en el tejido de granulación. Se ha sugerido que estos puntos de unión intercelulares son los sitios de transferencia de la fuerza contráctil de los pericitos al endotelio.⁵
3. Las uniones "*gap*": como se ha explicado anteriormente, son sitios de transferencia de nucleótidos lo cual sugiere que los pericitos son capaces de coordinar las actividades de la célula endotelial.

Los pericitos en condiciones patológicas

Diabetes Mellitus: Se ha determinado que la producción pericítica de componentes de la membrana basal aumenta con los niveles de glicemia. Los cambios descritos post hiperglicemia están constituidos por aumento del grosor de la membrana basal microvascular con adelgazamiento de los procesos pericíticos, disminución del número de contactos entre pericitos y células endoteliales así como disminución del número de pericitos. En la retinopatía diabética es característico la pérdida de pericitos, microaneurismas y capilares acelulares. La causa de la pérdida de pericitos durante la retinopatía diabética es desconocida y se piensa que esté relacionada con la acumulación de productos tóxicos tales como el sorbitol o productos finales de la glicosilación.¹⁶ El reciente descubrimiento de un anticuerpo antipericito en diabéticos, ofrece esperanzas tanto para el diagnóstico como para investigaciones útiles en un futuro cercano.¹¹

Neoplasias: Se ha demostrado un amplio rango de apariencia de los pericitos en las neoplasias. En los hemangiopericitomas, los pericitos poco se asemejan a los pericitos normales. Algunos tumores contienen mezclas de células semejantes a células musculares lisas y pericitos (Figura 6). Los pericitos están presentes en la mayoría de los vasos tumorales, pero tienen múltiples anormalidades, incluyendo la expresión alterada de proteínas marcadoras.¹⁷ (Figura 2)

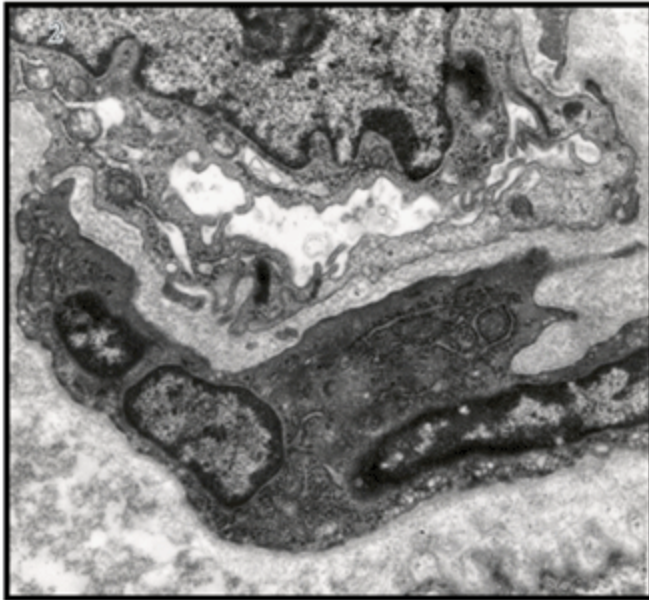


Figura 2

Micrografía de un caso de histiocitoma fibroso maligno, donde se aprecia un pericito proliferativo con núcleo grande, abundantes polisomas, mitocondrias y RER.
Cortesía del prof. Hector Finol. UCV.

Hipertensión arterial (HTA) y otras: Se ha postulado que si la contracción del pericito modula el tono microvascular, su proliferación puede influenciar la evolución y progresión de la HTA. Cultivos de hipertensos tienen 2-5 veces más pericitos rodeando células endoteliales que los de individuos no hipertensos.

Los pericitos son abundantes en los capilares del sistema nervioso central de pacientes con Alzheimer.

Otro proceso mediado por los pericitos es la inflamación y fagocitosis. Los pericitos también han sido implicados en las complicaciones vasculares del síndrome de Reynaud, en las manifestaciones tempranas de la esclerodermia y la calcificación inapropiada de tejidos vasculares.¹¹

CONCLUSIÓN

El rol definitivo de los pericitos no ha sido bien establecido. Futuros experimentos novedosos en el uso de técnicas de cultivo, inmunohistoquímica, microscopía electrónica y biología molecular utilizadas para estudiar el metabolismo y bioquímica de los pericitos, se dirigen a establecer como esta célula afecta la permeabilidad microvascular, las condiciones para su contracción in vivo, su papel en la regulación de la proliferación de células endoteliales y otras líneas celulares, así como sus propiedades fagocíticas. Futuras investigaciones que nos hagan conocer mejor la compleja relación existente entre los pericitos y las células endoteliales en relación con la angiogénesis, tendrá implicaciones prácticas para la cura de las heridas y el tratamiento de los tumores entre otras condiciones patológicas en donde vimos implicados a los pericitos.

REFERENCIAS

1. Hirschi KK, D'Amore PA. Pericytes in the microvasculature. *Cardiovasc Res* 1996; 32:687-98.
2. Sims DE. Recent advances in pericyte biology. Implications for health and disease. *Can J Cardiol* 1991; 7:431-43.
3. Nehls V, Drenckhahn D. The versatility of microvascular pericytes: from mesenchyme to smooth muscle: *Histochemistry* 1993; 99:1-12.
4. Allt G, Lawrenson JG. Pericytes: cell biology and pathology: *Cells Tiss Org* 2001; 169(1):1-11.
5. Tilton, RG. Capillary pericytes: perspectives and future Trends. *J Electron Microsc Techni* 1991; 19:327-34.
6. Diaz L, Gutierrez R, Varela H, Rancel N, Valladares F. Microvascular pericytes: A review of their morphological and functional characteristics: *Histol Histopathol* 1991;6:269-86.
7. D'Amore PA. Capillary growth: a two cell system : *Semi Cancer Biol* 1992;3:49-56.
8. Canfield AE, Doherty MJ, Wood AC, Farington C, Ashton B, Begum N, et al. Role of pericytes in vascular calcification: a review.: *Z Kardiol* 2000;89 S2:20-7.(Abstract)
9. Hirschi KK, D'Amore PA. Control of angiogenesis by the pericyte: molecular mechanisms significance. : *EXS* 1997;79:419-28.(Abstract)
10. Hamawy AH, Lee L, Crystal RG, Rosengart TK. Cardiac angiogenesis and gene therapy: a strategy for myocardial revascularization. In: *Current Opinion Cardiology* 1999; 14:515-32.
11. Sims DE. Diversity within pericytes: *Clini Exp Pharm* 2000; 27:842-46.
12. Soundberg Ch, Kowanetz M, Brown L, Detmar M, Dvorak H. Stable expression of angiopoietin-1 and markers by cultured pericytes: phenotypic similarities to a subpopulation of cells in maturing vessels during later stages of angiogenesis in vivo. *Lab Invest* 2002; 82:387-401.
13. Egginton S, Zhou AL, Brown MD, Hudlicka O. The role of pericytes in controlling angiogenesis in vivo. *Adv Exp Med Biol* 2000; 476:81-99.
14. Toshihito E, Naoto H, Mikio K, Koichi K, Hiroshi N, Akihiro S, et al. Physiological angiogenesis in electrically stimulated skeletal muscle in rabbits: Characterization of capillary sprouting by ultrastructural 3-D reconstruction study: *Pathol Intern* 2002;52:702-12.
15. Bhushan M, Young H, Brenchley P, Griffiths C. Recent advances in cutaneous angiogenesis. : *Brit Derm* 2002; 147:418-25.
16. Hammes HP, Lin J, Renner O, Shani M, Lundqvist A, Betsholtz Ch, et al. Pericytes and the pathogenesis of diabetic retinopathy. : *Diabetes* 2002; 51:3107-12.
17. Morikawa S, Baluk P, Kaidoh T, Haskell A, Jain RK, Mc Donald DM. Abnormalities in pericytes on blood vessels and endothelial spore in tumors. *Am J Pathol* 2002; 160:985-1000.