

UNIVERSIDAD DE GRANADA



**FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA**

TESIS DOCTORAL

**PARÁMETROS DE ESTRÉS OXIDATIVO EN
TRASPLANTE RENAL
Y EFECTO MODULADOR DE ATORVASTATINA Y
N-ACETILCISTEINA**

M^a CARMEN RUIZ FUENTES

2007

D. ANTONIO OSUNA ORTEGA, DOCTOR EN MEDICINA Y CIRUGÍA
POR LA UNIVERSIDAD DE GRANADA, PROFESOR ASOCIADO Y JEFE DE
SECCIÓN DEL SERVICIO
DE NEFROLOGÍA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO “VIRGEN DE LAS NIEVES”
DE GRANADA:

CERTIFICA:

Que M^a Carmen Ruiz Fuentes, Licencia en Medicina y Cirugía ha realizado su trabajo de Tesis Doctoral bajo mi dirección, sobre el tema: **“PARÁMETROS DE ESTRÉS OXIDATIVO EN TRASPLANTE RENAL Y EFECTO MODULADOR DE ATORVASTATINA Y N-ACETILCISTEINA”**, y que revisada la misma, la encuentra conforme para ser juzgada por el tribunal correspondiente.

Fdo. Antonio Osuna Ortega

Granada, 6 de Marzo de 2007.

D. JOSÉ FÉLIX VARGAS PALOMARES, DOCTOR EN MEDICINA Y CIRUGÍA
Y CATEDRÁTICO DE FISIOLÓGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA:

CERTIFICA:

Que M^a Carmen Ruiz Fuentes, Licenciada en Medicina y Cirugía ha realizado su trabajo de Tesis Doctoral bajo mi dirección, sobre el tema: **“PARÁMETROS DE ESTRÉS OXIDATIVO EN TRASPLANTE RENAL Y EFECTO MODULADOR DE ATORVASTATINA Y N-ACETILCISTEINA”**, y que revisada la misma, la encuentra conforme para ser juzgada por el tribunal correspondiente.

Fdo. José Félix Vargas Palomares

Granada, 6 de Marzo de 2007

PUBLICACIONES

Los resultados parciales obtenidos en el trabajo actual se encuentran en las siguientes publicaciones:

1. Moreno JM, Ruiz MC, Ruiz N, Gómez F, Vargas F, Asensio C, Osuna A. Modulation factors of oxidative status in stable renal function. *Transplant Proc* 2005; 37(3): 1428-1430.
2. Ruiz MC, Medina A, Moreno JM, Gómez I, Ruiz N, Bueno P, Asensio C, Osuna A. Relationship between oxidative stress parameters and atherosclerosis signs in the carotid artery of stable renal transplant patients. *Transplant Proc* 2005; 37(9): 3796-3798.
3. Ruiz MC, Moreno JM, Ruiz N, Vargas F, Asensio C, Osuna A. Effect of statin treatment on oxidative stress and renal function in renal transplantation. *Transplant Proc* 2006 Oct; 38(8):2431-2433.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Antonio Osuna Ortega, Jefe de Sección del Servicio de Nefrología del H.U. Virgen de las Nieves, por ser maestro desde la confianza y la cercanía al discípulo.

Al Dr. Félix Vargas, Catedrático de Fisiología de la Universidad de Granada, por su confianza en la realización de este trabajo.

Al Dr. Juan Manuel Moreno Ayuso, Bioquímico investigador de la Fundación Licinio de la Fuente, que ha realizado el trabajo bioquímico de este estudio, estando siempre dispuesto a aportar todo lo que está en su mano y si puede más.

A la Dra. Nuria Ruiz Fuentes, Profesora Titular del Departamento de Estadística e Investigación Operativa de la Universidad de Jaén, estadística, hermana, apoyo y aliento en el día a día de este trabajo.

A Dr. Antonio Medina Benítez, Radiólogo del H.U. Virgen de las Nieves, por su esfuerzo y disponibilidad.

A la Dra. Concepción Asensio Peinado, Jefe de Servicio de Nefrología del H.U. Virgen de las Nieves, y a todo el Servicio de Nefrología por la colaboración en la realización del trabajo.

Al personal de enfermería de la planta de hospitalización de Nefrología del H.U. Virgen de las Nieves, siempre dispuesto ante cualquier sugerencia o petición fuera de su labor asistencial habitual.

Al Dr. Juan Bravo Soto, Nefrólogo responsable de la consulta de Nefrología en el periodo de realización del trabajo, Dña. Purificación Martín y Dña. Encarnación Carretero, auxiliares de la consulta de Nefrología, por su colaboración en la coordinación con los pacientes del estudio.

A los pacientes trasplantados, siempre pensando en cómo mejorar su situación y sobre todo la de los demás que sufren de su dolencia.

A mis padres, confiando siempre desde el silencio y la cercanía.

A Diego, por el apoyo incondicional, con el que todo se hace mucho más llevadero.

ABREVIATURAS

- ◆ **ADN** – Ácido desoxirribonucleico
- ◆ **AGEs** – “*Advanced Glycation End-products*”. Productos finales de la glicosilación
- ◆ **Ang II** – Angiotensina II
- ◆ **AINE** – Antiinflamatorios no esteroideos
- ◆ **AL** – Argininosuccinato Liasa
- ◆ **ALERT** – *Assesment of Lescol in Renal Transplant*
- ◆ **Apo** – Apolipoproteína
- ◆ **ARA II** – Antagonistas de receptores de Angiotensina II
- ◆ **ARN** – Ácido Ribonucleico.
- ◆ **AS** – Argininosuccinato Sintetasa
- ◆ **ATP** – Adenosín trifosfato
- ◆ **BH₂** - Dihidrobiopterina
- ◆ **BH₄** – Tetrahidrobiopterina
- ◆ **cGPx** - Glutation Peroxidasa citosólica
- ◆ **CoA** – Coenzima A
- ◆ **COX** - Citocromo Oxidasa
- ◆ **CsA** – Ciclosporina
- ◆ **CT**- Colesterol Total
- ◆ **DAF** – “*Decay-accelerating factor*”. Factor acelerador de descomposición.
- ◆ **DP** – Diálisis Peritoneal
- ◆ **Ecto-5'-Nu** – ecto-5'-nucleotidasa.
- ◆ **ECV** – Enfermedad Cardiovascular
- ◆ **eGPx** - Glutation Peroxidasa extracelular
- ◆ **eNOS** – Óxido Nítrico Sintasa endotelial
- ◆ **ERC** – Enfermedad Renal Crónica
- ◆ **ESA** – “*Erythropoietic Stimulating Agents*”. Agentes Estimuladores de la Eritropoyesis.
- ◆ **FAD**- Flavín Adenina Dinucleótido
- ◆ **FRI** – Función Retardada del Injerto
- ◆ **giGPx** - Glutation Peroxidasa gastrointestinal
- ◆ **GPx** - Glutation Peroxidasa

- ◆ **GPx/prot** – Glutation Peroxidasa en relación a proteínas
- ◆ **GR** – Glutation Reductasa
- ◆ **GSH** - Glutation reducido
- ◆ **GSSG** - Glutation oxidado
- ◆ **H₂O₂** - Peróxido de hidrógeno
- ◆ **HCl** – Ácido Hipocloroso
- ◆ **HD** - Hemodiálisis
- ◆ **HDL**- “*High density lipoprotein*”. Lipoproteínas de alta densidad
- ◆ **HLA** – “*Human Leucocyte Antigen*”. Antígeno leucocitario humano
- ◆ **HMG CoA** – 3-hidroxi-3-metilglutaril-Coenzima A
- ◆ **4-HN** – 4 hidroxinonenal
- ◆ **HO₂**- Radical hidroperoxil
- ◆ **HTA** – Hipertensión Arterial
- ◆ **HVI** – Hipertrofia de Ventrículo Izquierdo
- ◆ **IC** – Inhibidor de calcineurina
- ◆ **ICAM** – “*Intercellular adhesion molecule*”. Molécula de adhesión intercelular.
- ◆ **IDL** – “*Intermediate Density Lipoprotein*”. Lipoproteína de densidad intermedia.
- ◆ **IECA** – Inhibidores de la Enzima Convertidora de Angiotensina
- ◆ **IFN** – Interferón
- ◆ **IL** – Interleukina
- ◆ **IMC** – Índice de Masa Corporal
- ◆ **IMT** – “*Intima Media Thickness*”. Engrosamiento íntima media.
- ◆ **iNOS** – Óxido Nítrico Sintasa inducible
- ◆ **JNC** – Joint Nacional Comité
- ◆ **K_m**- Constante enzimática de Michaelis-Menten
- ◆ **L•** - Radical alquil
- ◆ **LCAT** – Lecitín Colesterol Aciltransferasa
- ◆ **LDL** – “*Low Density Lipoprotein*”. Lipoproteína de baja densidad.
- ◆ **LDL-ox** – “*Low density lipoprotein*” oxidada
- ◆ **L-L** – Grupos alquil
- ◆ **LOO•**- Radical peroxil
- ◆ **LOOH**- - Hidroperóxido lipídico
- ◆ **Lp(a)** – Lipoproteína a

- ◆ **MCP-1** – “*Monocyte chemotactic protein*”. Proteína quimiotáctica de monocitos
- ◆ **MCSF** – “*Macrophage Colony Stimulating Factor*”. Factor estimulante de colonias mononucleares
- ◆ **MDA**- Malondialdehído
- ◆ **MDA/prot** – Malondialdehído en relación a proteínas
- ◆ **MDRD** – Modification of Diet in Renal Disease Study
- ◆ **MHC** – “*Major Histocompatibility Complex*”. Complejo mayor de Histocompatibilidad
- ◆ **MMF** – Micofenolato Mofetil
- ◆ **MPO** – Enzima Mieloperoxidasa
- ◆ **NAC** - N-Acetilcisteína
- ◆ **NADPH** - Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato
- ◆ **NCI** – Neuropatía Crónica del Injerto
- ◆ **NFκβ** – “*Nuclear Factor κβ*”. Factor nuclear κβ
- ◆ **NK** – *Natural Killer*
- ◆ **nNOS** – Óxido Nítrico Sintasa Neuronal
- ◆ **NO** – Óxido Nítrico
- ◆ **NOS** – Óxido Nítrico Sintasa
- ◆ **NOX** - NADPH oxidasa constitutiva
- ◆ **NOx** – Nitratos y nitritos
- ◆ **NTA** – Necrosis Tubular Aguda
- ◆ **O₂⁻** - Anión Superóxido
- ◆ **OH •** - Radical Hidroxilo
- ◆ **ONOO⁻** - Peroxinitritos
- ◆ **OS** – “*Oxidative stress*”. Estrés oxidativo
- ◆ **PCR** – Proteína C Reactiva
- ◆ **PDGF** – “*Platelet-derived Growth Factor*”. Factor de crecimiento derivado de plaquetas
- ◆ **PG** – Prostaglandina
- ◆ **PLGPx** - Glutation Peroxidasa Fosfolipídica

- ◆ **PTH** – Parathormona
- ◆ **RNM** – Resonancia Nuclear Magnética
- ◆ **RNS** – “*Reactive Nitrogen Species*”. Especies Reactivas de Nitrógeno.
- ◆ **ROOH** - Hidroperóxidos
- ◆ **ROS** – “*Reactive Oxygen Species*”. Especies Reactivas de Oxígeno.
- ◆ **SOD** - Superóxido Dismutasa
- ◆ **SRAA** – Sistema Renina Angiotensina Aldosterona
- ◆ **TA** – Tensión Arterial
- ◆ **TAC** – Tomografía Axial Computarizada
- ◆ **TAD** – Tensión Arterial Diastólica
- ◆ **TAD** – Tensión Arterial Sistólica
- ◆ **TCE** – Traumatismo Craneoencefálico
- ◆ **TGF β 1** – “*Transforming Growth Factor β 1*”. Factor de crecimiento transformante.
- ◆ **TGL** – Triglicéridos
- ◆ **TNF α** – “*Tumoral Necrosis Factor α* “. Factor de Necrosis Tumoral α
- ◆ **TRL** - Tacrolimus
- ◆ **Tto** – Tratamiento
- ◆ **Tx** - Trasplante
- ◆ **Tx** – Tromboxano
- ◆ **VCAM** – “*Vascular Cell Adhesion Molecule*”. Molécula de adhesión celular vascular
- ◆ **VLDL** – “*Very Low Density Lipoprotein*”. Lipoproteína de muy baja densidad
- ◆ **Vm** – Velocidad enzimática máxima
- ◆ **VSCM** – “*Vascular Smooth Muscle Cell*”. Célula Muscular Lisa Vascular
- ◆ **α -TO•** - Tocoferol
- ◆ **α -TOH** - Hidrotocoferol

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
1. ANTECEDENTES HISTÓRICOS.....	2
2. RADICALES LIBRES Y ESTRÉS OXIDATIVO	2
2.1 Concepto	2
2.2 ROS y antioxidantes enzimáticos	3
2.2.1. Anión superóxido.....	3
2.2.2. Enzima superoxidodismutasa	4
2.2.3. Peróxido de hidrógeno.....	5
2.2.3.a. Metabolización a oxígeno y agua	5
2.2.3.b. Vía glutathion	6
2.2.3.c. Reacción de Fenton-Haber Weiss.....	8
2.2.3.d. Mieloperoxidasa leucocitaria.....	8
2.3. Papel oxidativo del óxido nítrico.....	10
2.4. Otros antioxidantes no enzimáticos	13
2.4.1. Antioxidantes hidrosolubles	13
2.4.1.a. Flavonoides y polifenoles	13
2.4.1.b. Vitamina C.....	13
2.4.1.c. Ácido úrico.....	14
2.4.1.d. Bilirrubina.....	14
2.4.2. Antioxidantes liposolubles.....	14
2.4.2.a. Vitamina E	14
2.4.2.b. Coenzima Q10	15
2.5. Peroxidación lipídica	15
3. OXIDACIÓN Y ATEROSCLEROSIS	19
3.1. Características morfológicas de la aterosclerosis	19
3.1.1. Morfología de una arteria no patológica.....	19
3.1.2. Morfología de la lesión aterosclerótica.....	20
3.1.3. Morfología de la placa	21
3.2. Hipótesis sobre la génesis de la aterosclerosis	21
3.2.1. Respuesta al daño endotelial.....	21

3.2.2. Respuesta a la retención.....	22
3.2.3. Modificación oxidativa.....	22
3.3. Implicación del estrés oxidativo en la aterosclerosis.....	23
3.3.1. Anión superóxido.....	24
3.3.2. Especies reactivas de nitrógeno (RNS).....	24
3.3.3. Mieloperoxidasa	24
3.3.4. Lipoxigenasas	25
3.3.5. Metales de transición	25
4. OXIDACIÓN Y FUNCIÓN RENAL.....	26
4.1. Elevación en la producción de ROS y papel antioxidante.....	26
4.2. Mieloperoxidasa	28
4.3. Óxido nítrico.....	30
4.4. Perfil lipídico	32
4.5. Carbonil estrés	33
4.6. Función renal y aterosclerosis	35
5. ESTRÉS OXIDATIVO Y TRASPLANTE RENAL.....	36
5.1. ROS y enzimas antioxidantes	38
5.2. Daño isquemia-reperfusión.....	38
5.3. Hiperlipemia	39
5.4. Inmunosupresión.....	39
5.4.1. Ciclosporina.....	39
5.4.2. Tacrolimus	40
5.4.3. Micofenolato mofetil	40
5.5. Infecciones.....	40
5.5.1. Citomegalovirus.....	40
5.5.2. Infecciones urinarias.....	41
6. ESTRÉS OXIDATIVO Y DISFUNCIÓN CRÓNICA DEL INJERTO	41
6.1. Patología de la nefropatía crónica del injerto	41
6.1.1. Cambios vasculares	41
6.1.2. Cambios glomerulares	41
6.2. Factores de riesgo	42
6.2.1. Mecanismos inmunológicos	42
6.2.2. Mecanismos no inmunológicos	42

6.3. Estrés oxidativo	43
7. RIESGO CARDIOVASCULAR EN TRASPLANTE RENAL.....	44
7.1. Factores de riesgo cardiovascular	44
7.1.1. Clásicos.....	44
7.1.2. Característicos de trasplante	44
7.2. Calcificaciones vasculares	45
8. ESTATINAS.....	46
8.1. Síntesis de colesterol.....	46
8.2. Farmacología de las estatinas	47
8.3. Efecto hipolipemiante	49
8.4. Efectos pleiotrópicos	49
8.4.1. Efecto sobre la función endotelial	50
8.4.2. Trombosis y fibrinólisis.....	50
8.4.3. Inflamación vascular y efecto sobre los leucocitos	50
8.4.4. Inmunomodulación y trasplante	51
8.4.5. Protección vascular contra el daño mediado por el complemento	51
8.4.6. Angiogénesis.....	52
8.4.7. Estabilización de la placa.....	52
8.4.8. Reducción en la proliferación de la célula muscular lisa vascular	52
8.4.9. Descenso en la activación fibroblástica.....	52
8.5. Papel de las estatinas en estrés oxidativo	52
8.6. Estatinas en trasplante renal.....	54
8.6.1. Morbimortalidad cardiovascular.....	55
8.6.2. Neuropatía crónica del injerto	55
9. N-ACETILCISTEÍNA.....	57
9.1. NAC, estrés oxidativo y aterosclerosis.....	57
9.1.1. Acción sobre la vasoconstricción y la disfunción endotelial.....	57
9.1.2. Efecto sobre la célula muscular lisa vascular (VSMC)	57
9.1.3. Disminución de la apoptosis	58
9.2. NAC y función renal.....	58
9.2.1. NAC y radiocontraste	58
9.2.2. NAC y hemodiálisis.....	58
9.2.3. NAC e insuficiencia renal crónica.....	59

9.2.4. NAC y trasplante renal	59
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	61
HIPÓTESIS DE ESTUDIO	62
OBJETIVOS	63
PACIENTES Y MÉTODOS	64
1. CASUÍSTICA	65
2. FASES DE ESTUDIO	65
2.1. Fase 1. Estudio control (T1)	65
2.1.1. Variables clínicas	66
2.1.2. Variables bioquímicas	70
2.1.1 Parámetros de estrés oxidativo	71
2.2. Fase 2. Periodo de tratamiento (T2)	71
3. RECOGIDA DE DATOS	72
4. MÉTODOS ANALÍTICOS	72
4.1. Variables bioquímicas	72
4.2. Determinaciones enzimáticas	73
4.2.1. Actividad superóxido dismutasa	73
4.2.2. Actividad catalasa	73
4.2.3. Actividad glutatión reductasa	73
4.2.4. Actividad glutatión peroxidasa	74
4.3. Determinación de malondialdehído	74
4.4. Determinación de proteínas	75
4.5. Determinación de nitratos y nitritos	75
5. ESTUDIO DE CARÓTIDAS	76
6. MÉTODOS ESTADÍSTICOS	78
7. MÉTODO BIBLIOGRÁFICO	79
RESULTADOS	80
1. ESTUDIO PRELIMINAR	81
2. ESTUDIO BASAL (T0)	81
2.1. Características descriptivas de donante y receptor	81
2.1.a. Donante	81
2.1.b. Datos de trasplante	82

2.1.c. Receptor	83
2.2. Perfil oxidativo	85
a) Edad del donante.....	85
b) Hábito tabáquico.....	86
c) Infección por CMV	86
d) Función retardada del injerto.....	88
e) Microalbuminuria	89
f) Necesidad de hipotensores	90
g) Tratamiento anticalcineurínico.....	91
2.3. Perfil lipídico	91
2.4. Relación entre perfil oxidativo y lipídico	94
2.5. Estudio de riesgo relativo	95
2.6. Estudio carotídeo	96
a) Características del receptor. Riesgo relativo.....	97
b) Perfil oxidativo	98
c) Perfil lipídico	99
d) Función renal	100
3. ESTUDIO DE CONTROLES (T1)	101
3.1. Perfil oxidativo	101
a) Tratamiento anticalcineurínico	102
3.2. Perfil lipídico	103
3.3. Función renal	104
4. TRATAMIENTO CON ESTATINAS (T1)	104
4.1. Perfil oxidativo	104
4.2. Perfil lipídico	107
4.3. Función renal	108
4.4. Estudio de correlaciones	108
5. TRATAMIENTO CON ESTATINAS Y/O NAC (T2).....	109
5.1. Grupo 1	109
5.1.1. Perfil oxidativo	110
5.1.2. Perfil lipídico	111
5.1.3. Función renal	111
5.2. Grupo 2	112

5.2.1. Perfil oxidativo	112
5.2.2. Perfil lipídico	112
5.2.3. Función renal	113
5.3. Grupo 3	113
5.3.1. Perfil oxidativo	113
5.3.2. Perfil lipídico	113
5.3.3. Función renal	113
5.4. Comparación de grupos de tratamiento	114
5.4.1. Perfil oxidativo	114
5.4.2. Perfil lipídico	114
5.4.3. Función renal	116
5.5. Estudio de correlaciones	116
TABLAS	117
DISCUSIÓN	160
1. COMENTARIO SOBRE ESTUDIO BASAL	161
1.1 Descriptivos	161
1.1.1 Características del donante	161
1.1.2. Características del receptor	162
1.2. Comentarios a las diferencias en perfil oxidativo y lipídico atendiendo a las características del donante y receptor	164
1.3. Discusión sobre el estudio de asociación de características de donante y receptor y parámetros analíticos en el estudio basal	173
1.3.1. Características de trasplante y perfil lipídico	173
1.3.2 Creatinina y perfil lipídico	173
1.3.3 Glutation peroxidasa y reductasa	174
1.4. Comentarios sobre el estudio carotídeo	175
2. COMENTARIOS AL ESTUDIO DE CONTROLES	177
2.1. Parámetros oxidativos	178
2.2. Parámetros lipídicos	179
2.3. Función renal	81
3. DISCUSIÓN SOBRE EL PERIODO DE TRATAMIENTO CON ESTATINAS	182
3.1. Perfil oxidativo	182
3.2. Perfil lipídico	183

3.3. Función renal	184
4. DISCUSIÓN SOBRE EL TRATAMIENTO CON ESTATINAS Y/O NAC.....	185
4.1. Grupo 1- tratamiento con atorvastatina	185
4.2. Grupo 2 – tratamiento con atorvastatina y NAC	186
4.3. Grupo 3 – tratamiento con NAC.....	186
CONCLUSIONES	189
BIBLIOGRAFÍA	191

INTRODUCCIÓN

1. DATOS HISTÓRICOS

La existencia de radicales libres como entidades químicas se describió hace un siglo sin embargo no fue aceptada de forma universal. Los estudios de Gomberg (1900) y de Paneth (1923) mostraron la existencia en fase gaseosa de moléculas relativamente estables procedentes de rupturas hemolíticas que contenían un electrón desapareado en sus órbitas, denominándolos radicales libres.

A mitad de la década de los 50, a un pequeño grupo de científicos se le atribuyó el descubrimiento del oxígeno reactivo en el campo de la bioquímica. Estas moléculas reactivas se han considerado durante casi todo el siglo XX como efectoras de daño tisular aleatorio. Hay que entrar en el siglo XXI para encontrar avances en el estudio de la importancia de los radicales libres en las ciencias biomédicas.

Los radicales libres se producen para mantener la homeostasis a nivel celular en tejidos normales, sin embargo también se está descubriendo cómo en toda enfermedad hay implícito algún grado de estrés oxidativo producido por dichos radicales.

En el ámbito de la Nefrología las primeras referencias a la oxidación las encontramos en la década de los 70 en relación con la oxidación de células de serie roja sanguínea en pacientes en hemodiálisis (Rosenmund y cols 1975), y posteriormente en uremia (Kamoum y cols 1981) y diálisis peritoneal ya en la década de los 90 (Girelli y cols 1992).

A partir de ahí surge la gran evolución en el estudio de estrés oxidativo en uremia, hemodiálisis (HD) y trasplante (Tx) renal, con eclosión a final de los 90, comenzando por la implicación de la peroxidación lipídica y posteriormente la afectación de productos de glicación, proteínas y ácidos nucleicos, y su influencia en la fisiopatología de las distintas patologías, la función renal, e influencia cardiovascular.

2. RADICALES LIBRES Y ESTRÉS OXIDATIVO

2.1 Concepto

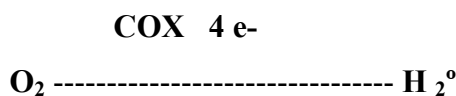
Los principales agentes oxidantes son los radicales libres, generados por la utilización del oxígeno en las células. Se define como radical libre a cualquier molécula o átomo que contenga uno o más electrones desapareados en su orbital más externo, derivados del oxígeno molecular (o *reactive oxygen species* – ROS).

El oxígeno en su estado basal es un birradical con dos electrones en su órbita externa (estado triplete). Debido a que los dos electrones tienen el mismo espín, el oxígeno solo puede reaccionar con un electrón, y esto lo hace poco reactivo. Sin embargo si uno de los dos electrones desapareados se estimula y cambia de espín, la molécula que resulta es el oxígeno singlete, que es un potente oxidante, y los dos electrones con espines antiparalelos pueden reaccionar con otros pares de electrones, esta molécula no se considera importante como iniciadora de daño oxidativo.

En condiciones fisiológicas existe un balance entre la formación de ROS y antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos. El **estrés oxidativo** es un conjunto de procesos deletéreos derivados del desequilibrio entre la formación aumentada de ROS y/o una capacidad antioxidante disminuida (Turrens 2003). Niveles bajos de ROS pueden ser necesarios en gran cantidad de procesos, entre los que encontramos mecanismos de señalización intracelular, inmunitarios, defensa antimicrobiana, proliferación o apoptosis.

Existen dos vías para la reducción del oxígeno:

- a) Univalente: en la que se forman especies activas de oxígeno, incompletas en su reducción, intermedias entre el oxígeno y el agua, y en las que se adhiere un electrón en cada paso, mediado por mecanismos antioxidantes enzimáticos, que se irán describiendo en los apartados siguientes.
- b) Tetravalente: en esta vía, la reacción catalizada por la citocromo oxidasa (COX) mitocondrial añadiendo 4 electrones al oxígeno, da lugar a su reducción a H₂O, sin liberar radicales de oxígeno. (Barja de Quiroga 1998)



2.2. ROS y antioxidantes enzimáticos

2.2.1. Anión superóxido

Gran parte los radicales libres van a derivar del **anión superóxido** (O₂⁻), primer ROS en el curso de la vía univalente de reducción del oxígeno. Este anión es producido de forma fisiológica en pequeña cantidad en la mitocondria, pero ante determinados estímulos, la producción se puede ver aumentada a expensas de la enzima Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato Oxidasa (NADPH oxidasa), principal fuente de producción del O₂⁻. en fagocitos y tejido vascular.

Existe otro tipo de NADPH oxidasa no fagocítica, o constitutiva, se denomina NOXs, es el caso de la NOX del endotelio vascular, en la que estímulos como la angiotensina II, endotelinas, hiperglucemia o niveles altos de colesterol van a ser factores humorales que produzcan el aumento de expresión de la enzima y determinen el aumento de producción de ROS.

Las fuentes principales de anión superóxido son:

No enzimáticas:

- a) *Mitocondrias*: son las responsables de más del 90% del consumo de oxígeno celular, y en ellas encontramos la vía monovalente de reducción del oxígeno. Las zonas de formación de O_2^- son: la membrana externa de la mitocondria, en la matriz y en ambos lados de la membrana mitocondrial interna (Turrens 2003).

Enzimáticas

- b) *Fagocitos del sistema inmune*: ante un estímulo, experimentan un aumento acusado de consumo de oxígeno, principalmente en la membrana plasmática, donde la enzima NADPH oxidasa (Babior y cols 2002; Vignais 2002) produce, a expensas de electrones de la vía de las pentosas y oxígeno basal, radicales libres de oxígeno.
- c) *Endotelio vascular*: mediante la NADPH oxidasa del endotelio (Babior 2000).
- $$\text{NAD(P)H} + 2 \text{O}_2 \longrightarrow \text{NAD(P)} + \text{H}^+ + 2 \text{O}_2^-.$$
- d) *Oxigenasas citocromo P450 dependientes* (Coon y cols 1992).
- e) La conversión proteolítica de *xantin deshidrogenasa* a xantin oxidasa, es proveedora de anión superóxido y peróxido de hidrógeno (Yokohama y cols 1990)

Las especies reactivas de oxígeno van a actuar sobre macromoléculas, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, provocando una reacción en cadena en la que especies intermedias pueden actuar a su vez como agentes oxidantes.

2.2.2. Enzima superóxidodismutasa

El anión superóxido es rápidamente transformado en **peróxido de hidrógeno** (H_2O_2) mediante la **enzima superóxidodismutasa** (SOD). Las SOD son la primera línea de defensa contra el daño oxidativo. Forman una familia de metaloenzimas, en la que se describen tres isoformas:

- a) Cobre-Zinc SOD (Cu-Zn SOD), presente en el citoplasma, dimérica y peso molecular 30 kDa;
- b) Manganeso-SOD (Mn SOD) presente en la mitocondria, producida en la matriz y en la cara interna de la membrana interna mitocondrial, tetramérica y pm 80kDa (Fridovich 1995);
- c) SOD Extracelular (ECSOD) que se encuentra en el intersticio, plasma, linfa y líquido sinovial, dimérica (Vaziri y cols 2003).

En la reacción, una molécula de superóxido se oxida dando lugar a O₂ molecular, mientras que otra se reduce para dar lugar a H₂O₂. La reacción está limitada por la difusión debido a la constante de la reacción ($2 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$)



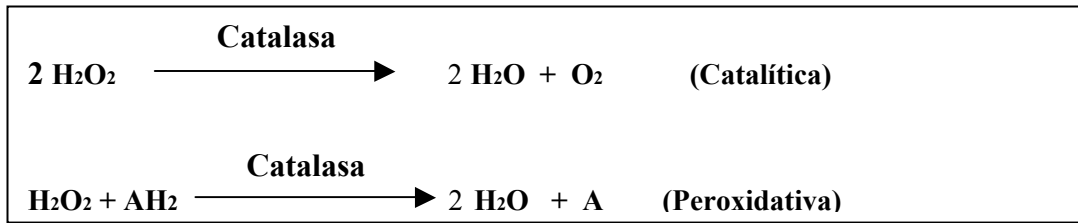
2.2.3 Peróxido de hidrógeno

Una vez formado el H₂O₂, gracias a la SOD, esta molécula oxidante, pero no radical libre, puede encaminarse hacia cuatro senderos: 1. metabolizarse a oxígeno y agua gracias a la actuación de la enzima catalasa; 2. vía glutatión; 3. a través de la reacción de Fenton/Haber-Weiss, en presencia de hierro, da lugar a una molécula de radical hidroxilo, y 4. entrar en el campo del sistema enzimático de la mieloperoxidasa leucocitaria.

2.2.3.a. Metabolización a oxígeno y agua.

Esta reacción está catalizada por la enzima **catalasa**, hemoenzima tetramérica, contiene 4 grupos ferroprotoporfirínicos por molécula, que realizan el intercambio redox (Matés y cols 1999) Se encuentra en los peroxisomas y está presente también en la mitocondria cardíaca (no ha sido encontrada en mitocondria de otros tejidos, incluido músculo esquelético (Turrens 2003). Es la enzima más detoxificante para la eliminación de peróxido de hidrógeno cuando la concentración está aumentada, debido a sus características enzimáticas, Km y Vm muy altas para el H₂O₂, no se satura a ninguna concentración. Interviene en dos tipos de reacciones: una *catalítica*, en la que una molécula de H₂O₂ se oxida a oxígeno, y la otra se reduce a dos moléculas de agua; y otra *peroxidativa*, en la que una molécula de H₂O₂ se convierte en agua valiéndose de un

substrato no específico portador de H como reductor (metanol, etanol, fenol, ácido fórmico,...) (Matés y cols 1999).



2.2.3.b. Vía Glutation

Glutation es un tripéptido de ácido glutámico, cisteína y glicocola (Barja de Quiroga 1998) que participa en variedad de procesos metabólicos, de transporte y detoxificación. Es el principal tiol no proteico celular. Podemos encontrarla en forma oxidada (GSSG) y reducida (GSH), y sus acciones forman parte de la protección frente al daño oxidativo (mediante la capacidad reductora del grupo tiólico de la cisteína), regulación de la síntesis de proteínas y modificación de actividad enzimática.

Dentro del grupo de las enzimas peroxidadas selenio-dependientes, el ejemplo más importante es la **glutation peroxidasa** (GPx). Dicha enzima cataliza la reducción de gran cantidad de hidroperóxidos (ROOH) y H_2O_2 usando glutacion reducido (GSH) (Matés y cols 1999).

Se describen cuatro isoenzimas de GPx que comparten como características comunes (Rotruck y cols 1973):

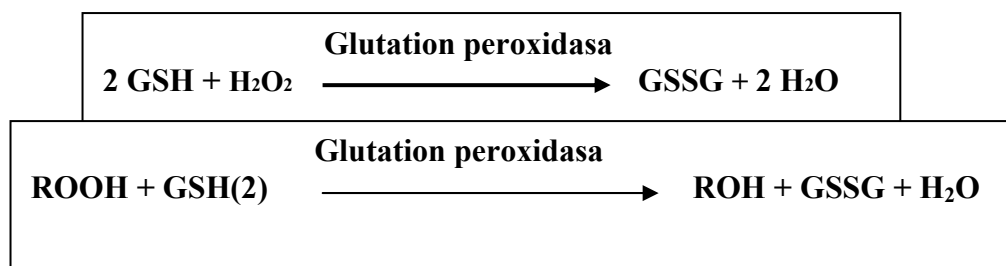
- a. Actividad enzimática dependiente de selenio.
- b. Residuo de selenocisteína que se inserta durante la traslación proteica y que da lugar a la actividad enzimática.
- c. Reacción enzimática en la que el selenio (que compone la selenocisteína) reduce los peróxidos.
- d. Oxidación de selenio seguida de una reducción mediada por el glutacion.

Encontramos por tanto las siguientes **isoenzimas**:

- i. *GPx citosólica y mitocondrial* (cGPx): parece encontrarse en todos los tejidos, pero predomina en eritrocitos, riñón e hígado. Reduce peróxido de hidrógeno y peróxidos orgánicos (derivados de ácidos grasos) (Matés y cols 1999).

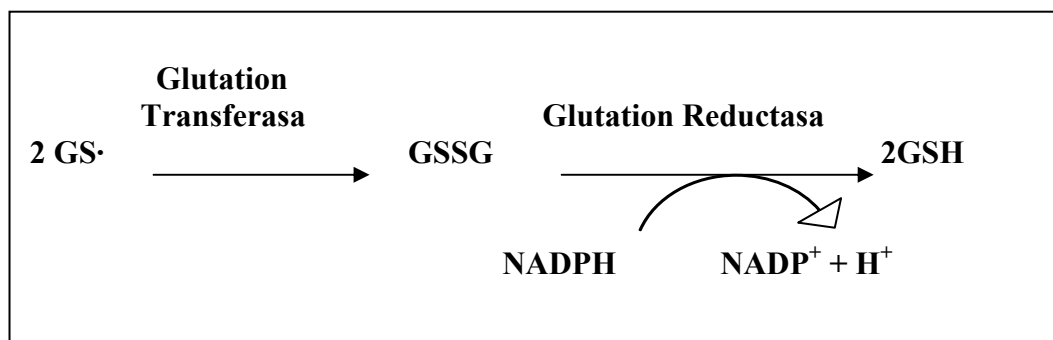
- ii. *GPx fosfolipídica* (PLGPx): capaz de reducir hidroperóxidos fosfolipídicos y se encuentra en la membrana y el citosol. Se expresa en mayor cantidad en células epiteliales renales y testes (Ursini y cols 1985, 1999).
- iii. *GPx extracelular* (eGPx): ha sido encontrada en plasma sanguíneo, leche materna, en lavado alveolar (Matés y cols 1999; Whittin y cols 2002). Reduce hidroperóxidos orgánicos, hidroperóxidos fosfolipídicos y peróxido de hidrógeno.
- iv. *GPx gastrointestinal* (giGPx): se encuentra en células epiteliales del tracto gastrointestinal, con propiedades similares a cGPx (Chu y Esworthy 1995).

Aunque GPx comparte sustrato con la catalasa, H_2O_2 , puede actuar con lípidos y otros hidroperóxidos orgánicos. El ciclo de la glutatión es una gran fuente de protección contra bajos niveles de estrés oxidativo, mientras la catalasa protege en mayor grado frente a daño oxidativo severo (Yan y Harding 1997). La enzima catalasa tiene mucha menor afinidad por el peróxido de hidrógeno que la GPx (Izawa y cols 1996). GPx presenta K_m y V_{max} bajas para el H_2O_2 , por lo que son adecuadas para eliminar concentraciones pequeñas de esta molécula.



Por otra parte GPx, y otras selenoproteínas que contienen selenocisteína o selenometionina, pueden actuar como peroxinitrito - reductasas en la línea de oxidación mediada por peroxinitritos (Sies y cols 1997).

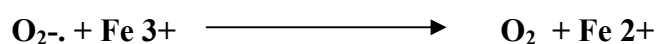
La **glutation reductasa** (GR) cataliza la reducción de glutatión oxidado (1 GSSG) a glutatión reducido (2 GSH) utilizando NADPH procedente de la vía de las pentosas (López Barea y cols 1990). Esta enzima es importante para mantener la eliminación de peróxido de hidrógeno a través de la GPx, y evita que el cociente GSSG/GSH, tóxico para la célula, se eleve. Se encuentra en el citosol y la mitocondria, y utilizan flavín adenina dinucleótido (FAD) que actúa como coenzima.



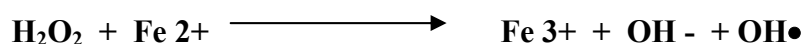
2.2.3.c. Reacción de Fenton-Haber Weiss

En esta vía el hierro va a ser el catalizador del proceso seguido por el H_2O_2 .

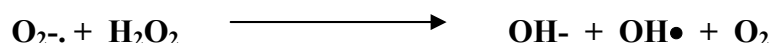
Una molécula de hierro en forma férrica (Fe^{3+}) se reduce a forma ferrosa (Fe^{2+}) por mediación del O_2^- .



La forma ferrosa a su vez reduce al H_2O_2 dando lugar al radical hidroxilo ($\text{OH}\cdot$), radical libre altamente reactivo.



Al mismo tiempo, peróxido de hidrógeno y anión superóxido reaccionan, obteniendo como resultado también radical hidroxilo.



El hierro puede ser sustituido por el cobre cambiando entre valencias $2+$ y $1+$

2.2.3.d. Mieloperoxidasa leucocitaria

La enzima mieloperoxidasa (MPO) es una hemoproteína de unos 150 kDa, tetramérica, glicosilada. Está compuesta por dos protómeros, cada uno de los cuales posee una subunidad pesada protoporfirínica de 59-64 kDa, y otra ligera de 14 kDa (Nauseef y Malech 1986). Está presente en neutrófilos y monolitos. Se almacena en gránulos azurófilos primarios de leucocitos y se secreta en espacio extracelular y en fagolisosomas tras la activación de los fagocitos (Klebanoff y Clark 1978).

La activación fagocitaria y la secreción de MPO se acompaña de un aumento en la formación de anión superóxido, a partir de la NADPH oxidasa, y del siguiente paso en la reducción univalente del oxígeno, el peróxido de hidrógeno. La MPO amplifica el potencial oxidante del H_2O_2 y lo utiliza como co-substrato en la formación de oxidantes a través de un ciclo peroxidasa (Babior 1978).

La actividad de la MPO está regulada por:

- a) la tasa de producción de anión superóxido
- b) la disponibilidad de H₂O₂ y otros co-substratos (Klebanoff y Clark 1978; Kettle y Winterbourn 1997)
- c) concentración de antioxidantes (Kettle y Winterbourn 1997; Márquez y cols 1990)
- d) presencia de óxido nítrico (NO) (Abu-Soud y Hazen 2000), participante en la cadena de procesos inflamatorios, en especial en la regulación de las propiedades proinflamatorias del endotelio y en estados precoces de la migración de la célula inflamatoria a los lugares de inflamación, y se entrelaza con el efecto oxidativo, siendo intermediario en el mismo como se verá posteriormente.

La MPO presenta gran cantidad de estados intermedios, influenciados por la disponibilidad para reducir anión superóxido, peróxido de hidrógeno y óxido nítrico (Abu-Soud y Hazen 2000). Su estado basal es la forma férrica, y dependiendo del sustrato cambiará su estado iónico. El sustrato más importante es el Cloro, dando lugar a *ácido hipocloroso* (HOCl) (Foote y cols 1983, Weiss y cols 1982). Esta capacidad de producir oxidantes derivados del cloro es única de MPO en mamíferos.



La reactividad de oxidantes clorinados como el ácido hipocloroso (HOCl) provoca modificación en determinadas moléculas susceptibles, y así encontramos:

- a. cloración de aminas (R-NH₂) dando lugar a cloraminas (Thomas y cols 1982)
- b. cloración de lípidos insaturados (Winterbourn y cols 1992)
- c. oxidación de grupos thiol y ésteres de thiol (Kettle y Winterbourn 1994)
- d. oxidación de grupos hemo y grupos hierro-sulfurados (Albrich y cols 1981)
- e. la interacción con peróxido de hidrógeno da lugar a oxígeno singlete (Krinsky 1974)
- f. la actuación sobre O₂⁻. desemboca en liberación de OH • (Candeias y cols 1993)

La MPO cataliza el paso de *tirosina* a especie reactiva (Tyr•) que participará en procesos de peroxidación lipídica y formación de productos derivados de la misma (ditirosina, tritiroxina,...), así como la formación de clorotirosina, que parece ser el

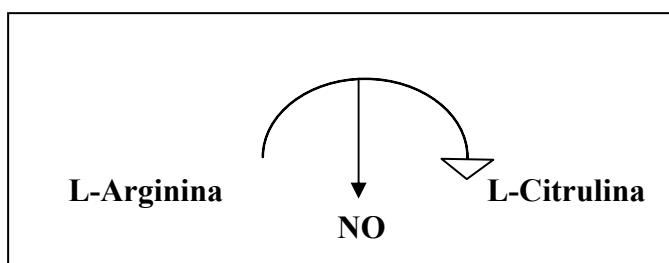
marcador más estable de la acción mieloperoxidativa en relación con la aterosclerosis (Hazen y cols 1997), ya que muchos de los productos intermediarios clorados son muy lábiles (p.e. cloraminas), y otros se producen también en otras vías distintas a MPO (ditirosina, productos de peroxidación lipídica,...), lo que hace difícil el estudio de la acción mediada por MPO.

La tercera gran vía de la MPO en el proceso oxidativo es la generación de *especies reactivas de nitrógeno* (RNS) que es el paso previo a la producción de nitrotirosina, molécula que está presente en la íntima de la arteria aterosclerótica y recubre la fracción lipoproteica de baja densidad (LDL) en la placa de ateroma (Leeuwenburg y cols 1997). La especies reactivas de nitrógeno generadas por MPO son: por una parte la acción directa de MPO sobre nitritos (molécula estable producto del metabolismo del óxido nítrico, NO_2^-), que los oxida dando lugar a una molécula reactiva (NO_2 , dióxido de nitrógeno) (Eiserich y cols 1998; Hazen y cols 1999; Van der Vliet y cols 1997). El otro mecanismo de oxidación de NO_2^- se produce por la acción de HOCl generado por MPO (Eiserich y cols 1996, 1998). La reacción de estas especies descritas y peroxinitritos, RNS formado por la reacción de NO y anión superóxido, con la tirosina libre o constituyente de proteínas tiene como resultado nitrotirosina.

2.3. Papel oxidativo del óxido nítrico

El óxido nítrico y ROS influyen en efectos múltiples de inflamación y respuesta inmune.

El óxido nítrico se sintetiza de forma enzimática por un grupo de enzimas denominadas NO sintasas (NOS). Cataliza el paso de L-arginina a L-citrulina mediante un proceso oxidativo de la terminal nitrógeno-guanidín de la L-arginina, para el cual utiliza oxígeno molecular y NAD(P)H, y en el que se libera NO (Ignarro 2002).



Existen tres isoformas de NOS: neuronal (nNOS) y endotelial (eNOS), ambas constitutivas, e inducible (iNOS). Son flavoproteínas que contienen tetrahidrobiopterina (BH4) como cofactor, y grupo hemo (Michel y Feron 1997). En ausencia de BH4 o de

sustrato, además de NO, producen anión superóxido, sobre todo eNOS. El anión superóxido es generado por el dominio oxigenasa de la enzima a través de la disociación de un complejo dioxígeno-ferroso que en condiciones habituales es estabilizado por la BH4 (Vasquez-Vivar y cols 1998). El aumento de ROS, favorece la conversión de BH4 en dihidrobiopterina (BH2).

El NO producido por *eNOS* produce disminución de tono vascular y previene que leucocitos y plaquetas se adhieran a la pared vascular (Ignarro 2002), se encuentra también en las células mesangiales. *nNOS* se encarga de la producción de NO que actúa como neuromodulador o neuromediador en algunas neuronas centrales y en terminaciones nerviosas periféricas no colinérgicas, no adrenérgicas. La isoforma *iNOS* da lugar a NO que participa en gran cantidad de fenómenos de la respuesta inflamatoria tanto en macrófagos como en otras células (Michel y Feron 1997). La actividad de nNOS y eNOS está controlada por los niveles intracelulares de calcio/calmodulina.

La cinética de producción de NO dependiente de iNOS es distinta de las otras dos isoformas, las constitutivas, ya que produce de forma sostenida grandes cantidades de NO tóxico, mientras nNOS y eNOS dan lugar a NO en segundos con una actividad directa y corta. Ante el estímulo que provoca una reacción inflamatoria, la cantidad de producción de NO aumenta a expensas de iNOS, sobrepasando los niveles fisiológicos, derivados normalmente de nNOS y eNOS (Xie y Nathan 1994). NO se oxida a nitratos y nitritos. Por otra parte el NO derivado de las células mieloides se une al anión superóxido, generado al mismo tiempo y por las mismas células, dando lugar a peroxinitritos (Channon y Guzik 2002; Guzik y cols 2002), oxidantes que median efectos tóxicos como daño al ADN, oxidación de LDL, formación de isoprostanos, formación de nitrotirosina, y de respiración mitocondrial (Ischiropoulos y Mehdi 1995). La acción fisiológica del NO producido por iNOS, va encaminada al ataque y destrucción de agentes microbianos. Las células productoras de cantidades tóxicas de NO no sufren sus efectos deletéreos, parece ser que presentan mecanismos específicos de protección, así los macrófagos se protegerían del NO procedente de iNOS, gracias al sistema GSH-GSSG (Coleman 2001).

Las reacciones oxidativas principales quedan esquematizadas en la figura 1:

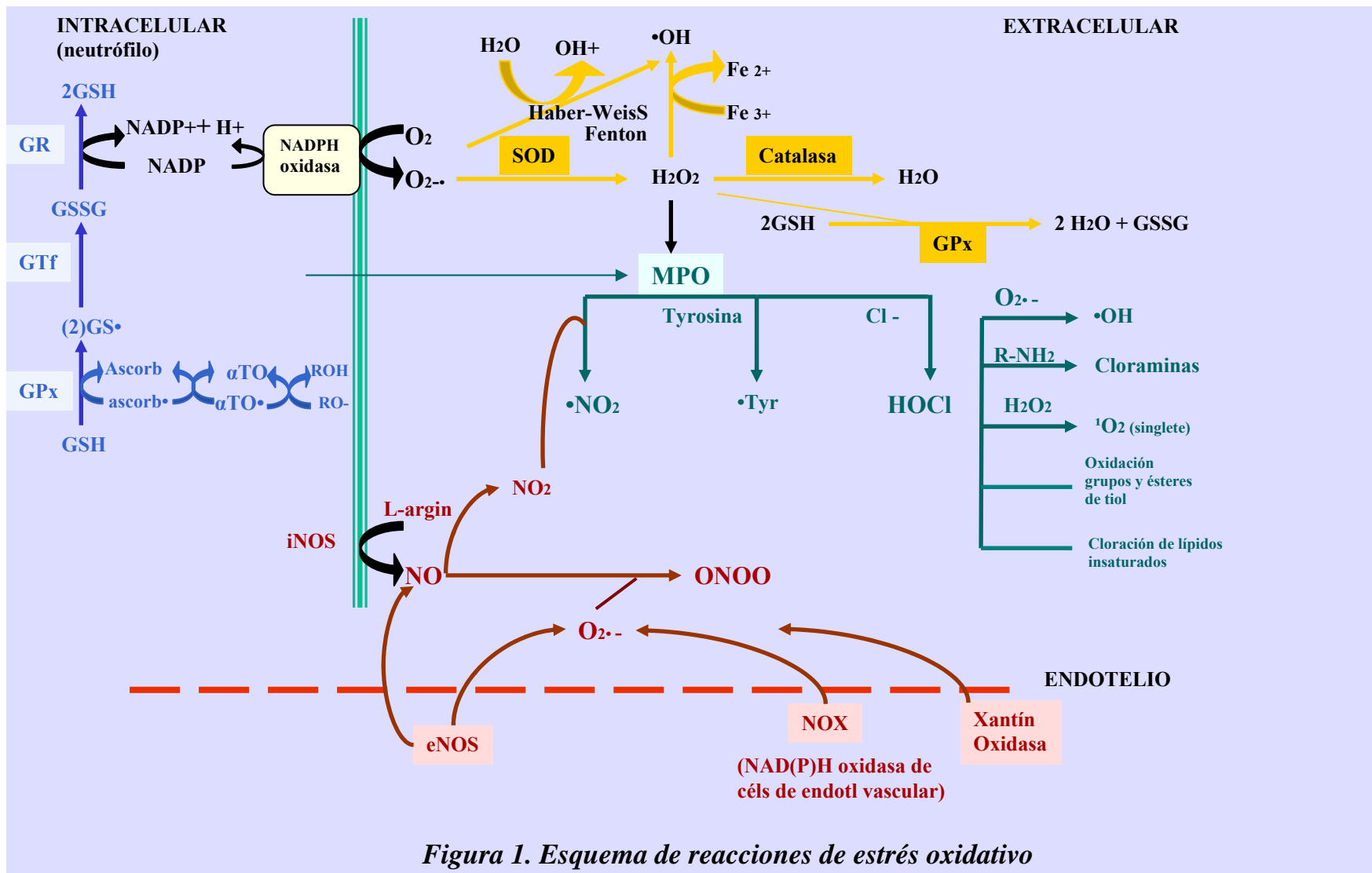


Figura 1. Esquema de reacciones de estrés oxidativo

2.4. Otros antioxidantes no enzimáticos

Los agentes antioxidantes revisados hasta ahora son enzimáticos y, por tanto, proteicos, existen moléculas de pequeño peso molecular que van a participar en el sistema antioxidante. Además de los que participan a través de la dieta están los sintetizados en nuestro organismo. Todos podrían ser divididos en: antioxidantes hidrosolubles y liposolubles.

2.4.1. Antioxidantes hidrosolubles

2.4.1.a. Flavonoides y polifenoles

Procedentes de la dieta encontramos los flavonoides y polifenoles, con beneficios importantes sobre la función vascular (Duffy y cols 2001), pero se absorben poco y son metabolizados rápidamente, presentando una modesta actividad antioxidante in vitro.

2.4.1.b. Vitamina C (ascorbato):

La mayoría parte de los animales pueden sintetizar ascorbato a partir de la glucosa, pero algunos primates y el hombre perdieron la enzima para el último paso de la biosíntesis (gulonolactona oxidasa).

El ascorbato es cofactor para gran cantidad de enzimas participantes en reacciones de hidroxilación. Actúa como agente reductor capaz de aumentar la actividad enzimática con el mantenimiento del hierro en estado ferroso, sin embargo esta acción que in vitro es prooxidante (Halliwell 1996), in vivo, no se observa, ya que se demuestra cómo protege biomoléculas incluso después de la suplementación de hierro (Carr y Frei 1999; Berger y cols 1997). Es necesario para la biosíntesis de colágeno a través de la prolina y lisina hidroxilasas, en su ausencia el colágeno formado está insuficientemente hidroxilado, dando lugar a vasos sanguíneos frágiles.

El ascorbato en plasma es considerado el antioxidante hidrosoluble más efectivo (Frei y cols 1990). Su acción antioxidante se basa en la anulación de radicales libres a través de la donación de un electrón seguido de un protón, para dar lugar a un producto no radical reducido, y por otra parte radical ascorbil, que rápidamente se convierte en ascorbato y ácido dehidroascórbico. Ambos son reducidos vía glutathione para mantener la biodisponibilidad de la vitamina C (May y cols 1997; Mendiratta y cols 1998), que a su vez mantiene la forma reducida protectora GSH (acción sinérgica) (Tamba y O'Neill 1991).

La vitamina C inhibe la peroxidación de LDL. Esto lo consigue gracias al bloqueo de peróxido de hidrógeno (Barclay y cols 1989) y radicales proteicos (Deterding y cols

1998) que inician la oxidación de LDL, así como coactuando como antioxidante junto con el α -tocoferol de la LDL (Frei y Stocker 1990). Presenta a su vez la capacidad de reducción de tocoferol (α -TO \cdot) a hidrotocoferol (α -TOH)

El ascorbato también neutraliza en parte la oxidación producida por el ácido hipocloroso (HOCl) (Carr y cols 2000), esta protección es menor incluso frente a peroxinitritos (ONOO $^-$) (Kurz y cols 2003).

Por otra parte esta vitamina aumenta la vida media y la concentración de la tetrahidrobiopterina, con la consiguiente estabilización de eNOS y la disminución en la síntesis de O $_2^-$. (Huang y cols 2000).

2.4.1.c. Ácido úrico

Es producido por la oxidación de hipoxantina y xantina catalizada por la xantina oxidasa y dehidrogenasa. Se presenta como urato a pH fisiológico, que en la mayoría de las especies se metaboliza mediante la enzima urato oxidasa, en el hombre el urato se acumula en sangre en altas concentraciones, y presenta muy baja concentración intracelular.

El urato puede bloquear directamente ROS, como el oxígeno singlete, \cdot OH y radicales peroxil (Ames y cols 1981) así como CO $_3^-$. y \cdot NO $_2$ derivados de peroxinitritos (Squadrito y cols 2000). Se une a metales de transición, hecho que influye en la peroxidación de LDL en la pared vascular.

La reacción de urato con oxidantes con 1e $^-$ da lugar a radical urato que puede ser reducido por ascorbato.

2.4.1.d. Bilirrubina

La bilirrubina libre o unida a proteínas reduce α -TO \cdot e inhibe peroxidación lipídica en LDL y en plasma (Neuzil y Stocker 1994). Protege frente a la oxidación proteica (Neuzil y Stocker 1993) y el daño oxidativo celular (Wu y cols 1991, 1992).

2.4.2. Antioxidantes liposolubles

2.4.2.a. Vitamina E

Vitamina E y α -tocoferol son términos que se utilizan incorrectamente de forma similar, ya que α -tocoferol es sólo una de las ocho formas de los tocoferoles. α -TOH se localiza en membranas y lipoproteínas, es el mayor antioxidante que contiene la LDL. Inactiva al radical peroxil (LOO \cdot), mediante una reacción que da lugar a productos no reactivos. Reacciona a su vez con oxígeno singlete, derivado de HOCl y peroxinitritos.

El α -TO \cdot es reducido por el ascorbato de forma rápida así como por otros agentes reductores como ubiquinoles (Mukai y cols 1990), bilirrubina (Neuzil y Stocker 1994), ácido cafeico, 2-hidroxiestradiol y epinefrina que permiten el paso a α -TOH (Witting y cols 1996).

2.4.2.b. Coenzima Q10

Pertenece a la familia de las ubiquinonas. Se encuentra en todas las membranas celulares y en las lipoproteínas (Ernster y Dallner 1995). Podemos encontrar tres estados de oxidación: forma reducida (CoQ10H₂), radical ubisemiquinona intermedio (CoQ10H \cdot) y la forma oxidada (CoQ10).

Es un agente fundamental en la producción de ATP mitocondrial y en el mantenimiento del pH lisosomal (Crane 2001). La forma reducida puede inhibir la oxidación lipídica y proteica en las membranas celulares (Forsmark-Andrée y cols 1995). Se presenta en menor cantidad que α -TOH, pero representa también protección frente a oxidación lipídica de LDL (Stocker y cols 1991). El ubiquinol reduce a α -TO \cdot , manteniendo la biodisponibilidad de la forma reducida. De igual forma la función reductora de la coenzima Q10 puede intervenir en la recuperación de ascorbato a partir de radical ascorbil (Arroyo y cols 2000).

La formas ubisemiquinona puede reaccionar con O₂, aumentando la liberación de anión superóxido (CoQ10H \cdot + O₂ ----- CoQ10 + H⁺ + O₂⁻), incrementando la acción prooxidante en medio acuoso, sin embargo, la actividad antioxidante es mayor, protegiendo a los lípidos frente a la iniciación de la peroxidación, convirtiendo al anión superóxido en ineficaz.

Como ya ha sido comentado, los ROS actúan sobre macromoléculas dando lugar a especies reactivas intermedias y a una cadena de reacciones que desembocan en un daño molecular en lípidos, proteínas y ADN.

El mecanismo oxidativo que se describe más en relación con la arteriosclerosis es la modificación oxidativa de lípidos (Stocker y Keaney 2004; Willerson y Ridker 2004), por este motivo nos centraremos en el estudio de la peroxidación lipídica.

2.5. Peroxidación lipídica

Se puede esquematizar de la siguiente forma (figura 2):

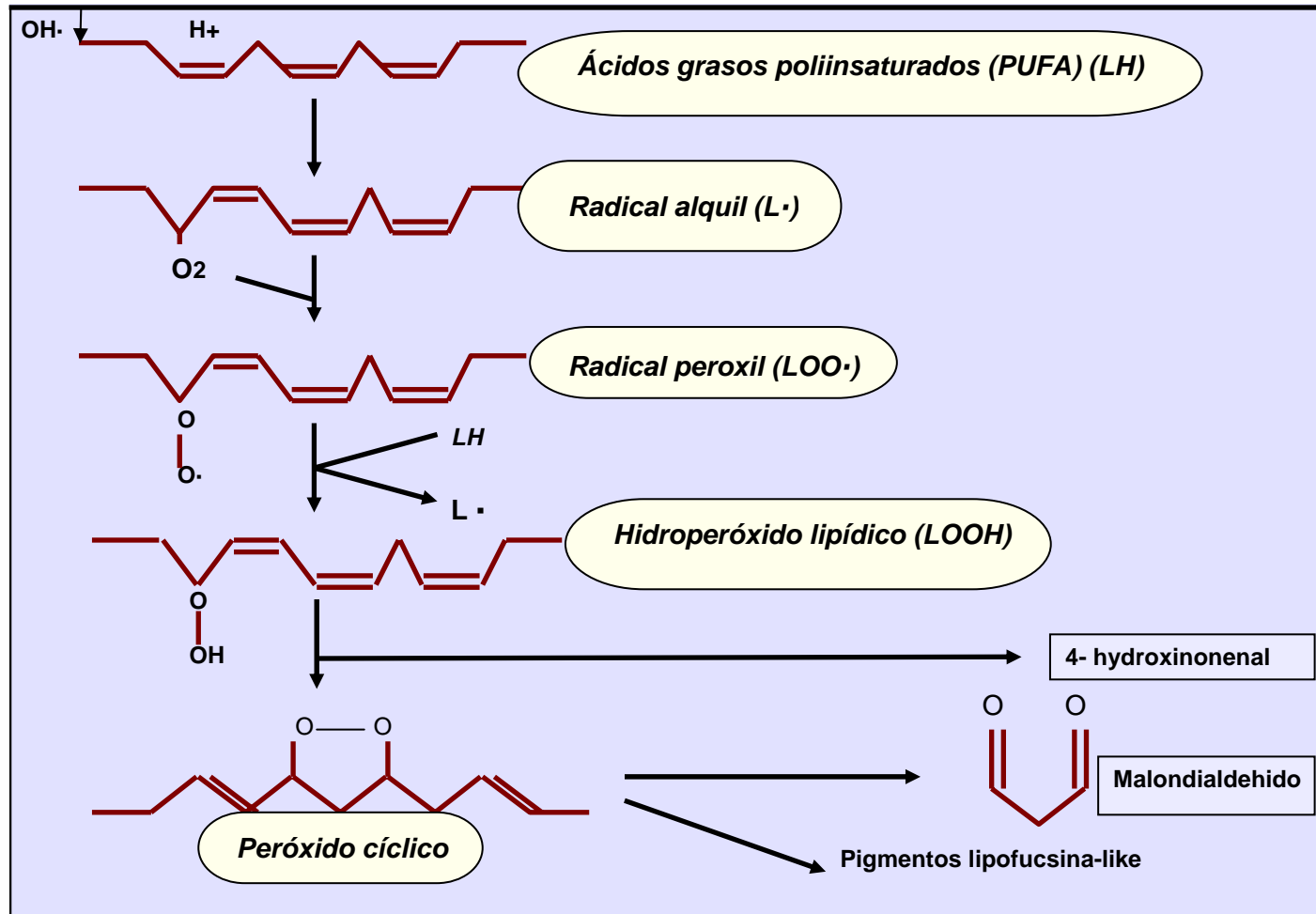


Figura 2. Esquema: Peroxidación lipídica

Tomemos un iniciador de la cadena como el $\text{OH}\bullet$. Este radical hidroxilo extrae un átomo de hidrógeno de una cadena lateral de un ácido graso, de un carbono contiguo a un doble enlace (los ácidos grasos poliinsaturados son los más susceptibles para la actuación de los ROS), resultando un radical alquil ($\text{L}\bullet$) al que se une rápidamente una molécula de oxígeno (O_2) dando lugar a un radical peroxil ($\text{LOO}\bullet$). Este radical puede reaccionar en cadena con una molécula lipídica adyacente reduciéndose a sí mismo (LOOH -hidroperóxido lipídico) y generando a su vez otro radical alquil (Stocker y Keany 2004). La reacción llega a su fin creándose puentes cruzados entre los grupos alquil (L-L), o dando lugar a los productos finales de los ácidos grasos, alcanos y compuestos aldehído reactivos. De esta fase, denominada de descomposición, los principales productos son *malondialdehído* (MDA), *4 hidroxinonenal* (4-HN) y *hexanal*, que pueden reaccionar con residuos de lisina de apoB100, conduciendo a la formación de las denominadas bases de Schiff que presentan una alta toxicidad (Steineroova y cols 2001).

Los ácidos grasos libres en plasma se encuentran unidos a la albúmina, mientras que el colesterol, los triglicéridos y fosfolípidos circulan en forma de complejos lipoproteicos. El tipo de lipoproteínas, va a depender del tamaño y contenido de lípidos, existiendo seis familias. La densidad de estas lipoproteínas es inversamente proporcional a su contenido en lípidos. Las lipoproteínas están formadas por un centro hidrófobo de triglicéridos y ésteres de colesterol, rodeado por fosfolípidos y proteínas. La parte proteica de la lipoproteína se denomina apoproteína. Las principales son E, C y B. Existen dos formas de *apoproteína B*, una de bajo peso molecular, B-48, característica de sistema de transporte de lípidos ingeridos, y otra de alto peso molecular, B-100, característica del sistema de transporte endógeno de lípidos procedentes del hígado.

Nos centramos en la LDL, como elemento fundamental en relación a la aterosclerosis.

La **fracción LDL** de colesterol es una partícula esférica de 22-26nm de diámetro, densidad de 1019-1063 g/ml y un peso molecular relativo de 2,5 millones de daltons. Está compuesta por un 22,3% de fosfolípidos, 5,9% de triglicéridos, 9,6% de colesterol libre, 42,2% de ésteres de colesterol y 22% de proteínas, la principal es la apolipoproteína B100 (ApoB-100). El número total de ácidos grasos que existen en una partícula de LDL es aproximadamente 2600, de ellos la mitad son *ácidos grasos poliinsaturados* (linolénico, araquidónico y ácidos docosahexaenoicos) que junto con el colesterol son susceptibles de peroxidación. El colesterol libre y los fosfolípidos son la

base de las propiedades anfotéricas de las partículas de LDL, que contienen grupos hidrófilos y lipofílicos.

Al final del proceso oxidativo, el *LDL modificado* (LDL-ox) posee las siguientes propiedades:

- a) Quimiotácticas: atraen granulocitos y monocitos, que convierten en macrófagos y que van a captar LDL transformándose en células espumosas (Griffith y cols 1998).
- b) Citotóxicas: efecto tóxico directo sobre los vasos, o incluso de productos intermedios y finales de la oxidación de LDL (MDA, hidroxinonal u otros aldehídos). Por otra parte induce agregación plaquetaria y liberación de factores de crecimiento como factor estimulante de colonias mononucleares (MCSF), y proteína quimiotáctica de monocitos 1 (MCP-1), factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), aumenta la síntesis de interleukina 1 (IL-1), 15-lipooxigenasa, lipoproteína lipasa, metaloproteinasas. En macrófagos, aumenta la síntesis de apolipoproteína E, lisofosfatidilcolina y citocinas. Produce inhibición de NOS, dando lugar a un efecto vasoconstrictor, junto a la inhibición de la síntesis de prostaglandina I₂ (Cathcart y cols 1989).
- c) Inmunogénicas: producción de autoanticuerpos específicos. LDL-ox expresan gran número de epítomos y da lugar a la producción policlonal de autoanticuerpos especialmente contra la Apo B100, modificada por MDA e 4-hidroxinonal (Fredrikson y cols 2003).

La función de los *anticuerpos anti-LDLox* no está bien definida, pueden ocurrir varias posibilidades: a) el anticuerpo antiLDL se une directamente a LDL y supone un obstáculo para su entrada en la célula con el consiguiente retraso en el metabolismo de la LDL y potenciación de la hiperlipidemia, b) puede unirse al receptor de LDL para la lipasa, por lo que bloquea la escisión de lípidos mediante esta enzima, c) se unen directamente a la lipasa y bloquean la lipólisis (Morganelli y cols 1995).

La fracción LDL está protegida frente a la modificación oxidativa mediante antioxidantes, uno de los más importantes es el α -tocoferol, cada LDL presenta unas 6-12 moléculas del mismo (Esterbauer y cols 1992), en menor cantidad encontramos carotenoides, retinoides y ubiquinol (coenzima Q10). El α -tocoferol se regenera gracias al ciclo de la glutatión junto con otros mecanismos como se ha mencionado anteriormente.

Otros marcadores que nos muestran el efecto de la peroxidación lipídica son los isoprostanos, derivados del metabolismo del ácido araquidónico, ácido graso poliinsaturado de 20 carbonos (Montuschi y cols 2004).

La hipótesis de arteriosclerosis basada en la modificación oxidativa, se sustenta en la peroxidación lipídica.

3. OXIDACIÓN Y ATEROSCLEROSIS

La **aterosclerosis** es la mayor causa de morbilidad y mortalidad en el mundo desarrollado. Se caracteriza por la acumulación de depósitos de colesterol en los macrófagos de arterias de mediano y gran tamaño, de forma focal, primariamente intimal y conduce a enfermedad arterial oclusiva.

La **arteriosclerosis** se define como una lesión arterial difusa, que afecta a la capa media y conduce a un engrosamiento de la pared arterial. Esta lesión está ligada a la edad y la hipertensión arterial (O'Rourke 1995).

3.1 Características morfológicas de la aterosclerosis

3.1.1. Morfología de una arteria no patológica.

En una arteria sin patología aterosclerótica encontramos desde la luz a la periferia las siguientes estructuras:

- a) Endotelio: compuesta por una única capa de células endoteliales. Es la barrera existente entre la sangre circulante y el estroma arterial, y a su vez la estructura más activa desde el punto de vista humoral.
- b) Lámina elástica interna.
- c) Capa media: Células musculares lisas en capas, cuyo número depende del tamaño arterial. Las células se mantienen unidas gracias a la matriz extracelular (fibras elásticas, colágeno).
- d) Lámina elástica externa.
- e) Adventicia: constituida por una matriz pobre en elastina, células musculares lisas, fibroblastos y colágeno. Es la que posee la mayor parte de la innervación vascular, y aunque en principio se tenía por una estructura poco activa, parece ser que a través de la producción de ROS, podría desempeñar una función importante en el control de remodelado vascular y la actividad del óxido nítrico.

3.1.2. Morfología de la lesión aterosclerótica

La aterosclerosis se define por la presencia de lesiones arteriales en forma de placa (Stary y cols 1992, 1995). Se describen 6 tipos que reflejan el comienzo, la maduración y el desarrollo de la enfermedad (figura 3).

Tipo I: engrosamiento de la íntima.

Tipo II: áreas nodulares de depósito lipídico dentro de los macrófagos (célula espumosa o “foam cell”), conocidas como estría grasa.

Tipo III: pequeños depósitos extracelulares de lípidos, tras la necrosis de los macrófagos.

Tipo IV: separación tisular delgada entre el centro lipídico y la luz arterial

Tipo V: engrosamiento fibroso o lesión “cap”

Tipo VI: fibrosis calcificada con áreas de ulceración.

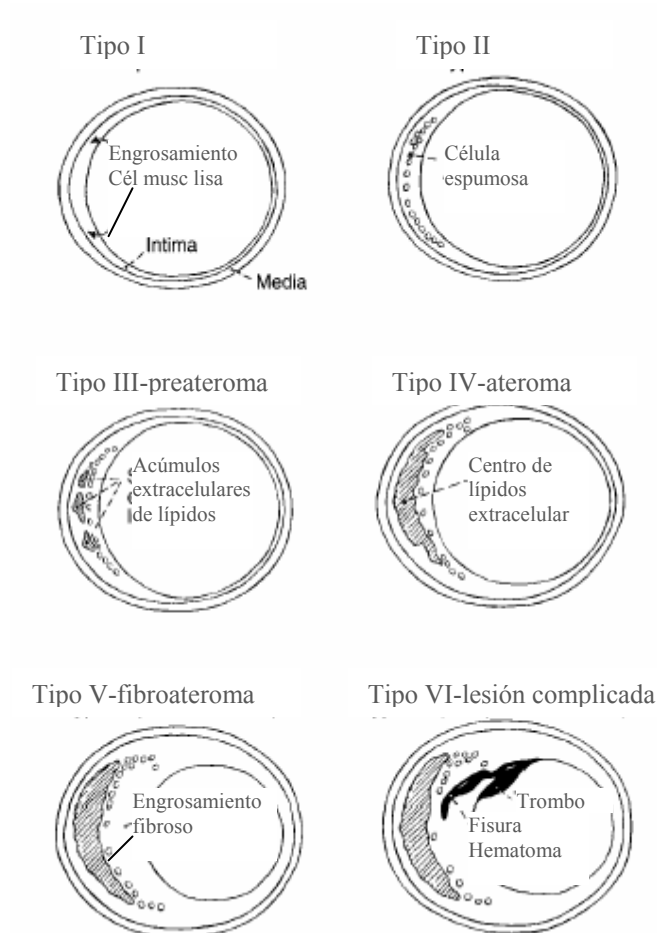


Figura 3: Estadios de la lesión aterosclerótica (Stary y cols 1995)

3.1.3. Morfología de la placa

La placa aterosclerótica consta de una zona central con poca celularidad que puede presentar cristales de colesterol. En la placa madura las células espumosas son difíciles de observar, ya que abandonan la zona central de la placa. La zona que separa la luz arterial de la placa está compuesta por una capa fibrosa y tejido mieloproliferativo (matriz extracelular y células musculares lisas).

La zona de unión entre la placa y la arteria sana, se denomina región “hombro” (“shoulder”), es una zona con mayor celularidad, consta de células musculares lisas, macrófagos y células T, y es propensa a la ruptura.

3.2. Hipótesis sobre la génesis de la aterosclerosis

Se pueden describir tres teorías sobre el desarrollo de la aterosclerosis, distintas pero complementarias:

3.2.1. Respuesta al daño endotelial

Las primeras teorías abogaban por un depósito pasivo en el endotelio arterial (Rokitansky 1852), sin embargo Ross y Glomset (1973) expusieron la teoría de la rotura endotelial como primer paso para el desarrollo aterosclerótico. El daño endotelial derivaría en:

1. Un aumento de adhesión endotelial para leucocitos y plaquetas
2. Una alteración del medio anticoagulante vascular derivando en una cascada procoagulante.
3. Liberación de citocinas, agentes vasoactivos y factores de crecimiento por parte de leucocitos y plaquetas dando lugar a una respuesta inflamatoria con migración de células musculares lisas en la íntima, y proliferación celular.
4. Formación de células espumosas por depósito de LDL tras el acúmulo de macrófagos en la pared arterial.
5. Necrosis celular, liberación de citocinas, factores de crecimiento y enzimas proteolíticas que dan lugar a una expansión autocatalítica y ocupante de espacio hacia la luz.

Los problemas atribuibles a esta teoría derivarían de que la descamación endotelial no es frecuente y se ha visto que existe endotelio intacto cubriendo las lesiones, reforzándose así la idea de que es la alteración de la permeabilidad endotelial la que comienza el proceso, permitiendo el paso de lipoproteínas (Ross 1999). Sin embargo pueden existir segmentos de endotelio normal que presentan cantidades altas de LDL sin

necesidad de alteración del endotelio. Existiría por tanto una entrada uniforme en el endotelio, y las lesiones se producirían en áreas predispuestas en contacto con lipoproteínas aterogénicas (Schwenke y Carew 1989).

3.2.2. Respuesta a la retención

La modificación inicial en esta teoría es la retención de lipoproteínas, que se encuentran estrechamente ligadas a componentes de la matriz extracelular. La apolipoproteína B-100, ligada a LDL se retiene en la pared arterial en asociación con los proteoglicanos arteriales (Camejo y cols 1998).

Las enzimas lipolíticas y lisosomales de la matriz extracelular parecen participar en dicho mecanismo. La lipoprotein lipasa aumenta la adherencia de LDL in vitro (Williams y cols 1991) con un efecto independiente de su actividad enzimática. Una vez adherida la LDL formaría microagregados gracias a la acción de la esfingomielinasa secretoria (Xu y Tabas 1991), enzima que genera ceramidas, participantes en la apoptosis y mitogénesis, junto a enzimas lisosomales (catepsina D y lipasa ácida lisosomal) (Hakala y cols 2003).

Los agregados de LDL entran en macrófagos y células musculares lisas para formar células espumosas (Vijayagopal y cols 1992).

3.2.3. Modificación oxidativa

Esta teoría se basa en que es la LDL modificada por agentes oxidantes la que desencadena los acontecimientos de la aterosclerosis.

La LDL nativa no presenta capacidad aterogénica, sino que la modificación de la LDL mediante la actuación de agentes oxidantes en el grupo lisina de la Apo B100, produciría un aumento de carga negativa neta de lipoproteínas, que facilita la entrada en los macrófagos, y la consecuente formación de células espumosas, base de la lesión. La LDL oxidada se une a un receptor para acetil-LDL, receptor “scavenger”.

La modificación de LDL puede ocurrir sin alteración de Apo B100.

La LDL modificada posee propiedades quimiotácticas para monocitos y linfocitos T, in vitro, en posible relación con la lisofosfatidilcolina generada en el proceso oxidativo. A su vez presenta la capacidad de estimular la proliferación de células musculares lisas y propiedades inmunogénicas como ya se ha comentado.

En relación con nuestro estudio detallaremos esta última hipótesis.

Aunque cada una de las teorías tiene distinto componente inicial de la lesión, coinciden en que en las tres existe un importante componente inflamatorio, y la LDL es el elemento esencial.

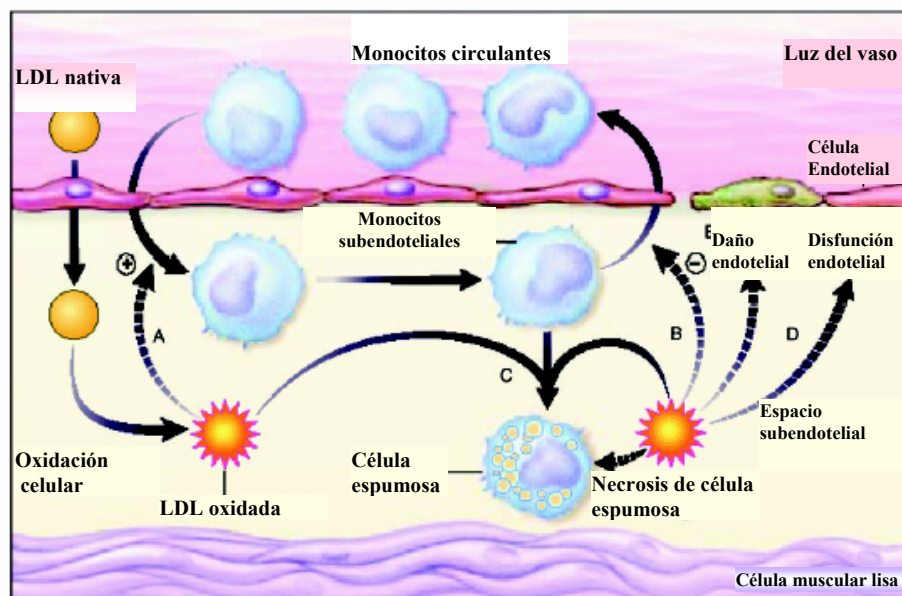


Figura 4: Esquema que representa la hipótesis oxidativa de la aterosclerosis (modificado de Diaz y cols 1997)

3.3. Implicación del estrés oxidativo en la aterosclerosis

No existe aún evidencia directa de la presencia de LDL modificada en las lesiones ateroscleróticas, lo conocido hasta ahora son signos indirectos (p.e. anticuerpos frente a LDL-ox), queda por tanto conocer, en qué lugar exacto de la pared del vaso, cómo y con qué extensión la LDL se oxida en el proceso de la aterogénesis.

La oxidación de LDL ocurre en su mayor parte en la pared vascular más que en el torrente circulatorio (Steinberg y cols 1989), ya que las lipoproteínas están muy protegidas gracias a los antioxidantes circulantes (Stocker y Frei 1991). Por otra parte, las lipoproteínas oxidadas existentes en el plasma son aclaradas por el hígado o por acumulación y degradación en la pared vascular (Van Berckell y cols 1991; Juul y cols 1996).

Dado que el primer paso de la aterogénesis parece ser la oxidación de LDL, intentaremos sintetizar los mecanismos oxidativos que intervienen en este proceso (figura 5):

3.3.1. Anión superóxido:

Fundamentalmente procedente de tres vías:

- 1) NADPH oxidasa y específicamente la NOX endotelial.
- 2) Xantin oxidasa, estudiado en modelos experimentales con hipercolesterolemia, en los que la producción de O_2^- se inhibía con oxipurinol, un inhibidor de la enzima (Ohara y cols 1993). Estudios recientes orientan a que la NADPH oxidasa mantiene la xantín oxidasa de la célula endotelial y ésta se encarga de la producción aumentada de ROS en respuesta al estrés provocado por el cambio de flujo sanguíneo (“shear stress”) (McNally y cols 2003).
- 3) eNOS: hipercolesterolemia, aterosclerosis, diabetes e hipertensión se asocian a distorsión de eNOS con la consecuente producción de O_2^- , que en modelos experimentales se ha visto reducida en el tratamiento con tetrahidrobiopterina (Laursen y cols 2001).

El mecanismo por el cual O_2^- actuaría sobre LDL de forma directa, no está claro. Por sí solo no es capaz de oxidar a LDL, a diferencia de su forma precursora, el radical hidroperoxil ($HO_2\cdot$), sin embargo a pH fisiológico, éste se encuentra en muy baja concentración (Bedwell y cols 1989). Por tanto aunque se considera mediador de la oxidación de LDL en la célula endotelial, parece ser que su acción deriva de la actuación como precursor de otros prooxidantes como peroxinitritos y peróxido de hidrógeno.

3.3.2. Especies Reactivas de Nitrógeno (RNS)

La existencia de una mayor concentración de 3-nitrotirosina en LDL procedente de placas ateroscleróticas de aorta que en LDL plasmática, hace pensar que las especies reactivas de nitrógeno ejercen su papel en la oxidación de la LDL por medio de los peroxinitritos encargados de la nitración de la tirosina (Leeuwenburg y cols 1997), sin embargo esta molécula también puede derivar de la acción de HOCl con $\bullet NO$, vía MPO.

3.3.3. Mieloperoxidasa

La presencia en las lesiones de ateroma de MPO activa, se observa por la detección de signos de la acción MPO y HOCl.

La modificación oxidativa de LDL debida a HOCl favorece la formación de células espumosas, mediante la unión de la molécula oxidada a los receptores (“scavenger” clase B), aumenta la adherencia y la migración leucocitaria en los vasos, aumenta la

producción de ROS por parte de los leucocitos, y presenta actividad quimiotáctica para neutrófilos.

El HOCl puede actuar a su vez sobre la Apo B100 de la LDL, sin apenas afectar a los lípidos, reaccionando con los grupos N de la lisina terminal (puede actuar sobre otros aminoácidos terminales como cisteína y metionina), dando lugar a N-cloraminas que aumentan la carga negativa de la lipoproteína (Hazell y cols 1994). Parte de estas cloraminas pueden fraccionarse a aldehidos que van a servir como puentes de unión entre las LDL modificadas por el HOCl formando agregados.

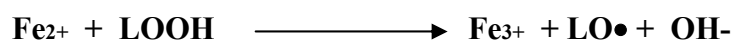
Los aminoácidos reactivos intermedios creados en la vía MPO, como radical tiroxil o α -hidroxialdehidos, también actúan sobre LDL (Hazell y cols 1999).

3.3.4. Lipoxigenasas

Varias líneas de investigación avalan la participación de estas enzimas en la aterosclerosis, así por ejemplo 15 lipoxigenasa se expresa en lesiones ateroscleróticas humanas (Ylä-Herttuala y cols 1990).

3.3.5. Metales de transición

La modificación oxidativa de LDL en las células vasculares es dependiente de la presencia de bajas concentraciones de metales de transición, hierro y cobre. Cuando están presentes, la función de la célula parece ser la de mantenerlos en forma reducida, permitiendo así la peroxidación lipídica (Garner y Jessup 1996):



La incubación de LDL (en medio libre de suero) en presencia de Cu o Fe, simula el proceso de oxidación celular de LDL, ésto junto a la presencia de metales de transición en placas de ateroma hace pensar en la participación de los mismos en la oxidación de LDL (Yuan y cols 1996).

In vivo, estos metales participan en la prevención de reacciones redox, aunque es posible que los presentes en la hemoglobina resultante de la ruptura de hematíes puedan contribuir a reacciones de oxidación (Paganga y cols 1992).

Sin embargo, a pesar de todo ello, tras estudios experimentales que describen que existe independencia entre los niveles plasmáticos de Fe o Cu, y aterosclerosis (Dabbagh y cols 1997), se podría pensar que la relevancia biológica de dichos metales en este proceso no es muy significativa.

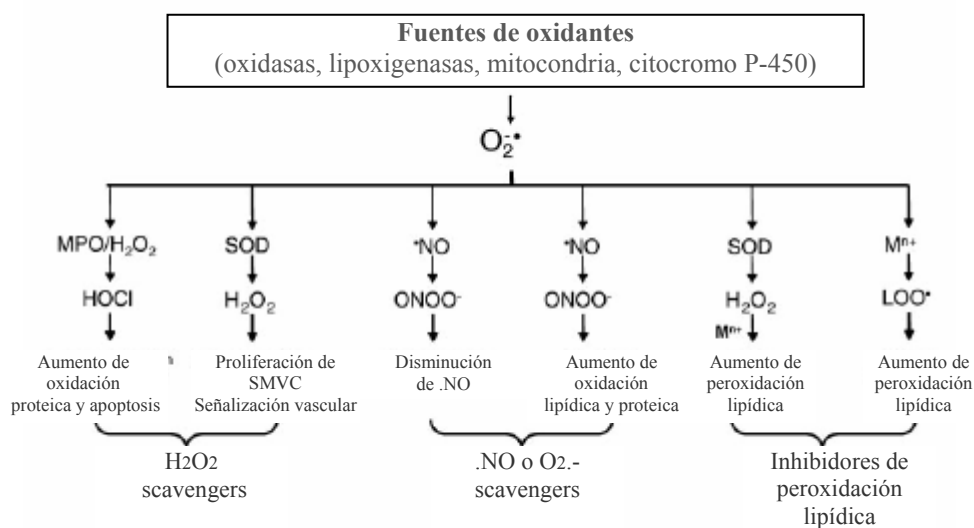


Figura 5: Diversidad de antioxidantes implicados en el proceso aterosclerótico (Modificado de Munzel y Keaney 2001).

4. OXIDACIÓN Y FUNCIÓN RENAL

El estrés oxidativo ha surgido en los últimos años como una característica constante en la enfermedad renal crónica (ERC). Si bien los mecanismos oxidativos e inflamatorios, que van a influir en la morbilidad cardiovascular, relacionados con la enfermedad renal crónica estadio 5 en terapia extrarrenal sustitutiva, van siendo aclarados por su relación con el acceso vascular, retrofiltración del líquido de diálisis, exposición de la sangre a superficies no biológicas, infecciones crónicas y exceso de depósitos de hierro, el papel de la inflamación en pacientes en estadios precoces de enfermedad renal es menos conocido, y es en estos estadios donde podremos determinar qué mecanismos bioquímicos oxidativos se relacionan con la pérdida de función renal.

Esquematizaremos a continuación los mecanismos oxidativos que se conocen en relación con la ERC (Figura 6).

4.1. Elevación en la producción de ROS y papel antioxidante.

Dentro de las principales enzimas generadoras de ROS, **NAD(P)H oxidasas**, encontramos la familia de las no fagocíticas (NOX), en fibroblastos de la adventicia, células musculares lisas de arterias de resistencia y células endoteliales. Modelos experimentales con ERC muestran una elevación en la expresión de NOX2 en riñón e hígado, sin precisar la célula fuente, y descenso en la expresión de la familia de **SOD** (Vaziri y cols 2003).

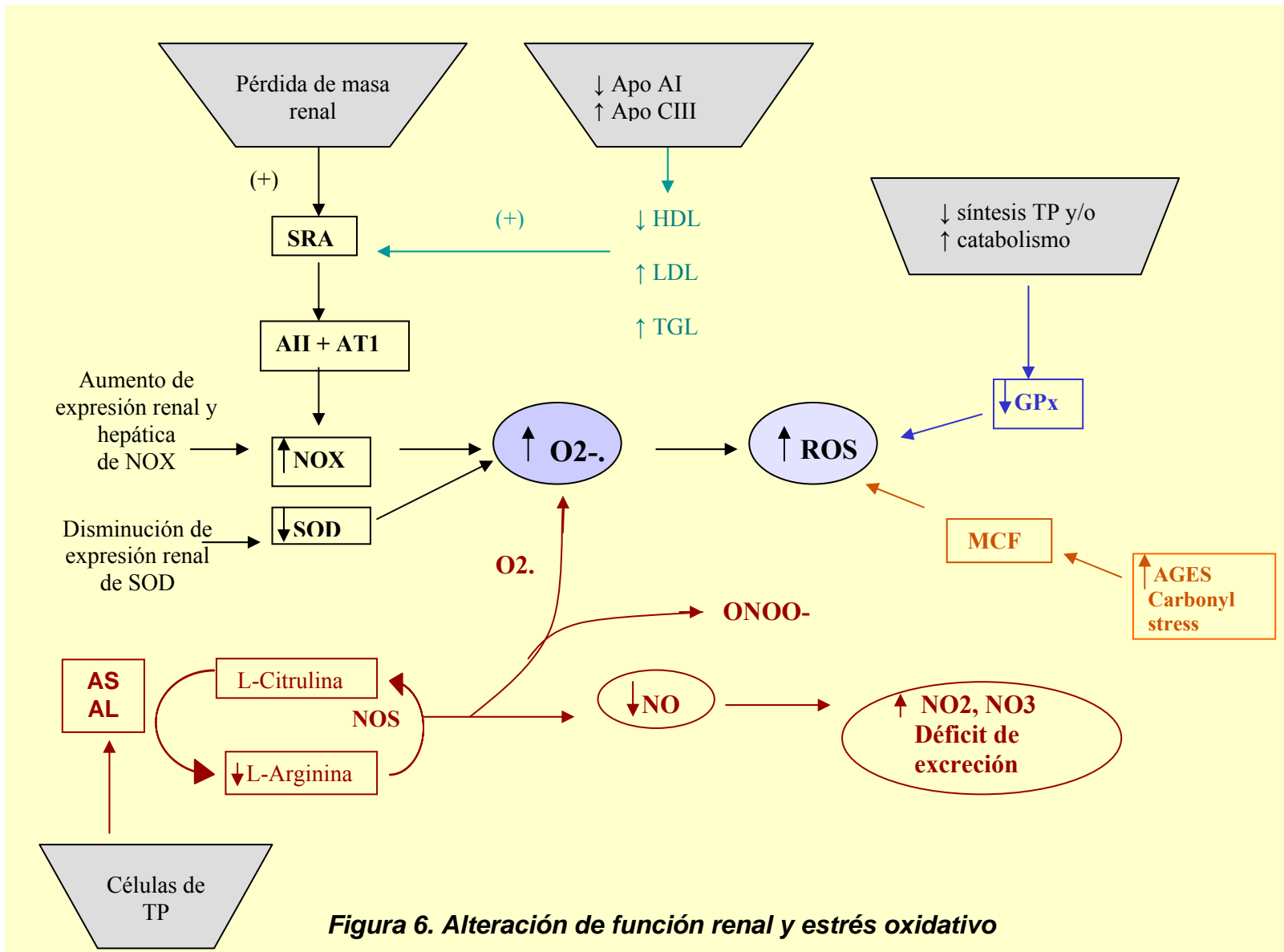


Figura 6. Alteración de función renal y estrés oxidativo

Se está desarrollando la descripción de homólogos de la gp91phox (subunidad catalítica de la NAD(P)H oxidasa fagocítica) localizadas en el riñón (células mesangiales y epitelio tubular) y en los vasos sanguíneos (Geiszt y cols 2000; Cheng G y cols 2001).

El aumento de NAD(P)H y descenso de SOD se traduce en una elevada concentración de anión superóxido.

La *pérdida progresiva de masa renal* conlleva una necesidad de adaptación que provoca cambios en la hemodinámica renal, mediados por el sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA) (Hostetter y cols 2001). La activación del receptor tipo 1 (AT-1) debido a la **angiotensina II (AII)**, da lugar a un aumento en la actividad de la NAD(P)H oxidasa. Los efectos de hipertrofia, proliferativos de la AII sobre la célula muscular lisa y la mesangial se producen por los ROS procedentes de las NOX (Griendling y cols 2000).

La actividad de **xantín oxidasa** se muestra disminuida en modelos animales con ERC lo que la excluiría en este caso de su papel pro-oxidante.

En pacientes en hemodiálisis se describe una disminución en la concentración plasmática de actividad de **GPx** (Ceballos-Picot y cols 1996; Himmelfarb y cols 2002), y acúmulo de grupos thiol oxidados como homocisteína o cisteína. Como ya ha sido descrito, una de las isoformas de la GPx (PLGPx) se encuentra en células epiteliales renales, y estudios en cultivos celulares humanos muestran secreción de GPx extracelular en la membrana basolateral de las células renales del túbulo proximal (Whitin y cols 2002). Existen estudios en pacientes no dializados (Zachara y cols 2004) que muestran una correlación significativa y negativa entre creatinina sérica y GPx, no selenio dependiente, sin observarse alteración en GPx eritrocitaria. Esto podría estar explicado por una disminución en la síntesis de la enzima en el riñón alterado, sin poderse descartar el aumento del catabolismo de la misma (Yoshimura y cols 1996).

4.2. Mieloperoxidasa

La enzima MPO está implicada como factor en el desarrollo de la aterosclerosis.

En pacientes con ERC estadio 5 se ha descrito recientemente un polimorfismo en la región promotora del gen de la MPO que confiere un descenso en su expresión, y este descenso de MPO está asociado a menor prevalencia de enfermedad cardiovascular (Pecoits-Filho y cols 2003). Queda por determinar si esta enzima juega un papel tan crucial en estadios precoces de la enfermedad renal.

Esta enzima puede contribuir a la disfunción vascular, además de mediante la oxidación de biomoléculas, mediante su interacción con NO (Figura 7). La inflamación

aguda provoca activación de leucocitos y por tanto la secreción de MPO al torrente sanguíneo, se une a la superficie de la célula endotelial mediante proteoglicanos de heparan-sulfato, y mediante transcitosis se localiza en la matriz extracelular basolateral. En este lugar actúa como NO oxidasa, oxida el NO derivado del endotelio y bloquea la función de NO de estimular la guanilato ciclasa soluble y la producción de cGMP en células musculares lisas e inhibe la vasodilatación derivada de este proceso (Baldus y cols 2001). Este podría ser un mecanismo que explique la disminución de NO en enfermedad renal, derivado del proceso oxidativo (Thuraisingham y cols 2003), sin embargo el uso de MPO como marcador de enfermedad renal en estadio precoz y predictor de enfermedad vascular en estos pacientes necesita ser más investigado.

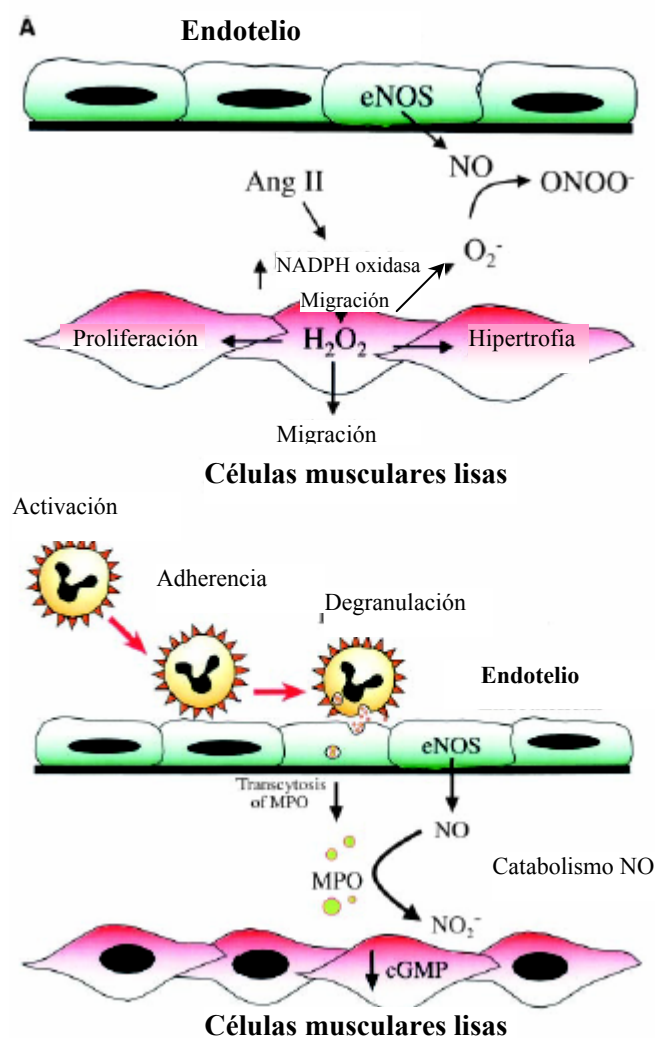


Figura 7: Relación de MPO y aterosclerosis. Formación de peroxinitritos y nitritos (Kaysen y Eiserich 2004).

4.3. Óxido Nítrico

El NO es regulador de la función renal, y su depleción en la insuficiencia renal, así como su modificación a causa del estrés oxidativo contribuyen a la progresión de la enfermedad renal.

a) NO regulador de la función renal

El NO se produce gracias a la NO sintasa (NOS), a partir de L-Arginina. La iNOS tiene una expresión basal poco significativa en riñón, que deriva de la liberación de citocinas en el túbulo renal normal. En el riñón encontramos la siguiente distribución en la expresión de NOS:

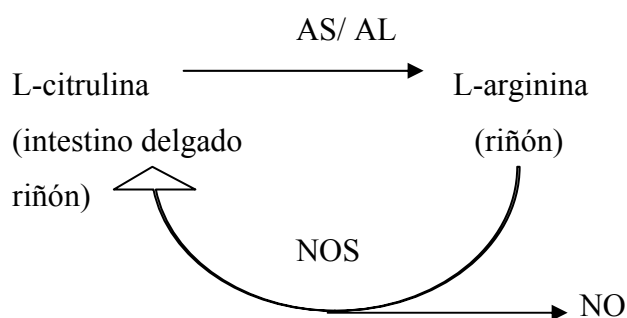
- iNOS se encuentra en células musculares lisas vasculares, células mesangiales, intersticiales, tubulares de las porción gruesa, túbulos colectores medulares, corticales, túbulo proximal, distal y nervios intrarrenales (Tojo y cols 1994; Majid y Navar 2001);
- nNOS está sobre todo expresada en mácula densa, cápsula de Bowman, arteriola eferente, porción gruesa ascendente, y túbulos colectores (Wilcox y cols 1992);
- eNOS se muestra en las células endoteliales de la vasculatura renal (Ujie y cols 1994).

El NO producido en mácula densa (nNOS) antagoniza la vasoconstricción en arteriola aferente causada por el feed-back túbulo-glomerular (Wilcox y cols 1992). De igual forma contrarresta la vasoconstricción de arteriola aferente inducida por AII (Bramm y Koomans 1995), por otros vasoconstrictores, y otras situaciones patológicas que ejercen el mismo efecto, como insuficiencia cardíaca, cirrosis, AINE, y defiende contra la sal-sensibilidad en exceso de la misma (Welch y Wilcox 1997). Es por tanto regulador y/o protector de flujo sanguíneo renal, tasa de filtrado glomerular y homeostasis hidrosalina.

Esto se demuestra mediante estudios que describen reducción en la excreción de sodio y flujo urinario al administrar inhibidores de la NOS de forma local en riñón, efecto que se revierte al administrar NO (Majid y Navar 2001). También aumenta la presión hidrostática intersticial de forma independiente al flujo sanguíneo medular, que conlleva a una disminución en el transporte tubular de NaCl (Ito 1995). La respuesta presión natriuresis se une a la producción renal de NO (Majid y Navar 2001).

b) *Producción de NO en ERC*

La L-arginina es un aminoácido semiesencial, sintetizado desde la citrulina, producto del metabolismo aminoácido en la pared del intestino delgado. Esta transformación es llevada a cabo gracias a la argininosuccinato sintetasa (AS) y liasa (AL), ambas localizadas en las células renales del túbulo proximal. A su vez la L-citrulina se forma también a partir de L-arginina como coproducto de la NOS. La citrulina puede volver a convertirse en L-arginina, cerrando el ciclo citrulina-NO (Mori y Gotoh 2004).



En la ERC se describen niveles altos de citrulina (Bouby y cols 1993). La L-arginina en IRC leve se encuentra en concentraciones normales, quizá secundario a la hipertrofia de nefronas que permanecen activas. En la ERC estadio 5 la arginina está disminuida. La actividad de NOS en la insuficiencia renal se ve determinada por la concentración de L-arginina (Schmidt y cols 1999), así el papel central del riñón en la producción del precursor de NO, junto con la anorexia y el catabolismo proteico hacen que estos pacientes sean propensos a la deficiencia de NO.

Blum y cols (1998) estudiaron 3 grupos de pacientes con distintos grados de función renal, concluyendo que la excreción de metabolitos de NO se correlacionaba con el aclaramiento renal. Los metabolitos de NO en plasma estaban en mayor concentración que en controles sanos, así que la IRC presentaría deficiencia de NO, pero NO_2 y NO_3 se acumulan en plasma por un déficit de excreción de los mismos.

c) *Impacto de estrés oxidativo sobre NO y función endotelial.*

En condiciones de aumento de estrés oxidativo, NO baja, ONOO- se acumula y desencadena una cascada que da como resultado vasoconstricción, inflamación, daño vascular y de función renal (Modlinger y cols 2004).

NOS provoca un fallo en la transferencia de 2 e- y genera anión superóxido en mayor cantidad que NO, cuando baja L-arginina (su sustrato) o disminuye BH4 (Wilcox 2002). Esto perpetúa la formación de ROS en endotelio.

El descenso de NO inhibe las enzimas citocromo P450 dependientes favoreciendo la producción de *moléculas vasoconstrictoras* (Modlinger y cols 2004). La disminución de NO o la elevación de peroxinitritos aumentan la actividad de la cicloxigenasa, metabolizando el ácido araquidónico a prostaglandinas H2 (PGH2), y posteriormente a tromboxano A2 (TxA2). El anión superóxido y ONOO- aumentan la actividad de la Tx sintasa y disminuyen la de la prostaciclina sintasa (la prostaciclina presenta función vasodilatadora) (Wilcox 2002; Liaudet y cols 2000; Schnackenberg 2002).

Por otra parte, el ácido araquidónico se oxida, dando lugar a 8-isoprostanos y Prostaglandinas F2 α , que también tienen efecto vasoconstrictor (Modlinger y cols 2004).

4.4. Perfil lipídico

La *fracción lipoproteica de alta densidad (HDL)* del colesterol desempeña un papel importante contra la aterosclerosis, reduce la LDL oxidada (Mackness y cols 1993; Bielicki y Forte 1999) y disminuye la expresión de moléculas de adhesión inducida por citocinas en la célula endotelial (Cockerill y cols 1999, 2001).

HDL disminuye a medida que la función renal se deteriora (Shoji y cols 1997), por un descenso en su síntesis y por alteración en su estructura:

- a) El descenso en la expresión hepática del gen de la Apo A-I, activador de la lecitina colesterol aciltransferasa (LCAT), hace que esta disminuya su actividad, consistente en la esterificación de colesterol necesaria para la maduración de HDL (Fuh y cols 1990; Vaziri y cols 1999; Miida y cols 2003).
- b) En la insuficiencia renal existe un aumento de Apo C-III, inhibidor competitivo de la lipoprotein lipasa, enzima que media en la lipólisis de los triglicéridos y en el catabolismo de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y quilomicrones en el endotelio vascular, lo que se traduce también en *hipertrigliceridemia* (Atger y cols 1988), y aumento de lipoproteínas de densidad intermedia (IDL) (Shoji y cols 1997).

La *fracción LDL* activa el sistema renina-angiotensina-aldosterona, aumenta la AII y su acción sobre el receptor AT1, lo que se traduce en la formación de anión superóxido (Park y cols 2003).

La lipoproteína *a* (*Lp(a)*) es un factor de riesgo cardiovascular en la población general (Kronenberg y cols 1996). La *Lp(a)* es una lipoproteína esférica, compuesta por ésteres de colesterol y fosfolípidos, que es parecida a LDL en su composición. Contiene una glicoproteína específica, la apolipoproteína (a) (*Apo(a)*) (Koschinsky y cols 1997). El depósito de *Apo(a)* en el glomérulo se ha relacionado con la progresión de daño renal (Sato y cols 1993). Los niveles de *Lp(a)* van aumentando con el deterioro progresivo de la función renal. El aumento depende del fenotipo de *Apo(a)*, se describen dos fenotipos, de alto peso molecular (HMW) y de bajo peso molecular (LMW). En el caso de la insuficiencia renal en pacientes con enfermedad renal primaria no nefrótica desde estadios precoces, solo en aquellos que presentan fenotipo HMW de *Apo(a)* se observa un aumento de *Lp(a)* (Kronenberg y cols 2000). Dentro de los factores no genéticos que producen un aumento de la *Lp(a)* están la proteinuria y la enfermedad renal terminal (Kronenberg y Utermann 1996). En el síndrome nefrótico se describe un aumento de síntesis de *Lp(a)*, si bien la causa es aún desconocida. En cuanto a terapéutica, la secreción de *Lp(a)* se regula de forma independiente a VLDL y *Apo B100*, lo que implica, que la actuación sobre la LDL, no modifica la *Lp(a)* (De Sain-Van Der Velden y cols 1998).

4.5. Carbonyl stress

El estudio de los compuestos que dan lugar a la toxicidad secundaria a la enfermedad renal incluye los productos finales de la glicación avanzada (advanced glycation end products - AGEs), que se relacionan con las complicaciones de la ERC.

Estas moléculas son producto de la reacción de Maillard (figura 8), reacción no enzimática en la que grupos amino de las proteínas se unen con aldehídos derivados de la glucosa o de la descomposición oxidativa de ácidos grasos poliinsaturados (MDA, 4HN), dando lugar a las bases de Schiff que se convierten en productos de Amadori y finalmente en AGEs estables (Singh y cols 2001). Esta reacción puede durar meses y por tanto afecta a proteínas de recambio lento.

Los AGEs se unen a receptores específicos para ellos presentes en los macrófagos (RAGE) promoviendo la producción de ROS (mediante activación del factor NFκB (Singh y cols 2001)) y la consecuente liberación de citocinas (Wautier y Schmidt 2004). Este efecto se une al acúmulo de AGEs en la matriz vascular, que podría dar lugar a un aumento de permeabilidad vascular y engrosamiento de la pared del vaso (Ritz y cols 1994).

Además de por la oxidación directa, las proteínas pueden verse modificadas por compuestos carbonilo, derivados de la autooxidación de carbohidratos, lípidos o aminoácidos, o por procesos no oxidativos. Esto es lo que se denomina *carbonyl stress*. Así la carboximetil-lisina (CML) se forma a través de la reacción de Maillard y desde glyoxal, producto autooxidativo de la glucosa, de igual forma la arabinosa otro producto de gluco-oxidación, da lugar a pentosidina (figura 8) (Zoccali y cols 2000; Miyata y cols 1997).

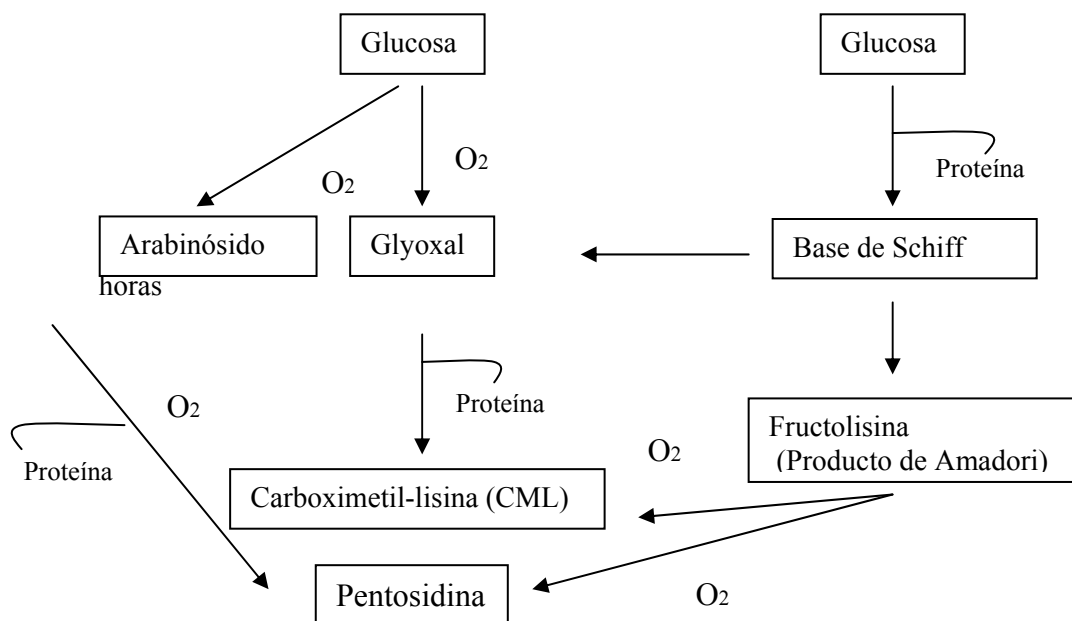


Figura 8: Formación de AGEs (modificado de Miyata y cols 1997).

Los AGEs están elevados en diabetes mellitus, enfermedades inflamatorias y enfermedad renal crónica. El estudio de *AGEs en pacientes con enfermedad renal crónica* no diabéticos se ha realizado hasta ahora en hemodiálisis y diálisis peritoneal conociéndose poco sobre el comportamiento de estas moléculas en prediálisis o ERC en estadios precoces. En un estudio reciente en pacientes con aclaramiento de creatinina entre >90 ml/min/1.73m² y 31 ml/min/1.73m², se describe que la concentración plasmática de péptidos AGE está relacionada con el aclaramiento de creatinina de forma inversa e independiente tras ajustar para la edad, sexo, índice de masa corporal (IMC), TA diastólica (TAD), enfermedad cardiovascular y tabaquismo (Stam y cols 2006). El mecanismo por el que parece que se produce el aumento de AGE en ERC parece ser una excreción renal disminuida (Makita y cols 1991).

La relación de AGE y riesgo cardiovascular no está clara aún en la ERC, en este mismo estudio no se encontró relación independiente entre péptidos AGE y disfunción endotelial o actividad inflamatoria (Stam y cols 2006).

4.6. Función renal y aterosclerosis

La asociación entre enfermedad renal y enfermedad cardiovascular (ECV) se describe en los dos sentidos de forma cada vez más evidente, por una parte la aterosclerosis e HTA son causas frecuentes de insuficiencia renal, y por otra la enfermedad renal crónica y su progresión contribuyen al desarrollo de la enfermedad cardiovascular (Díez 2004; Chade y cols 2005)

El séptimo informe del Joint Nacional Comité (JNC-7) incluye la microalbuminuria y una disminución en la tasa de filtrado glomerular menor de 60ml/min/1.73m², en el grupo de factores mayores de riesgo cardiovascular (Chobanian y cols 2003).

En la enfermedad renal, las lesiones ateroscleróticas (íntima) y arterioscleróticas (capa media) están calcificadas con alta frecuencia y presentan mayor engrosamiento del conjunto íntima-media que la población general (Sarnak y cols 2003).

Se describen dos grupos de *factores de riesgo cardiovascular* en pacientes con alteración de la función renal: tradicionales, aquellos usados para estimar el riesgo de desarrollo de isquemia coronaria sintomática en el estudio Framingham; y no tradicionales, definidos como aquellos que cumplan las siguientes condiciones: plausibilidad biológica de por qué el factor puede promover riesgo cardiovascular, demostración de que el factor aumenta con la severidad de la enfermedad renal, estudios observacionales en ERC que demuestren la asociación entre el factor y enfermedad cardiovascular, estudios clínicos controlados, con placebo en los que se demuestre que el tratamiento del factor de riesgo mejora el pronóstico cardiovascular (Sarnak y cols 2003).

El aumento de ROS genera la activación de factores transcripcionales, de crecimiento y de receptores primarios así como la generación de mediadores secundarios que dan lugar a disfunción renal, cardíaca y vascular, que desemboca en el desarrollo de ECV y progresión de ERC (Wilcox y Gutterman 2005).

La siguiente tabla muestra los factores de riesgo cardiovascular en enfermedad renal crónica (Sarnak y Levey 2000).

Factores de riesgo tradicionales	Factores de riesgo no tradicionales
Edad	Albuminuria
Sexo (masculino)	Homocisteinemia
Hipertensión	Lp(a) y Apo(a)
LDL colesterol elevado	IDL
Diabetes mellitus	Anemia
Tabaquismo	Alteración de metabolismo calcio-fósforo
Sedentarismo	Exceso volumétrico
Menopausia	Alteración electrolítica
Historia familiar de ECV	Estrés oxidativo
Hipertrofia de VI	Estado inflamatorio (PCR)
	Malnutrición
	Factores trombogénicos
	Alteraciones del sueño
	Alteración del balance NO/endotelina

5. ESTRÉS OXIDATIVO Y TRASPLANTE RENAL

El trasplante renal como terapia sustitutiva de la ERC en estadio terminal en la que se restablece la función renal, presenta una mejoría en el estado inflamatorio frente al paciente sometido a técnicas de depuración extrarrenal en las que el estado urémico, las infecciones o la exposición a membranas con distintos grados de biocompatibilidad promueven inflamación crónica. Sin embargo la enfermedad cardiovascular sigue siendo entre 35 y 50% de todas las causas de mortalidad en trasplante renal (Sarnak y cols 2003).

De igual forma la aterosclerosis y el estado proinflamatorio van a participar en el desarrollo de la nefropatía crónica del injerto (NCI) (Boratyriska y cols 2000).

Los factores que influyen en el aumento de estrés oxidativo en el trasplante renal (asociados a los que afectan a la población general) son en cierta medida controvertidos actualmente, puesto que están en estudio, entre ellos encontramos: daño isquemia-reperusión (Masztalerz y cols 2006), hiperlipemia (Cristol y cols 1998), inmunosupresión (Zhong y cols 1998) o infecciones (Weis y cols 2004) (Figura 9).

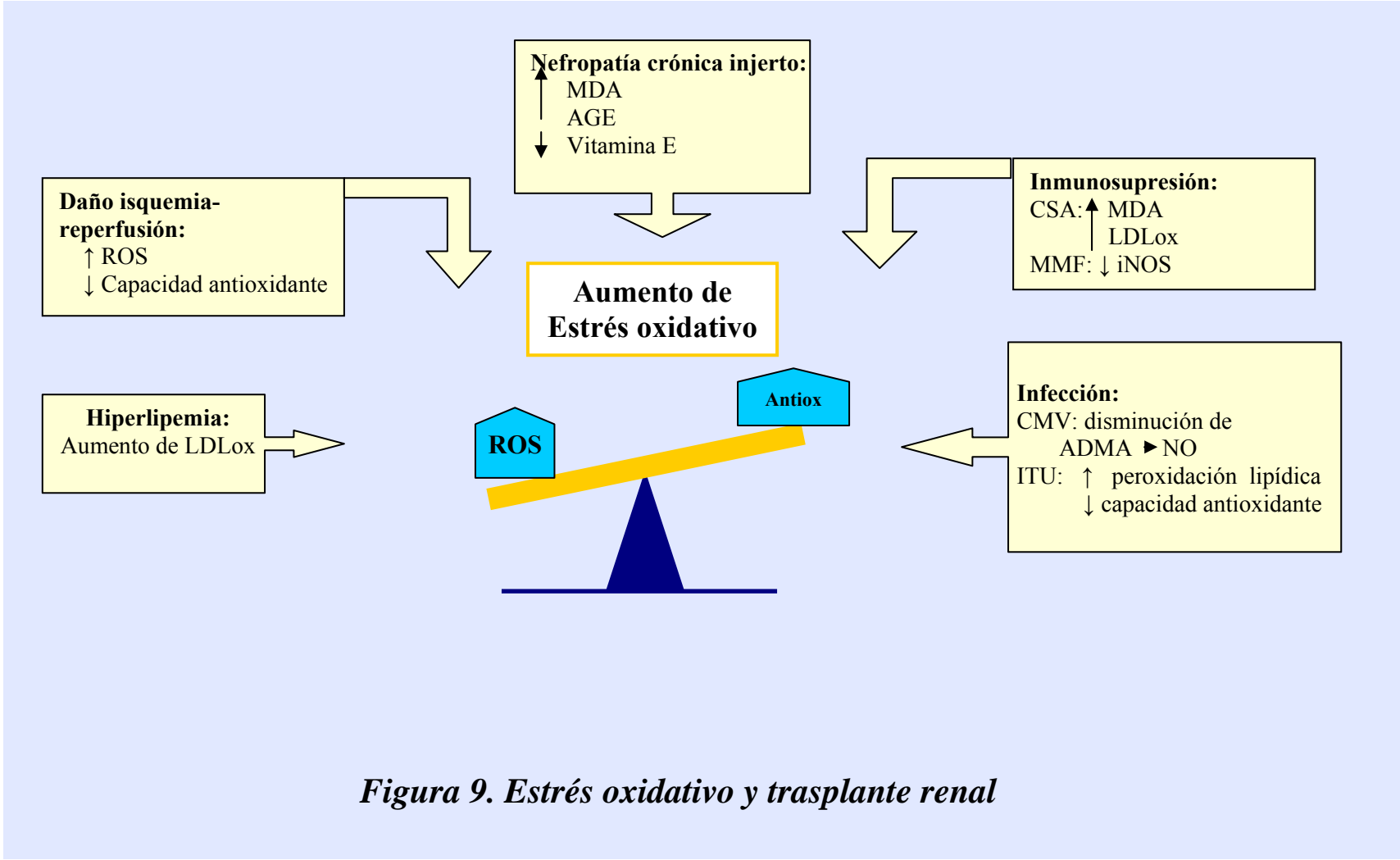


Figura 9. Estrés oxidativo y trasplante renal

5.1. ROS y enzimas antioxidantes

El aumento de peroxidación lipídica en trasplante renal se describe a través del aumento de **MDA** en los enfermos trasplantados frente a controles en distintos estudios (Zhong y cols 1998; Moreno y cols 2005; Pérez-Fernández y cols 2002). Por otra parte el descenso de **GPx** frente a población sana afirmaría el aumento del estado oxidativo en estos pacientes (Moreno y cols 2005).

En el análisis de pacientes en diálisis que son trasplantados encontramos un descenso de proteínas proinflamatorias IL-6, TNF- α y PCR así como de derivados de carbonil estrés y F2-isoprostanos, (sin embargo la limitación del estudio es su realización en receptores de donante vivo, y quizá pudiera influir la inmunosupresión utilizada de inducción, timoglobulina y basiliximab) (Simmons y cols 2005).

En un estudio de la capacidad antioxidante (enzimática) en postrasplante inmediato (48 h), a la semana y tras 2 semanas (Pérez Fernández y cols 2002), el comportamiento descrito de las distintas enzimas es el siguiente: aumento de **catalasa** a las 48 horas con descenso a la semana y nuevo ascenso a la segunda semana; **SOD** descendió en los dos primeros tiempos, sin embargo se eleva a las dos semanas; **GPx** descendía en postrasplante inmediato pero su actividad aumentaba 1 ó 2 semanas tras el trasplante (De Vega y cols 2003). La capacidad antioxidante por tanto se elevaba a partir de la segunda semana sin llegar a normalizarse, lo que se interpreta como un “despertar” de la capacidad defensiva.

El aumento de GPx se correlaciona de forma directa con la mejoría del filtrado glomerular (Moreno y cols 2005, De Vega y cols 2003).

5.2. Daño isquemia-reperfusión

Existen gran cantidad de estudios experimentales que demuestran el aumento de ROS y descenso de capacidad antioxidante que ocurre durante la fase de isquemia-reperfusión, sin embargo se tienen pocos datos en humanos. Así en estudios experimentales encontramos que se observa un aumento de isoprostanos (Favreau y cols 2004), peróxido de hidrógeno, hidroxinonal, RNS (Aragno y cols 2003), y MDA (Thiemermann y cols 2003; Rhoden y cols 2002), mientras que disminuyen GPx (Favreau y cols 2004), catalasa y SOD (Aragno y cols 2003).

Un estudio reciente en humanos describe el aumento significativo en la concentración media de anión superóxido antes y después (5 y 15 minutos) de la perfusión (Masztalerz y cols 2006).

5.3. Hiperlipemia

La hiperlipemia es una complicación que se presenta con frecuencia en el paciente trasplantado renal. Los factores que se asocian en su aparición y desarrollo son: la edad, sexo masculino, obesidad, proteinuria, medicación antihipertensiva (diuréticos y/o betabloqueantes), diabetes mellitus y tratamiento inmunosupresor (EBPG Expert Group on Renal Transplantation 2002a).

El perfil lipídico asociado a trasplante se describe como un aumento de colesterol total, LDL y triglicéridos, y descenso de HDL (Kasiske y cols 2000a). Estas alteraciones se mantienen de forma crónica en el trasplante, por un periodo de 10 años o más (Druke y cols 1991).

Una de las causas principales de hipercolesterolemia en trasplante es la terapia inmunosupresora:

- Corticoides: relacionados con factores de riesgo cardiovascular como la diabetes mellitus, obesidad, o hiperlipemia, tras el descenso de dosis de corticoides, se produce un descenso de HTA y de lipidemia que puede dar lugar también a un descenso de HDL (Hricik y cols 1992a; Kasiske y cols 1991).
- Ciclosporina (CsA): aumenta el colesterol total, LDL y triglicéridos (Hricik y cols 1992b, Moreno y cols 2005). El mecanismo parece ser mediante la unión al receptor de LDL, aumentando la concentración de la misma; inhibe la síntesis de ácidos biliares a partir del colesterol al impedir su absorción en intestino y reduciendo la eliminación de VLDL y LDL (Kahan y Ponticelli 2001a).
- Tacrolimus: también produce hiperlipemia, pero en menor grado que la CsA (McCune y cols 1998).
- Sirolimus o rapamicina: inductor claro de elevación de colesterol y triglicéridos (Groth y cols 1999), que asociado a CsA aumenta el efecto hipercolesterolemizante de la misma y la hipertrigliceridemia inducida por los corticoides (Kasiske y cols 2000a).

5.4. Inmunosupresión

5.4.1 Ciclosporina

En estudios realizados *in vitro* en sistemas microsomales, la CsA aumenta la peroxidación lipídica (Inselmann y cols 1998; Serino y cols 1994). Junto a esto, estudios

experimentales muestran un aumento de MDA cortical y conjugados diénicos en un modelo de nefrectomía unilateral en ratas tras la administración de CsA (Wang y Salahudeen 1995). Esta tendencia también ha sido demostrada in vitro en la clínica (Sutherland y cols 1995), así como signos indirectos de oxidación de LDL in vivo a través de la determinación de autoanticuerpos frente a LDL modificada por MDA (Ghanem y cols 1996).

Se describe la producción de radicales libres directamente del metabolismo de la CsA (Insemann y cols 1990) o de forma secundaria a la acción de vasoconstricción renal. La hipoxia derivada de la vasoconstricción de arteriola aferente y el aumento de sustancias vasoactivas como el SRAA, tromboxanos o endotelinas, y reoxigenación (hipoxia reperfusión) tras el descenso del nivel de CsA daría lugar a formación de radicales libres, detectados en orina, efecto descrito por Zhong y cols (1998) en ratas.

5.4.2. Tacrolimus

La susceptibilidad a la oxidación de LDL in vitro en pacientes trasplantados renales tratados con tacrolimus es similar a la de la población general según un estudio realizado por Cofan y cols (2002a).

Sin embargo aunque algunos estudios no encuentran diferencias significativas en pacientes tratados con CsA o tacrolimus (grupos diferentes) en cuanto a la oxidabilidad de LDL (Morena y cols 2000), se describe que pacientes tratados con CsA convertidos a tacrolimus presentan una mejoría de perfil lipídico y menor susceptibilidad a oxidación de LDL (Artz y cols 2003; Cofan y cols 2005).

5.4.2. Micofenolato mofetil

Se postula que el micofenolato mofetil presenta un efecto de inhibición en la expresión de iNOS y la síntesis de NO durante la isquemia-reperfusión renal en ratones, sin afectar a las NOS constitutivas, el mecanismo lo ejercería mediante la inhibición de la síntesis de BH₄, cofactor de NOS. En esta terapia por tanto el efecto frente a la oxidación sería positivo (Lui y cols 2001).

5.5. Infecciones

5.5.1 Citomegalovirus

La infección por citomegalovirus (CMV) se ha relacionado con alteraciones de la vía del NO en el endotelio en trasplante cardíaco, y con la aterosclerosis del injerto. La infección por CMV se asocia a aumento de dimetilarginina asimétrica plasmática, inhibidor endógeno de la eNOS, favoreciéndose una disminución de síntesis de NO,

aumento de estrés oxidativo y alteración endotelial (Weis y cols 2004). La seropositividad para CMV se asocia a alteración de función vascular (Grahame-Clarke y cols 2003) y la infección se considera factor de riesgo para el desarrollo de nefropatía crónica del injerto (Kahan y Ponticelli 2001b).

5.5.2. Infecciones urinarias

La infección urinaria es frecuente en el trasplante renal.

En pacientes no trasplantados y diabéticos el padecimiento de infección del tracto urinario muestra en algunos estudios un aumento de peroxidación lipídica y disminución de capacidad antioxidante (Kurutas y cols 2005). En trasplante renal no encontramos datos en la bibliografía sobre este aspecto.

6. ESTRÉS OXIDATIVO Y DISFUNCIÓN CRÓNICA DEL INJERTO

La principal causa de pérdida del injerto tras el primer año de trasplante, es la nefropatía crónica del injerto (NCI).

Clínicamente se caracteriza por pérdida lenta y progresiva de la tasa de filtrado glomerular, asociada a proteinuria e HTA.

6.1. Patología de la nefropatía crónica del injerto

Las características anatomopatológicas de la NCI son (Kahan y Ponticelli 2001c):

6.1.1. Cambios vasculares

- Rotura de la lámina elástica vascular
- Presencia de células inflamatorias, macrófagos, dando lugar a células espumosas
- Proliferación de miofibroblastos en la íntima que se presenta ensanchada, provocando la formación de una neointima y engrosamiento de la fibrointima.

Gouldsbrough y Axelsen (1994) describen cuatro patrones:

- a) Endotelitis: inflamación subendotelial con leve engrosamiento intimal.
- b) Endotelitis con engrosamiento intimal.
- c) Engrosamiento intimal sin endotelitis.
- d) Engrosamiento intimal con calcificación y estrías de colesterol (aterosclerosis).

6.1.2. Cambios glomerulares

- Engrosamiento de la membrana basal glomerular, debido al ensanchamiento del espacio subendotelial.
- Aumento de la matriz mesangial.

- Interposición de matriz mesangial y células.
- Disminución de la luz capilar.

6.1.3. Duplicación de membrana basal en capilares peritubulares

6.1.4. Fibrosis intersticial difusa

6.1.5. Atrofia tubular

Las lesiones vasculares van a ser las responsables de la pérdida del injerto.

6.2. Factores de riesgo

Los factores de riesgo que intervienen en la aparición y desarrollo de NCI se dividen en dos grupos (Kahan y Ponticelli 2001c):

6.2.1. Mecanismos inmunológicos:

- a) Existencia de una respuesta inmune a *aloantígenos* expresados por el injerto continua y de bajo grado, mayor al aumentar el número de incompatibilidades HLA (Human Leucocyte Antigen).
- b) Efecto deletéreo a largo plazo de *anticuerpos citotóxicos preformados* anti-HLA.
- c) Existencia de *rechazo agudo*.
- d) *Inmunosupresión*: interviene el tipo de fármaco utilizado, el bajo grado de adhesión al tratamiento y la dosis insuficiente.
- e) *Infección por CMV*: puede aumentar la formación de neointima ante la existencia de incompatibilidad HLA donante-receptor.

6.2.2. Mecanismos no inmunológicos:

- f) *Donante*: el trasplante de donante vivo no emparentado presenta mejor resultado que el de donante cadáver, explicado porque en el donante sano no existe pérdida de *masa renal* ni enfermedades previas.
- g) *Daño isquemia-reperfusión*: las lesiones isquémicas de donante cadáver pueden aumentar la expresión de antígenos HLA y moléculas de adhesión en las células tubulares. La función retardada del injerto puede asociarse a NCI, sobre todo si coexiste rechazo agudo.
- h) *Nefrotoxicidad por drogas*: el daño debido a isquemia, rechazo o terapia inmunosupresora está mediado por el “transforming growth factor- β 1” (TGF- β 1), que aumenta la expresión de citocinas, factor de crecimiento de fibroblastos y de proteínas vasoactivas, todo ello favorece la proliferación celular, bloquea la degradación de matriz, y promueve hipertensión y

disfunción crónica del injerto. Tacrolimus parece tener menos efecto que CsA en la producción de TGF- β 1.

- i) *Proteinuria*
- j) *Hiperlipemia*
- k) *Hipertensión*
- l) *Estrés oxidativo*

Es difícil distinguir si estos últimos cuatro factores son causa o consecuencia de NCI.

Halloran y cols (1999) postulan que la NCI podría considerarse un procedimiento de envejecimiento celular acelerado por los factores inmunológicos y no inmunológicos descritos.

6.3. Estrés oxidativo

Las lesiones vasculares descritas en la NCI no son específicas del trasplante renal, se observan en cardíaco, hepático y pulmonar. La lesión endotelial y la hiperplasia intimal se asemejan a las descritas en las etapas precoces de la aterosclerosis, proponiéndose el término de “aterosclerosis del trasplante” (Cristol y cols 1998). Esta similitud histológica aterosclerosis-lesión vascular de NCI hace pensar que algunos de los factores de riesgo de ambas sean comunes.

Cristol y cols (1998) desarrollaron un estudio en el que se describe la asociación de marcadores de estrés oxidativo con la presencia de NCI. MDA estaba significativamente más aumentado en pacientes con NCI y la capacidad antioxidante no enzimática estaba disminuida, sin existir diferencia en perfil lipídico, en pacientes con y sin NCI (sí hiperlipemia con respecto a controles). La vitamina E eritrocitaria y actividad SOD descendió, mientras vitamina E en plasma (probablemente debido a hiperlipemia) y GPx (probablemente inducida por ROS) se presentaban normales o aumentadas. Concluyen por tanto que el efecto de la hiperlipemia sobre la iniciación y progresión de la NCI se ve aumentado por el estado oxidativo.

El mismo grupo de trabajo describe un descenso de MDA y aumento de vitamina E plasmática tras administración de vitamina E oral en pacientes con NCI, en los que la función renal permaneció estable durante un periodo de 6 meses (Vela y cols 1999).

Los AGEs, aumentados durante la terapia extrarrenal sustitutiva, decrecen tras el trasplante renal sin llegar a normalizarse (Sebekova y cols 2001; Hartog y cols 2005) y se

encuentran aumentados en pacientes con NCI. Este aumento no parece estar explicado únicamente por el deterioro de función renal (Raj y cols 2004).

Si bien no está claro si el aumento de estrés oxidativo en la NCI es causa o consecuencia del deterioro de la función renal y la progresión del rechazo crónico, sí existen datos suficientes para pensar que la actuación sobre el OS bien secundario a deterioro de función renal, o bien dependiente de los factores analizados, podría enlentecer la progresión de la NCI y mejorar la supervivencia del injerto.

7. RIESGO CARDIOVASCULAR EN TRASPLANTE RENAL

La enfermedad cardiovascular (ECV) es más frecuente en el paciente trasplantado renal que en la población general, la prevalencia e incidencia es hasta 5 veces mayor que la descrita en el estudio Framingham para población general de igual sexo y edad (Kasiske 2000b). Es la principal causa de muerte del enfermo trasplantado, en el 50% por cardiopatía isquémica, y la segunda causa de pérdida de injerto renal (muerte con injerto renal funcionando) en la que supone un 40% en el primer año y más de 50% a los diez años de trasplante (Matas y cols 2002).

Está definida como la presencia de enfermedad coronaria, enfermedad cerebrovascular y/o arteriopatía periférica (Kasiske 2000b). La enfermedad coronaria es la forma más frecuente en Europa, 6-14.6%, tras ella se encuentra la arteriopatía periférica, 2.7-6.3%, y menos frecuente la enfermedad cerebrovascular, 1.4-2.6% (Morales y cols 2002).

7.1. Factores de riesgo cardiovascular

7.1.1. Clásicos

Comunes a la población general: edad, sexo varón, obesidad frecuente en trasplante y asociada a hiperlipemia, resistencia a la insulina y disfunción cardíaca, vida sedentaria, alcohol y tabaco, hiperhomocisteinemia, enfermedad cardiovascular previa y componente genético (Palomar y Ruiz 2004).

7.1.2. Característicos de trasplante

- HTA: la prevalencia es de 60-90% en trasplante renal (First y cols 1994), siendo múltiple su etiología. Las causas más frecuentes son NCI, tratamiento inmunosupresor (tacrolimus, CsA, corticoides) o HTA previa a trasplante. Otras etiologías son: recidiva de enfermedad glomerular, estenosis de arteria renal, HTA secundaria o debida a riñones nativos (Palomar y Ruiz 2004)

- Diabetes postrasplante (3-19%): descrito como factor independiente de ECV (Fernández-Fresnedo y cols 2003), en su desarrollo influyen: edad, historia familiar, intolerancia hidrocarbonada antes de trasplante, sobrepeso, algunos antígenos HLA, tratamiento con esteroides y anticalcineurínicos dosis dependiente (Palomar y Ruiz 2004).
- Hiperinsulinemia (Palomar y Ruiz 2004)
- Dislipemia (apartado 5.3)
- Proteinuria: factor de riesgo independiente para la ECV (Palomar y Ruiz 2004)
- Filtrado glomerular: de igual forma que en la población con ERC, en la que el deterioro de la función renal es un factor de riesgo independiente para el desarrollo de la ECV (Chobanian y cols 2003).
- Hipertrofia de ventrículo izquierdo (HVI): el mayor componente de este factor procede de la herencia de la etapa pretrasplante, aunque también se relaciona con la terapia inmunosupresora (corticoides y CsA) (Fishel y cols 1995).
- Infección por CMV (apartado 5.5.1.).

7.2. Calcificaciones vasculares

Existe una particularidad que los pacientes con ERC y trasplante renal asocian a lo ya expuesto sobre la aterosclerosis, y es la presencia de calcificaciones vasculares tanto de la íntima como de la capa media (Sarnak y cols 2003). La placa ateromatosa se encuentra en un estadio avanzado con calcificación, y por otra parte existe un engrosamiento de la pared vascular a expensas de la capa media sin compromiso de la luz, es lo que se ha denominado “remodelado concéntrico” (Amann y cols 2003), que disminuye la compliance vascular. Así se evidenció mediante coronariografía, que pacientes no diabéticos en diálisis con sintomatología de cardiopatía isquémica no presentaban enfermedad de grandes vasos coronarios en un 50% (definida como estenosis de más del 50%) (Rostand y cols 1984), si bien este estudio se realizó cuando aún no se utilizaban los estimuladores de eritropoyesis, por lo que el nivel insuficiente de hemoglobina podía contribuir a la isquemia.

El metabolismo calcio-fósforo es un factor muy a tener en cuenta en el desarrollo de dichas calcificaciones en estos pacientes.

Las alteraciones estructurales de grandes arterias son frecuentes en el trasplante renal. En la mayoría de los receptores de trasplante renal sin ECV clínica se observa un engrosamiento de la interfase íntima-media y placas ateromatosas en la arteria carótida

(Suwelack y cols 1999). La ecografía doppler carotídea es una exploración no invasiva para el estudio de la aterosclerosis carotídea y una aproximación inocua al estado vascular del paciente que puede permitir el estudio de la relación entre aterosclerosis y parámetros lipídicos y de oxidación (Ruiz y cols 2005).

El mayor factor de riesgo para desarrollar ECV postrasplante es la enfermedad cardiovascular pretrasplante (EBPG Expert Group on Renal Transplantation 2002b).

8. ESTATINAS

8.1. Síntesis de colesterol

Las células del mamífero adquieren el colesterol por dos vías, exógena y endógena. En la vía exógena las células incorporan el colesterol como lipoproteínas conteniendo en la molécula apolipoproteína B, principalmente LDL, mediante endocitosis mediada por receptor (Brown y Goldstein 1986). Tras su degradación en los lisosomas, el colesterol liberado se recicla para otro procesamiento. En la vía endógena, la célula sintetiza colesterol (Goldstein y Brown 1990).

La biosíntesis de novo del colesterol tiene lugar en todas las células sin embargo esta capacidad de síntesis es mayor en hígado, intestino, corteza suprarrenal y tejidos reproductores.

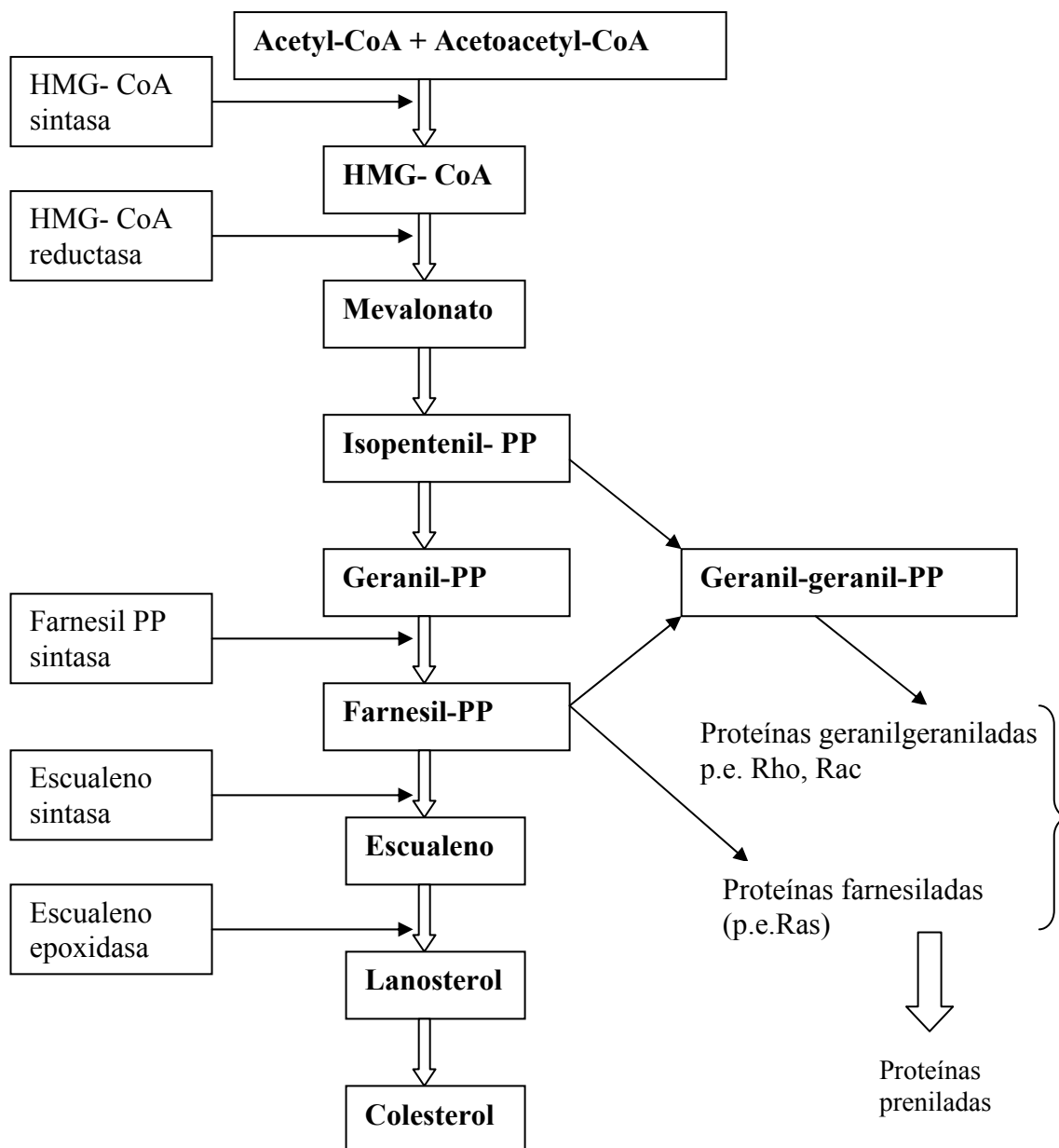
El primer compuesto exclusivo de la biosíntesis de colesterol es el ácido mevalónico, derivado del precursor bicarbonato acetil coenzima A (CoA), centro de las vías del metabolismo de las grasas, glúcidos y aminoácidos, dos moléculas se unen para formar acetoacetil CoA. El siguiente paso implica a otra molécula de acetil CoA, dando lugar a un compuesto ramificado, 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG CoA), reacción catalizada por la HMG CoA sintasa. Posteriormente actúa la enzima HMG CoA reductasa, enzima limitante para la formación de colesterol en hígado y otros tejidos, que consume dos moléculas de NADPH de la vía de las pentosas, y da lugar al ácido mevalónico. Los siguientes pasos son la formación de isopentenilpirofosfato, posteriormente aparecen los isoprenoides, geranil pirofosfato, que da lugar a las proteínas geranil-geraniladas (Rho, Rac1, Cdc42) y ubiquinona, y farnesilpirofosfato que da lugar a:

- fusión de dos moléculas de farnesil pirofosfato para formar el escualeno con la posterior ciclación para dar lanosterol y síntesis de colesterol a partir de éste (Devlin 1989).

- proteínas farnesiladas (Ras).

El proceso se esquematiza en la siguiente figura:

Figura 10: BIOSÍNTESIS DEL COLESTEROL



8.2. Farmacología de las estatinas

Las estatinas son un grupo de fármacos que actúan inhibiendo la enzima HMG CoA reductasa, y por tanto reduciendo la síntesis de colesterol. Por otra parte el mevalonato también es precursor de los isoprenoides, la reducción de los mismos induce los denominados efectos pleiotrópicos, supuestamente independientes del efecto hipolipemiante (figura 12).

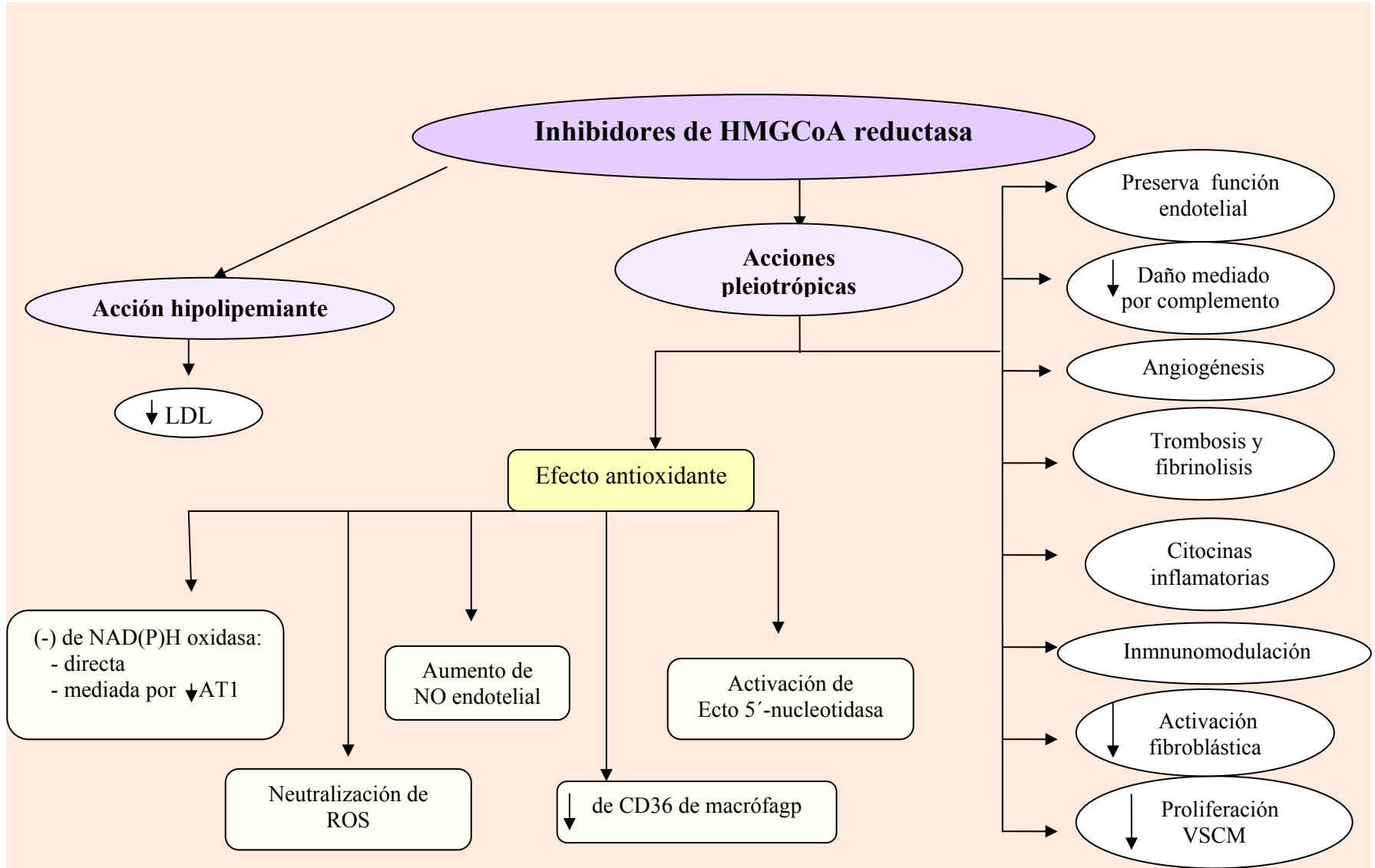


Figura 12. Acciones de las estatinas

Las estatinas ejercen su acción a través de su habilidad para unirse más potentemente a la HMG CoA reductasa que la HMG CoA. Sin embargo esta habilidad depende del tipo de estatina, si es predominantemente lipofílica o hidrofílica.

8.3. Efecto hipolipemiante

La reducción en la síntesis de colesterol induce al hepatocito a aumentar en su superficie la expresión de receptores para LDL, y por tanto la entrada en el hepatocito es mayor y se reduce el nivel sérico de LDL y colesterol. También disminuye la síntesis hepática de apoB (Mason 2003).

8.4. Efectos pleiotrópicos

Los efectos pleiotrópicos de un fármaco son acciones distintas a aquellas para las que fue desarrollado, que pueden estar relacionados o no con el mecanismo de acción principal, y que en principio no se pensaba que existieran. Estos efectos pueden ser negativos (efectos secundarios o toxicidad), neutros, o efectos colaterales beneficiosos. Este último es el caso de los inhibidores de la HMG-CoA reductasa, en los que poco a poco se van descubriendo nuevos efectos más allá del hipolipemiante (Davignon 2004).

Existen estudios clínicos que evidencian que la terapia hipolipemiante reduce la progresión de la aterosclerosis e incluso puede producir la regresión de la placa, con la implicación que esto conlleva en la mejoría de la mortalidad debida a causa cardiovascular (Superko y Krauss 1994). Sin embargo un gran número de ensayos clínicos también nos aportan la evidencia de que estos beneficios ocurren antes de que se objetive el efecto hipolipemiante e incluso independientemente del nivel de LDL basal (Schwartz y cols 2001).

Existen sin embargo algunos puntos aún no claros en el estudio de los efectos pleiotrópicos de las estatinas:

1. La estatina reduce los niveles séricos de lípidos en la gran mayoría de pacientes y es difícil a veces separar los efectos hipolipemiantes de los que no lo son (LaRosa 2001).
2. En muchos de los estudios hechos *in vitro*, se han usado concentraciones que superan a las que se alcanzan en los estudios farmacocinéticos (Corsini y cols 1999).
3. Parece ser que las estatinas hidrofílicas (pravastatina o rosuvastatina), ejercen efectos similares a las lipofílicas (p.e. atorvastatina y cerivastatina) sobre el tejido vascular, en las que se supone que la penetración celular debería ser

mayor. La probable explicación para ello sería que el efecto dependa de la reducción en la síntesis de isoprenoides y no se requiera entrada en la célula (Bonetti y cols 2003).

8.4.1. Efecto sobre la función endotelial

El daño endotelial contribuye a la génesis de la aterosclerosis. Esta disfunción está asociada a una vasoconstricción derivada de una alteración de la síntesis, liberación y actividad del *NO* derivado del endotelio. El óxido nítrico es vasodilatador, inhibe la proliferación de la célula muscular lisa, la agregación plaquetaria, y la adhesión endotelial, y por tanto es protector endotelial en condiciones normales.

Las estatinas previenen la disminución en la actividad de la *eNOS* producida por la LDL (Martinez-González y cols 2001), debido a que la LDL aumenta los niveles de caveolina-1, que es un inhibidor de la actividad de la eNOS (Feron y cols 2001).

Al mismo tiempo aumentan la síntesis de NO local, estabilizando el ARN mensajero de la eNOS (mediante la inhibición de la geranilgeranilación de la proteína Rho) (Laufs y Liao 1998), y disminuyendo la producción de ROS que inactivan al NO. Mantienen dicha función en presencia de LDL oxidada y en condiciones de hipoxia (Wassmann y cols 2001).

Por otra parte inhiben la expresión de un potente vasoconstrictor, la *endotelina 1* (ET-1) (Hernández-Perera y cols 2000).

8.4.2. Trombosis y fibrinólisis

Las estatinas ejercen una acción antitrombótica a través de:

- la inhibición en la expresión y actividad del factor tisular.
- Inhibición de activación y función plaquetaria.
- Aumento de NO local que disminuye la síntesis de Tromboxano A₂.

La acción fibrinolítica se produce a través de:

- Aumento del factor activador del plasminógeno tisular.
- Inhibición de la síntesis del inhibidor-1 del activador del plasminógeno.

Probablemente mediadas ambas por la inhibición de geranilgeranilación.

8.4.3. Inflamación vascular y efecto sobre los leucocitos

Las *moléculas de adhesión* (VCAM-1, ICAM-1) y las citocinas proinflamatorias (interleucinas(IL) 1 β , 6, Factor de necrosis tumoral α (TNF α)) juegan un papel

importante en el proceso de inflamación, intervienen en la adhesión y migración de los leucocitos a la zona subendotelial en el proceso de aterogénesis.

En el estudio actual antiinflamatorio de las estatinas, existen diferencias en la acción de cada tipo de estatina sobre estas moléculas, así por ejemplo, en cultivos de células vasculares, el tratamiento con pravastatina, fluvastatina y cerivastatina reduce la síntesis de citocinas proinflamatorias como IL 1 β , IL 6, TNF α o la forma inducible de la ciclooxigenasa 2 (COX-2) (Inoue y cols 2000), también comprobado con atorvastatina (Hernández-Presa y cols 2002). Por otra parte, atorvastatina y simvastatina, parecen reducir significativamente E-selectina, P-selectina, e ICAM-1, sin embargo simvastatina aumenta VCAM-1 (Seljeflot y cols 2002).

8.4.4. Inmunomodulación y trasplante

La hipercolesterolemia es un trastorno metabólico común en pacientes trasplantados, y la medicación inmunosupresora utilizada está demostrado que provoca una tendencia al aumento en niveles séricos de lípidos.

Las estatinas presentan la característica de inhibir la función monocitaria y de macrófagos (Romano y cols 2000), la activación de linfocitos B (Rudich y cols 1998) y la proliferación de linfocitos T así como la citotoxicidad de los natural killer (NK) (Cutts y Bankhurst 1990; Katznelson y cols 1998). Todo esto favorece la prevención en el rechazo del injerto.

Se ha descubierto también la actuación de pravastatina, lovastatina y atorvastatina inhibiendo la expresión de interferón γ (IFN- γ) inducida por la expresión de complejos mayores de histocompatibilidad (MHC) clase II en macrófagos, células endoteliales y musculares lisas, pero no en linfocitos B o células dendríticas (Kwak y cols 2000).

Estas acciones necesitarían de dosis muy altas para ser confirmadas in vivo.

8.4.5. Protección vascular contra el daño mediado por el complemento

La activación del complemento es fundamental para la respuesta inflamatoria y la defensa frente a la infección. También se ha visto su importancia en la patogénesis de enfermedades inflamatorias como la glomerulonefritis, lupus eritematoso sistémico (LES) y la aterosclerosis, en la que el complemento puede ser activado por la vía clásica o alternativa en la pared arterial (Torzewski y cols 1997). Se ha aislado *C5b-9 MAC* (complejo de ataque a la membrana) en estados precoces de placas de ateroma. Así mismo junto a este complejo se observa activación de proteína C reactiva (PCR) en la pared vascular, que se traduce en la presencia de una inflamación crónica en la misma

(Torzewski y cols 1998). La LDL modificada provocaría la activación del complemento con la consiguiente respuesta inflamatoria (Seifert y cols 1990).

La *PCR sérica* puede disminuir tras el efecto de las estatinas de forma independiente al efecto hipocolesterolemiante (Jiajal y cols 2001). Puede ser que una reducción en la activación del complemento en la pared arterial sea un factor que participe en este hecho.

Así la acción de las estatinas en este proceso puede estar mediada por dos vías:

1. a través de la regulación (aumento) de la expresión del “factor acelerador de descomposición” (decay-accelerating factor-DAF), proteína de superficie celular CD55, que acelera la eliminación de C3 y C5 convertasas, y por tanto es limitante de la activación del complemento en la pared vascular (Morgan y Meri 1994; Mason y cols 2002).
2. por medio de la reducción de la activación del complemento mediada por la PCR.

8.4.6. Angiogénesis

Los resultados sobre las estatinas en este ámbito se encaminan a efectos pro y antiangiogénicos. En el primer caso la actuación sería a través del aumento de células progenitoras endoteliales circulantes, que favorecerían la re-endotelización y reducirían el engrosamiento neointimal en sitios de daño vascular (Dimmeler y cols 2001).

Sin embargo otros estudios con cerivastatina mostraban inhibición de angiogénesis in vitro por medio de la inhibición de la proteína RhoA. Posteriormente se observó in vivo que esta estatina inducía una detención de la célula endotelial en la fase G1/S inhibiendo la angiogénesis (Vincent y cols 2002).

8.4.7. Estabilización de la placa

8.4.8. Reducción en la proliferación de la célula muscular lisa vascular (Rogler y cols 1995)

8.4.9. Descenso en la activación fibroblástica (Johnson y cols 1999)

8.5. Papel de las estatinas en estrés oxidativo

La hipercolesterolemia está asociada a un aumento de oxidación de LDL y la consiguiente formación de ROS, por tanto la acción hipolipemiante de las estatinas estaría clara en este sentido.

Por otra parte los inhibidores de la HMG CoA reductasa asocian las siguientes acciones:

- a) Aumento de la síntesis de *NO endotelial* y reducción de la producción de ROS, ya que *inhibe la actividad de la enzima NAD(P)H oxidasa*, implicando una reducción en la oxidación de LDL y del estrés oxidativo intracelular (Liao 2002; Lefer y cols 2001).
- b) Aumentan la *actividad de la ecto-5'-Nucleotidasa* (ecto-5'-Nu), glicoproteína de membrana que hidroliza nucleótidos extracelulares, en nucleósidos, por ejemplo adenosina, que son permeables a la membrana, y que protegen durante y después de situaciones de hipoxia celular (Neylon y Marshall 1991). El efecto sobre esta enzima se realiza a través de un aumento de la síntesis de la misma y una disminución de su endocitosis a través de la inhibición de la isoprenilación de la Rho GTPasas (ruta del mevalonato). Esto provoca una reducción en el número de receptores para ecto-5'-Nu y además da lugar a una desorganización de las fibras de actina, que participan en el proceso de endocitosis (Ledoux y cols 2002). Esta ectoenzima, se expresa en riñón en células de túbulo proximal, y en menos proporción en células mesangiales, fibroblastos intersticiales, y células intercaladas (Siegfried y cols 1996).
- c) La habilidad para *neutralizar ROS* se observa en distintas estatinas (simvastatina (Day y cols 1997), fluvastatina (Yamamoto y cols 1998), atorvastatina, pravastatina y cerivastatina (Wagner y cols 2000)), y se ha demostrado en gran variedad de tipos celulares como macrófagos, neutrófilos, células musculares lisas y endoteliales (Day y cols 1997; Giroux y cols 1993).
- d) Inhiben la producción de ROS inducida por *Angiotensina II (AII)*, a través de la inhibición de la geranilgeranilación de la proteína Rac 1, reguladora de la NAD(P)H oxidasa. Entre los factores humorales que favorecen la formación de ROS y que juegan un papel importante en la enfermedad cardiovascular, se encuentra la AII, que a través de su receptor tipo 1 (AT1), activa a la enzima NAD(P)H oxidasa, con el consiguiente aumento en la formación de anión superóxido (Griendling y cols 1994). La expresión de AT1 se encuentra aumentada en la hipercolesterolemia (Wassmann y cols 2002).
- e) Disminuyen la *expresión de CD36 del macrófago*, receptor para la LDL-ox que permite su entrada en la célula para la formación de la célula espumosa (Fuhrman

y cols 2002). Su acción frente a la actividad plaquetaria también se describe por esta vía (Puceti y cols 2005).

8.6. Estatinas en trasplante renal

La dislipemia está presente en más del 60% de pacientes en prediálisis y en diálisis (Harris y cols 2002), y un 80% en el síndrome nefrótico (Kasiske 1998). Dicha dislipemia se asocia a un aumento demostrado de mortalidad cardiovascular en diálisis y trasplante renal (Kasiske y cols 2000c), en la misma proporción que la población general. De igual forma la eficacia del tratamiento con estatinas en pacientes con ERC es similar al de la población general.

La progresión de la insuficiencia renal se acompaña de cambios en el metabolismo lipídico, que a su vez es distinto en cada una de las situaciones del insuficiente renal, así el síndrome nefrótico presentará un perfil altamente aterogénico, otras etiología no tienen perfil tan maligno, pero progresa paralelamente a la enfermedad.

En el caso del trasplante renal, aproximadamente el 60% de los pacientes presentan hipercolesterolemia (Kasiske 1998). El perfil lipídico del trasplantado renal se caracteriza por un aumento en el colesterol total, a expensas de la fracción LDL, aumento de concentración sérica de triglicéridos, apolipoproteína B y lipoproteína(a) y niveles variables de fracción HDL (Kasiske y cols 2000c). La característica especial en estos enfermos, asociado a las características de su enfermedad renal o deterioro de la función, es el efecto que la medicación inmunosupresora ejerce sobre el perfil lipídico, entre ella encontramos corticoides, tacrolimus, ciclosporina y sirolimus (Moore y cols 2001). El tratamiento con ciclosporina presenta mayor incidencia de hipercolesterolemia que tacrolimus (Vincenti y cols 2002).

Existen estudios observacionales que describen una correlación entre pacientes trasplantados renales con hipercolesterolemia y/o hipertrigliceridemia y riesgo de enfermedad coronaria (Kasiske y cols 2000c).

En cuanto a la eficacia del tratamiento hipolipemiante con estatinas en trasplante renal, existen pocos estudios comparativos con individuos no trasplantados, pero no parece ser menor que en estos últimos.

Los efectos pleiotrópicos de las estatinas en trasplante renal son más controvertidos en la actualidad. El estudio se hace en dos sentidos, en primer lugar el efecto beneficioso sobre la morbi-mortalidad cardiovascular, principal causa de muerte en estos pacientes, y en segundo lugar qué beneficio puede suponer en la progresión del

deterioro de la función renal y por tanto su papel en la nefropatía crónica del injerto (NCI).

8.6.1. Morbi-mortalidad cardiovascular

En este punto el efecto de las estatinas en trasplante renal queda bien reflejado en el estudio ALERT (Assesment of Lescol in Renal Transplant), en el que se estudió un importante número de enfermos trasplantados renales tratados con fluvastatina (n=1050) o placebo (n=1052), tiempo medio de randomización de 4,5 años postrasplante y un seguimiento medio de 5.1 años. Este trabajo muestra una disminución significativa de LDL, y una reducción significativa de eventos cardíacos en pacientes tratados con fluvastatina, y concluye que la introducción precoz de estatina en el trasplante renal es beneficiosa para la protección cardíaca (Holdaas y cols 2003; Fellstrom y cols 2004).

8.6.2. Nefropatía crónica del injerto

Los efectos de las estatinas que pueden estar relacionados con el deterioro de la función renal y por tanto con la NCI serían inmunológicos como la modificación de la función linfocitaria, inhibición de la citotoxicidad celular los NK, y no inmunológicos, como la reducción de la proliferación de la célula muscular lisa vascular, disminución de la fibrosis tubulointersticial y el efecto antioxidante.

El estudio ALERT también se centró en la evolución de la *función renal*, sin encontrar diferencias entre aquellos que fueron tratados con fluvastatina frente a los que no. Teniendo en cuenta el tiempo de randomización se dividió en dos grupos, antes y después de los 4,5 años postrasplante, la conclusión fue que aquellos pacientes que comenzaban el tratamiento con fluvastatina antes de los 4,5 años postrasplante presentaban mayor beneficio en cuanto a eventos cardíacos, pero seguía sin existir diferencia en cuanto a función renal (Holdaas y cols 2005).

Estudios posteriores con menor número de pacientes y menor tiempo de seguimiento, 12 meses postrasplante, sí describen una preservación de función renal en el grupo tratado con estatinas (atorvastatina, simvastatina, pravastatina, fluvastatina) frente al placebo. Comparando con ALERT atribuyen la diferencia a una introducción más precoz del inhibidor de HMG-CoA reductasa. El estudio *histológico* renal mostraba un aumento de *volumen intersticial* del 10% en el grupo sin estatina, comparado con el grupo tratado en el que no existía dicho aumento (Masterson y cols 2005).

El efecto beneficioso de las estatinas sobre la *función endotelial* también se ha descrito en pacientes trasplantados, comprobándose en el caso de la atorvastatina. Se

estudió la perfusión vascular mediante estimulación en la microvasculatura de la piel del antebrazo con acetilcolina y flujometría laser con doppler, antes y después del tratamiento (Asberg y cols 2001). Este mismo estudio mostró de igual forma, el incremento de NO plasmático estimado gracias a las concentraciones de nitratos y nitritos, sugiriendo un mecanismo de mejora de función endotelial. Se realizó un estudio similar con fluvastatina sin presentar las diferencias expuestas con atorvastatina en cuanto a función endotelial, sí en el efecto hipolipemiante (Asberg y cols 2003).

Ya hemos descrito las acciones antioxidantes de las estatinas, en el caso del trasplante renal existen pocos estudios centrados en la repercusión del **efecto antioxidante** de este fármaco. Se describe que el tratamiento con pravastatina produce un aumento de resistencia de las partículas LDL a la oxidación en los primeros 6 meses de estudio, sin embargo este efecto se diluye a los 12 meses, podrían existir otros efectos prooxidantes que neutralizaran el efecto de la estatina (Cofan y cols 2002b). O también el tratamiento con fluvastatina disminuiría los niveles séricos de MDA (Konstadinidou y cols 2003)

Estudios experimentales muestran que una disfunción endotelial, suma de dislipemia y tratamiento con ciclosporina puede disminuir la biodisponibilidad de NO por una producción excesiva de anión superóxido. Las estatinas podrían ejercer su efecto protector neutralizando este ROS, aumentando así la actividad de la eNOS o disminuyendo la secreción de endotelina 1 (Li y cols 2004; Asberg y cols 2001).

Si se compara la **eficacia entre las distintas estatinas** en trasplante, entre los pocos estudios existentes, Martínez-Castelao y cols (2002) mostraron que pacientes tratados con atorvastatina mostraban mayor reducción de colesterol total y LDL que aquellos tratados con lovastatina, simvastatina, pravastatina o fluvastatina. En otro estudio (Romero y cols 2000), a 10 pacientes tratados con simvastatina o pravastatina sin respuesta satisfactoria, se les cambió a atorvastatina, tras 3 meses, colesterol total y LDL mejoraron significativamente.

En cuanto a **efectos adversos**, el estudio ALERT (Holdaas y cols 2003) muestra la ausencia de los mismos en el tratamiento con fluvastatina (comparada con placebo), debido a que su metabolización no se produce mediante el CYP3A4, como ocurre con la mayoría de estatinas u otros fármacos como los anticalcineurínicos, evitando así el aumento de niveles plasmáticos de la estatina y la potencialidad de efectos adversos. El perfil de atorvastatina también es considerado seguro (Martínez-Castelao y cols 2002).

9. N-ACETILCISTEÍNA

La N-acetilcisteína (NAC) es un thiol, fuente de grupos sulfhidrilo en las células. Habitualmente utilizado como agente mucolítico, es precursor de L-cisteína y de glutatión reducido.

9.1. NAC, estrés oxidativo y aterosclerosis

Su acción antioxidante en gran medida depende de la interacción con ROS (Aruoma y cols 1989).

Los mecanismos moleculares de las acciones de NAC que intervienen en el proceso aterosclerótico se pueden esquematizar de la forma siguiente (figura 13):

9.1.1. Acción sobre la vasoconstricción y la disfunción endotelial

- a) Suprime la concentración de ROS, incluido anión superóxido (291), esto da lugar a una disminución de peroxinitritos que deriva en disminución de la oxidación de BH₄, inducción de NOS, que se traduce en aumento de la disponibilidad de NO (Foresti y cols 1999). La NAC puede formar junto al NO S-nitrosothioles, compuestos estables de NO con potente acción vasodilatadora (Alencar y cols 2003).
- b) Disminuye la expresión de VCAM-1 y selectina E estimulada mediante citocinas (IL-1 y TNF- α), a través del NF κ B (Faruqi y cols 1997). Reduce por tanto la adhesión del leucocito al endotelio.
- c) Provoca un aumento de glutatión que produce inducción de iNOS y por tanto aumento de NO (Chen y cols 2000).

Estas acciones favorecen la vasorrelajación y disminuyen la disfunción endotelial, paso inicial de la aterosclerosis.

9.1.2. Efecto sobre la célula muscular lisa vascular (VSMC).

- a) Inhibe la proliferación de VSMCs estimulada por la LDLox y urotensina (vasoconstrictor potente) (Watanabe y cols 2001)
- b) Inhibe la disminución de la expresión de receptores AT1 mediada por ROS y AII, estabilizando el mRNA de los mismos (Ichiki y cols 2001).

Disminuye por tanto la proliferación de VSMCs.

En estudios experimentales en modelos de conejo con reestenosis de aorta dañada por balón, se observa una reducción del engrosamiento de la neoíntima en un 39%, tras el tratamiento con NAC (Ghigliotti y cols 2001).

9.1.3. Disminución de la apoptosis

Este estudio se extiende a distintos tipos celulares, algunos ejemplos serían: induce la mitogénesis y reduce la apoptosis de linfocitos B (Martin y cols 2000); bloquea la apoptosis mediada por lipopolisacáridos de las células endoteliales (Abello y cols 1994).

En cuanto a estudios clínicos al respecto encontramos un aumento de GSH y descenso de VCAM-1 en pacientes diabéticos no insulín-dependientes tratados con 1.2 mg diarios de NAC (De Mattia y cols 1998). En otro grupo de pacientes tratados con NAC se observó un aumento de vasodilatación coronaria y periférica secundaria a NO (Andrews y cols 2001).

9.2. NAC y función renal

El estudio sobre este aspecto se ha realizado sobre todo en hemodiálisis y en la profilaxis del deterioro de la función renal en la utilización de radiocontraste. En pacientes con enfermedad renal crónica o trasplante la bibliografía es más escasa.

9.2.1. NAC y radiocontraste.

Está descrito que el estrés oxidativo inducido por el contraste radiológico puede producir a nivel renal, daño en la célula epitelial tubular de forma directa e isquemia medular (Hizoh y Haller 2002), así como alteración en la hemodinámica debido a desequilibrio entre factores vasodilatadores y vasoconstrictores (Weisberg y cols 1992; Barret 1994).

Estudios clínicos muestran el comportamiento de marcadores de estrés oxidativo en orina tras la administración de contraste (Drager y cols 2004), presentando un aumento de F2-isoprostanos que queda bloqueado tras la administración de NAC. Por otra parte tras NAC, la glutatión transferasa disminuía en orina en relación a controles, lo que interpretan como preservación de la célula tubular tras el tratamiento.

En un estudio realizado en pacientes con insuficiencia renal crónica leve a los que se realizaba una coronariografía, mostraba aunque de forma no significativa, una mejora en la función renal y posterior recuperación de su basal en pacientes tratados con NAC, frente al grupo control en que el aclaramiento de creatinina descendía tras la prueba (Efrati y cols 2003). El efecto vasodilatador de NAC podría influir en este fenómeno.

9.2.2. NAC y hemodiálisis

Los estudios en hemodiálisis muestran que el tratamiento con NAC:

- reduce los niveles de MDA, elevados en estos pacientes (Trimarchi y cols 2003);
- disminuye la homocisteína plasmática durante la sesión de hemodiálisis potenciando el efecto de eliminación de la misma y la presión de pulso (Scholze y cols 2004) sin embargo el tratamiento prolongado oral no reduce los niveles de homocisteína (Friedman y cols 2003);
- disminuye los episodios cardiovasculares, definidos como infarto agudo de miocardio, necesidad de angioplastia o cirugía de bypass, accidente cerebrovascular, y arteriopatía periférica con necesidad de angioplastia o amputación, en pacientes tratados frente a placebo (Tepel y cols 2003).

9.2.3. NAC y enfermedad renal crónica.

El estudio de NAC en la progresión de la ERC no está desarrollado. En ratas Shimizu y cols (2005) muestran una disminución de peroxidación lipídica (determinación de MDA) en ratas nefrectomizadas de forma parcial (5/6) y tratadas con NAC y espironolactona. La administración de la combinación farmacológica además presentaba un efecto protector del filtrado glomerular.

9.2.3. NAC y trasplante renal.

Los estudios al respecto están orientados hacia el efecto sobre el daño isquemia-reperusión en modelos experimentales. La NAC asociada a erdoesteina (mucolítico derivado de la metionina) mejora el perfil oxidativo en el entorno isquemia reperusión, disminuyendo marcadores de peroxidación lipídica y proteica (sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico-TBARS y carbonyl estrés) y aumentado la actividad catalasa frente a controles, en modelo de ratas (Erdogan y cols 2006).

En terapia única con NAC en ratas con daño isquemia/reperusión, Nitescu y cols (2006) muestran un aumento de glutatión a nivel renal y mejora de función renal en los tres primeros días, así como una reducción de la inflamación intersticial.

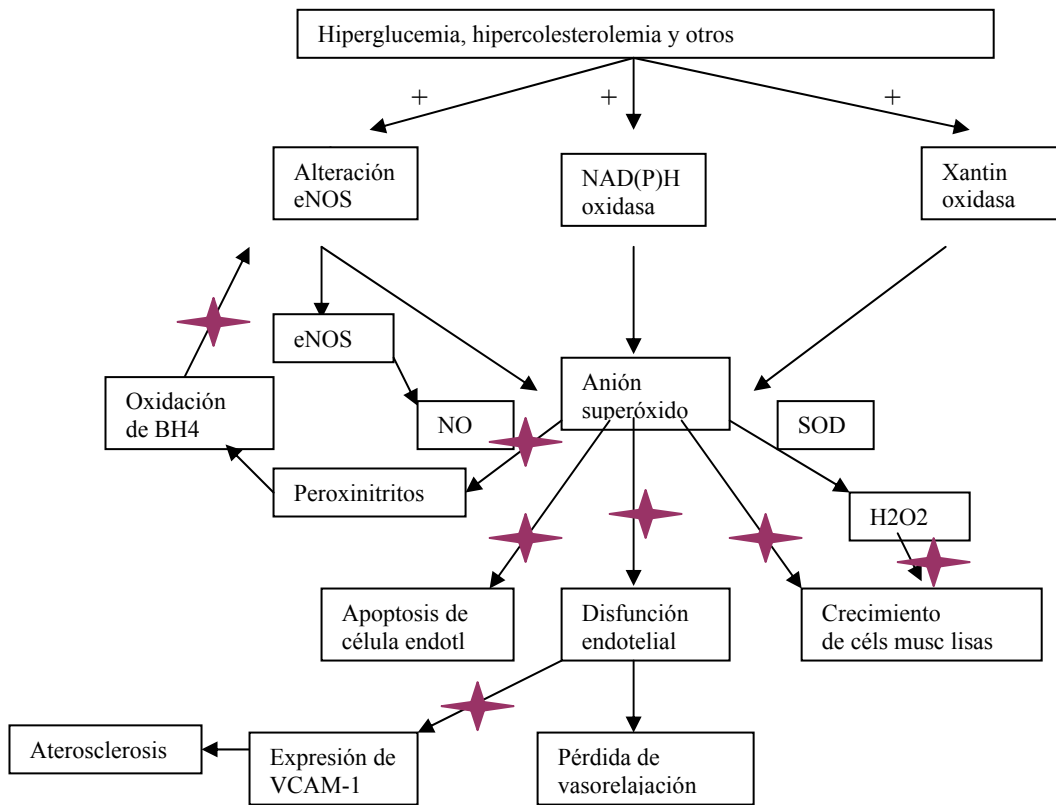



Figura 13:  lugares de acción de NAC. Zafarullah y cols 2003

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

1. HIPÓTESIS DE ESTUDIO

El estrés oxidativo es un desequilibrio en el balance entre los agentes oxidantes y mecanismos antioxidantes, que lo mantienen de forma fisiológica en tejidos normales. Este aumento de estrés oxidativo se produce, entre otras patologías, en la enfermedad renal crónica (Galle y cols 2001).

La oxidación parece jugar un papel importante en la patogénesis de la aterosclerosis, y por tanto en la morbimortalidad cardiovascular (Stocker y Keaney 2004). A su vez la morbimortalidad cardiovascular es la principal causa de muerte en la enfermedad renal crónica en estadio 5 en tratamiento sustitutivo y en concreto en el trasplante renal (Sarnak y cols 2003).

La NCI es la principal causa de pérdida de injerto renal tras el primer año de trasplante. La similitud entre las lesiones vasculares presentes en la misma y la aterosclerosis, hace presagiar que los factores predisponentes o de riesgo, sean comunes en ambas (Cristol y cols 1998). No está claro aún si el estrés oxidativo sería causa o consecuencia del deterioro de la función renal en NCI, si bien la actuación sobre él podría enlentecer la progresión.

El estudio de las características de donante y receptor, y las incidencias que acaecen en la evolución de un trasplante renal con función renal estable y su relación con el perfil oxidativo, nos pueden indicar qué factores pueden influir en el desequilibrio oxidativo del trasplante renal.

Existen métodos analíticos de medición de factores prooxidantes y mecanismos enzimáticos antioxidantes, de realización asequible, y determinación en plasma mediante extracción sanguínea, que pueden darnos orientación del perfil oxidativo del paciente.

La determinación del perfil oxidativo plasmático durante la administración de agentes antioxidantes farmacológicos en trasplante renal estable permitiría conocer el efecto modulador de los mismos sobre el estrés oxidativo y a largo plazo sobre la morbimortalidad cardiovascular y NCI.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivos Generales

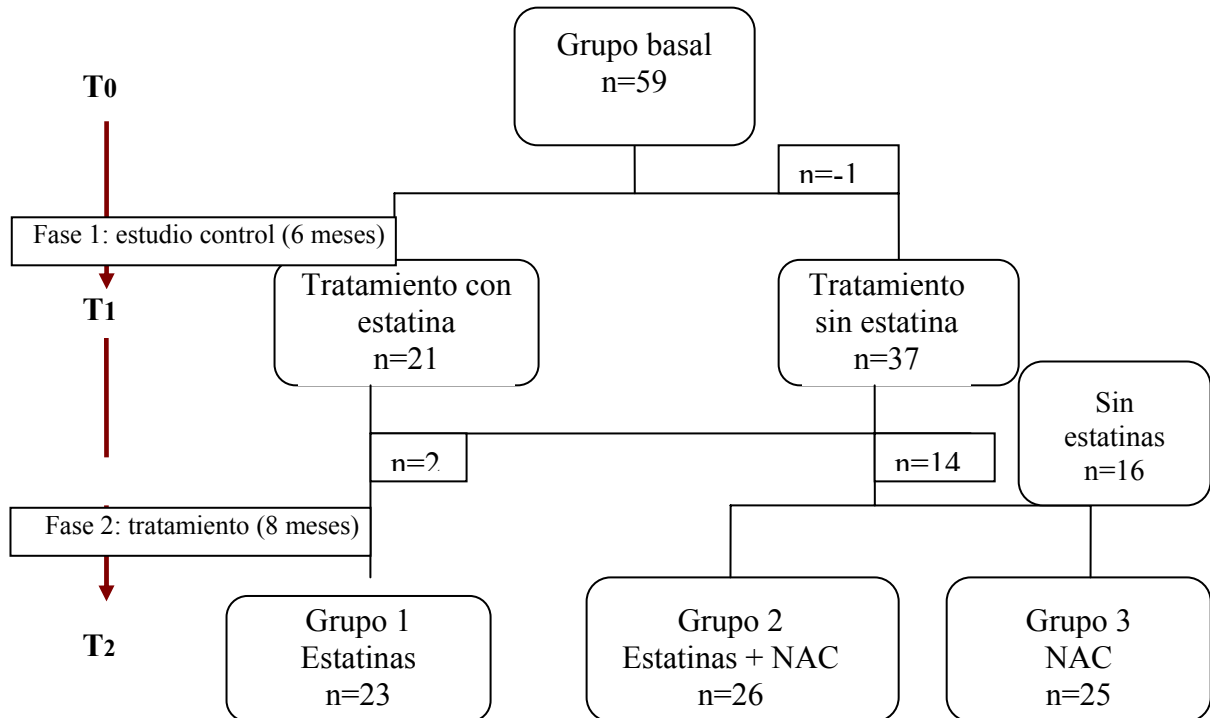
- 2.1.1. Analizar el comportamiento del perfil lipídico y oxidativo plasmático en pacientes con enfermedad renal crónica estadio 5 en tratamiento sustitutivo con trasplante renal en situación estable, y su relación con la patología cardiovascular y la función renal.
- 2.1.2. Estudiar el efecto modulador del tratamiento con estatinas y/o N-acetilcisteína sobre el patrón oxidativo plasmático en dichos pacientes y su relación con la función renal y morbilidad cardiovascular.

2.2. Objetivos Específicos

- 2.2.1. Comparar parámetros de peroxidación lipídica y antioxidantes enzimáticos en plasma de pacientes trasplantados renales con función renal estable, y controles sanos.
- 2.2.2. Determinar qué factores asociados al trasplante renal se relacionan con los parámetros de estrés oxidativo.
- 2.2.3. Relacionar los signos ecográficos de lesión aterosclerótica y arteriosclerótica de carótida con el perfil lipídico y oxidativo.
- 2.2.4. Analizar el comportamiento en el tiempo de los perfiles lipídico y oxidativo en pacientes sin tratamiento hipolipemiente ni antioxidante.
- 2.2.5. Analizar el efecto del tratamiento con estatinas y/o N-acetilcisteína sobre los parámetros de estrés oxidativo.

PACIENTES Y MÉTODOS

1. CASUÍSTICA



Se realizó un estudio prospectivo, aleatorizado.

2. FASES DEL ESTUDIO

2.1. Fase 1. Estudio control

El grupo inicial estaba formado por 59 pacientes trasplantados renales de la provincia de Granada revisados en la consulta externa de trasplante renal del Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Todos ellos firmaron el consentimiento informado para el estudio.

Como *criterios de inclusión* se definieron:

- Periodo de tiempo desde el trasplante mayor de un año
- Función renal estable, determinación de creatinina sérica menor de 2.5 mg/dL
- Hipercolesterolemia leve-moderada: colesterol total entre 200 y 250 mg/dl, y LDL > 130 mg/dl y no superior a 160 mg/dl.
- Terapia inmunosupresora: ciclosporina o tacrolimus, prednisona, con o sin micofenolato mofetil.

Los *criterios de exclusión* fueron:

- Hepatopatía activa (elevación de transaminasas tres veces su valor normal 0-32 U/L)
- Creatin fosfoquinasa (26-140 U/L) y lactodeshidrogenasa elevadas (240-480 U/L)
- Diabetes mellitus tras el primer año de trasplante
- Terapia corticoidea a altas dosis en los 6 meses previos al estudio.

En aquellos pacientes en tratamiento con estatinas se realizó un periodo de lavado de 15 días, previo a la extracción de la primera muestra (T0).

En esta primera fase de estudio de 6 meses de duración (Noviembre-Diciembre 2003 hasta Mayo-Junio 2004), los pacientes estudiados fueron su propio grupo control, obteniéndose de forma aleatoria dos grupos, un primer grupo (grupo 1) de 21 pacientes que comenzaron tratamiento con atorvastatina, de 10 a 40 mg al día, y un segundo grupo (grupo 0) en el que no se administró tratamiento hipolipemiante (n=38). De este segundo grupo se retiró una paciente por aparición de tumor cerebral.

2.1.1. Variables clínicas

Las variables clínicas recogidas fueron:

a) Datos del donante

- Edad: registrada en la historia clínica o en la ficha de donante
- Sexo: registrada en la historia clínica o en la ficha del donante
- Causa de exitus: Enfermedad cerebrovascular (ECV), traumatismo cráneoencefálico (TCE), otros.

b) Características del receptor

- Sexo
- Fecha de nacimiento
- Etiología de la enfermedad renal crónica. Las categorías recogidas fueron: etiología desconocida, glomerular, intersticial, vascular/HTA, enfermedad sistémica, enfermedad poliquística autosómica dominante, enfermedad hereditaria.
- Presencia de anticuerpos frente a VHC mediante técnica de ELISA, previa o durante periodo de trasplante.
- Hiperparatiroidismo: niveles de PTH intacta por encima de la normalidad (60-100 pg/ml) o mantenida en rango normal gracias a tratamiento con calcitriol,

calcio y quelantes de fósforo. Las determinaciones fueron realizadas en el laboratorio de Especialidades del Hospital Universitario Virgen de las Nieves en el seguimiento habitual del enfermo en consulta.

- HTA como antecedente diagnosticado.
- Hábito tabáquico: definiéndose tres categorías, fumador independientemente del número de cigarrillos, no fumador y exfumador sin tener en cuenta el tiempo de abandono del hábito tabáquico.
- Técnica de diálisis: hemodiálisis convencional o diálisis peritoneal
- Tiempo en diálisis: recogido en meses, independientemente de que hubiera cambiado de técnica en dicho periodo.
- Tiempo de isquemia fría: se define como isquemia fría el tiempo que transcurre (considerado en horas) desde que se inicia la perfusión fría con líquido de perfusión, hasta que se reinstaura el flujo renal una vez realizado el trasplante.
- Número de incompatibilidades HLA clase I (HLA tipo A, B, C) y II (HLA tipo DR y DQ)
- Infección por citomegalovirus (CMV): las técnicas diagnósticas utilizadas para este fin fueron realizadas en el servicio de Microbiología del H.U. Virgen de las Nieves y recogidas de la historia clínica:
 1. detección de viremia, presencia de CMV mediante técnica de centrifugación cultivo (shell vial) en la que se detectan de forma cualitativa antígenos producidos precozmente por el virus.
 2. detección cuantitativa directa de antígenos virales de CMV en leucocitos de sangre periférica (antigenemia) mediante tinción inmunológica que emplea anticuerpos monoclonales, considerando la presencia mayor de 10 núcleos como cifra de corte para comenzar tratamiento preventivo con ganciclovir o valganciclovir oral de forma más reciente. La técnica de antigenemia es la que permitió el seguimiento de la evolución de la infección.
- Enfermedad por CMV: antigenemia para CMV positiva asociada a clínica, donde la cuantificación de antígenos alcanza cifras más elevadas que la cifra de corte referida. En este caso el tratamiento utilizado fue Ganciclovir intravenoso.

- Presencia de función retardada del injerto (FRI): es una complicación frecuente en el postrasplante inmediato. La necrosis tubular aguda (NTA) es la causa más frecuente de función retardada del injerto requiriendo de diálisis en la primera semana de trasplante hasta el 50% de pacientes (Kahan y Ponticelli 2001c). Los factores de riesgo son múltiples: factores del donante, modalidad de diálisis, características del receptor y del proceso de trasplante. La confirmación diagnóstica de NTA es anatomopatológica y es muy poco frecuente la necesidad de realización de la misma antes de las dos primeras semanas postrasplante, generalmente para diagnóstico diferencial con otros procesos. Dado que el diagnóstico de certeza es poco frecuente, definimos para este estudio la función retardada del injerto como la necesidad de diálisis en la primera semana postrasplante.
- Anticuerpos mono o policlonales como tratamiento de inducción: incluyendo el uso de timoglobulina, linfoglobulina, daclizumab, basiliximab.
- Presencia de rechazo agudo: El rechazo agudo es más frecuente en los primeros meses postrasplante, no obstante puede ocurrir tras algún tiempo. El diagnóstico clínico se caracteriza por fiebre, palpación de injerto endurecido, oliguria y proteinuria, sin embargo con la introducción de los anticalcineurínicos estos síntomas se ven enmascarados, siendo actualmente el aumento rápido de creatinina el signo de sospecha, que obliga a hacer diagnóstico diferencial con otros procesos, y el estudio anatomopatológico el que en alto porcentaje de casos da el diagnóstico de mayor certeza.

En nuestro estudio consideramos que el paciente presentó rechazo agudo ante: sospecha clínica y tratamiento con corticoides a altas dosis y/o biopsia diagnóstica.

- Número de trasplantes previos del paciente sumados al actual.
- Estudio doppler de carótidas (descripción posterior en apartado 5).
- Presencia de calcificaciones vasculares: definida por la presencia de calcificaciones en estudio doppler de carótidas al inicio del estudio.

c) Variables recogidas en los dos momentos de estudio (T0 y T1)

- Peso
- Edad

- Presencia de microalbuminuria: presencia de albúmina en orina > de 30 mg/24h, estimada en orina de 24 horas.
 - Tratamiento con ciclosporina o tacrolimus: sin especificación de fórmula galénica.
 - Dosis de anticalcineurínico: miligramos totales de CsA o tacrolimus en 24 horas en el momento del estudio, ajustados en cada revisión según niveles del fármaco en suero.
 - Nivel sérico de anticalcineurínico: determinados en el servicio de Inmunología del Hospital Virgen de las Nieves, mediante técnica de ELISA, en ng/ml. Los rangos de normalidad en fase de mantenimiento fueron considerados para CsA 150-250 ng/ml, y para tacrolimus 8-12 ng/ml, recogiendo únicamente la concentración basal (C0).
 - Dosis de esteroides: dado que los estudiados fueron pacientes estables de más de 1 año de trasplante, la dosis de esteroides fue 5 mg salvo excepciones de mayor reducción de dosis o enfermedades sistémicas (mayor dosis).
 - Tratamiento con micofenolato mofetil y dosis: miligramos totales en 24 horas.
 - Tratamiento antihipertensivo: betabloqueantes, IECA, ARAII, alfabloqueantes, antagonistas del calcio.
 - Tratamiento con furosemida u otros diuréticos
 - Tratamiento hipouricemiante y fármaco: alopurinol, benzodiarona
 - Tratamiento con: ácido fólico, vitamina B12, vitamina C, Vitamina E.
 - Tratamiento antiagregante o anticoagulante: ácido acetilsalicílico, ticlopidina, trifusal, clopidogrel, acenocumarol, warfarina.
 - Terapia con hierro intravenoso u oral
 - Terapia con estimuladores de eritropoyesis: eritropoyetina o darbepoetina.
- d) Incidencia de los siguientes sucesos en el periodo estudiado*
- Cardiopatía isquémica: dolor torácico de características típicas con estudio cardiológico positivo y/o tratamiento
 - Enfermedad isquémica periférica: clínica de claudicación intermitente y/o estudio arteriográfico o amputación.
 - Enfermedad cerebrovascular: episodios de accidente cerebrovascular: clínica asociada o no a pruebas de imagen (TAC, RNM)

- Infección por CMV: antigenemia positiva con presencia de más de 10 núcleos.
- Enfermedad por CMV: antigenemia positiva asociada a clínica.
- Otras infecciones: infecciones bacterianas, víricas o fúngicas diagnosticadas mediante cultivo microbiológico.
- Localización de otros tipos de infecciones

2.1.2. Variables bioquímicas

Recogidas en el momento basal (T0) y tras 6 meses (T1), con los siguientes rangos de laboratorio:

- Fosfatasa alcalina (26 - 140 U/L)
- Transaminasa glutámico oxalacética GOT (0 - 32 U/L)
- Transaminasa glutámico pirúvica GPT (0 - 31 U/L)
- Gammaglutamil traspeptidasa GGT (5 - 36 U/L)
- Amilasa (28 - 100 U/L)
- Bilirrubina total (0 - 1.1 mg/dL)
- Calcio (8.6 - 10.2 mg/dL)
- Fósforo (3.48 - 5.8 mg/dL)
- Producto Ca x P
- Colesterol total (0 - 200 mg/dL)
- HDL (65 - 90 mg/dL)
- LDL (0 - 130 mg/dL)
- Apolipoproteína A1 (108 - 225 mg/dL)
- Apolipoproteína B (60 - 117 mg/dL)
- Triglicéridos (0 - 200 mg/dL)
- Creatin fosfoquinasa (26 - 140 U/L)
- Lactodeshidrogenasa (240 - 480 U/L)
- Amilasa (28 - 100 U/L)
- Lipasa (13 - 60 U/L)
- Hierro (5.4 - 28.6 μ mol/L)
- Glucosa (55 - 115 mg/dL)
- Urea (10 - 50 mg/dL)
- Creatinina (0.5 - 0.9 mg/dL)

- Aclaramiento calculado de Cockcroft-Gault (ml/min)
- Fórmula MDRD (modification of diet in renal disease study) abreviada (ml/min/1,73m²)
- Sodio (135 - 145 mmol/L)
- Potasio (3.5 - 5 mmol/L)
- Cloro (98 – 106 mmol/L)
- Ácido úrico (2.4 - 5.7 mg/dL)
- Proteínas totales (6.4 – 8.3 g/dL)

2.1.3. Parámetros de estrés oxidativo

- Actividad catalasa (KUx10⁻⁵/mg)
- Superoxidodismutasa (U/mg)
- Malondialdehido (μM/l)
- Glutation peroxidasa (mmolesx10³/mg)
- Glutation reductasa (mmolesx10³/mg)
- Proteínas totales (mg/ml *10⁻²)
- Nitratos y nitritos (μM)

2.2. Fase 2. Periodo de tratamiento (T2)

En esta fase los pacientes en tratamiento con estatinas (grupo 1) continuaron de forma ininterrumpida, mientras el otro grupo sin tratamiento, al que se añadieron 16 casos, se dividió de forma aleatoria en dos grupos de tratamiento: tratamiento con estatinas y NAC (grupo 2) y tratamiento con NAC (grupo 3). La dosis de NAC fue de 600 mg/12h y la de atorvastatina de 10 mg/24h. Dos de los casos añadidos en grupo 2 no toleraron tratamiento con NAC por intolerancia digestiva durante la primera semana de tratamiento, motivo por el que fueron incluidos en grupo 1.

Este periodo duró 8 meses (mayo-junio 2004 a enero-febrero de 2005), en el que se recogieron las mismas variables repetidas, clínicas, bioquímicas y de estrés oxidativo (T2) asociando la determinación de nitratos y nitritos, así como la incidencia de procesos descritos en 2.1.1.d.

De todos los pacientes (n=75) se hizo un **estudio transversal** antes de comenzar con ningún tratamiento (basal-T0) estudiando las características de donante, receptor y trasplante en posible relación con el perfil oxidativo y lipídico determinado.

3. RECOGIDA DE DATOS

Los datos del donante, las características del receptor, las recogidas en los tres momentos del estudio y los sucesos cardiovasculares fueron recogidos de la historia clínica del paciente durante todo el proceso de estudio.

La toma de muestra sanguínea se llevó a cabo tras 12 horas de ayuno, mediante venopunción periférica realizada por el personal de enfermería de la planta de hospitalización del Servicio de Nefrología del Hospital Universitario Virgen de las Nieves.

4. MÉTODOS ANALÍTICOS

Todas las determinaciones analíticas fueron procesadas y realizadas en la Unidad Experimental del Hospital Universitario Virgen de las Nieves.

El procesamiento de las muestras fue el siguiente: Los tubos de bioquímica y hemograma frescos fueron centrifugados, en frío, a 3000 y 1800 r.p.m. respectivamente. Del primero se obtuvo suero, y del segundo plasma y una concentración de células. El suero y plasma se alicuotó en criotubos muy bien etiquetados y se almacenaron a -80°C. De la concentración de células se obtuvo una dilución 1:100 que fue alicuotada en algunos tubos eppendorf etiquetados que se guardaron a -20°C hasta su utilización.

4.1. Variables bioquímicas

Determinadas en un analizador modelo Hitachi 912 (Roche)

Las fórmulas estandarizadas utilizadas para estimar la función renal fueron:

$$\text{Cockroft-Gault} = \frac{(140 - \text{edad}) \times \text{peso (kg)}}{\text{Creatinina (mg/dL)} \times 72} \times 0.85 \text{ en mujeres} \quad \text{expresada en ml/min}$$

$$\text{Fórmula MDRD abreviada} = 186 \times \text{Cr (mg/dL)}^{-1.154} \times \text{edad}^{-0.203} \times (0.742 \text{ si mujer y/o } 1.210 \text{ afroamericano}) \text{ expresada en ml/min/1.73m}^2$$

4.2. Determinaciones enzimáticas

4.2.1. Actividad Superóxido Dismutasa

Técnica:

La actividad SOD fue medida espectrofotométricamente por el método de McCord con modificaciones. Se prepara en primer lugar un cóctel de reacción conteniendo 23 ml de tampón fosfato, 2.5 ml de xantina y 350 μ l de citocromo C. A continuación se prepara la reacción control, en una cubeta se adicionan 3 ml de este cóctel, y la cantidad necesaria de xantina oxidasa (10-70 μ l) para producir una absorbancia/min de 0.025 medido a 550 nm. Posteriormente se hace la reacción problema adicionando a otra cubeta 3 ml de cóctel, 30 μ l de muestra y la misma cantidad de xantina oxidasa adicionada en la reacción control y se calcula el porcentaje de inhibición. Una unidad de actividad es definida como la cantidad de superóxido dismutasa requerida para inhibir la reducción de Citocromo C en un 50%. La actividad enzimática se expresó en U/mg. Paralelamente se pueden hacer los mismos pasos anteriores añadiendo 30 μ l de CNK, el cual es un inhibidor selectivo de la Cu-Zn-SOD, para calcular la actividad Mn-SOD (McCord 1985).

4.2.2. Actividad Catalasa

Reactivos:

- Tampón fosfato potásico 50 mM, pH 7.6
- Peróxido de hidrógeno (30%)

Técnica:

La actividad catalasa fue determinada por el procedimiento de Aebi con algunas modificaciones. En una cubeta de 1.5 ml se adicionan 990 μ l de tampón fosfato, y 2.5 μ l de muestra. Se suspende bien y a continuación se añaden 2.8 μ l de H₂O₂, y se hace inmediatamente la lectura. La descomposición del H₂O₂ puede medirse directamente por el descenso de absorbancia a 240 nm durante 1 minuto cada 10 segundos. La actividad enzimática se expresó en KUx10⁻⁵/mg (coeficiente de extinción molar, $\epsilon = 0.041 \mu\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) (Aebi 1984).

4.2.3. Actividad Glutation Reductasa

Reactivos:

- Tampón fosfato potásico 50 mM (pH 7.6).
- Solución de GSSG 20 mM en tampón fosfato potásico.

- Solución de β NADPH 2 mM en agua destilada.

Técnica:

La actividad GR fue determinada por el procedimiento de Carlberg y Mannervik con pequeñas modificaciones. En una cubeta de cuarzo se añade 900 μ l de tampón fosfato, 50 μ l de GSSG, 50 μ l de β NADPH y 50 μ l de muestra. Se monitorizó el descenso de absorbancia a 340 nm durante 2 minutos cada 5 segundos. La actividad enzimática se expresó como $\text{mmoles} \times 10^3 / \text{mg}$ (coeficiente de extinción molar, $\epsilon = 6.22 \mu\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) (Carlberg y Mannervik 1985).

4.2.4. Actividad Glutathion Peroxidasa

Reactivos:

- Se prepara un cóctel de 100 ml de tampón fosfato potásico 50 mM (pH 7.6) con los siguientes reactivos:
 - EDTA- Na_2 (solución final 2 mM).
 - GSH (solución final 1 mM).
 - NaN_3 (solución final 1 mM).
 - β NADPH (solución final 0.2 mM).
 - 100 unidades de GR.
- Solución de H_2O_2 (solución final 1.5 mM).

Técnica:

La actividad fue medida espectrofotométricamente utilizando el método con algunas modificaciones de Clair y Chow. A 935 μ l de cóctel se añade 40 μ l de muestra y se deja incubando 3 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente se adiciona a la mezcla 25 μ l H_2O_2 , para dar comienzo la reacción. Se monitorizó el descenso de absorbancia a 340 nm durante 2 minutos cada 5 segundos. La actividad enzimática se expresó como $\text{mmoles} \times 10^3 / \text{mg}$ (coeficiente de extinción molar, $\epsilon = 6.22 \mu\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) (Clair y Chow 1996).

4.3. Determinación de malondialdehído

Reactivos:

- Solución de ácido tricloroacético al 15% (p/v), ácido tiobarbitúrico al 0.375% (p/v) y HCl 0.25 N.

Técnica:

Determinado por el método de Ohkawa y cols. con algunas modificaciones. En tubos de vidrio con tapón de rosca se añadió 2 ml de la solución y 1 ml de muestra. Cada tubo fue agitado y cerrado con su tapón y llevado a un termoblock a 90°C durante 15 minutos. Transcurrido este tiempo se llevaron a un baño de agua-hielo durante 5 minutos. Posteriormente se centrifugaron a 5.000 r.p.m durante 10 minutos. Finalmente se midió la absorbancia espectrofotométricamente a 535 nm. Los resultados se expresaron como $\mu\text{M/l}$ (coeficiente de extinción molar, $\varepsilon = 1.563 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) (Ohkawa y cols 1979).

4.4. Determinación de proteínas

Se determinó mediante espectrofotometría utilizando el método descrito por Lowry.

4.5. Determinación de nitratos y nitritos

La determinación de nitritos se realizó utilizando el método de Granger y cols (1996). Este método requiere que los nitratos presentes en la muestra sean previamente reducidos a nitritos, utilizando la enzima nitrato reductasa, para su posterior determinación espectrofotométrica mediante la reacción de Griess.

Reactivos:

- Solución enzimática de nitrato reductasa. La nitrato reductasa se obtiene a partir de un liofilizado procedente de *Aspergillus*, que se disuelve en agua destilada hasta obtener una concentración de 10 U/ml. De esta solución se obtienen alícuotas que se congelan a -80°C hasta su utilización.
- HEPES: ácido (N-[2-hidroxietil] piperazida-N'-[2-etanol sulfónico] 0,5 M pH 7,4.
- Solución de flavín adenín dinucleótico (FAD) 0,05 mM.
- Solución de βNADPH 1 mM.
- Solución enzimática de lactato deshidrogenasa (LDH) de músculo bovino 150 U/ml.
- Solución de ácido pirúvico 0,1 M.
- Reactivo de Griess: compuesto por partes iguales de una solución de N-1-naftil-etilen-diamina 0,1% (p/v) en agua destilada y una solución de sulfonilamida 1% (p/v) en ácido ortofosfórico 5% (v/v).
- Solución patrón de NaNO_2 100 μM en agua destilada.

Técnica:

Para realizar el ensayo se adiciona una alícuota de 10 μl de muestra a cada pocillo de una placa de ELISA. A continuación se añaden 5 μl de nitrato reductasa, 5 μl de

HEPES, 5 µl de FAD, 5 µl de NADPH y 20 µl de agua destilada. Se incubaba la mezcla de reacción a 37°C durante 30 minutos. Posteriormente se adicionan 5 µl de LDH y 5 µl de ácido pirúvico, con el objeto de regenerar el NADPH que ha consumido la nitrato reductasa, incubando nuevamente, durante 10 minutos, a 37°C. Finalmente se añaden 100 µl de reactivo de Griess y se incubaba 10 minutos a temperatura ambiente, realizando la determinación espectrofotométrica a 543 nm. La concentración de nitratos y nitritos (NOx) en plasma se obtiene por interpolación de los valores en la recta patrón. Los resultados se expresan como concentración (µM) de NOx en plasma.

5. ESTUDIO ECOGRÁFICO DE CARÓTIDAS

La exploración se realizó con un ecógrafo SIEMENS SONOLINE ANTARES equipado con sonda lineal de frecuencia extendida (VF 10-5) con 4,4 MHz de frecuencia en armónico. Esta fue practicada a todos los pacientes en el momento inicial del estudio por un único radiólogo experto del Servicio de Radiología del Hospital Universitario Virgen de las Nieves. El paciente se colocaba en posición de decúbito supino con la cabeza hiperextendida y girada hacia el lado contrario al explorado. El examen incluía el estudio de arteria carótida común, bifurcación carotídea y carótidas externa e interna en planos axial y sagital, y se completaba con un estudio doppler. Se estudiaron los siguientes parámetros:

- a) Espesor del complejo íntima-media (intima-media thickness- IMT); definido como la distancia entre la primera línea ecogénica que separa la pared arterial y la luz (interfase íntima-luz), y la segunda línea ecogénica, que limita la media y la adventicia (interfase media-adventicia). Se realizaron 3 mediciones de este espesor en su parte más gruesa, bien en la pared anterior o en la posterior, utilizando como valor la media de ellas. Se consideró IMT aumentado cuando éste fue mayor o igual a 1 mm.

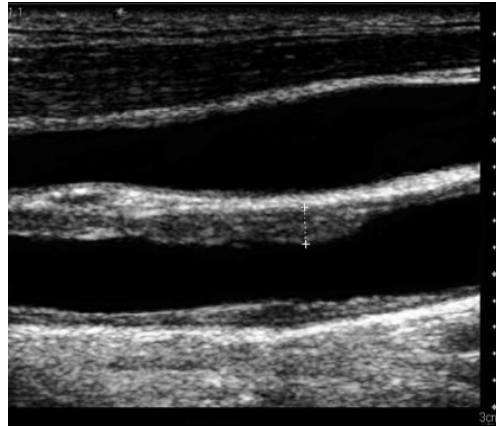


Figura 1. Determinación de IMT

- b) Presencia de placas de ateroma, definidas como engrosamiento focal de la íntima, referenciándose su localización, características de ecogenicidad interna y de su superficie. Por sus características de ecogenicidad las placas se dividieron en homogéneas y heterogéneas. Las placas homogéneas pueden ser hipocogénicas o hiperecogénicas, según su contenido fibroso o cálcico respectivamente, este último con sombra acústica posterior. Las placas heterogéneas presentan en su interior contenido lipídico o hemorragia intraplaca (Tahmasebpour y cols 2005).

Figura 2. Placa de ecogenicidad baja homogénea

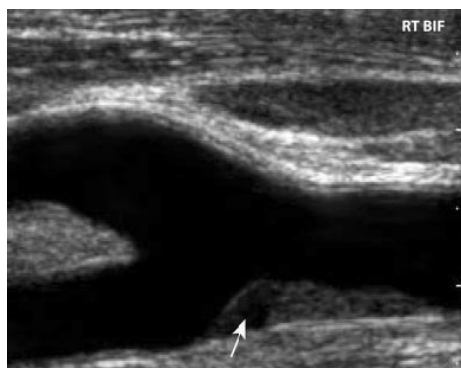
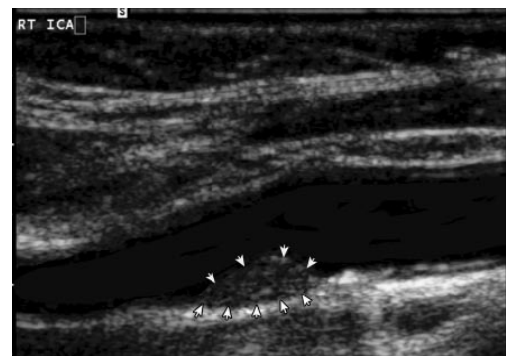
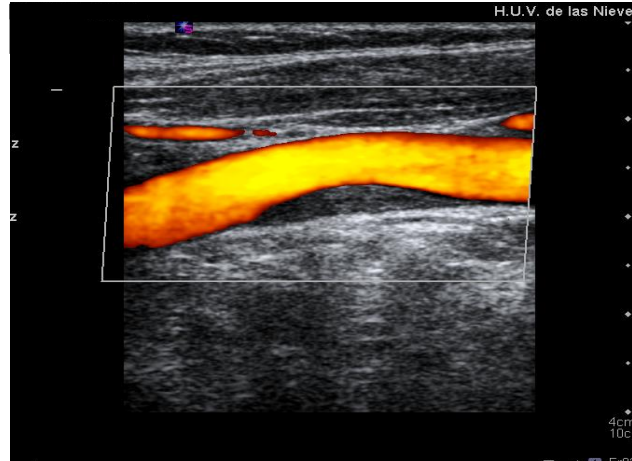


Figura 3. Hemorragia intraplaca

- c) Determinación del grado de estenosis de arteria carótida: estudiado mediante ecografía doppler y cuantificado según la conferencia de consenso de Radiólogos Ecografistas (Grant y cols 2003).

Figura 4. Estudio doppler.
Estenosis carotídea <50%



6. MÉTODOS ESTADÍSTICOS

Se realizó un análisis descriptivo de las diferentes variables recogidas en el estudio para toda la población y por grupos de tratamiento. Este análisis fue repetido para aquellas variables que fueron recogidas en varios períodos.

El análisis incluyó la distribución de frecuencias y las medidas usuales de posición y dispersión para datos continuos. Asimismo, en el caso de variables nominales se realizaron tablas de frecuencias absolutas y relativas.

Para determinar la relación existente entre algunas de las variables numéricas recogidas se utilizaron coeficientes de correlación. Para los casos de variables nominales en que se estudiaron diferencias por grupos o asociación entre factores, se utilizaron tablas de contingencia. La significación se determinó mediante la prueba chi-cuadrado con o sin corrección de Yates o la prueba exacta de Fisher, según las condiciones de aplicabilidad.

En el caso de observaciones repetidas para variables categóricas se utilizaron el test de McNemar de significación de cambios para tablas 2×2 y los tests de simetría y homogeneidad marginal para la extensión de aquél a tablas $r \times r$.

El caso de medidas repetidas para datos continuos fue tratado según diversos métodos atendiendo a distintos criterios. Si se trataba sólo de analizar las diferencias en el tiempo se utilizaron procedimientos de comparación de medidas repetidas. En los casos en que además del factor tiempo, factor intrasujetos, se ha tenido en cuenta la presencia de un factor de clasificación, por ejemplo, por grupos de tratamiento, factor

intersujetos, se utilizó un procedimiento de análisis de la varianza con medidas repetidas. Además, para algunas variables ha sido necesario incluir en el modelo otros factores continuos en calidad de covariables.

En el estudio de factores de riesgo sobre lesiones de carótida, se realizó un análisis univariante previo de asociación entre éstos y la presencia o no de tales lesiones. De este análisis resultaron los factores continuos (mediante Kruskal Wallis) y discretos (mediante chi-cuadrado o equivalente) que se utilizaron en el análisis multivariante posterior. La bondad de ajuste de los mismos se llevó a cabo mediante el test de Hosmer-Lemeshow.

Para el cálculo se utilizó el paquete estadístico “Statistical Package for the Social Sciences” (o “Statistical Product for Service Solutions”), SPSS versión 12.0.

7. MÉTODO BIBLIOGRÁFICO

Los datos bibliográficos se obtuvieron a través de búsqueda en bases de datos biomédicas de Internet.

El método de Harvard ha sido utilizado para la citación en el texto y bibliografía, haciendo referencia al autor y año, en autor único; autores y año, en dos autores; y autor y cols en caso de 3 o más autores. En caso de existir coincidencia en el mismo autor y año, se acompaña el año de una letra minúscula consecutiva según orden de aparición (por ejemplo Cofan 2002a).

RESULTADOS

1. ESTUDIO PRELIMINAR

Se realizó un estudio preliminar con un grupo de pacientes trasplantados renales (n=67) con los mismos criterios de inclusión y exclusión del actual y un grupo control de 14 individuos sanos. Se recogieron las mismas variables clínicas y bioquímicas referidas.

Los pacientes trasplantados mostraron diferencias significativas con respecto a los controles en los siguientes parámetros (Tabla estudio preliminar):

1.1 Perfil oxidativo

Los pacientes trasplantados presentaron cifras mayores de MDA (p=0.012) y menor GPx en plasma (no significativo) que los individuos sanos.

1.2 Perfil lipídico

Dentro de los parámetros lipídicos, la apolipoproteína B (p=0.014), la fracción LDL (p=0.002) y la trigliceridemia (p<<0.01) fueron más elevados en los pacientes trasplantados que en el grupo control.

1.3 Función renal

La función renal medida por creatinina sérica fue mayor en los pacientes trasplantados que en los controles sanos (p=0.001).

2. ESTUDIO BASAL

Esta fase del análisis se encarga de estudiar en el grupo total de 75 enfermos sin tratamiento, tras periodo de lavado en aquellos que estaban en tratamiento previo con estatinas, los siguientes aspectos:

- Características descriptivas de donante y receptor
- Perfil oxidativo y su relación con las variables estudiadas
- Perfil lipídico y su relación con las variables estudiadas
- Relación entre perfil oxidativo y perfil lipídico.
- Estudio carotídeo

De los 75 pacientes, una paciente abandonó el estudio en la segunda fase por aparición de tumor cerebral.

2.1. Características descriptivas de donante y receptor

2.1.a. Donante

La *edad* media de los donantes del estudio fue 41.94 ± 19.830 años, con un mínimo de 4 y máximo de 78 años (Tabla 1). Se encontró correlación significativa y

positiva entre la edad del donante y la edad del donante ($r=0.476$, $p << 0.01$), indicando una buena coordinación entre la edad del donante y del receptor (Tabla 19).

La función renal representada por la creatinina sérica también está asociada a la edad del donante, siendo más elevada a mayor edad del mismo, $r = 0.475$, con una significación $p << 0.01$ (tabla 18).

El 58.7% de los donantes fueron varones y el 33.3% mujeres, en un 8% de los casos no se recogía el sexo del donante.

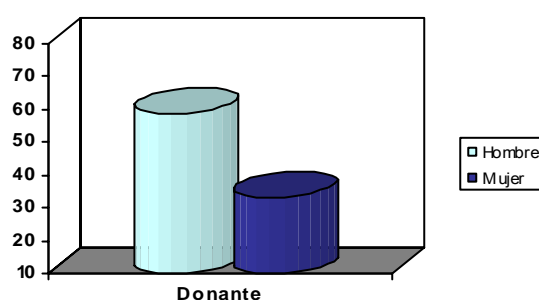


Figura 1. Distribución según sexo del donante.

La *causa de exitus* del donante fue en un 93.4% etiología neurológica, 46.7% accidente cerebrovascular (ACV) y traumatismo craneoencefálico (TCE) respectivamente, otras etiologías 5.3% y datos perdidos 1.3%.

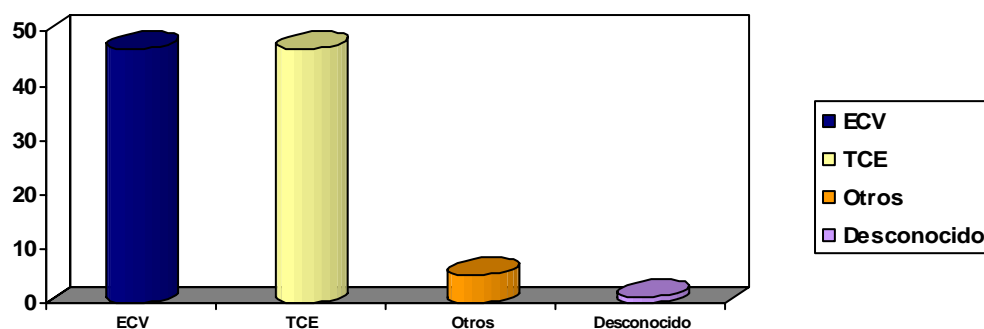


Figura 2. Causa de exitus de donante.

2.1.b. Datos de trasplante

El *tiempo de isquemia fría* fue de 16.62 ± 4.877 horas (Tabla 1).

2.1.c. Receptor

La *edad* del receptor fue 46.73 ± 13.787 años, comprendida entre 20 y 73 años (Tabla 2).

En cuanto al *sexo*, 54.7% eran mujeres y 45.3 % varones.

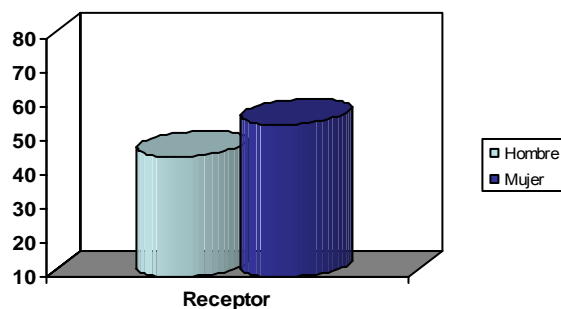


Figura 3. Sexo del receptor.

La *etiología* de enfermedad renal crónica más frecuente de nuestros pacientes fue la glomerular (22.7%), seguida de las de causa intersticial (18.7%), enfermedad poliquística autosómica dominante (EPQAD 17.3%), desconocida (13.3%), HTA (10.7%), enfermedad sistémica (9.3%) y por último la menos frecuente, etiología hereditaria (8%).

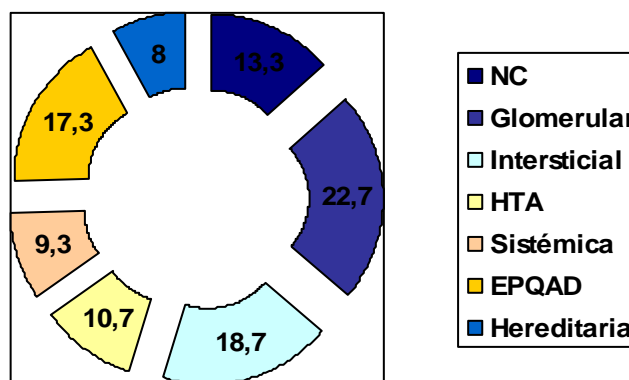


Figura 4. Etiología de enfermedad renal crónica del receptor.

La frecuencias más altas de *número de incompatibilidades HLA* fue de 38% para 4 incompatibilidades y 23.9% para 3 incompatibilidades (Tabla 3).

El *tipo de diálisis* más prevalente fue la hemodiálisis (HD), con un 89.3% frente a 10.7 % de diálisis peritoneal (DP). El *tiempo de diálisis* fue recogido en meses, estando

comprendido entre un mínimo de 2 y un máximo de 228 meses, con una media de 37.62 ± 49.862 meses (Tabla 2).

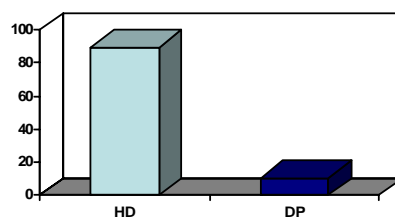


Figura 5. Distribución de modalidad de diálisis.

El tiempo de evolución de trasplante fue de 5.036 ± 4.292 años, con un intervalo entre 1 y 18 años (Tabla 2).

El 29.7 % de pacientes presentó *función retardada del injerto*, frente al 70.3% que no la padeció.

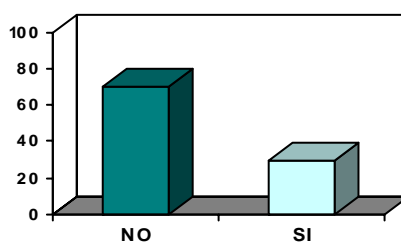


Figura 6. Prevalencia de función retardada del injerto.

El *rechazo agudo*, definido por biopsia o por tratamiento corticoideo ante sospecha clínica estuvo presente en el 16% de los enfermos estudiados.

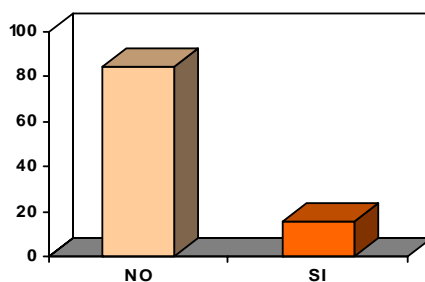


Figura 7. Prevalencia de rechazo agudo.

En cuanto a *tratamiento anticalcineurínico* en el momento del estudio, el 54.7% de los pacientes estaba en tratamiento con tacrolimus, y el 45.3% tomaba ciclosporina.

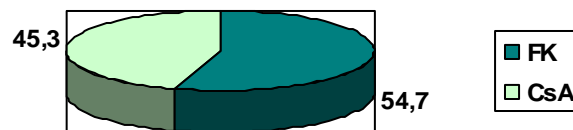


Figura 8. Tratamiento anticalcineurínico.

Eran fumadores el 24% de los pacientes, no fumadores el 49.3%, y habían abandonado el *hábito tabáquico* el 26.7%.

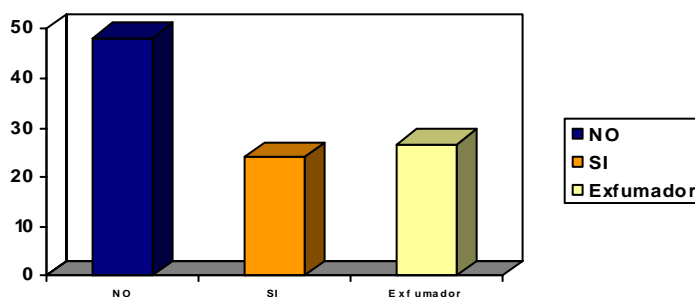


Figura 9. Distribución según hábito tabáquico.

2.2 Perfil oxidativo

Analizamos el perfil oxidativo de los pacientes según grupos definidos por las distintas variables recogidas, y no se encontraron diferencias significativas según *sexo*, *causa de exitus*, *causa de enfermedad renal crónica*, *tipo de diálisis*, *número de incompatibilidades*, *rechazo agudo*, *hiperglucemia en el primer año*, *enfermedad cardiovascular*, *tratamiento con vitamina B12*, *tratamiento con ácido fólico*, *administración de hierro oral*, *tratamiento con estimuladores de eritropoyesis*, *hiperparatiroidismo* y *proteinuria*. En este último caso la creatinina sérica fue mayor en los que si presentaban proteinuria.

Sí se encontraron diferencias y correlaciones significativas en los siguientes casos:

a) Edad del donante

Encontramos una correlación significativa ($p = 0.019$) entre la edad del donante y GPx, con un coeficiente $r = -0.277$, indicando que a mayor edad del donante se encuentran cifras menores de GPx plasmática (tabla 18).

Comportamiento inverso encontramos en la GR, donde mayor edad del donante se asocia a mayor concentración plasmática, $r=0.230$, $p = 0.044$ (tabla 19).

b) Hábito tabáquico

La actividad catalasa presentó niveles séricos inferiores (6.883 ± 1.210 KU/mg prot 10^2) en el grupo de fumadores frente a no fumadores (7.669 ± 1.308 KU/mg prot 10^2) y los que abandonaron el hábito (7.734 ± 1.074 KU/mg prot 10^2), con una significación $p = 0.057$. (Tabla 4)

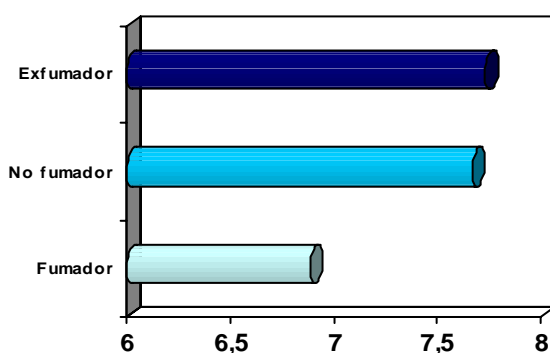


Figura 10. Concentración de catalasa según hábito tabáquico.

c) Infección por CMV

Los pacientes que no habían padecido infección por CMV, en el periodo postrasplante, presentaron mayor concentración plasmática de GPx (140.984 ± 26.605 $\mu\text{mol/l}$) que los que sí habían presentado la infección (122.615 ± 14.940 $\mu\text{mol/l}$), con una diferencia significativa $p = 0.047$ (Tabla 5)

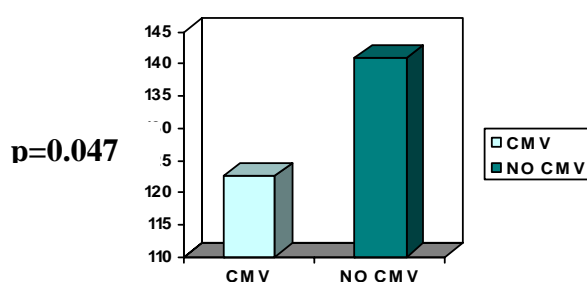


Figura 11. Diferencia de GPx según grupos definidos por haber padecido o no infección por CMV.

Comportamiento inverso presentó la enzima GR, que estaba significativamente más elevada, ($p = 0.002$) en aquellos pacientes que sí habían padecido la infección por

CMV postrasplante (media 5.334 ± 1.142 $\text{mmoles} \times 10^3/\text{mg}$) frente a los que no (media 3.934 ± 1.238 $\text{mmoles} \times 10^3/\text{mg}$) (Tabla 6).

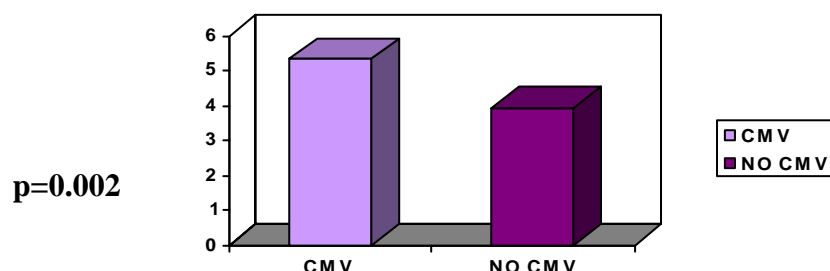


Figura 12. Diferencia de GR según grupos definidos por haber padecido o no infección por CMV.

Encontramos una correlación significativa e inversa entre GPx y GR , indicando que mayor concentración de una de ellas, se asocia a una disminución en plasma de la otra enzima, $r = -0.294$, $p = 0.01$ (tabla 18).

Para controlar el efecto que sobre los resultados pudiera tener el estado de la función renal se realizó un estudio de creatinina sérica en ambos grupos según haber padecido (media 1.491 ± 0.323 mg/dL) o no la infección, (1.477 ± 0.419 mg/dL) no hallando diferencia en la función renal medida por creatinina, ($p=0.924$):

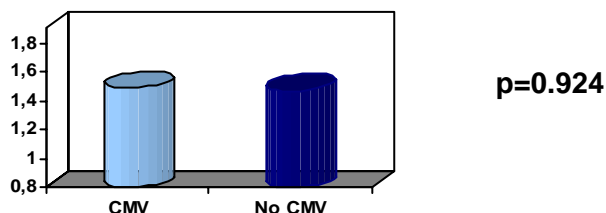


Figura 13. Creatinina sérica (mg/dL) según haber padecido o no infección por CMV.

Tampoco existía diferencia en el estudio de las medidas de estimación de función renal, Cockcroft – Gault y MDRD, $p=0.152$ y $p=0.333$ respectivamente.

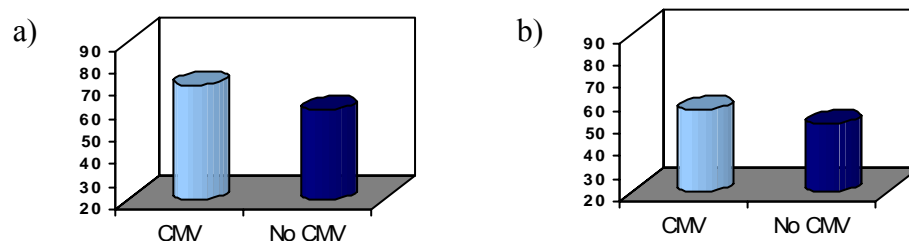


Figura 14. Medidas de estimación de función renal, Cockcroft (a) y MDRD (ml/min)(b) conforme a haber padecido infección por CMV.

Analizando la correlación entre creatinina sérica, como parámetro bioquímico y parámetros de estrés oxidativo, únicamente encontramos significación ($p = 0.005$) en la relación con GPx con un coeficiente de correlación negativo $r = -0.319$ (Tabla 18).

No hallamos correlación con las medidas de estimación de función renal, Cockcroft y MDRD.

d) Función retardada del injerto

Los pacientes que habían necesitado hemodiálisis en la primera semana de trasplante, presentaban mayor concentración plasmática de GR (4.619 ± 1.370 $\text{mmoles} \times 10^3/\text{mg}$) que aquéllos que presentaron diuresis efectiva postrasplante (3.891 ± 1.238 $\text{mmoles} \times 10^3/\text{mg}$), con una significación $p = 0.028$ (Tabla 7).

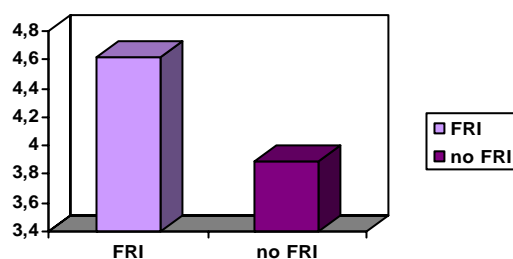


Figura 15. GR ($\text{mmoles} \times 10^3/\text{mg}$) en pacientes con o sin ella.

Tampoco en este caso encontramos diferencias de creatinina sérica ni en medidas de estimación de función renal entre ambos grupos, con valores: $p = 0.129$ para creatinina (media 1.427 ± 0.424 mg/dL en los que no la presentaron y 1.585 ± 0.354 mg/dL en los que sí), $p = 0.239$ para Cockcroft-Gault (62.745 ± 23.468 ml/min en los que no y 57.237 ± 15.461 en los que sí) y $p = 0.317$ para MDRD (51.937 ± 15.461 $\text{ml/min}/1.73\text{m}^2$ en los que no la padecieron y 47.481 ± 13.960 $\text{ml/min}/1.73\text{m}^2$ en los que sí).

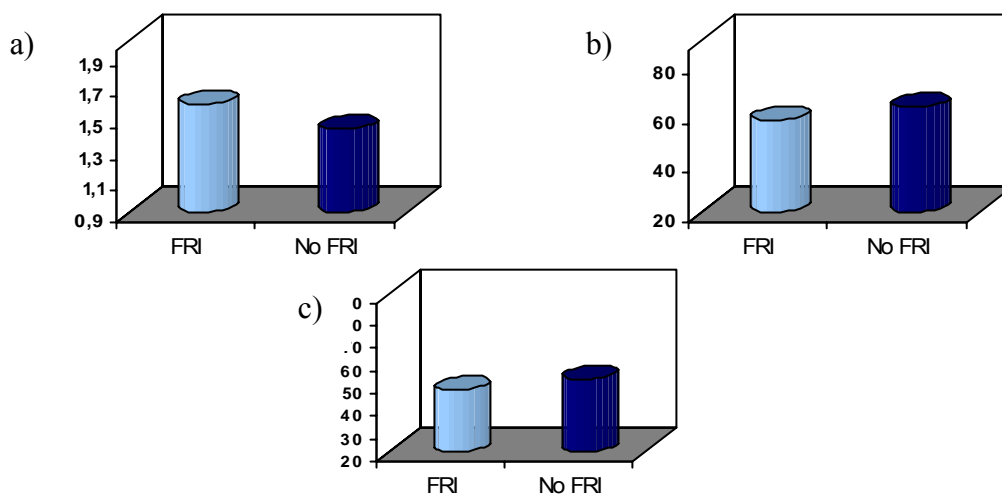


Figura 16. Función renal medida por a) creatinina (mg/dL), b) Cockcroft (ml/min), c) MDRD (ml/min) según FRI.

Si bien para el resto de parámetros de estrés oxidativo determinados no encontramos diferencias significativas, dado que hemos descrito la relación entre GPx y GR anteriormente, destacar únicamente que se presentó una concentración media mayor de GPx en plasma en aquellos pacientes que no habían padecido función retardada del injerto, aunque este hallazgo no fue significativo (Tabla 8).

e) Microalbuminuria

Los pacientes que presentaban microalbuminuria mostraron concentraciones plasmáticas de GPx ($p=0.010$), GPx/prot ($p=0.002$) mayores que los que no la presentaban (Tabla 9).

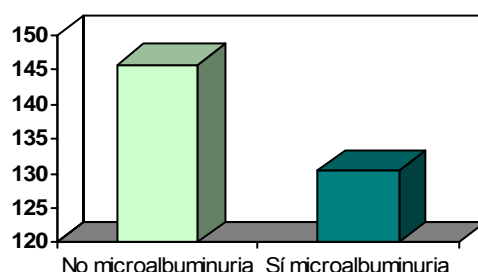


Figura 17. Concentración plasmática de GPx según microalbuminuria.

En este caso sí encontramos diferencias en la función renal en el grupo que presentaba microalbuminuria frente al que no, en la creatinina sérica (media de creatinina 1.648 ± 0.332 mg/dL frente a 1.339 ± 0.414 mg/dL, $p= 0.001$) y en Cockcroft (media 66.63 ± 22.677 ml/min frente a 54.138 ± 17.595 ml/min, $p=0.011$), mientras que no existían diferencias en la estimación con MDRD (Tabla 10).

El estudio de las proteínas ($\text{mg/ml} \times 10^{-2}$) en ambos grupos no presentó diferencias significativas ($p=0.230$).

En el estudio de la microalbuminuria consideramos la ***influencia del tratamiento con ARA II***:

- Encontramos relación entre presentar o no microalbuminuria y estar en tratamiento con ARA II (χ^2 , $p= 0.001$).
- En los pacientes que sí presentan microalbuminuria no existían diferencias significativas en perfil oxidativo según estuviesen tratados o no con ARA II (Tabla 11).
- En pacientes con microalbuminuria no existía diferencia de creatinina sérica según estén tratados o no con ARAII ($p=0.142$).

f) Necesidad de hipotensores

En este análisis hubo que considerar la necesidad o no de hipotensores, puesto que al intentar estudiar según número de hipotensores, los grupos de pacientes con tres y cuatro familias de hipotensores presentaban un número de individuos muy bajo, no siendo valorable el análisis estadístico. Se codificó pues según requerir o no tratamiento antihipertensivo.

Encontramos diferencias significativas en la actividad superóxido dismutasa, presentando mayor concentración plasmática aquellos individuos que no requerían tratamiento antihipertensivo (media 188.451 ± 49.536 U/mg prot) frente a los que sí lo recibían (media 164.377 ± 38.865 U/mg prot), $p = 0.042$ (tabla 12).

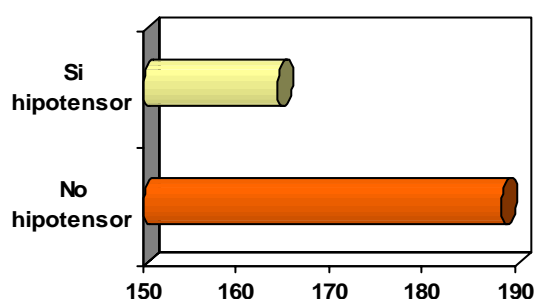


Figura 18. Concentración plasmática de SOD (U/mg prot) en pacientes con y sin tratamiento hipotensor.

Cuando analizamos individualmente el efecto de las distintas familias de antihipertensivos encontramos los siguientes resultados:

- ARA II:

Descartando los individuos con microalbuminuria, para eliminar el efecto del uso con este objetivo, encontramos que los pacientes tratados con ARA II presentaban una mayor concentración de SOD que los no tratados, con una significación $p=0.05$ (Tabla 13).

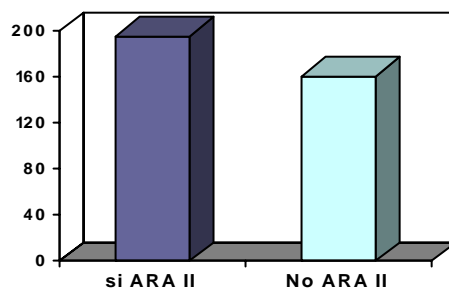


Figura 19. Concentración plasmática de SOD en pacientes tratados con y sin ARAII.

Los pacientes tratados con ARA II presentaban creatinina sérica mayor que los no tratados, $p=0.0001$, sin existir diferencias en las medidas de estimación de función renal.

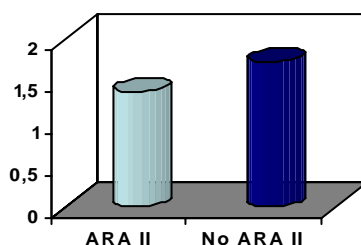


Figura 20. Creatinina sérica (mg/dL) en pacientes con y sin ARA II.

El resto de parámetros oxidativos no presentó diferencias.

- Antagonistas del Calcio

No existía relación entre el tratamiento con antagonistas del calcio y microalbuminuria. No existían diferencias en parámetros oxidativos entre tener o no este tratamiento, ni en creatinina sérica.

- Betabloqueantes

No se encontraron diferencias en función renal ni perfil oxidativo

- Alfabloqueantes

Tampoco se encontraron diferencias en cuanto al tratamiento con este grupo de fármacos.

g) Tratamiento anticalcineurínico

En el análisis transversal actual del estudio no encontramos diferencias significativas en el perfil oxidativo entre el grupo tratado con Ciclosporina y el grupo tratado con Tacrolimus (Tabla 14). Únicamente señalar la significación en GPx en relación con LDL, que como se verá posteriormente, está explicada por la diferencia de perfil lipídico entre ambos tratamientos.

Entre ambos grupos tampoco existía diferencia en la función renal, creatinina ($p=0.412$), Cockcroft ($p=0.078$) y MDRD ($p=0.520$) (Tabla 15).

2.2. Perfil lipídico

De igual forma que con el perfil oxidativo, analizamos el perfil lipídico de los pacientes según grupos definidos por las distintas variables recogidas, y no se

encontraron diferencias significativas según *sexo, causa de exitus, causa de enfermedad renal crónica, tipo de diálisis, número de incompatibilidades, rechazo agudo, hiperglucemia en el primer año, enfermedad cardiovascular, tratamiento con vitamina B12, tratamiento con ácido fólico, administración de hierro oral, tratamiento con estimuladores de eritropoyesis, hiperparatiroidismo proteinuria, infección por CMV, FRI y microalbuminuria.*

Sí se encontraron diferencias y correlaciones significativas en los siguientes casos:

a) Edad del receptor

Existía una correlación significativa entre la edad del receptor y Apo B ($r=0.235$, $p=0.026$), Colesterol total (CT) ($r=0.257$, $p=0.026$) y LDL ($r=0.286$, $p=0.013$), indicando que mayor edad del receptor se asocia a niveles séricos mayores de estos tres parámetros (Tabla 19).

b) Años de trasplante

También se encontró correlación significativa y directa entre los años de evolución del trasplante y Apo B ($r=0.276$) con $p<0.05$, Apo A ($r=0.394$), colesterol total ($r=0.348$), HDL ($r=0.308$) y LDL ($r=0.353$), con $p<0.01$ independientemente del tratamiento anticalcineurínico utilizado (tabla 19).

c) Hábito tabáquico

Los pacientes fumadores presentaban niveles séricos de triglicéridos mayores (150,9 mg/dL) que los no fumadores (130.36 mg/dL) o los exfumadores (115.76 mg/dL), con significación $p=0.041$.

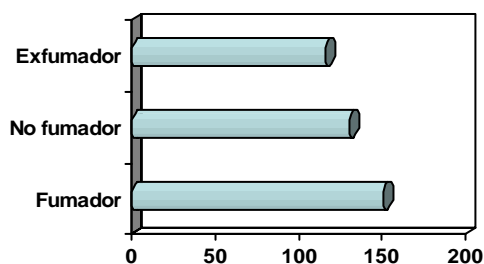


Figura 21. Trigliceridemia según hábito tabáquico.

La comparación por pares mostró diferencias significativas entre fumadores y no fumadores ($p=0.036$).

d) Necesidad de hipotensores

El grupo de pacientes trasplantados que requerían tratamiento antihipertensivo presentó cifras séricas más elevadas de Apo B ($p=0.025$) y LDL ($p=0.011$), como muestra la *figura 24* (Tabla 16).

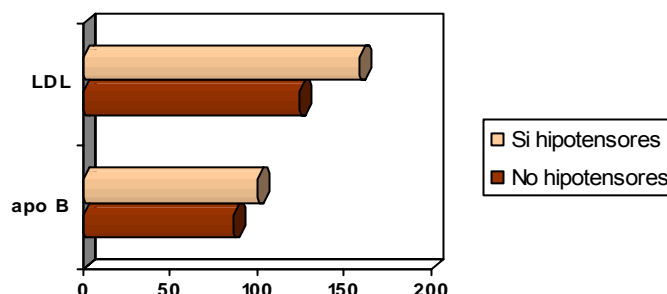


Figura 22. LDL y Apo B según tratamiento antihipertensivo.

De igual forma que se realizó con el perfil oxidativo, analizamos el nivel sérico de los parámetros lipídicos en el tratamiento de las cuatro *familias de antihipertensivos* de forma independiente:

- ARA II: no existían diferencias en apolipoproteínas, colesterol y fracciones ni triglicéridos entre los pacientes tratados y no tratados con este antihipertensivo.
- Antagonistas del calcio: no se mostraban diferencias en perfil lipídico.
- Betabloqueantes: se encontraron las siguientes diferencias significativas:
 - HDL colesterol: presentaban niveles significativamente ($p=0.019$) más bajos aquellos individuos que estaban en tratamiento con betabloqueantes (57.720 ± 16.562 mg/dL) que los que no estaban tratados con este antihipertensivo (68.601 ± 17.293 mg/dL).
 - Colesterol total: paradójicamente también presentaba niveles significativamente ($p=0.022$) más bajos en los tratados (203.626 ± 46 mg/dL) frente a los no tratados (235.707 ± 53.403 mg/dL), probablemente a expensas de una fracción HDL más baja.
 - Apo A: presentaron una media sérica menor los tratados (142.634 ± 28.346 mg/dL) frente a los no tratados con betabloqueantes (166.25 ± 31.343 mg/dL).
- Alfabloqueantes: No existían diferencias significativas.

e) Tratamiento anticalcineurínico

La diferencia al estudiar la lipidemia entre los pacientes tratados con tacrolimus y aquéllos tratados con ciclosporina fue evidente, presentando mayor concentración sérica de Apo A ($p=0.023$), Apo B ($p=0.012$), colesterol total ($p=0.007$), HDL ($p=0.033$) y LDL ($p=0.005$) los que estaban en tratamiento con ciclosporina en el momento del estudio. No mostró diferencias significativas el análisis de los triglicéridos (Tabla 17).

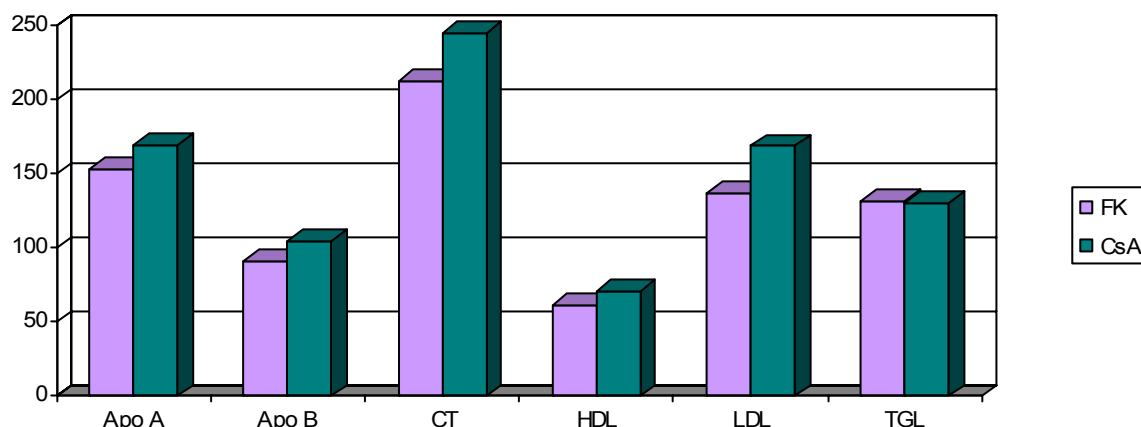


Figura 23. Diferencias en perfil lipídico según tratamiento anticalcineurínico utilizado.

f) Creatinina y perfil lipídico

En el estudio de la relación de creatinina con los parámetros lipídicos, se encontró una correlación positiva significativa entre la creatinina sérica y Apo B ($r=0.382$, $p=0.01$), CT ($r=0.327$, $p=0.004$) y LDL ($r=0.367$, $p=0.001$). Indicando este resultado que a cifras de creatinina mayores el perfil lipídico empeora (Tabla 19).

2.3 Relación entre perfil oxidativo y lipídico

El estudio de correlaciones entre parámetros de estrés oxidativo y perfil lipídico nos mostró una relación significativa entre la fracción HDL de colesterol y GPx, con un coeficiente $r=0.318$, $P<0.01$, indicando un vínculo directo (no inverso) entre concentraciones de HDL y GPx. La relación resultó inversa entre HDL y GR, $r=-0.250$; y entre HDL y SOD $r=-0.243$ con $p<0.05$. SOD también se correlacionaba de forma significativa e inversa con colesterol total ($r=-0.233$) y Apo A ($r=-0.250$) (Tabla 20).

2.4 Estudio de riesgo relativo

Para valorar el efecto de los distintos parámetros de estrés oxidativo y la función renal representada en la medida de creatinina sérica, sobre la presencia de microalbuminuria, proteinuria, enfermedad cardiovascular, incluyendo enfermedad cerebrovascular, cardiopatía isquémica y arteriopatía periférica, necesidad de hipotensores, FRI y rechazo agudo, se realizó un análisis bivalente preliminar del que resultaron los factores asociados a estas variables y susceptibles de ser incluidos posteriormente en un modelo de regresión logística (Tablas 21-24).

En el caso de la microalbuminuria ya se determinó su relación significativa con el tratamiento con ARA II. De las variables cuantitativas se detectaron diferencias significativas para la concentración en plasma de GPx y para ésta misma relacionada con LDL y proteínas. En el caso de la variable que representa la necesidad de hipotensores sólo resultó potencialmente válida una covariable continua, la creatinina sérica, de las variables discretas resultó significativa la relación con los tratamientos anticalcineurínico y con ARA II. El resto de características no presentaron relaciones significativas dignas de mención.

Las variables que resultaron significativas fueron incluidas en los modelos multivariantes de regresión logística, en ningún caso el método de regresión paso a paso eliminó una variable explicativa del modelo.

Los datos quedan reflejados en los siguientes cuadros:

Variable respuesta: Microalbuminuria		
VARIABLES EXPLICATIVAS	OR	IC 95%
GPx	0.975	(0.953,0.997)
Tratamiento con ARA II	7.051	(2.113,23.527)
Test de bondad de ajuste de Hosmer Lemeshow	$\chi^2=6.074$, gl=7, p=0.531	CCR=69.3%

Cuadro nº 1.

Variable respuesta: Microalbuminuria		
VARIABLES EXPLICATIVAS	OR	IC 95%
GPx/Prot	0.298	(0.107,0.831)
Tratamiento con ARA II	6.033	(1.821,19.988)
Test de Hosmer Lemeshow	$\chi^2=10.402$, gl=7, p=0.167	CCR=73.3%

Cuadro nº 2.

Variable respuesta: Microalbuminuria		
VARIABLES EXPLICATIVAS	OR	IC 95%
GPx/LDL	0.983	(0.967,0.999)
Tratamiento con ARA II	6.167	(1.880,20.228)
Test de Hosmer Lemeshow	$\chi^2=0.995$, gl=7, p=0.995	CCR=68.8%

Cuadro n° 3

Variable respuesta: Necesidad de hipotensores		
VARIABLES EXPLICATIVAS	OR	IC 95%
Creatinina	11.106	(1.760,70.066)
Tto con CsA	5.272	(1.233,22.548)
Test de Hosmer Lemeshow	$\chi^2=2.022$, gl=7, p=0.959	CCR=78.7%

Cuadro n° 4

Destacamos que un incremento en una unidad de *GPx/prot* supondría una disminución de la probabilidad de presentar microalbuminuria, concretamente sería 3.36 veces inferior. Por su parte, un incremento en 0.1 unidades del nivel de *creatinina* supondría una probabilidad 1.74 veces superior de necesitar hipotensores.

2.5 Estudio carotídeo

Estudiamos la relación de los signos ecográficos de atero/arteriosclerosis carotídea detectados en el momento inicial del estudio, con:

- Características del receptor
- Perfil oxidativo
- Perfil lipídico
- Función renal

La *prevalencia* de los cuatro signos de lesión carotídea fue la siguiente, un 23,30% de los pacientes presentaba un IMT \geq 1 mm, 61,60% presentaba signos ecográficos de lesión ateromatosa, 56,20% mostraba signos de calcificación de placas de ateroma y un 37% presentaba estenosis de carótida interna, sólo en un individuo se detectó estenosis mayor del 50 %.

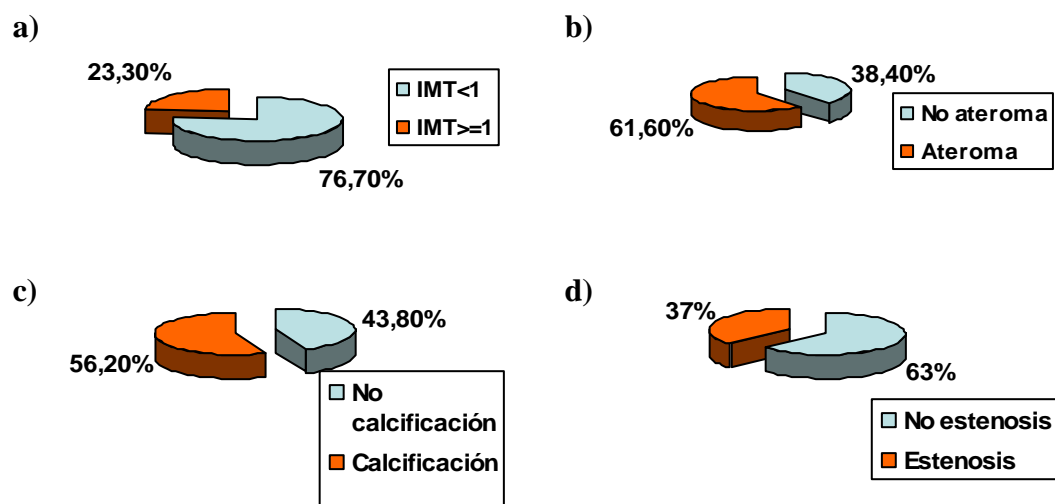


Figura 24. Distribución de los signos de lesión carotídea: a) IMT; b) Placas de ateroma; c) Presencia de calcificaciones; d) Presencia de estenosis.

La media de IMT fue 0.70 ± 0.222 mm.

Se realizó un estudio de contingencia para determinar si la prevalencia de lesiones carotídeas era distinta en ambas arterias carótidas internas y por tanto se debería estudiar de forma independiente la presencia de IMT aumentado, lesiones de ateroma, calcificaciones y estenosis en carótida interna derecha e izquierda de forma independiente. Sin embargo la bilateralidad en el estudio de las lesiones fue innecesaria, McNemar: $p=0.092$ para IMT, $p \approx 1$ para ateroma, $p=0.791$ para calcificación y $p=0.625$ para estenosis.

La presencia de estenosis mayor o menor del 50% no fue considerada en el estudio dada la escasa frecuencia de la estenosis mayor del 50% ($n=1$).

a) Características del receptor

Analizamos qué características del receptor podían estar en relación con la presencia de cada una de las lesiones ecográficas descritas. Se tomaron en el análisis bivariable las siguientes variables: edad del receptor, sexo, meses en diálisis, años de trasplante, hábito tabáquico, FRI, infección por CMV, necesidad de hipotensores, presencia de microalbuminuria y tratamiento anticalcineurínico.

- *IMT:*

En el caso de IMT, existía relación significativa con la edad del receptor, $p=0.006$.

Los pacientes con tratamiento hipotensor presentaban mayor incidencia de $IMT \geq 1mm$ que los que no requerían antihipertensivos $p=0.030$ (Tabla 21).

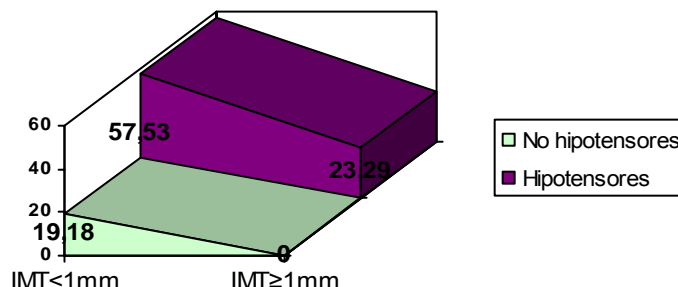


Figura 25. Mayor porcentaje de pacientes en tratamiento antihipertensivo presentaban $IMT \geq 1mm$ que en los no tratados.

- *Lesiones de ateroma:*

Solamente la edad del receptor resultó ser significativa en la relación con la presencia de signos ecográficos de placas de ateroma, $p < < 0.01$ (Tabla 22).

- *Calcificación:*

La edad fue la variable significativa en este caso también, $p < < 0.01$ (Tabla 23).

- *Presencia de estenosis:*

Nuevamente es la edad la que presenta relación significativa con la presencia o no de estenosis carotídea (Tabla 24).

En el **análisis de riesgo** para lesiones carotídeas destacamos la influencia de la **EDAD como factor de riesgo** para todas ellas. El intervalo de confianza para el odds ratio al 95% para todas ellas comprende valores entre 1.02 y 1.19.

b) Perfil oxidativo

Estudiamos la relación de los parámetros oxidativos determinados, con los signos ecográficos carotídeos presentando los siguientes resultados:

- **IMT:**

No se encontró diferencia estadísticamente significativa entre perfil oxidativo y presentar $IMT < 1$ ó ≥ 1 mm.

- Lesiones de ateroma:
No hubo diferencias significativas en perfil oxidativo entre presentar o no lesiones de ateroma
- Calcificación:
No hubo diferencias entre presentar o no calcificación carotídea sobre los parámetros de estrés oxidativo.
- Estenosis:
Tampoco encontramos que el padecer o no estenosis carotídea se reflejara en el perfil oxidativo de estos pacientes.

c) Perfil lipídico

Sí se encontraron más diferencias en la lipídemia en relación a presentar lesiones carotídeas:

- IMT: no existían diferencias
- Lesiones de ateroma:
Los pacientes que presentaban lesiones de ateroma mostraron concentraciones séricas mayores de Apo B ($p=0.002$), Colesterol total ($p=0.001$), LDL ($p=0.030$) y HDL ($p=0.0003$) que en los que no se describían (Tabla 25).

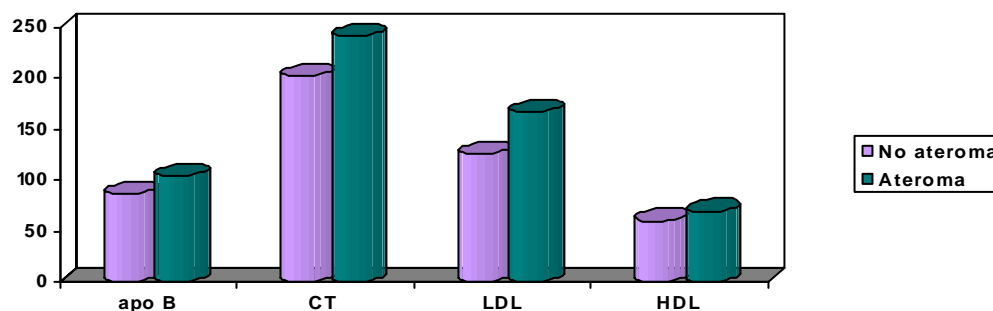


Figura 26. Concentraciones séricas de parámetros lipídicos según la presencia o no de placas de ateroma.

- Calcificación:
El mismo patrón de comportamiento presentaban los parámetros lipídicos en los pacientes que presentaban calcificación de placas de ateroma, Apo B ($p=0.038$), Colesterol total ($p=0.012$), LDL ($p=0.004$), HDL ($p=0.031$) (Tabla 26).

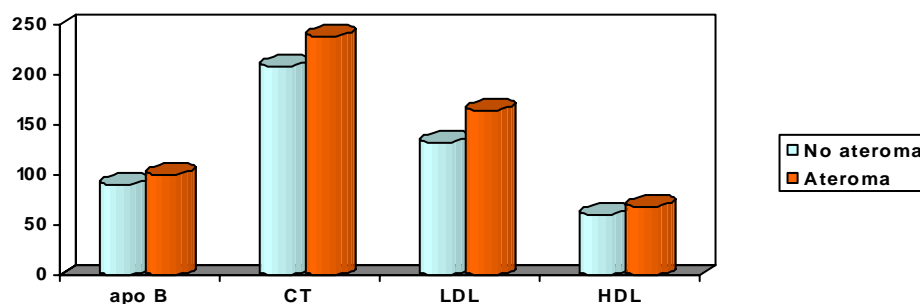


Figura 27. Concentraciones de parámetros lipídicos según la presencia o no de calcificación de placas de ateroma.

- Estenosis:

Solo se halló diferencia en HDL colesterol, con mayor concentración de la misma en presencia de estenosis (concentración media 71.265 ± 15.432 mg/dL) frente a ausencia de la misma (concentración media 61.751 ± 17.188 mg/dL), $p=0.021$.

d) Función renal

Estudiamos la posible relación de los signos de lesión carotídea atero/arteriosclerótica con la función renal determinada mediante creatinina sérica y medidas de estimación de función renal (Cockroft y MDRD).

- *IMT:*

Presentaban igual función renal los pacientes que mostraban un $IMT < 1$ mm y aquéllos con $IMT \geq 1$ mm (Tabla 27)

- *Lesión de ateroma:*

Los pacientes con lesiones de ateroma presentaban creatinina sérica mayor ($p=0.018$) y estimación de función renal según Cockroft ($p=0.019$) menor que en los que no se describía dicha lesión (Tabla 28).

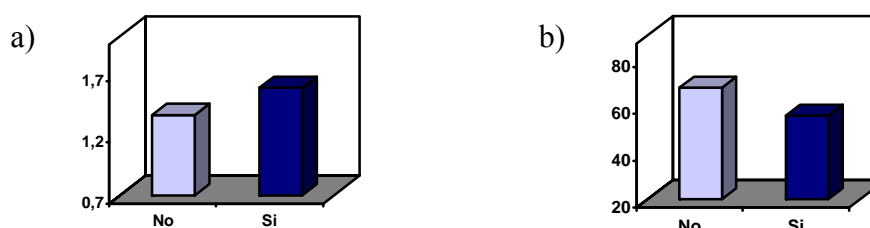


Figura 28. Diferencia de (a) creatinina sérica y (b) Cockroft-Gault en pacientes con o sin lesiones de ateroma.

- *Calcificación de lesión de ateroma* (Tabla 29)
- *Estenosis carotídea* (Tabla 30)

En ninguno de estos dos últimos casos se encontraron diferencias significativas en la función renal.

Para completar el estudio se analizó la función renal frente a las variables que encontramos relacionadas con los signos ecográficos, que fueron edad del receptor y tratamiento hipotensor. En el primer caso no se halló correlación significativa entre la edad del receptor y la creatinina ($p=0.522$) ni con MDRD modificado ($p=0.150$), sí con Cockcroft ($r=-0.259$, $p=0.025$). En el segundo caso, los pacientes con tratamiento hipotensor presentaban creatinina sérica media mayor (1.545 ± 0.408 mg/dL) que los que no tomaban antihipertensivos (1.234 ± 0.307 mg/dL), $p=0.006$.

No se encontró correlación estadística (Pearson) entre edad del receptor y creatinina (sí con Cockcroft al ser función de ésta).

Según estos resultados, la diferencia de función renal en presencia o no de lesiones de ateroma no estaría relacionada con la edad del receptor. De igual forma la relación de IMT con tratamiento hipotensor tampoco estaría vinculada a la función renal puesto que ésta no es diferente si está presente o no un $IMT \geq 1$ mm.

3. ESTUDIO DE CONTROLES

En esta fase del estudio analizamos el comportamiento del perfil oxidativo, lipídico y función renal de los 38 pacientes que permanecieron sin tratamiento en los seis primeros meses del estudio.

3.1. Perfil oxidativo

Se realizó un análisis para muestras relacionadas, observándose un aumento significativo de nivel plasmático de MDA en relación a proteínas ($p < 0.01$), un aumento de GPx en relación a proteínas y LDL. La GR también presentó esta tendencia en el tiempo, mostrando un aumento significativo ($p=0.027$) (Tabla 31).

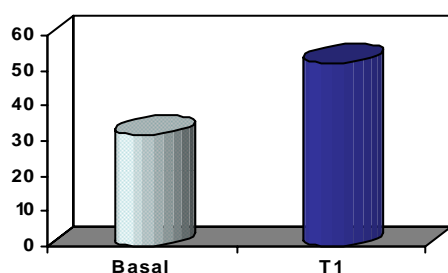


Figura 29. Modificación de MDA/prot en el tiempo sin tratamiento.

Figura 30. Elevación de GPx/prot en 6 meses sin tratamiento con estatinas.

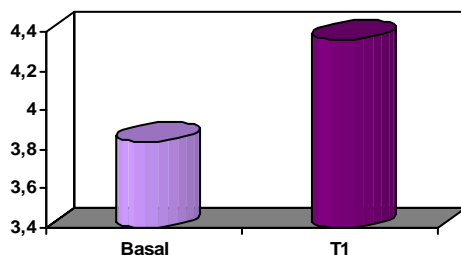
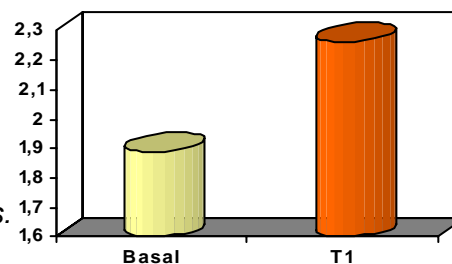


Figura 31. Comportamiento de GR en el tiempo sin tratamiento.

El valor de las proteínas en este periodo de tiempo no presentó una modificación significativa ($p=0.807$), con nivel basal medio $4.394 \pm 0.537 \text{ mg/ml} * 10^{-2}$ y en T1, tras 6 meses, nivel medio $4.373 \pm 0.451 \text{ mg/ml} * 10^{-2}$.

Teniendo en cuenta los factores que podrían influir sobre los parámetros oxidativos como son: *tratamiento anticalcineurínico, tratamiento con MMF, microalbuminuria, tratamiento con ARA II, tratamiento con hipotensores, proteinuria, hiperparatiroidismo, hábito tabáquico o enfermedad cardiovascular*, se controlaron, encontrándose los siguientes hallazgos:

a) Tratamiento anticalcineurínico

Se detectó una interacción significativa entre el tiempo y el tipo de tratamiento anticalcineurínico, observándose un incremento de GPx en los pacientes tratados con tacrolimus y un descenso de la misma en los tratados con ciclosporina, una vez controlado el efecto de la creatinina ($p=0.043$).

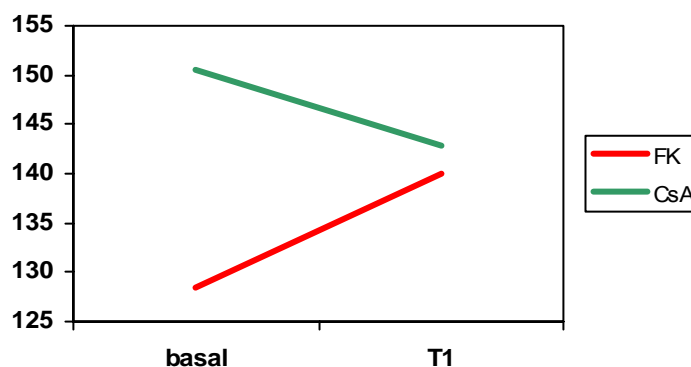


Figura 32. Modificación de GPx en el tiempo según tratamiento anticalcineurínico.

El estudio de función renal en el tiempo según grupo de tratamiento no mostró diferencias significativas en creatinina (TRL $p=0.052$, CsA $p=0.259$) ni en las medidas de estimación de función renal, Cockcroft ($p=0.271$), MDRD ($p=0.240$) en esta fase del estudio.

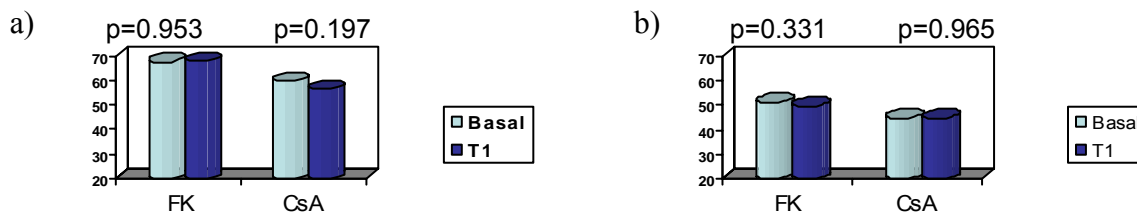


Figura 33. Diferencia de medidas de estimación de función renal en el estudio control, a) Cockcroft, b) MDRD.

Controlando según el resto de factores estudiados, no se encontró ninguna variación significativa en los parámetros de estrés oxidativo.

3.2. Perfil lipídico

En la lipemia se observó un descenso significativo en todos los parámetros determinados, Apolipoproteínas A ($p=0.024$), y B ($p<<0.01$), colesterol total ($p=0.02$), HDL ($p=0.012$), LDL ($p<<0.01$), triglicéridos ($p=0.031$) (Tabla 32).

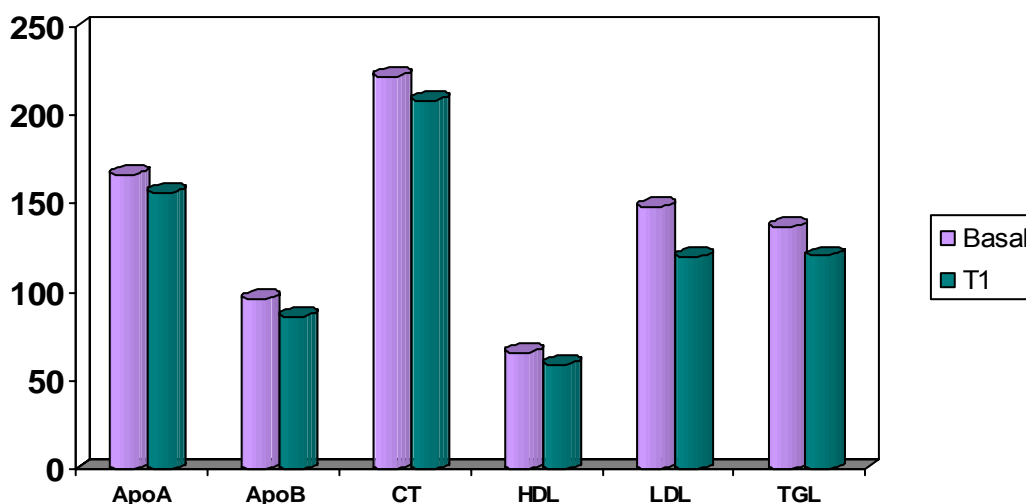


Figura 34. Modificación de parámetros lipídicos en 6 meses en grupo control.

No se encontró ningún factor cuyo efecto debiera ser controlado y modificara la significación de dichos parámetros.

3.3. Función renal

La función renal no se modificó en el primer periodo de estudio, no mostrando diferencia de medias de creatinina ($p=0.841$), Cockcroft ($p=0.277$) y MDRD ($p=0.433$) en el momento basal y tras 6 meses (Tabla 33).

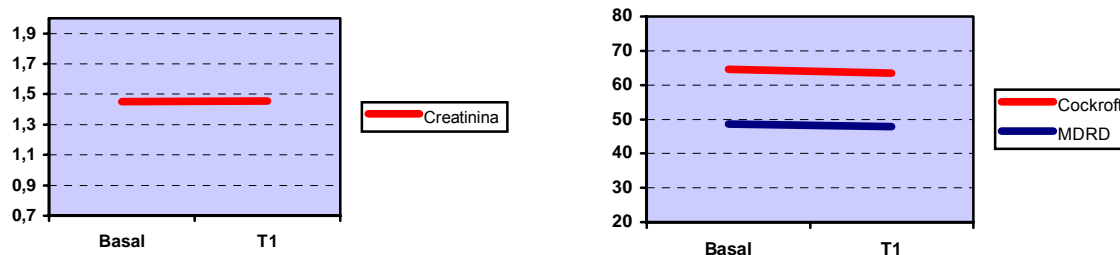


Figura 35. Función renal en el momento inicial y tras 6 meses.

4. TRATAMIENTO CON ESTATINAS

En esta fase, comparamos el comportamiento del perfil oxidativo, lipídico y la función renal en el grupo control sin tratamiento (grupo 0, $n=37$) con un grupo (grupo 1, $n=21$) tratado con estatinas (atorvastatina 10-40 mg) durante 6 meses.

4.1. Perfil oxidativo

Dado que los datos referidos a este perfil del grupo 0 ya han sido comentados en el apartado 3.1. (Tabla 31), abordamos en esta sección el perfil oxidativo del grupo 1, y la comparación entre ambos.

No existía diferencia en la edad media de ambos grupos, $p=0.265$.

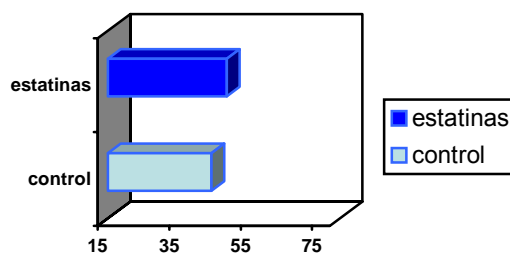


Figura 36. Edad media en ambos grupos.

En el grupo 1 encontramos cambios significativos en MDA ($p=0.009$), MDA relacionado con proteínas ($p<<0.01$) y GPx relacionado con proteínas ($p<<0.01$), en todos ellos se observó un incremento en las cifras plasmáticas desde el momento basal a T1 (Tabla 34).

Realizando la comparación de la evolución entre ambos grupos, sólo encontramos diferencias significativas en el comportamiento de MDA, mostrando de forma paradójica un incremento mayor el grupo tratado con estatinas ($p=0.035$) (Figura 37).

Controlando las variables *tratamiento anticalcineurínico, tratamiento con MMF, microalbuminuria, tratamiento con hipotensores, tratamiento con ARA II, proteinuria, hiperparatiroidismo, hábito tabáquico o enfermedad cardiovascular*, no se encontró modificación de la significación descrita.

No se encontró diferencia pre-tratamiento en ambos grupos en la concentración de *proteínas* ($p=0.341$), tampoco existía diferencia basal-T1 entre ambos grupos ($p=0.186$).

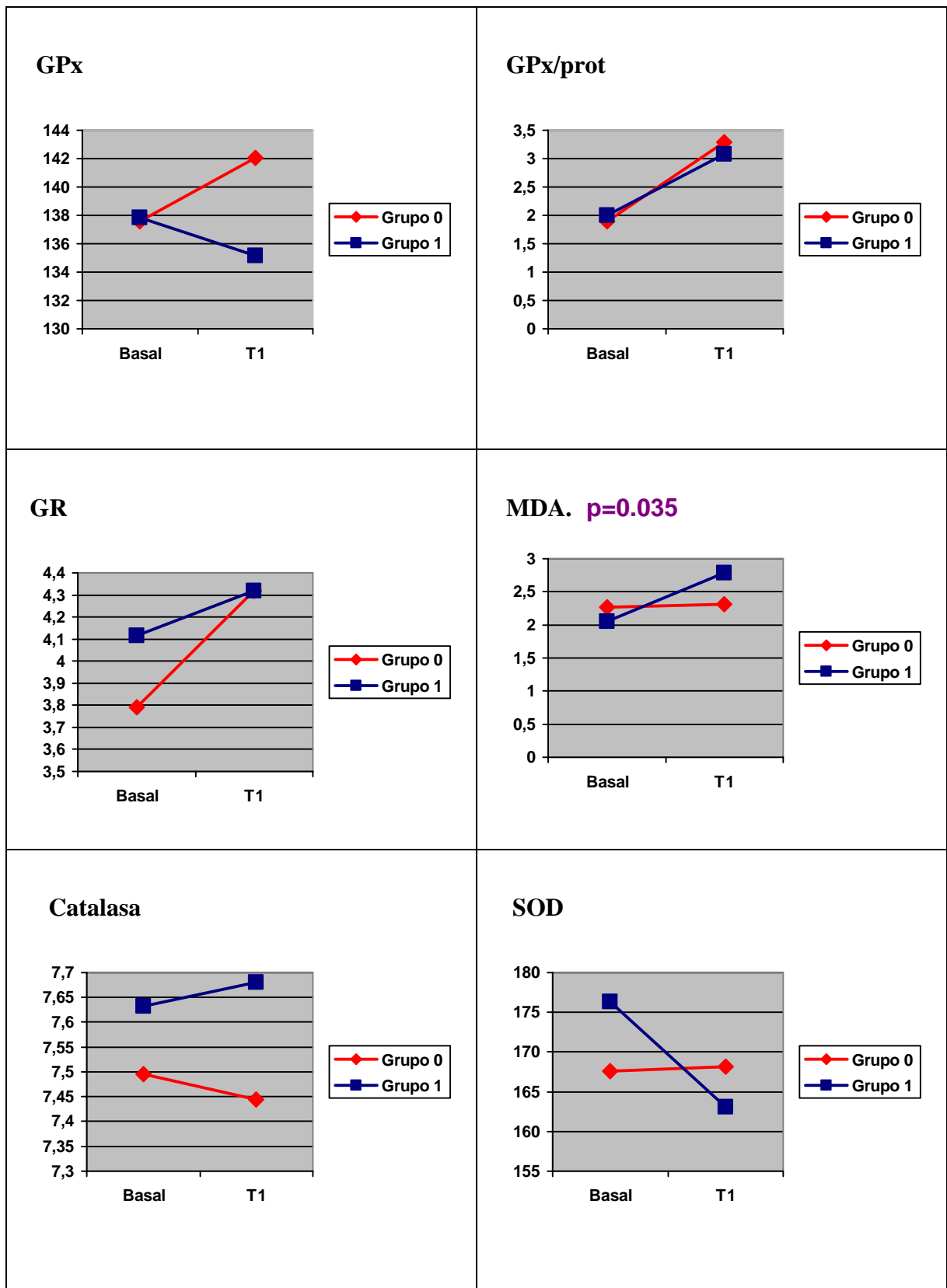


Figura 37. Comparación de perfil oxidativo entre los grupos 0 (control) y 1 (estatinas) en los 6 meses de tratamiento.

4.2. Perfil lipídico

El análisis del grupo 0 (sin estatinas) de forma individual se comentó en el apartado 3.2. (Tabla 32).

En el grupo 1 se produce un descenso significativo en colesterol total ($p=0.001$), apolipoproteína B ($p<<0.01$) y LDL ($p<<0.01$) (Tabla 35).

En la comparación entre ambos grupos existe diferencia significativa con mayor descenso en el grupo tratado con estatinas en los siguientes parámetros: Colesterol total ($p=0.05$), LDL ($p=0.007$) y Apo B ($p=0.001$).

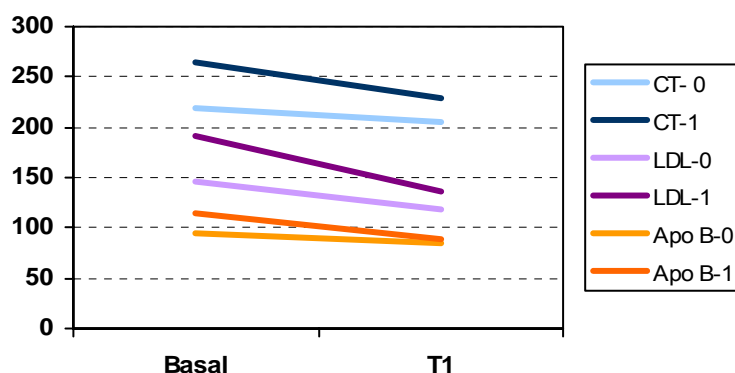


Figura 38. Modificación de colesterol total (CT), LDL y Apo B en ambos grupos.

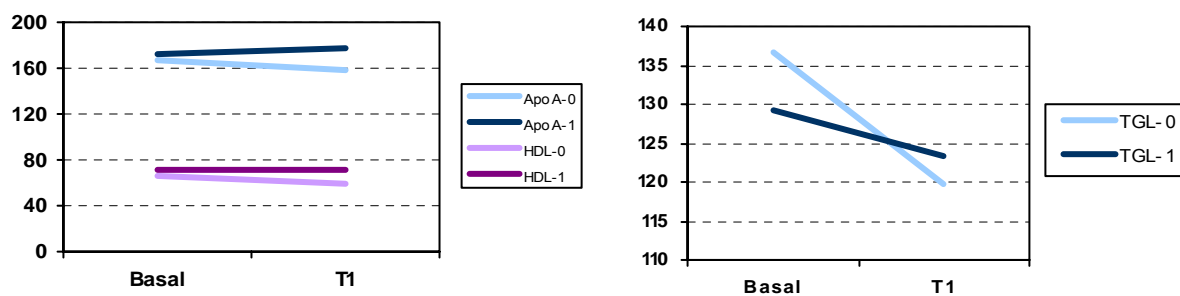


Figura 39. Modificación de Apo A, HDL y triglicéridos en ambos grupos (no significativo).

Controlando las variables *tratamiento anticalcineurínico, tratamiento con MMF, microalbuminuria, tratamiento con hipotensores, tratamiento con ARA II, proteinuria, hiperparatiroidismo, hábito tabáquico o enfermedad cardiovascular*, no se encontró modificación de la significación descrita.

4.3. Función renal.

No existía diferencia de medias de creatinina entre ambos grupos pre-tratamiento, el grupo 0 presentaba creatinina media 1.426 ± 0.326 mg/dl, y el grupo 1 una media de 1.616 ± 0.480 mg/dl (Tabla 36).

No se observaba diferencia de creatinina basal a T1 en todos los pacientes, $p=0.143$, y tampoco según el grupo al que pertenecieran (Tablas 37 y 38).

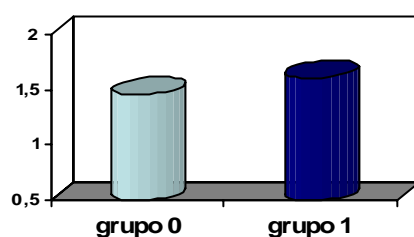


Figura 40. Creatinina sérica pretratamiento.

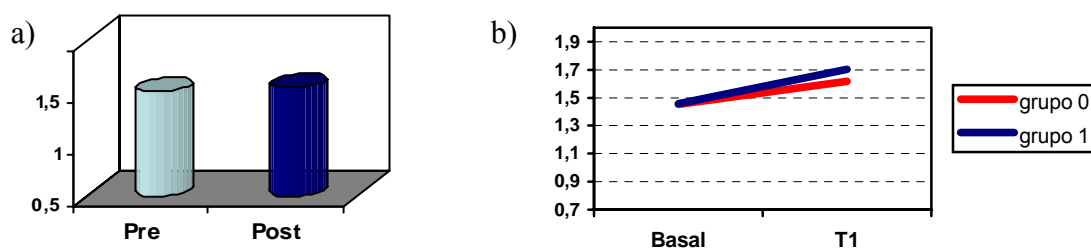


Figura 41. Creatinina sérica en todos los pacientes a) basal, y tras 6 meses b) según grupo.

En cuanto a las medidas de estimación de función renal, se hallaron diferencias significativas en Cockcroft- Gault entre ambos grupos en el tiempo basal (Tabla 36) y también hubo cambios significativos en este parámetro del momento basal a T1 (Tabla 37).

4.4. Estudio de correlaciones

En T1 el estudio de todos los pacientes mantiene una correlación significativa y negativa entre GPx y Creatinina sérica, $r = -0.316$, $p = 0.016$. No se halla correlación entre GPx y HDL (Tabla 39).

5. TRATAMIENTO CON ESTATINAS Y/O N-ACETILCISTEÍNA

Los grupos de estudio de esta fase fueron:

- Grupo 1: n=23, continúan el tratamiento con estatinas (añadiéndose dos individuos)
- Grupo 2: n=26, tratamiento con estatinas y N-acetilcisteína
- Grupo 3: n=25, tratamiento con N-acetilcisteína (en grupos 2 y 3 se añaden 14 enfermos)

Como análisis preliminar comenzamos estudiando la edad y el comportamiento de las proteínas en los 3 grupos:

a) Edad del receptor

La media de edad fue similar en los tres grupos, con una significación $p=0.472$.

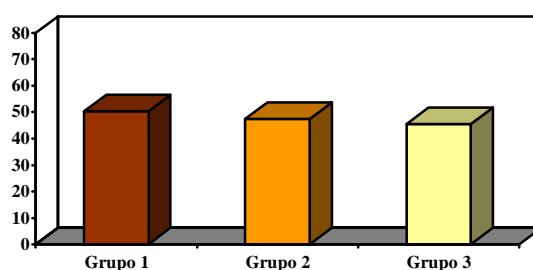


Figura 42. Media de edad en cada uno de los grupos de estudio

b) Proteínas

No hubo modificación significativa de proteínas en el tiempo, ni se altera el resultado según grupos ($p=0.195$), indicando la estabilidad de la media (Tabla 41).

5.1. Grupo 1

El grupo 1 (tratamiento con estatinas) es el único en el que se puede hacer un estudio más detallado del comportamiento de los perfiles lipídico, oxidativo y función renal en tres momentos: sin tratamiento (T0), y dos momentos tras administrar tratamiento con estatinas, a los 6 meses (T1) y a los 14 meses (T2).

5.1.1. Perfil oxidativo

Encontramos diferencias significativas en los siguientes parámetros de oxidación:

- *MDA y MDA en relación a proteínas* presentan un incremento plasmático de T0 a T1, para posteriormente descender en el segundo periodo de tratamiento (T2), $p=0.002$ y $p<<0.001$ (Tabla 41).

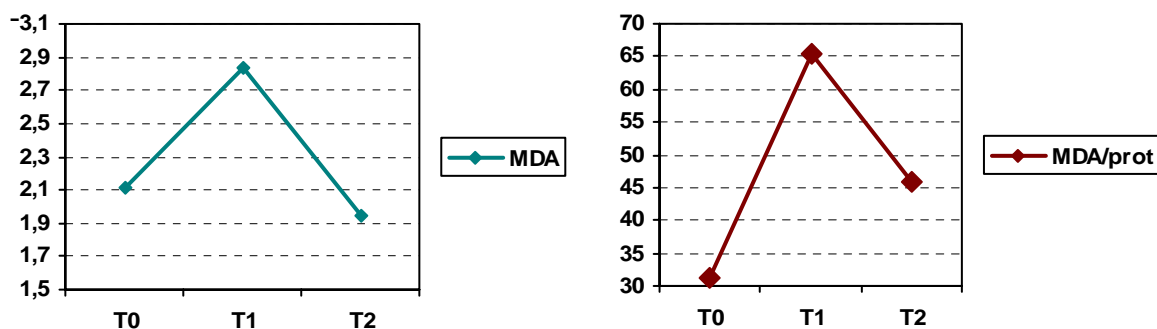


Figura 43. Comportamiento de MDA y MDA/prot en pacientes tratados con estatinas en todo el periodo de estudio.

Las comparaciones múltiples según ajuste de Bonferroni mostraron significación en los dos periodos del estudio en los sentidos descritos (MDA de T0 a T1 $p=0.031$ y de T1 a T2 $p=0.013$ y MDA/prot de T0 a T1, $p<0.01$, T1-T2, $p=0.043$ y T0-T2, $p=0.003$).

- *GPx* presentó un comportamiento inverso, mostrándose un descenso de GPx plasmática de T0 a T1 para luego incrementar en la segunda fase de tratamiento con estatinas, $p=0.016$, siempre controlando el efecto de la creatinina en este caso (Tabla 42).

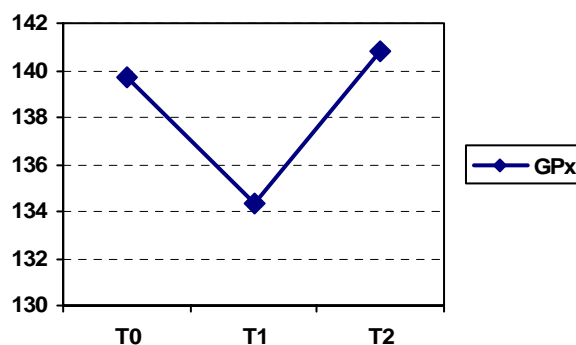


Figura 44. Evolución de GPx en pacientes tratados con estatinas en todo el periodo de estudio.

El resto de parámetros oxidativos no presentó cambios significativos en el grupo tratado con estatinas.

Las proteínas totales tampoco presentaron cambios significativos en el tiempo estudiado.

5.1.2. Perfil lipídico

Presentaron descenso significativo durante todo el periodo de tratamiento los parámetros: Apo B, colesterol total y fracción LDL de colesterol con $p < 0.01$ en todos los casos. Apo A, triglicéridos y HDL no presentaron cambios significativos si bien en estos casos la tendencia es también al descenso (Tabla 43).

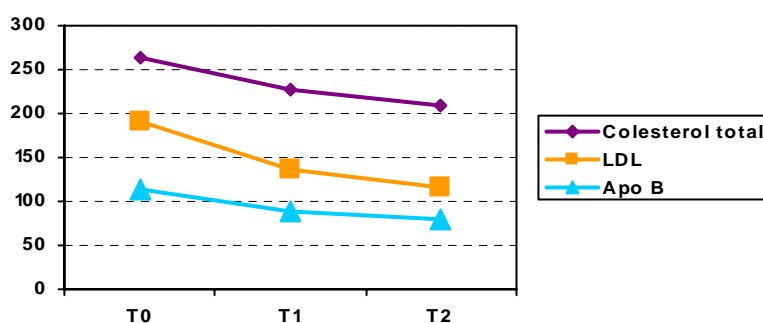


Figura 45. Descenso de colesterol total, LDL y Apo B en pacientes del grupo 1, siendo el descenso significativo T0-T1 y T0-T2.

5.1.3. Función renal

Como es habitual analizamos las tres medidas de función renal estudiadas:

a) Creatinina

La creatinina sérica no se vio modificada en todo el periodo de tratamiento, $p=0.572$ (Tabla 44).

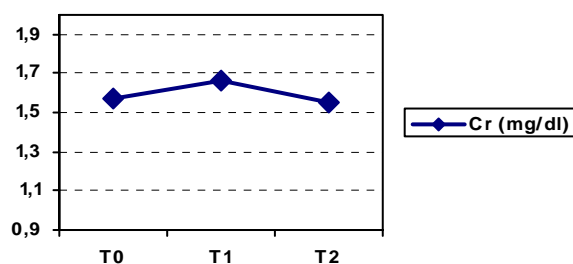


Figura 46. Evolución de creatinina sérica en los pacientes del grupo 1.

b) Medidas de estimación de función renal

Similar comportamiento presentaron las estimaciones, Cockcroft- Gault, $p=0.156$ y MDRD modificada, $p=0.206$ (Tabla 44).

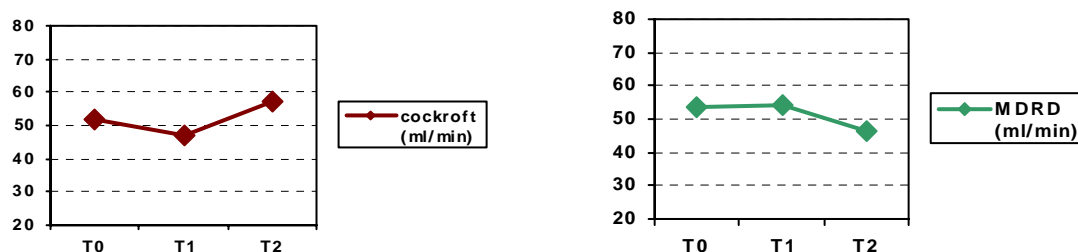


Figura 47. Evolución de Cockcroft y MDRD en los pacientes del grupo 1.

En los grupos 2 y 3 la evolución en la primera fase del estudio fue analizada (sin tratamiento) en los apartados 3.1, 3.2, 3.3, por lo que en este apartado nos referiremos a la evolución en dichos pacientes una vez tratados (de T1 a T2).

5.2. Grupo 2

Recordemos que este grupo fue tratado con estatinas y N-acetilcisteína.

5.2.1. Perfil oxidativo

No se encontraron diferencias significativas antes y después del tratamiento en los parámetros de estrés oxidativo, únicamente en aquellos parámetros que fueron expresados en relación a la fracción LDL del colesterol, MDA/LDL ($p=0.033$), y GPx/LDL ($p<<0.01$) con ascenso en ambos casos (Tabla 45).

5.2.2. Perfil lipídico

Los valores séricos de colesterol total ($p=0.001$), LDL ($p=0.0001$), y Apo B ($p<<0.0001$) sufrieron un descenso en el periodo de tratamiento, como era previsible, mientras que la fracción HDL del colesterol se incrementó ($p=0.037$) (Tabla 46).

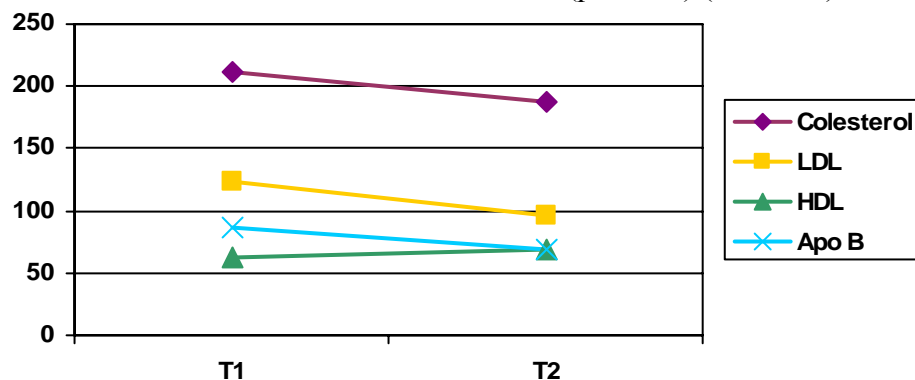


Figura 48. Parámetros lipídicos en el grupo 2 en el periodo de tratamiento.

4.2.3. Función renal

La creatinina sérica ($p=0.357$) y las medidas de estimación de filtrado glomerular tampoco se vieron modificadas tras el tratamiento (Cockroft $p=0.167$, MDRD $p=0.067$) (Tabla 47).

5.3. Grupo 3

En el grupo tratado únicamente con NAC, encontramos los siguientes resultados:

5.3.1. Perfil oxidativo

La glutatión reductasa desciende de forma significativa en este grupo tras el tratamiento, en T1 la media fue 4.635 con error típico 0.267 $\text{mmoles} \times 10^3/\text{mg}$, y en T2 presentó una media 4.135 con error típico 0.275, y una significación $p=0.032$. El resto de parámetros no presentó cambios significativos (Tabla 48).

5.3.2. Perfil lipídico

Únicamente destaca un incremento de la fracción HDL de colesterol de T1, media 54.831 ± 16.261 mg/dl a T2 con una media 61.818 ± 16.750 mg/dl y una significación $p=0.013$ (Tabla 49).

5.3.3. Función renal

La función renal sí presentó modificación en este grupo, mostrando un descenso de creatinina sérica antes y después del tratamiento ($p=0.043$) y un incremento de estimación de filtrado glomerular para Cockroft ($p=0.012$) y MDRD ($p=0.042$) (Tabla 50).

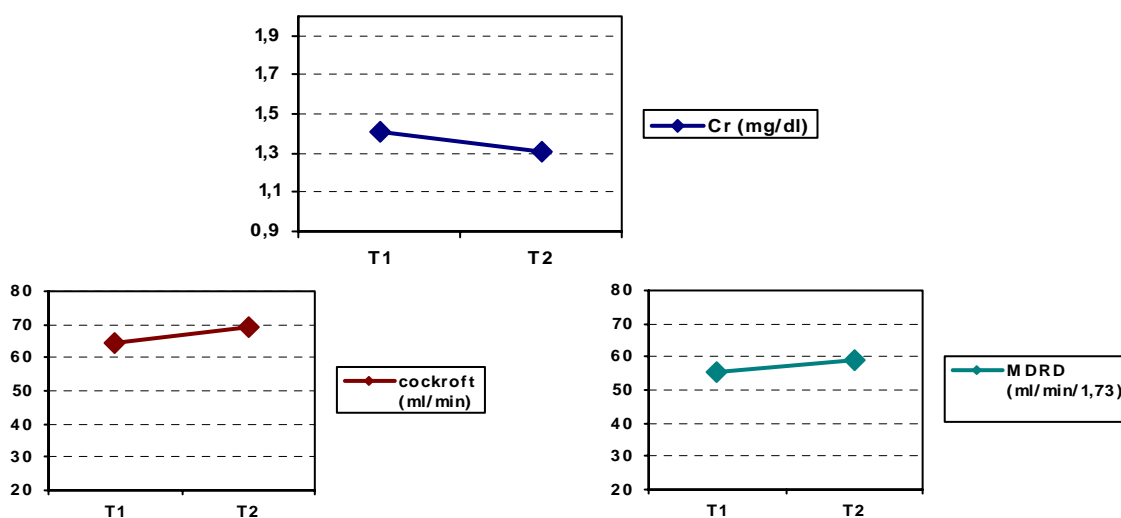


Figura 49. Función renal en el grupo 3.

5.4. Comparación de grupos de tratamiento

Comparamos la evolución de T1 a T2 según el grupo de tratamiento establecido

5.4.1. Perfil oxidativo

No se encontró diferencia significativa entre los tres grupos en ninguno de los parámetros de estrés oxidativo determinados.

5.4.2. Perfil lipídico

Como se podría esperar de lo expuesto hasta ahora sí que existían diferencias entre grupos en Colesterol total, LDL, Apo B debido a los grupos con estatinas (1 y 2). En el caso de HDL y Apo A también existe diferencia significativa pero en este caso se eleva en los grupos que están en tratamiento con NAC (2 y 3) y desciende en el grupo solo con estatina (1).

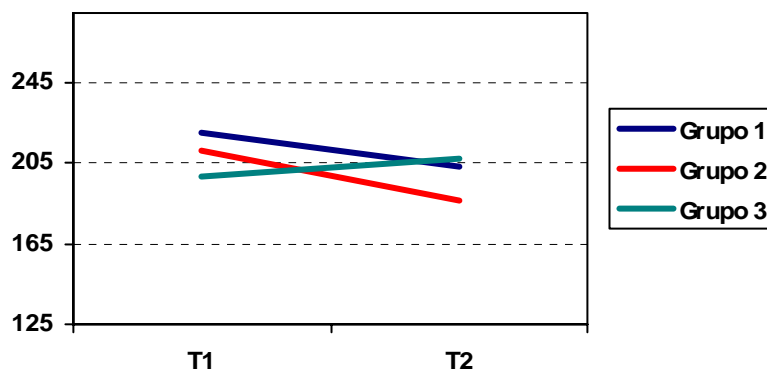


Figura 50. El **colesterol total** descendía en grupo 1 y 2, sin embargo en el grupo 3 sufría un incremento, $p=0.009$.

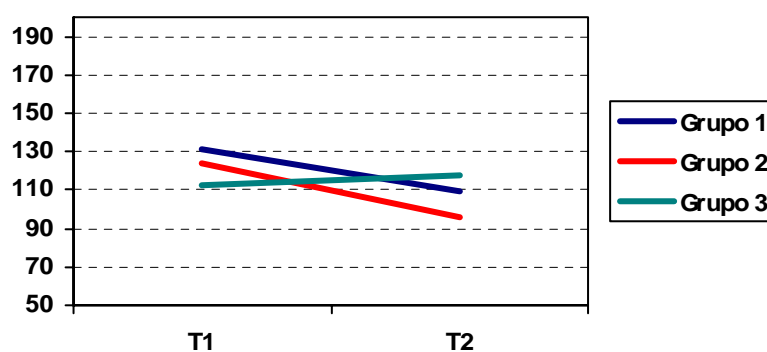


Figura 51. El comportamiento de la **fracción LDL** fue similar al del colesterol total, $p=0.001$.

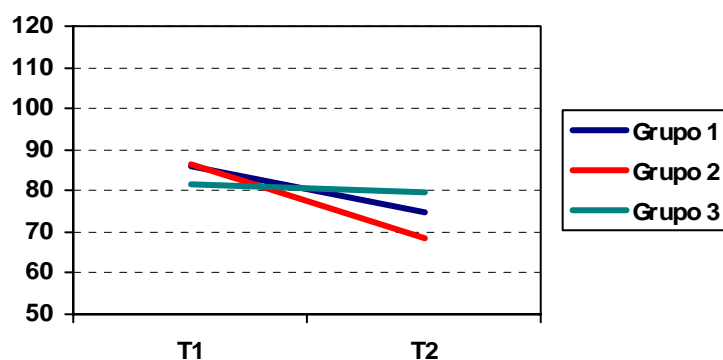


Figura 52. **Apo B** presentó descenso significativo en los grupo con estatinas a diferencia del grupo 3, $p=0.006$.

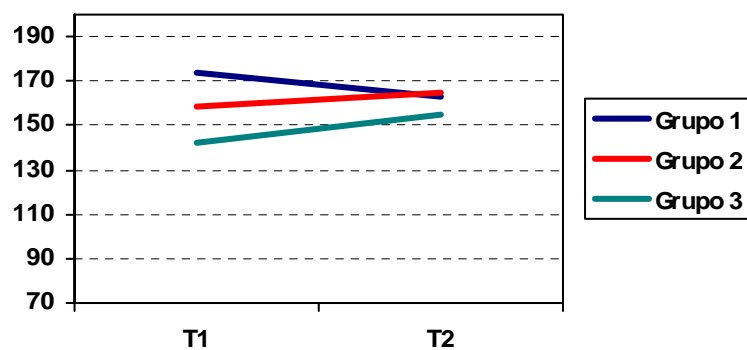


Figura 53. **Apo A** no mostraba cambios significativos en cada uno de los tres grupos, sin embargo entre ellos si existía diferencia, $p=0.041$.

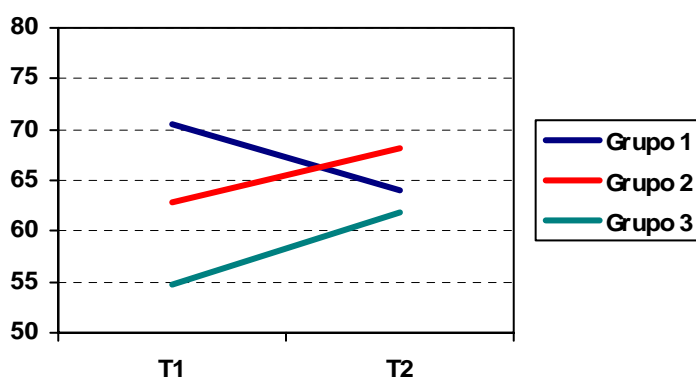


Figura 54. La fracción HDL mostraba cambios en cada uno de los grupos y entre ellos existía diferencia significativa, presentando un incremento en aquellos tratados con NAC, $p=0.001$.

5.4.3. Función renal

No se observaron diferencias significativas entre grupos en la función renal en el periodo de tratamiento.

El control de las variables: *tratamiento anticalcineurínico, tratamiento con MMF, microalbuminuria, tratamiento con hipotensores, tratamiento con ARA II, proteinuria, hiperparatiroidismo, hábito tabáquico o enfermedad cardiovascular*, no mostró variación en la significación obtenida previamente.

5.5. Estudio de correlaciones

En este momento del estudio sigue afirmándose la correlación significativa y negativa entre la Creatinina sérica y GPx plasmática estudiando el conjunto de pacientes, $r=-0.259$, $p=0.026$. No se encontró correlación con entre GPx y GR en este momento.

Realizando el análisis por grupos, encontramos:

- ◆ **Grupo 1**: Relación significativa e inversa entre GPx en relación a proteínas y creatinina, $r=-0.444$, $p=0.034$, y en la misma dirección, GPx en relación a proteínas y GR, $r=-0.429$ $p=0.041$.
- ◆ **Grupo 2**: GPx en relación a proteínas se asocia a creatinina, $r=0.495$ $p=0.012$.
- ◆ **Grupo 3**: Se pierde correlación entre GPx y creatinina, sin embargo encontramos correlación positiva significativa entre GPx en relación a proteínas y HDL, $r=0.495$ $p=0.012$.

TABLAS

Tabla de estudio preliminar. Comparación de parámetros de estrés oxidativo y lipídico entre grupo de pacientes trasplantados (n=67) y controles sanos (n=14)

	Grupo trasplante	Grupo control	Significación
Apolipoproteína A	168.544	161.848	0.32
Apolipoproteína B	102.282	185.354	0.014
Colesterol total (mg/dl)	236.062	193.603	0.67
HDL (mg/dl)	68.282	63.301	0.11
LDL (mg/dl)	161.373	125.485	0.002
Triglicéridos (mg/dl)	133.829	81.364	0.000
Creatinina (mg/dl)	1.56	0.890	0.001
Ácido úrico (mg/dl)	7.27	6.246	0.19
Catalasa (KU/mg prot x 10 ⁻²)	7.494	6.792	0.10
SOD (U/mg/prot)	169.283	180.988	0.36
MDA (µmol/L)	2.565	1.444	0.012
MDA (pmol/mg prot)	36.015	9.980	0.003
MDA (mmol/mg LDL)	1.718	1.227	0.15
GPx (µmol/L)	136.766	143.280	0.30
GPx(nmol/mg prot)	1.932	1.868	0.38
GPx (nmol/mg LDL)	90.959	117.77	0.06
Glutation reductasa	3.963	3.460	0.15

Tabla 1. Características del donante y del trasplante

	<i>Media</i>	<i>Desviación típica</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>	<i>Mediana</i>
Edad donante	41.94	19.830	4	78	42.50
Isquemia fría (horas)	16.62	4.877	7	26	17.00

Tabla 2. Características del receptor.

	<i>Media</i>	<i>Desviación típica</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>	<i>Mediana</i>
Edad receptor	46.73	13.787	20	73	48.00
Tiempo en diálisis (meses)	37.62	49.862	2	228	20.50
Tiempo de trasplante (años)	5.036	4.292	1	18	3.00

Tabla 3. Porcentaje de enfermos según número de incompatibilidades

Número de incompatibilidades	Frecuencia	Porcentaje
1	2	2.8
2	7	9.9
3	17	23.9
4	27	38
5	16	22.5
6	1	1.4
7	1	1.4

Tabla 4. Diferencias en la actividad catalasa según hábito tabáquico

	Frecuencia	Media Catalasa KU/mg prot 10⁻²	Desviación típica	Mínimo	Máximo	Significación
Fumador	18	6.883	1.210	5.060	11.409	p=0.057
No fumador	36	7.669	1.308	4.665	8.612	
Exfumador	20	7.734	1.074	5.885	11.145	

Tabla 5. Diferencias en GPx en cuanto a haber padecido infección por CMV

	Media GPx $\mu\text{mol/l}$	Desviación típica	Mínimo	Máximo	Significación
CMV	122.615	14.940	101.028	144.095	p=0.047
No CMV	140.984	26.605	88.650	237.475	

Tabla 6. Diferencias en GR en cuanto a haber padecido infección por CMV

	Media GR $\text{mmoles} \times 10^3 / \text{mg}$	Desviación típica	Mínimo	Máximo	Significación
CMV	5.334	1.142	3.140	6.760	p=0.002
No CMV	3.934	1.238	1.550	7.320	

Tabla 7. Diferencias en GR según haber presentado FRI

	Frecuencia	Media GR mmolesx10 ³ /mg	Desviación típica	Mínimo	Máximo	Significación
FRI	22	4.619	1.370	2.810	7.320	p=0.028
No FRI	52	3.891	1.238	1.550	7.003	

Tabla 8. Datos de GPx según haber presentado FRI

	Frecuencia	Media GPx μmol/l	Desviación típica	Mínimo	Máximo	Significación
FRI	22	133.520	19.045	97.204	172.673	p=0.213
No FRI	52	141.763	28.086	88.650	237.475	

Tabla 9. Diferencias de GPx según presentar o no microalbuminuria.

Microalbu- minuria	N	Media GPx (μ mol/l)	Desviación típica	Mínimo	Máximo	Significación
No	41	145.778	27.725	99.416	237.475	p=0.010
Sí	34	130.341	21.525	88.650	237.475	
		Media GPx/prot (nmol(mg prot))				
No	41	2.418	0.737	1.443	4.370	p=0.002
Sí	34	1.949	0.497	1.295	3.450	

Tabla 10. Función renal y microalbuminuria

	Microalbu minuria	N	Media	Desviación típica	Mínimo	Máximo	Significación
creatinina	NO	41	1.339	0.414	0.58	2.40	p= 0.001
	SI	34	1.648	0.332	1.03	2.38	
Cockroft	NO	41	66.630	22.677	29.28	133.69	p=0.011
	SI	34	54.138	17.595	31.03	101.00	
MDRD	NO	41	51,045	18.667	22.90	112,33	p=0.902
	SI	34	50,544	15.950	26.14	92,78	

Tabla 11. Parámetros de estrés oxidativo en pacientes con microalbuminuria según tratamiento con ARA II

	ARA II	Media	Desviación típica	Mínimo	Máximo	Significación
catalasa KU/mg prot*10-2	NO	7.677	1.662	5.543	11.409	p=0.367
	SI	7.270	0.763	6.221	8.787	
SOD U/mg prot	NO	183.068	50.606	112.646	306.935	p=0.329
	SI	166.828	44.677	72.340	258.439	
Mda micromoles/l	NO	2.227	1.011	.994	4.615	p=0.842
	SI	2.164	.8160	1.077	3.667	
Mda pmoles/mg proteínas	NO	32.466	13.304	14.093	62.709	p=0.902
	SI	33.090	15.870	14.173	66.546	
Mda mmoles/mg LDL	NO	1.577	0.845	.632	3.515	p=0.375
	SI	1.354	0.569	.468	2.382	
GPX micromoles/l	NO	127.078	18.904	88.650	152.145	p=0.385
	SI	133.605	23.993	105.455	202.860	
GPX nmoles/mg prots	NO	1.900	0.471	1.295	3.450	p=0.586
	SI	1.996	0.533	1.361	3.010	
GPX nmoles/mg LDL	NO	89.422	27.168	59.140	151.667	p=0.628
	SI	84.734	28.725	49.519	153.206	
Glutation red	NO	4.0434	1.547	1.550	7.320	p=0.941
	SI	4.079	1.197	1.800	5.804	

Tabla 12. Diferencia de actividad SOD en pacientes con y sin tratamiento con hipotensores

	Frecuencia	Media SOD (U/mg prot)	Desviación típica	Mínimo	Máximo	Significación
No hipotensores	16	188.451	49.536	102.960	306.935	p=0.042
Sí hipotensores	59	164.377	38.865	72.340	258.439	

Tabla 13. Diferencia de actividad SOD en pacientes tratados o no con ARA II y que no presentan microalbuminuria.

	N	Media SOD	Desviación típica	Mínimo	Máximo	Significación
ARA II	5	195.242	36.640	137.262	236.010	p=0.050
No ARA II	36	160.807	35.515	102.96	246.50	

Tabla 14. Parámetros de estrés oxidativo y tratamiento anticalcineurínico (IC)

	IC	Media	Desviación típica	Mínimo	Máximo	Significación
SOD	TRL	173.172	40.404	72.340	258.439	p=0.413
	CsA	165.100	44.450	102.96	306.935	
MDA	TRL	2.153	0.874	0.878	4.013	p=0.318
	CsA	2.365	0.953	0.994	4.615	
MDA/prot	TRL	37.224	19.996	11.804	82.110	p=0.540
	CsA	34.780	12.724	14.093	62.709	
GPx	TRL	135.407	21.235	88.650	189.980	p=0.222
	CsA	142.847	30.847	95.393	237.475	
GPx/prot	TRL	2.273	0.735	1.295	4.370	p=0.340
	CsA	2.122	0.600	1.433	4.120	
GR	TRL	3.992	1.195	1.550	6.690	p=0.421
	CsA	4.237	1.432	1.800	7.320	
Catalasa	TRL	7.743	1.073	5.543	11.409	p=0.052
	CsA	7.181	1.392	4.665	11.145	

Tabla 15. Función renal y tratamiento anticalcineurínico.

	IC	Media	Desviación típica	Mínimo	Máximo	Significación
Creatinina (mg/dL)	TRL	1.443	0.3764	0.90	2.34	p=0.412
	CSA	1.522	0.4435	0.58	2.40	
<hr/>						
Cockroft (ml/min)	TRL	64.919	22.542	31.03	133.69	p=0.078
	CSA	56.202	19.027	29.28	106.46	
<hr/>						
MDRD (ml/min)	TRL	49.631	19.194	22.90	112.33	p=0.520
	CSA	52.249	15.049	27.08	96.49	

Tabla 16. Diferencias de Apo B y LDL en pacientes tratados o no con fármacos antihipertensivos

	Frecuencia	Media Apo B(mg/dL)	Desviación típica	Mínimo	Máximo	Significación
No hipotensores	16	85.752	26.129	49.16	146.40	p=0.025
Sí hipotensores	59	100.374	21.702	34.28	151.13	
		Media LDL (mg/dL)				
No hipotensores	16	124.136	43.830	68.25	234.36	p=0.011
Sí hipotensores	59	159.134	48.160	45.34	277.57	

Tabla 17. Parámetros lipídicos según el tratamiento anticalcineurínico establecido.

	IC	Media	Desviación típica	Mínimo	Máximo	Significación
ApoA	TRL	152.877	28.813	84.35	213.33	p=0.023
	CsA	169.797	34.132	98.39	246.87	
ApoB	TRL	91.134	25.506	34.28	151.13	p=0.012
	CsA	104.635	18.122	72.29	146.40	
Colesterol total	TRL	212.765	53.699	113.15	354.34	p=0.007
	CsA	245.443	47.465	151.34	355.63	
HDL	TRL	61.911	15.972	27.66	105.52	p=0.033
	CsA	70.588	18.635	36.94	110.63	
LDL	TRL	137.453	49.571	45.34	277.57	p=0.005
	CsA	168.808	43.407	83.93	268.53	
Triglicéridos	TRL	131.279	48.362	60.51	281.77	p=0.922
	CsA	130.282	37.080	60.41	229.95	

Tabla 18. Tabla de correlaciones entre características de donante - receptor y perfil oxidativo

	edad	edad donante	años de Tx	SOD	Mda	GPX	GPX /prot	GR	creatinina
edad									
edad donante	,476(**)								
años de Tx	,019								
SOD	-,196	-,059	-,016						
Mda	,189	-,025	,046	-,167					
GPX	,218	-,277(*)	,139	-,084	,200				
GR	,066	,238(*)	-,188	,139	-,099	-,294(*)	,099		
Creatinina	,072	,475(**)	-,007	,011	-,037	-,319(**)	-,256(*)	,074	

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

* La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

Tabla 19. Tabla de correlaciones entre características de donante - receptor y perfil lipídico

	edad	edad donante	años de Tx	apo A	apo B	CT	HDL	LDL	TGL	creatinina
edad										
edad donante	,477(**)									
años de Tx	,019									
Apo A	,068	-,194	,394(**)							
Apo B	,235(*)	,207	,276(*)							
CT	,257(*)	,090	,348(**)							
HDL	,191	-,120	,308(**)							
LDL	,286(*)	,098	,353(**)							
Triglicéridos	-,033	,052	,051							
creatinina	,072	,474(**)	-,007	-,097	,382(**)	,327(*)	-,093	,367(**)		

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

* La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

Tabla 20. Correlaciones entre perfil lipídico y perfil oxidativo.

	Apo A	Apo B	CT	HDL-col	LDL-col	TGL	SOD	Mda	GPX	GR
apo A										
Apo B										
CT										
HDL-col										
LDL-col										
TGL										
SOD	-,250(*)	-,170	-,233(*)	-,243(*)	-,206	,043				
MDA	,117	,007	,107	,161	-,024	-,003	-,167			
GPX	,285(*)	,047	,167	,318(**)	,072	-,059	-,084	,200		
GR	-,256(*)	,082	-,023	-,250(*)	,022	,174	,139	-,099	-,235(*)	

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

* La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

Tabla 21. Análisis bivariante IMT y variables del receptor

Variable	Kruskal-Wallis
Edad	p=0.006
Años de trasplante	p=0.469
Meses de diálisis	p=0.725

Variable	Significación*
Sexo	p=0.103
Fumador	p=0.095
FRI	p=0.552
CMV	p ≈ 1
Necesidad de hipotensores	p=0.030
Microalbuminuria	p=0.589
Tratamiento anticalcineurínico	p=0.861

* Chi cuadrado o estadístico de Fisher según corresponda.

Tabla 22. Análisis bivariante: lesiones de ateroma y variables del receptor.

Variable	Kruskal-Wallis
Edad	$p < 0.01$
Años de trasplante	$p = 0.560$
Meses de diálisis	$p = 0.847$

Variable	Significación*
Sexo	$p = 0.638$
Fumador	$p = 0.615$
FRI	$p = 0.603$
CMV	$p = 0.725$
Nº hipotensores	$p = 0.368$
Microalbuminuria	$p = 0.810$
Tratamiento anticalcineurínico	$p = 0.233$

* Chi cuadrado o estadístico de Fisher según corresponda.

Tabla 23. Análisis bivariante: calcificación y variables del receptor

Variable	Kruskal- Wallis
Edad	$p < 0.01$
Años de trasplante	$p = 0.297$
Meses de diálisis	$p = 0.241$

Variable	Significación*
Sexo	$p = 0.814$
Fumador	$p = 0.147$
FRI	$p = 0.299$
CMV	$p = 0.493$
Nº hipotensores	$p = 0.370$
Microalbuminuria	$p = 0.353$
Tratamiento anticalcineurínico	$p = 0.343$

* Chi cuadrado o estadístico de Fisher según corresponda.

Tabla 24. Análisis bivalente: estenosis y variables del receptor

Variable	Kruskal-Wallis
Edad	$p < 0.01$
Años de trasplante	$p = 0.560$
Meses de diálisis	$p = 0.847$

Variable	Significación*
Sexo	$p = 0.836$
Fumador	$p = 0.088$
FRI	$p = 0.280$
CMV	$p \approx 1$
Nº hipotensores	$p = 0.228$
Microalbuminuria	$p = 0.095$
Tratamiento anticalcineurínico	$p = 0.920$

* Chi cuadrado o estadístico de Fisher según corresponda.

Tabla 25. Concentraciones de lipidemia y lesiones de ateroma en carótida.

	Lesión ateroma	Media	Desviación tip	Significación
Apo A	No	151.663	31.658	p=0.103
	Sí	163.854	29.990	
Apo B	No	86.156	21.835	p=0.002
	Sí	103.060	21.318	
Colesterol total	No	201.425	41.350	p=0.001
	Sí	241.150	52.114	
HDL	No	59.815	116.119	p=0.030
	Sí	68.663	16.963	
LDL	No	125.391	34.606	p<<0.01
	Sí	166.619	49.955	
Triglicéridos	No	131.990	45.957	p=0.810
	Sí	129.444	42.325	

Tabla 26. Concentraciones de lipidemia y calcificaciones carotídeas.

	Calcificación	Media	Desviación tip	Significación
Apo A	No	152.464	32.139	p=0.102
	Sí	164.418	29.415	
Apo B	No	90.320	24.847	p=0.038
	Sí	101.560	20.268	
Colesterol total	No	208.909	50.264	p=0.012
	Sí	239.184	49.525	
HDL	No	60.426	16.542	p=0.031
	Sí	69.050	16.738	
LDL	No	132.510	43.729	p=0.004
	Sí	165.085	48.251	
Triglicéridos	No	135.377	51.500	p=0.393
	Sí	126.553	36.172	

Tabla 27. Función renal en pacientes e IMT carotídea

IMT		Media	Desviación típica	Significación
Creatinina	IMT<1mm	1,4539	0.40922	p=0.122
	IMT≥1 mm	1,6247	0.33746	
Cockroft	IMT<1mm	62,1916	22.27841	p=0.163
	IMT≥1 mm	53,9712	16.09868	
MDRD	IMT<1mm	51,1462	18,65243	p=0.873
	IMT≥1 mm	50,3696	12,43921	

Tabla 28. Función renal y lesiones de ateroma carotídeas

Lesiones de ateroma		Media	Desviación típica	Significación
Creatinina	No	1,3550	0.30892	p=0.018
	Si	1,5800	0.42539	
Cockroft	No	67,5825	24.49609	p=0.019
	Si	55,7318	17.64572	
MDRD	No	50,5337	14,84946	p=0.868
	Si	51,2339	18,86356	

Tabla 29. Función renal y calcificaciones carotídeas.

Calcificaciones		Media	Desviación típica	Significación
Creatinina	No	1,4119	0.33739	p=0.122
	Si	1,5576	0.43308	
Cockroft	No	65,7297	23.98008	p=0.051
	Si	56,0217	17.89256	
MDRD	No	51,4223	18,07099	p=0.844
	Si	50,6087	16,94370	

Tabla 30. Función renal y estenosis carotídea.

Estenosis		Media	Desviación típica	Significación
Creatinina	No	1,4898	0.40561	p=0.914
	Si	1,5004	0.39260	
Cockroft	No	62,2896	23.30660	p=0.293
	Si	56,8489	16.84594	
MDRD	No	50,8191	18,09473	p=0.926
	Si	51,2145	16,26973	

Tabla 31. Prueba para muestras relacionadas. Parámetros de estrés oxidativo tras 6 meses sin tratamiento.

	Tiempo	Media	Desviación típ.	Significación
Catalasa KU/mg prot * 10 ⁻²	Basal	7.44779	1.414320	p=0,829
	T1	7,41203	0,916119	
SOD U/mg prot	Basal	166.75189	41.319788	p=0,678
	T1	168,43932	34,282671	
MDA µmol/l	Basal	2.28445	1.050911	p=0,954
	T1	2,29550	0,934037	
MDA pmol/mg prot	Basal	31.71479	14.287564	p<<0,01
	T1	53,23263	23,053532	
GPx µmol/l	Basal	137.18379	26.154663	p=0,394
	T1	141,09768	22,148414	
GPx nmol/mg prot	Basal	1.88834	0.327653	p<<0,01
	T1	3,26553	0,658933	
GR mmolesx10 ³ /mg	Basal	3.8371	1.17175	p=0,027
	T1	4,36018	1,316010	

Tabla 32. Prueba para muestras relacionadas. Parámetros lipídicos tras 6 meses sin tratamiento.

	Tiempo	Media	Desviación típ.	Significación
Apolipoproteína A (mg/dL)	Basal	166.5149	28.31983	p=0,024
	T1	156.4244	32.04082	
Apolipoproteína B (mg/dL)	Basal	95.9595	19.18508	p<<0,01
	T1	86.0215	15.00913	
Colesterol total (mg/dL)	Basal	222.1405	43.67976	p=0,020
	T1	208.1074	30.98272	
HDL (mg/dL)	Basal	66.0377	17.30526	p=0,012
	T1	59.2018	15.91014	
LDL (mg/dL)	Basal	147.9862	37.97822	p<<0.01
	T1	119.4787	25.58302	
Triglicéridos (mg/dL)	Basal	136.8662	39.41436	p=0,031
	T1	120.4697	40.89958	

Tabla 33. Función renal Basal y T1 (6 meses)

	Tiempo	Media	Desviación típ.	Significación
Creatinina (mg/dL)	Basal	1.451	0.358	p=0.841
	T1	1.457	0.406	
Cockroft-Gault (ml/min)	Basal	64.619	21.318	p=0.277
	T1	63.372	20.784	
MDRD (ml/min)	Basal	48.692	18.245	p=0.433
	T1	47.840	17.271	

Tabla 34. Parámetros de oxidación en grupo 1 (estatinas) en los primeros 6 meses de tratamiento.

Perfil oxidativo		Media	Desviación tip.	Significación
catalasa KU/mg prot*10 ⁻²	Basal	7.632	1.343	p=0,828
	Post-estatinas	7,680	1,025	
SOD U/mg prot	Basal	176.291	47.129	p=0,120
	Post-estatinas	163,099	32,255	
Mda micromoles/l	Basal	2.048	0.7185	p=0,009
	Post-estatinas	2,785	1,0122	
Mda pmoles/mg proteínas	Basal	30.261	12.647	p<<0.01
	Post-estatinas	64,152	25,092	
GPX micromoles/l	Basal	137.830	28.895	p=0,726
	Post-estatinas	135,170	14,893	
GPX nmoles/mg prots	Basal	1.999	0.415	p<<0.01
	Post-estatinas	3,082	0,457	
Glutation red	Basal	4.115	1.375	p=0,449
	Post-estatinas	4,320	1,352	

Tabla 35. Parámetros lipídicos en grupo 1 (estatinas) en los primeros 6 meses de tratamiento.

Perfil lipídico		Media	Desviación típica.	Significación
colesterol total	Basal	264.965	53.809	p=0,001
	Post-estatinas	229.060	36.296	
apolipoprot A	Basal	171.970	32.959	p=0,447
	Post-estatinas	178.190	38.887	
apolipoprot B	Basal	115.231	19.041	p<<0.01
	Post-estatinas	88.618	15.639	
HDL-col	Basal	72.011	18.520	p=0,960
	Post-estatinas	71.791	17.216	
LDL-col	Basal	191.53	50.044	p<0.01
	Post-estatinas	136.704	25.843	
triglicéridos	Basal	129.285	49.325	p=0,393
	Post-estatinas	123.355	42.963	

Tabla 36. Función renal en grupo 0 (control) y 1 (estatinas) en el momento basal

	Grupo	N	Media	Desviación típica	Significación
Creatinina	0	37	1.426	0.326	p=0.117
	1	21	1.616	0.480	
Cockroft	0	37	66.482	20.251	p=0.003
	1	21	50.570	15.829	
MDRD	0	37	48.386	18.920	p=0.396
	1	21	52.478	14.587	

Tabla 37. Función renal en todos los pacientes (grupo 0 y 1 de T0 (basal) a T1 (6 meses))

	N	Media	Desviación típica	Significación
Creatinina	58	1.495	0.395	p=0.143
Creatinina.1	58	1.530	0.426	
Cockroft	58	60.721	20.160	p=0.023
Cockroft.1	58	58.303	19.637	
MDRD	58	49,868	17,455	p=0.259
MDRD.1	58	48,373	15,992	

Tabla 38. Cambio de creatinina de T0 (basal) a T1 (6 meses) según grupo

	Tiempo	Media	Desviación Típica	Significación
Grupo 0	Creatinina	1.451	0.358	p=0.841
	Creatinina.1	1.457	0.406	
Grupo 1	Creatinina	1.616	0.480	p=0.053
	Creatinina.1	1.704	0.456	

Tabla 39. Correlación GPx, creatinina, GR y HDL en T1 (tras 6 meses)

	Creatinina.1	GPx.1	GPx/prot.1	GR	HDL
Creatinina.1					
GPx.1	-.216*				
GPx/prot	-,286*	,816**			
HDL	-.069	.055	-.021	.090	

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

* La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

Tabla 40. Comportamiento de las proteínas en los 3 grupos de T0 a T1

	grupo	Media	Desv. típ.	Significación
[proteínas1]	1	4,448	0,447	p=0.195
	2	4,343	0,410	
	3	4,438	0,453	
[proteínas2]	1	4,367	0,388	
	2	4,483	0,532	
	3	4,491	0,525	

Tabla 41. MDA y MDA/prot en grupo 1 (estatinas) en los tres momentos del estudio.

	Tiempo	Media	Desviación típica	Significación
MDA	T0	2.113	0.716	p=0.002
	T1	2.835	0.966	
	T2	1.950	0.607	
MDA/prot	T0	31.334	12.753	p<<0.001
	T1	65.323	23.922	
	T2	45.915	16.525	

Tabla 42. GPx en el grupo 1 en los tres momentos del estudio

	Tiempo	Media	Desviación típica	Significación
GPx	T0	139.661	29.819	p=0.016
	T1	134.315	15.391	
	T2	140.788	22.216	

Tabla 43. Perfil lipídico en el grupo 1 (estatinas) en los tres momentos del estudio.

	Tiempo	Media	Desviación típ	Significación
Apo A	T0	172.547	34.685	p=0.265
	T1	178.676	37.748	
	T2	163.779	20.195	
Apo B	T0	114.309	19.825	p<<0.01
	T1	88.029	14.602	
	T2	79.042	19.101	
Colesterol total	T0	264.005	56.628	p<<0.01
	T1	226.627	35.614	
	T2	209.074	40.855	
LDL	T0	189.924	51.905	p<<0.01
	T1	135.235	25.205	
	T2	115.208	34.059	
HDL	T0	72.894	19.229	p=0.893
	T1	71.677	17.019	
	T2	70.467	15.254	
Triglicéridos	T0	125.168	49.202	p=0.708
	T1	122.450	45.057	
	T2	117.393	35.882	

Tabla 44. Función renal en el grupo 1

	Tiempo	Media	Desviación típ	Significación
Creatinina (mg/dl)	T0	1.570	0.473	p=0.572
	T1	1.661	0.457	
	T2	1.551	0.454	
Cockroft (m/min)	T0	51.561	16.004	p=0.156
	T1	47.270	12.511	
	T2	57.438	23.376	
MDRD (ml/min/1.73m²)	T0	53.825	14.698	p=0.206
	T1	54.304	18.036	
	T2	46.455	17.148	

Tabla 45. Perfil oxidativo de T1 a T2 (8 meses) en grupo 2 (estatinas y NAC)

	Tiempo	Media	Desviación típ.	Significación
Catalasa	T1	7.452	0.838	p=0.715
	T2	7.390	0.707	
SOD	T1	164.283	32.244	p=0.339
	T2	162.053	27.540	
MDA	T1	2.449	0.940	p=0.669
	T2	2.352	0.601	
MDA/prot	T1	56.793	22.647	p=0.614
	T2	54.009	17.733	
GPx	T1	134.512	21.131	p=0.289
	T2	139.802	20.058	
GPx/prot	T1	3.135	0.658	p=0.882
	T2	3.162	0.610	
GR	T1	4.234	1.402	p=0.494
	T2	4.388	1.388	
Nitratos	T1	27.268	5.977	p=0.986
	T2	27.258	5.515	

Tabla 46. Perfil lipídico en el grupo 2 (T1-T2)

	Tiempo	Media	Desviación típ	Significación
Apo A	T1	158.850	30.862	p=0.327
	T2	164.633	30.948	
Apo B	T1	86.478	14.231	p<<0.01
	T2	68.511	15.537	
Colesterol total	T1	211.037	32.572	p=0,001
	T2	186.874	34.718	
LDL	T1	123.855	26.265	p<<0,01
	T2	95.599	25.750	
HDL	T1	62.890	13.900	p=0.037
	T2	68.189	18.723	
Triglicéridos	T1	107.718	29.688	p=0.058
	T2	99.340	25.129	

Tabla 47. Función renal en el grupo 2 (T1-T2)

	Tiempo	Media	Desviación tip	Significación
Creatinina (mg/dL)	T1	1.42	0.393	p=0.357
	T2	1.37	0.448	
Cockroft (ml/min)	T1	63.968	19.363	p=0.167
	T2	66.408	20.542	
MDRD (ml/min/1.73)	T1	53.455	15.084	p=0.067
	T2	56.619	17.827	

Tabla 48. Perfil oxidativo en grupo 3 (NAC) de T1 a T2

	Tiempo	Media	Desviación típ.	Significación
Catalasa	T1	7.401	0.837	p=0.570
	T2	7.303	0.698	
SOD	T1	166.043	38.136	p=0.181
	T2	171.322	36.286	
MDA	T1	2.307	0.900	p=0.782
	T2	2.472	0.938	
MDA/prot	T1	52.693	21.455	p=0.773
	T2	51.071	16.251	
GPx	T1	149.811	20.352	p=0.230
	T2	143.435	22.068	
GPx/prot	T1	3.405	0.560	p=0.205
	T2	3.251	0.715	
GR	T1	4.635	1.172	p=0.032
	T2	4.135	1.330	
Nitratos y nitritos	T1	166.043	38.136	p=0.181
	T2	171.322	36.286	

Tabla 49. Perfil lipídico en grupo 3 (T1-T2)

	Tiempo	Media	Desviación típ	Significación
Apo A	T1	141.990	30.753	p=0.077
	T2	154.642	30.672	
Apo B	T1	81.455	20.552	p=0.607
	T2	79.750	20.130	
Colesterol total	T1	198.816	40.203	p=0.278
	T2	207.203	43.710	
LDL	T1	112.577	32.873	p=0.376
	T2	118.181	34.506	
HDL	T1	54.831	16.261	p=0.013
	T2	61.818	16.750	
Triglicéridos	T1	132.021	49.982	p=0.331
	T2	121.666	40.417	

Tabla 50. Función renal en el grupo 3 (T1-T2)

	Tiempo	Media	Desviación tip	Significación
Creatinina (mg/dL)	T1	1.411	0.391	p=0.043
	T2	1.308	0.300	
Cockroft (ml/min)	T1	64.630	24.812	p=0.012
	T2	69.246	25.780	
MDRD (ml/min/1.73)	T1	55.340	16.133	p=0.042
	T2	58.928	15.297	

DISCUSIÓN

La existencia de desequilibrio entre factores prooxidantes y antioxidantes, denominado estrés oxidativo, está siendo investigada en la enfermedad renal crónica desde sus estadios iniciales (Kaysen y Eiserich 2004) hasta los finales (Galle 2001; Vaziri 2004), y más allá en las técnicas de depuración extrarrenal (Locatelli y cols 2004) y trasplante renal, situación en la que se centra el estudio actual.

El estudio y control del aumento de estrés oxidativo podría permitir el enlentecimiento en la progresión de la aterosclerosis y por tanto de la patología cardiovascular. En el caso de la enfermedad renal y trasplante renal, queda por demostrar si su control tendría además efecto beneficioso sobre el deterioro de la función renal y NCI.

Previo al estudio del que es objeto este trabajo realizamos uno preliminar para determinar el perfil oxidativo de la población trasplantada frente a un grupo control sano, estudiándose 67 pacientes trasplantados renales y 14 controles sanos, con los mismos criterios de inclusión y exclusión del actual. En dicho estudio se objetivó un aumento significativo de peroxidación lipídica determinada por MDA ($p=0.012$) y un descenso de actividad antioxidante (no significativo), representada por GPx ($p=0.30$) en los pacientes trasplantados frente a los controles sanos (Moreno y cols 2005), coincidiendo con otros grupos de trabajo como Pérez Fernández y cols (2002) que describen un aumento de MDA eritrocitario en pacientes trasplantados renales frente a grupo control, mientras que la actividad antioxidante enzimática varía según la etapa postransplante estudiada, presentando un “despertar” antioxidante en el postransplante precoz (Pérez Fernández y cols 2002; De Vega 2003) para luego estabilizarse (Cristol y cols 1998).

1. COMENTARIOS SOBRE ESTUDIO BASAL.

El estudio de las características de donante y receptor, y de aquellos factores de la evolución en el trasplante renal, en relación con parámetros de estrés oxidativo y lipídico, nos puede permitir conocer aquéllos que serían susceptibles de actuación.

1.1. Descriptivos

1.1.1. Características del donante

La *edad media de donantes* fue 41.94 ± 19.83 años, y se observa un predominio de donantes varones (58.7%). La oxidación está estrechamente relacionada con la edad y

el envejecimiento celular de forma fisiológica (Troen 2003), a mayor edad del donante, la posibilidad de daños oxidativos preexistentes está presente.

La *causa de exitus* más frecuente en el donante es la enfermedad cerebrovascular y traumatismo craneoencefálico frente a otras, y entre ellas actualmente apenas existe diferencia, con una tendencia en los últimos años a un incremento de la enfermedad cerebrovascular, debido al aumento de donantes añosos (Oppenheimer y cols 2004). En nuestra muestra estudiada encontramos el mismo porcentaje de donantes fallecidos por ECV que por TCE, 46.7 % en ambos casos.

1.1.2. Características del receptor

En el caso del receptor, la *media de edad de los pacientes* estudiados fue 46.73 ± 13.78 años y la distribución de pacientes según *sexo* fue muy similar, siendo mujeres el 54.7%, y varones el 45.3 %. La puntualización que se podría hacer en cuanto al sexo, tanto de donante y sobre todo de receptor, es la existencia de estudios *in vitro* de una posible capacidad antioxidante intrínseca de los estrógenos y de los beneficios de terapia antioxidante durante la menopausia, lo que llevaría a pensar en una protección mayor en el sexo femenino (Pansini y cols 2005).

Estudiando en nuestros enfermos la correlación entre las edades de donante y receptor podemos observar una correlación positiva ($r=0.476$) y significativa ($p<0.01$), indicando una buena coordinación entre la edad del donante y del receptor, siguiendo la tendencia actual ante la mayor frecuencia de donantes añosos (Oppenheimer y cols 2004). Por otra parte observamos la asociación entre edad del donante y creatinina sérica del receptor, presentándose cifras mayores de creatinina sérica en edad de donante mayor ($r=0.475$, $p<<0.01$), ya que la edad del donante se considera un predictor importante de NCI (Oppenheimer y cols 2004).

La *causa más frecuente de enfermedad renal crónica* de los países desarrollados en el momento actual es la diabetes mellitus, por el aumento de incidencia de esta patología y, en concreto, el aumento diagnóstico de la diabetes mellitus tipo 2 en una población con una edad media cada vez mayor (US Renal Data System 1999; García López y cols 1999). La población trasplantada a pesar de la tendencia a una edad media mayor, sigue siendo más joven que el total de los enfermos renales crónicos por lo que la

distribución etiológica es distinta. En los estudios realizados sobre estrés oxidativo en trasplante se excluye la diabetes mellitus para descartar su efecto oxidativo intrínseco. En nuestro estudio el grupo de patología predominante fue la glomerular, coincidiendo con la mayoría de los grupos de trasplante, seguida de la intersticial.

La proporción de individuos que habían sido tratados con cada una de las *técnicas de hemodiálisis* fue en el caso de hemodiálisis convencional 89.3%, y diálisis peritoneal 10.7%. La tendencia actual en centros con unidad de DP, dado que no existe evidencia de que una técnica sea más efectiva que la otra (Prichard 2000), es una proporción HD/DP, 60%/40%. En el grupo estudiado habría que tener varias consideraciones ante la desproporción de ambas técnicas, la primera de ellas sería que el área de trasplante de Granada incluía en el momento del estudio dos provincias con funcionamiento distinto del programa de DP, y segundo, la no existencia de una unidad de diálisis peritoneal completamente dotada de personal en los años previos al estudio.

En hemodiálisis los factores de desequilibrio oxidativo son: un aumento de factores prooxidantes, frente a disminución de capacidad antioxidante enzimática y no enzimática. En el caso de la diálisis peritoneal, el aumento de AGEs sería otro factor más añadido al proceso de inflamación crónica, la edad o la incidencia de diabetes mellitus, y que produce daño peritoneal con alteración de ultrafiltración (Tauer y cols 2003).

El *tiempo medio de depuración extrarrenal* en nuestros enfermos fue de 37.62 ± 49.86 meses. Cada vez se van obteniendo más datos de cómo la exposición a membranas no biocompatibles y líquidos de diálisis no ultrapuros, junto con factores como la elevada incidencia de diabetes o la edad más elevada y el estado inflamatorio crónico, ejercen un aumento de actividad prooxidante y presentan descenso de capacidad antioxidante enzimática y no enzimática (Locatelli y cols 2003). Este efecto prolongado en el tiempo aumenta la morbimortalidad de los pacientes en diálisis.

La relación entre el *número de incompatibilidades HLA* y estrés oxidativo en trasplante no está descrita. Nuestro grupo presentaba mayor porcentaje de individuos con 4 incompatibilidades (38%) y 3 incompatibilidades (23.9%), sin presentar relación con parámetros oxidativos, ni lipídicos.

El *tiempo medio de trasplante* fue de 5.036 años (\pm 4.292). Nuestros pacientes presentaban un tiempo de trasplante mayor de un año, debido a que nuestro objetivo era estudiar el perfil oxidativo plasmático dentro de un periodo de estabilidad. En el primer año postrasplante es cuando ocurren la mayoría de las incidencias infecciosas e inmunológicas (función retardada del injerto, rechazo agudo, infección por CMV, hiperglucemia,...) que pueden desestabilizar al paciente trasplantado, sin embargo se tuvieron en cuenta, puesto que son factores de riesgo participantes en el desarrollo posterior de la NCI (Sola y cols 2004; Pallardó y cols 2004).

La *función retardada del injerto* depende entre otros factores de tiempos óptimos de isquemia fría (la media de nuestros pacientes fue de 16.62 ± 4.87 horas), reanastomosis, masa corporal del receptor, edad del donante, donación en parada cardio-respiratoria y tratamiento de inducción. La incidencia de FRI en el estudio actual estaba en un 29.7%, coincidiendo con la existente en España entre 1990-1994-1998 (30.4%-30.8%-29.2%, respectivamente) en un estudio multicéntrico realizado por Sola y cols (2004) en el contexto del estudio de factores de riesgo que influyen en la NCI.

Se observa con el tiempo un descenso en la incidencia del *rechazo agudo*, sobre todo debido a la introducción de nuevos protocolos inmunosupresores. Una serie española de 3356 trasplantados renales mostrada por Pallardó y cols (2004) describe un descenso de incidencia de rechazo agudo desde 1990 (38%) a 1998 (25.1%). Nuestro grupo de pacientes presentaba un porcentaje de rechazo agudo de 16%, teniendo en cuenta el rango de época de trasplante comprendido entre 1985 y 2003, resultaría llamativo este dato, sin embargo, hay que puntualizar que sólo 3 individuos fueron trasplantados en la década de los 80.

1.2. Comentarios a las diferencias en perfil oxidativo y lipídico atendiendo a las características de donante y receptor.

El objetivo de este análisis es determinar qué factores de donante y receptor, y de la evolución del trasplante pueden producir un aumento de estrés oxidativo.

Los parámetros de estrés oxidativo y lipídico no mostraron diferencias al considerar el *sexo* del receptor en nuestros pacientes. Se describe un efecto protector de los estrógenos en procesos degenerativos neurológicos como la enfermedad de Parkinson,

debido entre otras causas a las propiedades antioxidantes de los mismos (Sawada y Shimohama 2003).

Tampoco se mostraron diferencias al considerar la *causa de exitus del donante, causa de enfermedad renal crónica, tipo de diálisis y número de incompatibilidades*, no hemos hallado referencias en la literatura en estos aspectos en cuanto al trasplante. Sí se describen procesos específicos de oxidación y perfil lipídico en las distintas etiologías de la enfermedad renal (Wardle 2005), pero no se tienen en cuenta en el estudio del paciente una vez trasplantado. Algunos de los estudios realizados sobre estrés oxidativo en trasplante renal especifican la etiología de la ERC en los pacientes trasplantados (Vural y cols 2005), quizá sea un dato menos relevante debido a la poca influencia que pueda ejercer sobre el estrés oxidativo, frente a otros factores dominantes, como la insuficiencia renal ya establecida asociada al riesgo cardiovascular o el tratamiento sustitutivo.

El estudio del *rechazo agudo* y estrés oxidativo en la literatura se orienta hacia el análisis de ROS peritrasplante como valor pronóstico de la aparición de este trastorno inmunológico. Kosieradzki y cols (2003) determinaron MDA y capacidad antioxidante en suero y medio de conservación del injerto renal en 27 donantes (en muerte cerebral), y mostraban que aquellos receptores que sufrían rechazo agudo habían recibido injertos de donantes con mayor concentración sérica de MDA. Matsumoto y cols (2006) determinan el nivel de 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG, oxidante derivado de la deoxiguanosina) en la reperfusión del injerto, y relacionan una tasa de descenso más rápida de este radical con una menor incidencia de rechazo agudo. No encontramos referencias en trasplante renal que relacionen el rechazo agudo como factor predisponente de un aumento de estrés oxidativo en la evolución posterior del trasplante. En esta fase retrospectiva de nuestro estudio el haber padecido o no rechazo agudo no suponía diferencias en el estado oxidativo del paciente. En trasplante hepático Burke y cols (2002) realizaron un estudio durante un año en el que sí analizaron el rechazo agudo como factor influyente en el aspecto oxidativo, utilizando dinor-dihidro-isoprostano F2alpha-III en orina como marcador oxidativo en relación con los eventos clínicos. El citado estudio concluye que el estrés oxidativo descendía en el postrasplante inmediato, pero aumentaba independientemente de los eventos acaecidos en ese tiempo, incluyendo el rechazo agudo, hasta casi alcanzar los niveles pretrasplante.

El haber padecido *hiperglucemia* con necesidad de tratamiento hipoglucemiante, sólo durante el primer año, tampoco mostró diferencias. La hiperglucemia yatrógena transitoria que puede ocurrir en el trasplante no parece tener efecto en el perfil oxidativo plasmático a largo plazo.

La administración de *ácido fólico y vitamina B12* está dirigida al tratamiento de niveles altos de homocisteína, aminoácido derivado de la metionina, considerado como factor de riesgo de enfermedad cardiovascular, al inducir disfunción endotelial y aterosclerosis (Eikelbloom y cols 1999). También se considera que la homocisteína puede aumentar los ROS y/o descender la defensa antioxidante (Massy y cols 2001). La inducción de ROS conduciría a una activación NF-kappaB y aumento de formación de nitrotirosina (Pérez de Arce y cols 2005). Por tanto, una reducción de los niveles de homocisteína conseguiría disminuir este efecto. En la enfermedad renal se ha demostrado que las dosis habituales de vitamina B12 y ácido fólico no son suficientes para este objetivo, requiriéndose dosis máximas para enfermos con enfermedad renal leve y estable, entre los que incluiríamos a los enfermos trasplantados (Shemin y cols 2001; Bostom y cols 2006).

En nuestro estudio transversal no encontramos diferencia significativa en parámetros de estrés oxidativo entre pacientes que toman estos fármacos y los que no los toman, sería necesario hacer el estudio prospectivo enfocado a este tratamiento.

El *hierro* cataliza el paso de peróxido de hidrógeno a radical hidroxilo y la formación de anión superóxido mediante la reacción de Fenton. Una sobrecarga de hierro podría aumentar la formación de dichos radicales (Emerit y cols 2001). En nuestro análisis no se encuentra diferencia significativa de perfil oxidativo entre aquéllos tratados con hierro y los que no, debemos tener en cuenta que la vía de administración utilizada en todos ellos es la oral, que presenta menor disponibilidad de hierro que la intravenosa, utilizada más frecuentemente en otras terapias sustitutivas.

Los estudios en relación con los *agentes estimuladores de la eritropoyesis* (ESA) sugieren que el tratamiento con los mismos puede enlentecer la progresión de la enfermedad renal crónica, a través de la reducción de estrés oxidativo y el descenso de la hipoxia, disminuyendo la destrucción de células tubulares (mediante propiedades

antiapoptóticas), protegiendo del desarrollo de fibrosis intersticial y ejerciendo efecto protector sobre las células endoteliales y de capilares intersticiales (Rossert y cols 2005). Los eritrocitos son la mayor fuente de actividad antioxidante en sangre, mediante la actividad enzimática SOD, catalasa y glutatión peroxidasa, y no enzimática como vitamina C, E y coenzima Q. Esta disminución de protección antioxidante no puede contrarrestar el aumento de actividad oxidativa provocado por la hipoxia y derivado de los cambios en el metabolismo celular, metabolismo de catecolaminas y activación leucocitaria (Grune y cols 2000).

El perfil oxidativo de los pacientes estudiados no mostró diferencias en cuanto a tratamiento con ESA. Un pequeño número de los pacientes requería tratamiento con ESA. Por otra parte, los pacientes no tratados no lo estaban ya que presentaban cifras de hemoglobina normales, por lo que no sería valorable un efecto del fármaco distinto de la corrección de misma.

Además debemos tener en cuenta que nuestra determinación es plasmática y no eritrocitaria, donde se produce la actividad antioxidante dependiente del efecto de ESA.

Estudiamos la diferencia de perfil oxidativo según la prevalencia de **hiperparatiroidismo**, por ser factor predisponente claro para la formación de calcificaciones vasculares dependiendo de la hiperfosforemia y producto calcio-fósforo, junto con la aterosclerosis y arteriosclerosis (Fort 2005). No hallamos referencias bibliográficas en este sentido y nosotros tampoco encontramos relación entre estrés oxidativo y la presencia o no de hiperparatiroidismo en nuestro grupo de estudio.

Tampoco los perfiles lipídicos y oxidativos mostraban diferencia en los pacientes que presentaban **proteinuria** frente a los que no la presentaban, sí existía diferencia en la función renal.

El aumento de estrés oxidativo es un factor etiopatogénico de la aterosclerosis y ésta se plasma clínicamente en la **morbimortalidad cardiovascular**. Nuestros pacientes presentaban poca prevalencia de clínica aterosclerótica (6 pacientes), por lo que resultó difícil analizar el perfil oxidativo según este parámetro.

Comentamos a continuación las diferencias en el perfil oxidativo y lipídico que sí se detectaron al estudiar los siguientes factores:

El *hábito tabáquico* es un factor de riesgo cardiovascular clásico y controlable, en relación con la oxidación. Nuestros pacientes fumaban en un 24% de los casos, no en un 49.3% y habían abandonado el hábito un 26.7%, los fumadores presentan un nivel de catalasa significativamente menor que los no fumadores o exfumadores. Existe controversia en este punto en los estudios neumológicos realizados en eritrocitos y tejido pulmonar. Así, encontramos estudios con elevación de catalasa en eritrocitos humanos (Agoroaei y cols 2003) y en ratas (Ozan y cols 2001), disminución de catalasa en eritrocitos humanos (Yildiz y cols 2002), aumento de actividad en células pulmonares humanas (Kinnula y cols 2005), todo ello en individuos fumadores o expuestos a dicho estímulo. De forma experimental estudios en plasma de ovejas expuestas a concentración de humo severa muestran un descenso de catalasa, glutatión y vitamina E (LaLonde y cols 1997).

El primer factor que describimos, en relación con el trasplante, que podría influir de forma negativa en el perfil oxidativo a largo plazo en los pacientes trasplantados renales es la *infección por CMV*. Presentan mayor nivel sérico de GPx aquellos individuos que no han padecido infección por CMV, y de forma inversa menor nivel sérico de GR, frente a los que sí la padecieron. En este estudio hay que tener en cuenta que existe una correlación significativa e inversa entre la creatinina sérica y la GPx ($r=-0,319$, $p\leq 0,01$), sin embargo la diferencia de función renal, determinada por creatinina, Cockcroft y MDRD no existía entre ambos grupos, por lo que el efecto de la infección por CMV sería independiente de la función renal.

Grahame-Clarke y cols (2003) relacionaron la infección por CMV con la patología de la disfunción endotelial, de forma independiente a la inflamación sistémica (determinada por PCR) y sin interacción con la diabetes en un estudio realizado en una cohorte de 400 individuos, 199 diabéticos y 201 no diabéticos. En ellos se valoró la respuesta vasodilatadora a bradiquinina y gliceriltrinitrato (inhibidor de la NO sintasa), así como la presencia de calcificaciones arteriales coronarias según seropositividad o no a CMV y otros microorganismos. En los individuos seropositivos la respuesta vasodilatadora era menor y la presencia de calcificaciones mayor que en los

seronegativos, indicando reactividad vascular anormal y un patrón aterosclerótico aumentado en la infección por CMV.

En estudios experimentales en ratas se describe cómo esta influencia del CMV en el daño vascular se produce sin necesidad de la presencia del virus en la pared vascular (Zhou y cols 1999).

Dada la relación patogénica entre oxidación y aterosclerosis, se puede sostener la existente entre CMV y ROS, en trasplante cardíaco Weis y cols (2004) muestran un mayor riesgo de aterosclerosis del trasplante en pacientes infectados por CMV, asociado a un mayor nivel de dimetil arginina asimétrica (ADMA, inhibidora endógena de la NO sintasa) y aumento de producción de O_2^- en cultivos celulares.

Existe controversia en estas consideraciones, por una parte Weis y cols (2004) se plantean si realmente existe esa relación causal o sólo asociación, y por otra Scholz y cols (1996) consideran que la relación pueda ser la inversa, es decir, que el aumento de estrés oxidativo favorezca las condiciones para la replicación e infección por citomegalovirus. Este último hecho podría estar determinado, por ejemplo, por un descenso de la concentración de tioles intracelular, como describen Vossen y cols (1997) de forma experimental en ratas en las que determinaron la capacidad antioxidante de distintas líneas celulares, la susceptibilidad a la infección por CMV y el subsiguiente daño vascular. El estudio concluyó que un estado endógeno redox de tioles aumentado de dichas células, puede contribuir a una función protectora de las células endoteliales frente a la infección por CMV.

Sin embargo, la incidencia de infección por CMV es más frecuente en la primera etapa de trasplante, época en la que se describe el mayor descenso de parámetros de estrés oxidativo con respecto al pretrasplante (Pérez Fernández y cols 2002). En nuestro estudio el análisis es retrospectivo con amplio margen de tiempo entre la infección por CMV y la determinación analítica en una etapa de trasplante en la que la incidencia de infección por CMV es muy baja, de hecho no se dio ningún caso, por lo que haber padecido la infección se podría considerar como factor implicado en la menor concentración de GPx y mayor de GR.

De igual forma que ocurre con la infección por CMV, las referencias bibliográficas sobre la relación entre OS y *función retardada del injerto* van encaminadas al estudio de los marcadores oxidativos como factores pronóstico de la FRI tras el daño isquemia-

reperfusión (Kosieradzki y cols 2003). En nuestros pacientes, la GR se mostraba aumentada de forma significativa en aquéllos que habían padecido FRI, la GPx presentaba comportamiento inverso aunque no significativo. La correlación entre GR y GPx fue significativa ($p < 0.05$) e inversa con un coeficiente de correlación $r = -0.294$.

En pacientes con enfermedad renal crónica, se ha descrito una disminución de GPx y GR con respecto a controles sanos, 48 horas tras el trasplante la GR presentaba aumento plasmático y la GPx un descenso, para en la primera y segunda semanas postrasplante tener el comportamiento inverso (De Vega y cols 2003).

La GR, mediadora de la reacción de reducción de GSSG a GSH gracias a la vía de las pentosas, es una flavoproteína que provoca reducción de la potencia de varias thiol transferasas y peroxidasas (Meister 1988). El intento de restauración de glutatión total (GSH) en situaciones adversas de oxidación como el tiempo de isquemia fría y el proceso de restauración de función renal, llevaría a un aumento de actividad de glutatión reductasa que podría disminuir la acción peroxidasa. Por otra parte el daño tubular puede provocar un descenso de actividad de glutatión peroxidasa, al ser éste la principal fuente de dicha enzima como describen Avissar y cols (1994). Se podría por tanto plantear la existencia de una asociación entre daño tubular en la FRI y una afectación secundaria de la capacidad antioxidante.

Aquellos individuos que requerían *tratamiento hipotensor* presentaban menor nivel plasmático de SOD que aquellos que presentaban cifras tensionales normales sin tratamiento. No pudo dividirse por número de hipotensores puesto que en algún grupo el número de individuos era bajo y el análisis no valorable.

Entre los mecanismos patogénicos de la hipertensión encontramos la vasoconstricción inducida por la angiotensina II y el efecto mineralcorticoide de la aldosterona. Sin embargo, se ha demostrado un papel adicional de la angiotensina II, consistente en la estimulación de producción de O_2^- mediante el aumento de actividad de la NAD(P)H oxidasa en cultivos de células musculares lisas de rata (Griendling y cols 1994). Este efecto se observó también en aorta de ratas con hipertensión inducida mediante la infusión de angiotensina II, en las que la administración de SOD restablecía la presión arterial y la reactividad vascular (Rajagopalan y cols 1996). No ocurría este aumento de actividad de NAD(P)H oxidasa ni la restauración de la tensión arterial en ratas con hipertensión inducida por noradrenalina (Laursen y cols 1997). El mismo grupo

de trabajo demostró un aumento en la expresión de mRNA del gen *p22phox*, codificador de la NAD(P)H oxidasa en la aorta de dichas ratas, demostrando que la hipertrofia de célula muscular lisa vascular, inducida por la AII, se produce a través del receptor tipo I que regula al alza el *p22phox* (Fukui y cols 1997).

Otros modelos experimentales que relacionan el O_2^- con la HTA estudian su relación con el NO. En el proceso hipertensivo se da un aumento de la producción de O_2^- en detrimento de la biodisponibilidad de NO. Este proceso perjudicial está determinado fundamentalmente por la concentración local de BH₄, cofactor esencial de la actividad de la NO sintasa, cuya concentración está inversamente relacionada con la producción de O_2^- (McIntyre y cols 1999).

Cabe esperar por tanto que una reducción de O_2^- mediada por SOD sea beneficiosa para obstaculizar la cadena hipertensiva (siempre que la concentración de catalasa sea proporcional para la detoxificación de H₂O₂). Y, por otra parte, sería lícito pensar que exista una reducción de la actividad SOD en pacientes hipertensos en comparación con normotensos (Jun y cols 1996), como ocurre en nuestro estudio.

Estudiando el efecto de ARAII utilizado como hipotensor (se descartan los pacientes con microalbuminuria), encontramos un aumento de SOD de los tratados con dicho fármaco frente a los no tratados ($p=0.05$), sin existir diferencias en el resto de familias de hipotensores. Tanaka y cols (2005) de forma experimental, muestran que IECA y ARA II no solo producen una disminución de ROS derivado de su actuación sobre NAD(P)H, sino también a través del aumento de expresión y actividad de SOD.

Por otra parte, analizando el *perfil lipídico* encontramos un aumento de fracción LDL de colesterol y Apo B en aquellos pacientes tratados por HTA frente a los no tratados. Flesch y cols (1994) describen la existencia de correlación entre HTA esencial y un perfil lipídico alterado, uniéndose así factores de riesgo cardiovascular y asociación arteriosclerosis y aterosclerosis. Los pacientes hipertensos mostraban un aumento de LDL, Apo B, VLDL y triglicéridos frente a población sana, sin encontrar diferencias significativas en cuanto a HDL y colesterol total.

Sin embargo, en los pacientes trasplantados debemos tener en cuenta varias consideraciones antes de interpretar dichos resultados. En primer lugar la enfermedad renal como tal, que como ya se ha descrito presenta un perfil lipídico específico; en segundo lugar la medicación inmunosupresora utilizada y en tercer lugar el tratamiento antihipertensivo, ya que el uso de betabloqueantes puede modificar el perfil lipídico y la

resistencia a la insulina frente al papel imperceptible del resto de antihipertensivos. El grupo estudiado no mostró diferencias significativas en LDL, Apo B ni triglicéridos en aquellos tratados con betabloqueantes frente a los no tratados, encontrándose menor nivel sérico de HDL y de forma paradójica de colesterol total, quizá a expensas de la menor concentración de HDL.

La *microalbuminuria*, es clasificada como factor mayor de riesgo cardiovascular (Chobanian y cols 2003) y marcador precoz de aumento de permeabilidad glomerular y proteinuria. Los estudios que relacionan la microalbuminuria con el estrés oxidativo están encaminados a la nefropatía diabética, con escasas referencias en trasplante renal (Moreno y cols 2005).

En el trasplante renal la presencia de microalbuminuria persistente puede ser un detector precoz de proteinuria y por tanto de nefropatía crónica del injerto (Fernández-Fresnedo y cols 2004), una vez descartadas otras patologías glomerulares (nefropatía diabética, recidiva de glomerulopatía, glomerulopatía de novo...).

En el estudio actual se describe un nivel sérico mayor de GPx en aquellos pacientes que no presentaban microalbuminuria, independientemente del tiempo de evolución, frente a los que sí la presentaban. En este sentido, en el estudio de riesgo relativo la GPx aparece como factor de protección ante el riesgo de padecer microalbuminuria.

En este caso sí existe diferencia de creatinina en ambos grupos, presentando cifra sérica de creatinina mayor los individuos con microalbuminuria. Por tanto esta relación GPx-microalbuminuria sí puede estar asociada con el deterioro de *función renal*.

Un número determinado de pacientes con microalbuminuria estaba en tratamiento con *ARAI*, que puede modificar el perfil oxidativo y/o alterar la función renal. Sin embargo no encontramos influencia del tratamiento con dicho fármaco en la asociación entre GPx, microalbuminuria y función renal.

En esta fase del estudio el perfil oxidativo no presentó diferencias según el *tratamiento anticalcineurínico* utilizado, como describen otros grupos de trabajo (Morena y cols 2000), sin embargo hemos de tener en cuenta que es un análisis transversal, sin evolución en el tiempo.

En cuanto a perfil lipídico era esperable encontrar un aumento de colesterol total y sus fracciones como clásicamente se describe (Hricik y cols 1992a; Kahan y Ponticelli

2001a), así como de apolipoproteínas en el grupo tratado con ciclosporina frente a tacrolimus. Esto es debido a que la CsA produce un descenso en la síntesis de ácidos biliares desde el colesterol y de transporte del mismo al intestino, así como su unión al receptor de LDL, que provoca el aumento sérico de dicha fracción, junto con la disminución de la lipoprotein lipasa que disminuye el aclaramiento de LDL y VLDL.

El efecto dosis dependiente de los corticoides sobre los lípidos y su acción más específica en el aumento de los triglicéridos está descrito (Hricik y cols 1992a). Los esteroides aumentan la actividad de la Acetil-coenzima A carboxilasa y de la sintasa de ácidos grasos libres, aumenta la síntesis hepática de VLDL, reduce la actividad del receptor LDL de la HMGCoA reductasa e inhibe la lipoprotein lipasa (Kobashigawa y Kasiske 1997). Todo ello se traduce en aumento de colesterol total, de VLDL y de triglicéridos asociado al efecto de la ciclosporina. En nuestros pacientes no se encuentran diferencias en triglicéridos, probablemente porque la dosis de corticoides es mínima en ellos (≤ 5 mg/24h) debido al tiempo de trasplante mayor de un año.

No existían diferencias en la función renal (creatinina, Cockcroft y MDRD) según el fármaco anticalcineurínico prescrito.

1.3. Discusión sobre el estudio de asociación de características de donante y receptor y parámetros analíticos en el estudio basal.

1.3.1. Características de trasplante con perfil lipídico

Encontramos una correlación positiva y significativa entre el tiempo de trasplante y apolipoproteínas, colesterol total y LDL, es decir, aquellos individuos con mayor periodo de trasplante, presentaban cifras mayores de Apo A, Apo B, CT y LDL. Esto podría hacer pensar que es debido a que los pacientes con mayor tiempo de trasplante estaban tratados con ciclosporina y así explicar este patrón lipídico, sin embargo, el comportamiento era el mismo independientemente del tratamiento anticalcineurínico administrado. En general la dislipemia en trasplante se mantiene hasta unos diez años postrasplante o más (Kahan y Ponticelli 2001a). La media de tiempo de trasplante de nuestros enfermos era de 5.036 ± 4.292 años.

1.3.2. Creatinina y perfil lipídico

El deterioro de función renal provoca alteraciones en el metabolismo lipídico, derivadas del descenso y alteración estructural de HDL, así como de un aumento de los

triglicéridos (Vaziri y cols 1999, 2006). Nosotros encontramos una relación significativa entre niveles séricos de creatinina elevados y Apo B, colesterol total y LDL, coincidiendo con lo que correspondería a un deterioro de función renal en pacientes trasplantados renales.

Dado que la función renal es similar en ambos grupos de tratamiento anticalcineurínico, independientemente del tiempo de trasplante (no correlacionado con la creatinina), no es un factor que pueda interferir en este análisis.

1.3.3. Glutation peroxidasa y reductasa

Los únicos parámetros de estrés oxidativo en los que constatamos correlación con parámetros bioquímicos y clínicos son las enzimas glutacion peroxidasa y reductasa. Entre ellas dos la correlación es inversa, a mayor nivel de GPx, menor de GR ($r=-0.235$, $p\leq 0.05$), como ya ha sido comentado la GR puede provocar reducción de la potencia de varias thiol transferasas y peroxidadas, entre ellas la glutacion peroxidasa (Meister 1988).

Otras asociaciones halladas son:

- Parámetros clínicos: se encuentra una correlación con la edad del donante, presentando GPx menor a edades mayores del donante ($r=-0.277$, $p\leq 0.05$), al contrario de lo que ocurre con GR, que presenta cifras mayores a mayor edad del donante ($r=0.238$, $p\leq 0.05$).
- Parámetros bioquímicos: el coeficiente de correlación existente entre GPx y HDL es positivo ($r=0.318$) y significativo ($p\leq 0.01$), al contrario que ocurre con GR, donde la tendencia es presentar mayor concentración de GR a menor HDL sérico ($r=-0.250$, $p\leq 0.05$). La HDL presenta un papel antioxidante fundamental (Mackness y cols 1993; Cockerill y cols 1999, 2001).

En ambos casos encontramos la elevación de GPx relacionada con elementos beneficiosos en la balanza oxidativa, siendo indicador de protección frente a la oxidación.

Se describe en la literatura la relación inversa existente entre creatinina sérica y GPx en plasma en pacientes con alteración de la función renal (Yoshimura y cols 1996) y trasplante renal (Whitin y cols 1998). De la familia de enzimas selenio dependientes glutacion peroxidadas, la isoforma extracelular o plasmática es la que nosotros determinamos. En la enfermedad renal crónica existe una disminución en la concentración de selenio, Zachara y cols (2004) muestran este hallazgo en pacientes con

ERC estadio 5 previo al trasplante y su modificación al alza en el postrasplante tardío, sin embargo existen estudios que desvinculan el déficit de GPx plasmática con el descenso de selenio (Yoshimura y cols 1996). Se describe que la principal fuente de GPx extracelular es el riñón, en concreto la síntesis se localiza en túbulo proximal en humanos y segmentos S1 y S2 en ratones, y su secreción se produce en el espacio extracelular junto a la membrana basolateral de las células tubulares (Whitin y cols 2002). La GPx citosólica se localiza en epitelio tubular sin presentarse en fluido extracelular o espacio intersticial. El glomérulo presenta prácticamente ausencia de actividad GPx.

Whitin y cols (1998) muestran la existencia en individuos anéfricos de una actividad residual de GPx dependiente exclusivamente de eGPx (mostrado a través de precipitación con anticuerpos anti-eGPx), probablemente proveniente de otros tejidos como pulmón, hígado e intestino, procedencia aún sin demostrar. No se conoce aún si el descenso de GPx en la insuficiencia renal puede ser debido a disminución de su síntesis o secreción en túbulo renal, a aumento de filtración y eliminación de la misma o una combinación de ambas.

Nuestro estudio muestra relación inversa entre creatinina sérica y GPx plasmática coincidiendo con lo expuesto, tanto en el momento basal como en T1 (6 meses) y T2 (14 meses).

1.4. Comentarios sobre el estudio carotídeo

La enfermedad cardiovascular es la principal causa de morbimortalidad en pacientes trasplantados renales y factor importante para el pronóstico de trasplante a largo plazo (Kasiske y cols 1996). La detección de enfermedad vascular aterosclerótica es limitada en pacientes con ausencia de clínica cardiovascular. La ecografía-doppler carotídea permite un examen no invasivo y directo para el estudio de lesiones preclínicas y clínicas de grandes arterias en la población general y en los pacientes trasplantados en particular.

En comparación con la población general, los pacientes trasplantados renales presentan mayor prevalencia de lesiones ateroscleróticas carotídeas (Cofan y cols 2001) frente a controles sanos. Nuestros pacientes presentaron una prevalencia de $IMT \geq 1mm$ en un 23.30% de los casos (IMT media 0.70 ± 0.22 mm) y presencia de placa de ateroma en un 61.60%. Suwelack y cols (1999) cuantifican la media de IMT en 1.21 ± 0.08 mm en individuos trasplantados frente a controles (0.74 ± 0.04 mm) y un 71% de prevalencia de

placas de aterosclerosis, mientras Cofan y cols (2001) describen una media de 0.59 ± 0.16 mm (controles 0.53 ± 0.12 mm) y un 74% de placas de ateroma. No se describe en estos casos la presencia de calcificación de la placa de ateroma, ni estenosis carotídea (menor del 50%), con una prevalencia de 56.20% y 37%, respectivamente, en nuestro estudio.

El estudio de la relación de dichas lesiones con *parámetros clínicos y bioquímicos* puede permitir conocer qué factores, relacionados con el trasplante o no, pueden ser susceptibles de actuación para enlentecer la progresión de la lesión vascular. Diversos estudios analizan dicha relación en pacientes trasplantados, sobre todo con IMT y presencia de placa de ateroma. En la población con enfermedad renal crónica en estadios de I a IV, Preston y cols (2005) describen una asociación entre aumento de IMT y la edad, y dentro de los parámetros bioquímicos se relacionaría con la dislipemia presente ya en estadios precoces de la enfermedad renal.

En trasplante renal son diversos los parámetros clínicos y bioquímicos descritos en la literatura asociados a la aterosclerosis carotídea, encontramos, por ejemplo, la asociación con hipertrofia ventricular izquierda (Suwelack y cols 1999), edad, hábito tabáquico, enfermedad vascular de miembros inferiores, tiempo de diálisis prolongado, hipoalbuminemia, hiperfosforemia (Nankivell y cols 2000) e hipertensión (Barbagallo y cols 1999), apareciendo como factor común la edad del receptor. En nuestro estudio encontramos la edad como único factor de riesgo no sólo de presentar IMT aumentado, sino también de lesión de ateroma establecida, calcificación de placa de ateroma y estenosis carotídea no significativa.

La necesidad de *tratamiento con hipotensores* se vio relacionada en el análisis bivariante con la presencia de $IMT \geq 1$ mm, sin embargo, se perdió esta relación en el estudio multivariante. Se describe que la hipertrofia ventricular izquierda y el IMT están aumentados en pacientes con HTA asintomática no trasplantados, con respecto a individuos sanos (Roman y cols 1992), sin embargo, el estudio de regresión múltiple en receptores de trasplante renal no muestra relación entre IMT carotídeo y niveles de presión arterial sistólicos y diastólicos (Suwelack y cols 1999). La aterosclerosis y arterioesclerosis están asociadas de forma frecuente y podría considerarse la presencia de IMT signo de ambas entidades (Suwelack y cols 1999).

No encontramos diferencias significativas en los parámetros plasmáticos de *estrés oxidativo* determinados en el estudio.

Si bien existen cada vez más estudios de la relación del aumento de estrés oxidativo con la progresión de la enfermedad aterosclerótica, es posible que la ausencia de hallazgos significativos en nuestro trabajo sea debida a la determinación plasmática de los parámetros enzimáticos, siendo quizá más estable el análisis de los mismos a nivel de la placa (Gómez-Fernández y cols 2005), método que requiere técnicas invasivas más complejas y costosas que una sencilla determinación sanguínea.

La relación entre *dislipemia* y signos ateroscleróticos carotídeos en trasplante renal presenta cierta controversia en los distintos estudios, no mostrando asociación en unos trabajos como el de Giannarelli y cols (2003) en 53 pacientes trasplantados estables en tratamiento con ciclosporina y sí en otros como el caso Cofan y cols (2002c). En el trabajo actual el presentar placas de ateroma y/o calcificación de las mismas sí se relaciona con un perfil lipídico, colesterol total, LDL, apoB y HDL, mayor que el no mostrar estas lesiones. Hay que tener presente que en nuestro caso todos los pacientes estaban sin medicación hipolipemiente.

En cuanto al estudio de *función renal* en relación con la aterosclerosis carotídea, encontramos cifras de creatinina sérica mayores en los pacientes trasplantados que presentaban placas de ateroma, reflejado también en una estimación de función renal mediante Cockcroft-Gault mayor, frente a los que no presentaban las mismas, sin estar en relación con la edad de los mismos, si bien no encontramos asociación de lesiones ecográficas ateroscleróticas con la presencia de microalbuminuria o no en dichos pacientes como se describe en la población con hipertensión esencial (Leoncini y cols 2002), o incluso en la población general (Furtner y cols 2005), sin hallar referencias en estudios de trasplante renal.

2. COMENTARIO AL ESTUDIO DE CONTROLES

Los estudios en grupos de pacientes portadores de un injerto renal con función renal estable que describen los cambios que se producen en el perfil lipídico y oxidativo sin tratamiento enfocado a estos ámbitos son escasos. La mayor parte de dichos estudios se enfoca a comportamiento de parámetros de estrés oxidativo en el postrasplante inmediato (De Vega y cols 2003; Vural y cols 2005), estudios de corte transversal (Cristol y cols 1998), y orientados a una terapia antioxidante determinada (Vela y cols 1999). Nuestro propósito en esta fase del estudio fue estudiar qué cambios se producían en el mismo grupo de individuos con trasplante renal estable con una diferencia de 6 meses y qué

factores en relación con el trasplante podían modificar los parámetros oxidativos en ese tiempo.

2.1. Parámetros oxidativos

Encontramos una elevación de concentración plasmática de MDA entre el momento basal y tras 6 meses sin tratamiento con estatinas, acompañando a este hallazgo se mostró un aumento plasmático significativo de GPx y de GR.

Kandoussi y cols (2001) desarrollaron un estudio de autoanticuerpos frente a LDL oxidada, describiendo un patrón de aumento de los mismos en pacientes con trasplante renal estable en el primer año postrasplante, que permanecían elevados los siguientes dos años, en este análisis la concentración de anticuerpos se relacionaba con los niveles de ciclosporina. En nuestro caso los pacientes estaban siendo tratados con ciclosporina y tacrolimus. Gran cantidad de estudios reflejan un descenso de MDA en trasplante tras la administración de diversos tratamientos antioxidantes (Vela y cols 1999; Cofan y cols 2002). Sería razonable pensar que existen factores relacionados con la evolución del trasplante renal que aumenten los ROS, la peroxidación lipídica y por tanto los niveles de MDA, entre ellos podríamos considerar la medicación inmunosupresora, hiperlipemia, deterioro de la función renal.

El papel de la GPx y GR plasmáticas no queda claro, la determinación de GPx en el pretrasplante, postrasplante inmediato y tras varios meses tras el trasplante, muestra una elevación de GPx en el postrasplante en las dos primeras semanas (De Vega y cols 2003) con la correlación inversa descrita con la creatinina a medida que esta mejora, para luego estabilizarse (Zachara y cols 2004). Estudios transversales realizados en pacientes con y sin NCI no muestran cambios significativos de GPx ni GR eritrocitaria entre ambos grupos (Cristol y cols 1998). El aumento de GPx plasmática podría indicar un intento de defensa antioxidante.

Introduciendo diversos factores que puedan influir en estos cambios encontrados, observamos como al tener en cuenta el tipo de *tratamiento anticalcineurínico*, los pacientes que habían sido tratados con tacrolimus presentaban aumento de GPx, mientras que aquellos que estaban siendo tratados con ciclosporina sufrían un descenso de la misma en los 6 meses. Existe controversia sobre la potencia oxidativa de uno u otro anticalcineurínico, si en unos casos se describe que la susceptibilidad de oxidación de LDL de tacrolimus es similar a la de ciclosporina (Morena y cols 2000) y a la de la

población general (Cofan y cols 2002), en otros esta susceptibilidad disminuyó en un grupo de pacientes en los que se cambió el tratamiento de ciclosporina a tacrolimus (Artz y cols 2003). La tendencia de ciclosporina a una mayor elevación del perfil lipídico en el trasplante y la asociación a lesiones participantes en la NCI, son factores que influyen en hacerla más partícipe del proceso oxidativo.

2.2. Parámetros lipídicos

De forma paradójica a lo que cabía esperar según la tendencia clásica de la literatura a reflejar que los parámetros lipídicos aumentan durante el trasplante, apolipoproteínas, colesterol total, LDL, y triglicéridos descendieron de forma significativa en los 6 meses sin tratamiento hipolipemiente en nuestros pacientes. La fracción HDL-colesterol también sufrió un descenso significativo.

Los estudios realizados en la dislipemia del trasplante van enfocados al tratamiento hipolipemiente y pocos de ellos describen qué ocurre en el grupo control o placebo si no es en comparación con el grupo tratado. Así, por ejemplo, el estudio ALERT (Holdaas y cols 2003), el mayor estudio multicéntrico con fluvastatina en trasplante renal (n=2102) con pacientes randomizados tras 6 meses del trasplante, describe ciertamente un descenso estadísticamente significativo de colesterol total y LDL en el grupo tratado con fluvastatina frente al tratado con placebo, sin embargo, el que el grupo placebo también presentaba un descenso (¿significativo o no?) en la media plasmática de dichos parámetros, pasa un tanto desapercibido. Santos y cols (2001) realizan un trabajo con menor número de individuos tratados con estatina o placebo (tiempo de trasplante mayor de 6 meses), en el que el grupo tratado con placebo no experimentaba descenso, pero tampoco ascenso, de niveles séricos de lípidos.

El control de los niveles plasmáticos en valores más bajos de anticalcineurínico tras los 6 primeros meses postransplante, se podría considerar como una causa de la estabilización de la tendencia a la hiperlipemia en estos pacientes.

En el trasplante renal se produce un aumento de peroxidación lipídica, cabría pensar que un factor que influiría en este hecho sería la hiperlipemia producida por el mismo, en nuestro estudio encontramos que se produce un aumento de MDA, sin embargo el colesterol total, LDL, HDL, apolipoproteínas y triglicéridos descienden.

En el estudio de la patología cardiovascular, en relación o no con la enfermedad renal, se han descrito subfracciones o patrones de LDL distintos dependiendo del tamaño y la densidad de la misma, discriminada mediante electroforesis. Diversos grupos de trabajo, en estudios de corte transversal, dividen la LDL en distintas subfracciones, por ejemplo:

- Dos patrones: patrón A, LDL de tamaño elevado y baja densidad, y patrón B, LDL de tamaño pequeño y densidad elevada (Ghanem y cols 1996).
- Tres subfracciones: LDL₁, de muy baja densidad; LDL₂, de baja densidad; LDL₃ de alta densidad (De Graaf y cols 1991).
- Siete subfracciones: LDL₀ a LDL₆ de mayor a menor densidad (Rajman y cols 1998).

En individuos sanos De Graaf y cols (1991) describen la presencia de patrones de pequeño tamaño y de mayor densidad de LDL, que son más susceptibles a la modificación oxidativa que los de menor densidad y mayor tamaño, asociada a la capacidad para formar células espumosas en la pared vascular y por tanto presentar un riesgo cardiovascular aumentado.

La presencia de moléculas LDL de pequeño tamaño se ha asociado a factores genéticos y ambientales, y la composición de carbohidratos es diferente a las de mayor tamaño. Este hallazgo se relaciona con hipertrigliceridemia y una alteración en el catabolismo de VLDL (con un aumento de producción o un déficit de eliminación de la misma), así como con una menor concentración sérica de la fracción HDL (Rajman y cols 1998).

La susceptibilidad a la oxidación de la molécula LDL parece depender de la composición y del contenido antioxidante de la misma. De Graaf y cols (1991) en sujetos sanos muestran *in vitro* que la concentración de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) por miligramo de vitamina E era significativamente más alta en las fracciones densas de LDL y, por tanto, existía una deficiencia relativa de vitamina E pudiendo favorecer la oxidabilidad. Por otra parte, una vez iniciada la peroxidación, la tasa de oxidación era más alta en las moléculas de alta densidad, debido a que la concentración de PUFA (a mayor insaturación de ácidos grasos, mayor susceptibilidad a la oxidación) era mayor en dichas moléculas, dando lugar a conjugados diénicos.

La presencia de partículas LDL pequeñas es también característica de la dislipemia urémica, Rajman y cols (1998) detallan este hallazgo en pacientes con enfermedad renal crónica en distintos estadios, en terapia sustitutiva con hemodiálisis o diálisis peritoneal y en trasplante renal. En este caso la correlación de LDL con la hipertrigliceridemia estaba presente en pacientes en diálisis, no en prediálisis o receptores de trasplante renal. Por otra parte, tampoco se encontró correlación entre el tamaño de LDL y el tratamiento inmunosupresor.

Ghanem y cols (1996), sólo en enfermos trasplantados, ya habían descrito previamente este hallazgo asociado a un estudio de oxidabilidad in vivo, mediante la determinación de autoanticuerpos contra MDA-LDL que presentaban una mayor concentración de IgM en pacientes con el patrón B, LDL pequeña y densa (la concentración de IgG era similar en ambos grupos). La fracción LDL total y el colesterol total eran similares en los individuos con distintos patrones de LDL.

Estudios más recientes como el de Badiou y cols (2006) corroboran esta teoría, en la que no se describen diferencias entre el tamaño de LDL y el tratamiento anticalcineurínico utilizado, a pesar de que las alteraciones lipídicas se asocian en mayor medida a la ciclosporina.

Por tanto, a pesar de la estabilización o el descenso de la lipidez que ocurre en nuestros pacientes trasplantados sin tratamiento hipolipemiante, el ascenso en los niveles del compuesto diénico (MDA) puede ser explicado por la mayor susceptibilidad a la peroxidación lipídica de la subfracción LDL de mayor densidad descrita en trasplante renal, que presenta menor afinidad por el receptor LDL y mayor exposición al daño oxidativo. En nuestro estudio la concentración sérica de triglicéridos era significativamente mayor que en controles sanos (tabla de estudio preliminar), sin embargo, presentó un descenso en el tiempo en los pacientes trasplantados (Tabla 33). Comportamiento inverso presentó HDL, que no mostró diferencias con la población sana, pero en los trasplantados sufría un descenso significativo en el tiempo.

2.3. Función renal

La función renal no se modificó en los 6 meses sin tratamiento y no parece influir en estos cambios oxidativos y lipídicos a corto plazo.

3. DISCUSIÓN SOBRE EL PERIODO DE TRATAMIENTO CON ESTATINAS

3.1. Perfil oxidativo

Además del efecto hipolipemiante de las estatinas, ya se ha descrito que existen otros efectos, pleiotrópicos, entre los que encontramos su efecto sobre la función endotelial, trombosis y fibrinólisis, inflamación vascular y efecto sobre los leucocitos, inmunomodulación, protección vascular contra el daño mediado por el complemento, angiogénesis, estabilización de la placa de ateroma y el efecto antioxidante.

Cofan y cols (2002b) realizaron un estudio con pravastatina (derivado sintético de nocardia y aspergillus) en el que describen que el tratamiento con dicha estatina daba lugar a un aumento de resistencia de las partículas LDL a la oxidación, representado por la concentración plasmática de MDA, en un periodo de tiempo de 6 meses (con dilución del efecto a los 12 meses). En el tratamiento con fluvastatina (estatina sintética) Konstadinidou y cols (2003) observan el mismo efecto en un periodo de 12 meses.

Las referencias bibliográficas sobre estudios realizados con atorvastatina (estatina sintética) en trasplante renal en este ámbito son escasos, Wissing y cols (2006) no encuentran cambios significativos en la fase tardía de oxidación de LDL (lag time) tras tratamiento con esta estatina en pacientes tratados con CsA y tras conversión a Tacrolimus..

En los primeros 6 meses de tratamiento con estatinas nuestros pacientes mostraron aumento plasmático de concentración de MDA.

Salvo en el estudio de Wissing, no existen referencias de trabajos en trasplante renal que analicen la densidad de las partículas LDL determinadas y por tanto su susceptibilidad a la oxidación, ni tampoco el efecto que la estatina puede tener sobre esta característica de las mismas.

Se describe que el tratamiento con estatinas cambia las características de las partículas pequeñas y densas, aumentando el tamaño de las mismas y por tanto disminuiría la susceptibilidad a la peroxidación y el riesgo cardiovascular.

Independientemente de las subfracciones en que se clasifiquen las partículas de LDL, dependiendo del grupo de trabajo, la modulación de las estatinas sobre la densidad y tamaño de las mismas se va describiendo en las distintas patologías de forma más extensa, y va mostrando diferencias según la estatina estudiada. El estudio

de revisión realizado por Rizzo y Berneis (2006) muestra un análisis de los estudios publicados sugiriendo que pravastatina y simvastatina presentan un efecto limitado en la modificación del tamaño de LDL y sus subclases, mientras fluvastatina y atorvastatina parecen tener un efecto mayor. Sin embargo, dentro de los estudios que no corroboran este papel de la atorvastatina encontramos el realizado en un grupo de pacientes en hemodiálisis en el que no se demostró una disminución de densidad de LDL tras un periodo de 20 semanas de tratamiento con dicha estatina (Dornbrook-Lavender y cols 2005). En el caso de trasplante, en el trabajo de Wissing y cols (2006) tampoco se describe una modificación del tamaño de LDL tras el tratamiento con atorvastatina durante periodos de tres meses. Quizá harían falta estudios más prolongados en el tiempo, en los distintos campos de la patología renal, para conocer el efecto de dicha estatina.

Los inhibidores de la HMGCoA reductasa aumentan la actividad de la ecto-5'-nucleotidasa, glicoproteína de membrana que hidroliza nucleótidos extracelulares en nucleósidos (p.e. adenosina), permeables a la membrana y que protegen de situaciones de hipoxia celular (Neylon y Marshall 1991). Zhang y cols (2005) describen que la exposición a adenosina en cultivos celulares humanos está relacionada con la expresión de GPx en las células endoteliales. Un aumento de activación de ecto-5'-nucleotidasa mediante la inhibición de la isoprenilación de las Rho GTPasa por las estatinas (Ledoux y cols 2002), podría explicar el aumento de GPx gracias a la adenosina en las células del túbulo proximal, donde ambas son expresadas (Within y cols 2002; Le Hir y Kaissling 1993). En el estudio actual se muestra un aumento significativo de GPx en relación con proteínas tras 6 meses de tratamiento, sin embargo, no hubo diferencia significativa con el grupo no tratado.

3.2. Perfil lipídico

Las estatinas suponen un descenso cuantitativo en las cifras séricas de colesterol, y de todas las subclases de LDL, aunque el efecto neto sobre las de pequeño tamaño sea a veces solo moderado (Rizzo y Berneis 2006.).

Nuestros pacientes tratados con atorvastatina, presentaron un descenso significativamente mayor de colesterol total ($p=0.05$), LDL ($p=0.007$) y Apo B ($p=0.001$) que los pacientes no tratados en los primeros 6 meses del estudio, sin encontrar cambios significativos en HDL y TGL.

El estudio ALERT (Holdaas y cols 2003), amplio y representativo muestra una reducción del LDL colesterol en un 32 % gracias al tratamiento con fluvastatina, y aunque no se vieron reducidas la muerte de origen cardíaco, ni el infarto de miocardio grave, sí se mostró una reducción de la necesidad de intervención coronaria y de la mortalidad en la población trasplantada estudiada. Son numerosos los estudios que coinciden con dichos resultados en grupos más reducidos de pacientes y con distintas estatinas en trasplante renal.

La comparación de la capacidad hipolipemiente de distintas estatinas en trasplante renal, muestra una mayor potencia de atorvastatina y cerivastatina frente a lovastatina, pravastatina, simvastatina y fluvastatina. La incidencia de efectos secundarios registrados es baja y parece que la atorvastatina sería la que presentaría un perfil más seguro (Martinez-Castelao y cols 2002).

3.3. Función renal

El efecto de los inhibidores de la HMG-CoA reductasa sobre la función renal es también controvertido, no mostrando diferencias significativas en las cifras de creatinina sérica antes y después del periodo de tratamiento con estatinas en nuestro estudio, coincidiendo con los resultados del estudio ALERT (Holdaas y cols 2003). Se halló una diferencia previa entre ambos grupos en T0 (estudio basal) en la estimación de Cockcroft-Gault, no así en MDRD. Si bien la edad de ambos grupos no presentaba diferencias significativas, era levemente mayor la media de edad del grupo tratado con estatinas, que junto a posibles variaciones de peso entre los individuos podrían explicar este hallazgo.

Otros estudios con menor número de individuos y menor tiempo de seguimiento comparados con ALERT, sí describen una mejoría de función renal pero explican este hecho por la introducción del fármaco en los primeros meses postrasplante, es el caso de Masterson y cols (2005) en el que el seguimiento fue de 12 meses postrasplante e incluso el estudio *histológico* renal mostraba un aumento de volumen intersticial en el grupo sin estatina, frente al grupo tratado.

La relación entre creatinina y GPx en todos los pacientes sigue presentando las mismas características que en el estado basal, siendo ésta significativa e inversa.

4. DISCUSIÓN SOBRE EL TRATAMIENTO CON ESTATINAS Y/O NAC.

4.1. Grupo 1 – tratamiento con atorvastatina.

Nuestro grupo de pacientes tratados sólo con atorvastatina, presentó a partir de los 6 meses de tratamiento un comportamiento distinto, descendiendo de forma significativa la concentración sérica de *MDA* en los 8 meses siguientes de tratamiento (recordemos que previamente aumentó).

También encontramos un cambio significativo en *GPx*, mostrando un ascenso significativo en la segunda fase del tratamiento con estatinas (en los primeros 6 meses sufrió un descenso).

En ambos casos puede ocurrir que el efecto antioxidante de las estatinas requiera un tiempo prolongado de tratamiento.

El inhibidor de la HMG-CoA reductasa puede haber aumentado la resistencia a la oxidación, gracias a un aumento en el tamaño y la densidad de la partícula LDL, disminuyendo, por tanto, la concentración plasmática de *MDA*. No encontramos en la literatura ningún trabajo en trasplante renal con atorvastatina u otra estatina y un periodo de tratamiento mayor de 6 meses, que describa el efecto sobre el tamaño las subfracciones LDL y su susceptibilidad a la oxidación, en el trabajo de Wissing y cols (2006) con 12 pacientes en los que primero se trataron con CsA, luego se asoció atorvastatina (10-20mg), se cambió a tacrolimus y posteriormente se asoció atorvastatina, los periodos de tratamiento con atorvastatina fueron de 3 meses. En el caso de *GPx* podríamos considerar también que la vía de aumento de la ecto-5'-nucleotidasa, mediante el tratamiento con estatina de forma prolongada, fuese la responsable del aumento de *GPx*, indicador de mayor defensa antioxidante.

Como cabía esperar el descenso en la *lipidemia* fue significativo para colesterol total, LDL y Apo B, antes y después del tratamiento, siendo más relevante este descenso en la primera etapa del tratamiento (primeros 6 meses).

La *función renal* no se vio modificada en todo el periodo de tratamiento, coincidiendo con el estudio ALERT (Holdaas y cols 2003).

La correlación negativa y significativa entre *GPx* y creatinina se mantiene en este grupo, así como la correlación negativa entre *GPx* y GR.

4.2. Grupo 2 – tratamiento con atorvastatina y NAC.

En este grupo los *parámetros oxidativos* no sufrieron modificación significativa, hay que tener en cuenta que este grupo de pacientes se encontraba en los primeros meses del estudio en tratamiento con estatinas, ya que antes fueron grupo control.

El comportamiento de los *parámetros lipídicos* fue similar al del grupo tratado sólo con atorvastatina (grupo 1), excepto la fracción HDL que sufrió un aumento significativo. Se describe una elevación de HDL en relación con el tratamiento con N-acetilcisteína, dosis dependiente en pacientes hiperlipémicos (Franceschini G y cols 1993).

La *función renal* no se modificó y se mantiene la correlación entre creatinina y GPx en relación con proteínas.

4.3. Grupo 3 – tratamiento con NAC.

La correlación de GPx y GR se pierde en este grupo. Cabría esperar un aumento de GPx como enzima componente del ciclo de la glutation, sin embargo en nuestros pacientes no encontramos cambios en la misma. La mayor parte de trabajos realizados con NAC miden GPx intracelular, en hígado (Diniz y cols 2006), sistema nervioso central (Jayalakshmi y cols 2005), riñón (Dobashi y cols 2002) y con frecuencia en relación con protección frente agentes externos como por ejemplo el alcohol en hígado (Ozaras y cols 2003). Probablemente la determinación del efecto antioxidante de NAC sobre los sistemas enzimáticos sea más estable a nivel intracelular, o para detectar el efecto en plasma se necesite una dosis de fármaco mayor.

Más claramente en este grupo se observa una elevación de HDL colesterol sin modificación del resto de *parámetros lipídicos*, apoyando la relación del tratamiento con NAC y la fracción HDL descrita por Franceschini y cols (1993), que de forma casual al intentar analizar el efecto del tratamiento con NAC sobre la Lp(a) en 10 pacientes hiperlipémicos, hallaron un aumento significativo de HDL en dichos pacientes.

Asociado al hallazgo anterior, observamos una correlación positiva significativa ($r=0.495$, $p=0.012$) entre GPx en relación a proteínas y HDL. Junto al trabajo de Franceschini, un estudio posterior realizado por Kinscherf y cols (2003) en pacientes normo/hiperlipémicos con o sin enfermedad cardiovascular, muestra que todos los pacientes hiperlipémicos y aquellos normolipémicos con enfermedad coronaria

presentaban un descenso en la concentración plasmática de grupos thiol y un marcado aumento de niveles plasmáticos de taurina. A su vez la concentración plasmática de grupos thiol se relacionó de forma inversa con LDL colesterol y positiva con HDL colesterol. Estos hallazgos, junto al efecto de elevación de HDL con NAC, eran relacionados en este trabajo a un catabolismo aumentado de cisteína a taurina en pacientes con hiperlipemia y/o enfermedad cardiovascular. Al aumentar la fuente externa de cistina (NAC), la proporción cambiaría aumentando los grupos thiol plasmáticos y la concentración de HDL, por alguna vía aún desconocida. Los cambios en el estado redox de la familia enzimática de los tioles y la cisteína están asociados a cambios en la tasa de albúmina plasmática reducida frente a oxidada, por tanto, el análisis de la cistina plasmática necesita de la eliminación de grupos thiol de alto peso molecular, es decir, aquellos unidos a proteínas, según dichos autores. Este hecho puede influir en la no detección en nuestro caso de aumento de enzimas glutathione en plasma tras la administración de NAC.

La fracción HDL presenta capacidad antioxidante y se describe su actuación antiaterogénica (Mackness y cols 1993, Cockerill y cols 1999, 2001). La HDL en la enfermedad renal sufre un descenso en su síntesis y alteración en su estructura (Shoji y cols 1997) y como ya hemos descrito está disminuida en el trasplante. El aumento de HDL mediada por NAC puede por tanto mejorar la balanza oxidativa en trasplante renal.

La *función renal*, determinada tanto por creatinina sérica como por las medidas de estimación de filtrado glomerular, presentó una mejoría significativa en este grupo. Los estudios realizados hasta el momento en este aspecto, dejando a un lado los referidos a profilaxis de exploraciones de contraste, en su mayoría son experimentales. Por ejemplo, en ratas nefrectomizadas (5/6), en las que la administración de NAC presenta protección de filtrado glomerular (Shimizu y cols 2005), o en un modelo experimental de HTA sal-sensible en ratas, en el que Tian y cols (2006) describen que el tratamiento con NAC da lugar a un incremento del filtrado glomerular y flujo plasmático renal y a una disminución de daño tubulointersticial y necrosis glomerular. En relación con isquemia-reperfusión Nitescu y cols (2006) realizan un trabajo en ratas en el que NAC producía una mejora de la función renal en los tres primeros días y provocaba un descenso en la inflamación intersticial. Por tanto, no podemos afirmar aún este efecto beneficioso de NAC sobre la función renal, si bien la significación en

la correlación entre creatinina y GPx se pierde en este grupo únicamente, y podría hacer pensar, junto a los estudios experimentales descritos, que la actuación con este fármaco tuviera algún efecto a este nivel.

CONCLUSIONES

1. En nuestros pacientes encontramos una elevación plasmática de uno de los productos finales de la peroxidación lipídica (MDA), y descenso, aunque no significativo, de la capacidad antioxidante representada por GPx, frente a controles sanos. Esto parece indicar que en estos pacientes existe un aumento de estrés oxidativo.
2. En este estudio, entre los factores que se pueden asociar a un déficit de la capacidad antioxidante en el trasplante renal, podemos considerar: infección por CMV y FRI, como factores retrospectivos, y deterioro de función renal, microalbuminuria, HTA y tratamiento con ciclosporina, como factores de la evolución del trasplante.
3. La edad es el factor de riesgo más importante asociado a la presentación de lesiones ateroscleróticas ecográficas carotídeas en pacientes portadores de un injerto renal. Los parámetros oxidativos plasmáticos no se relacionan con la presencia de lesiones carotídeas. La hipercolesterolemia está asociada a la presencia de lesiones de ateroma y calcificación de las mismas en pacientes trasplantados.
4. La evolución natural del patrón oxidativo plasmático en trasplante renal parece corresponder a un aumento de compuestos diénicos y por tanto de peroxidación lipídica, a pesar de la estabilización o incluso descenso de la colesterolemia.
5. El tratamiento con atorvastatina a largo plazo descende la concentración plasmática de MDA y aumenta la de GPx mejorando el estado oxidativo del paciente trasplantado renal, descende la hipercolesterolemia, sin modificar la función renal. El tratamiento con NAC no modifica los parámetros de oxidación plasmáticos y aumenta la fracción HDL del colesterol en trasplante renal, partícula con actividad antioxidante. El tratamiento combinado con ambos fármacos podría beneficiar el estado oxidativo del enfermo trasplantado renal a largo plazo y, por tanto, su riesgo cardiovascular.

BIBLIOGRAFÍA

1. Abello PA, Fidler SA, Buchman TG: Thiol reducing agents modulate induced apoptosis in porcine endothelial cells. *Shock* 1994; 2: 79-93.
2. Abu-Soud HM, Hazen SL: Nitric oxide modulates the catalytic activity of myeloperoxidase. *J Biol Chem* 2000; 275: 5425-5430.
3. Aebi H: Catalase in vitro. *Methods Enzymol* 1984; 105: 121-126.
4. Agoroaei L, Mircea C, Butnaru E, Ilicenco D, Proca M: Superoxide dismutase and catalase in smokers. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi* 2003; 107(4); 747-751.
5. Albrich, JM, McCarthy CA, Hurst JK: Biological reactivity of hypochlorous acid: Implications for microbicidal mechanisms of leukocyte myeloperoxidase *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78: 210-214.
6. Alencar JL, Lobysheva I, Geffard M, Sarr M, Schott C, Schini-Kerth VB et al: Role of S-nitrosation of cysteine residues in long-lasting inhibitory effect of nitric oxide on arterial tone. *Mol Pharmacol* 2003; 63: 1148-1158.
7. Amann K, Tyralla K, Gross ML, Eifert T, Adamczak M, Ritz E: Special characteristics of atherosclerosis in chronic renal failure. *Clin Nephrol* 2003; 60 (Suppl 1): S13-S21.
8. Ames BN, Cathcar R, Schwiers E, Hochstein P: Uric acid provides an antioxidant defence in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer: a hypothesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78: 6858-6862.
9. Andrews NP, Prasad A and Quyyumi AA: N-acetyl-cysteine improves coronary and peripheral vascular function. *J Am Coll Cardiol* 2001; 37: 117-123.
10. Aragno M, Cutrin JC, Mastrocola R, Perrelli MG, Restivo F, Poli G et al: Oxidative stress and kidney dysfunction due to ischemia/reperfusion in rat: attenuation by dehydroepiandrosterone. *Kidney Int* 2003; 64(3):836-843.
11. Arroyo A, Navarro F, Gómez-Díaz C, Crane FL, Alcain FJ, Navas P et al: Interactions between ascorbyl free radical and coenzyme Q at the plasma membrane. *J Bioenerg Biomemb* 2000; 32: 199-210.
12. Artz MA, Boots JM, Ligtenberg G, Roodnat JJ, Christiaans MH, Vos PF et al: Improved cardiovascular risk profile and renal function in renal transplant patients after randomized conversion from cyclosporine to tacrolimus. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14(7):1880-1888.

13. Aruoma OI, Halliwell B, Hoey BM, Butler J: The antioxidant action of N-acetylcysteine: its action with hydrogen peroxide, hydroxyl radical, superoxide, and hypochlorous acid. *Free Radic Biol Med* 1989; 6: 593-597.
14. Asberg A, Hartmann A, Fjeldsa E, Holdaas H: Atorvastatin improves endothelial function in renal-transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16(9): 1920-1924.
15. Asberg A, Holdaas H, Jardine AG, Edvardsen C, Hartmann A: Fluvastatin reduces atherogenic lipids without any effect on native endothelial function early after kidney transplantation. *Clin Transplant* 2003; 17(4): 385-390.
16. Atger V, Duval F, Frommherz K, Druke T, Lacour B: Anomalies in composition of uremic lipoproteins isolated by gradient ultracentrifugation: Relative enrichment of HDL in apolipoprotein C-III at the expense of apolipoprotein A-I. *Atherosclerosis* 1988; 74: 75-83.
17. Avissar N, Ornt DB, Yagil Y, Horowitz S, Watkins RH, Kerl EA et al: Human kidney proximal tubules are the main source of plasma glutathione peroxidase. *Am J Physiol* 1994; 266: C367-375.
18. Babior BM, Lambeth JD, Nauseef W: The neutrophil NADPH oxidase. *Arch Biochem Biophys* 2002; 397: 342-366.
19. Babior BM: Oxygen-dependent microbial killing by phagocytes. *N England J Med* 1978; 298: 659-668.
20. Babior BM: The NADPH oxidase of endothelial cells. *IUBMB Life* 2000; 50: 267-269.
21. Badiou S, Garrigue V, Dupuy AM, Chong G, Cristol JP, Mourad G: Small dense low-density lipoprotein in renal transplant recipients: a potential target for prevention of cardiovascular complications?. *Transplant Proc* 2006; 38(7): 2314-2316.
22. Baldus S, Eiserich JP, Mani A, Castro L, Figueroa M, Chumley P et al: Endothelial transcytosis of myeloperoxidase confers specificity to vascular ECM proteins as targets of tyrosine nitration. *J Clin Invest* 2001; 108(12):1759-1770.
23. Barbagallo CM, Pinto A, Gallo S, Parrinello G, Caputo F, Sparacino V et al: Carotid atherosclerosis in renal transplant recipients: relationships with cardiovascular risk factors and plasma lipoproteins. *Transplantation* 1999; 15: 67(3):366-371.

24. Barclay LR, Baskin KA, Locke SJ, and Vinqvist MR: Absolute rate constants for lipid peroxidation and inhibition in model biomembranes. *Can J Chem* 1989; 67: 1366-1369.
25. Barja de Quiroga: Radicales libres y antioxidantes. Departamento de Biología animal II. Facultad de Biología. Universidad Complutense de Madrid, 1998.
26. Barret BJ: Contrast nephrotoxicity. *J Am Soc Nephrol* 1994; 5: 125-137.
27. Bedwell S, Dean RT, Jessup W: The action of defined oxygen-centred free radicals on human low-density lipoproteins. *Biochem J* 1989; 262: 707-712.
28. Berger TM, Polidori MC, Dabbagh A, Evans PJ, Halliwell B, Morrow JD et al: Antioxidant activity of vitamin C in iron-overload human plasma. *J Biol Chem* 1997; 272: 15656-15660.
29. Bielicki JK, Forte TM: Evidence that lipid hydroperoxides inhibit plasma lecithin: cholesterol acyltransferase activity. *J Lipid Res* 1999; 40(5): 948-954.
30. Blum M, Yachmin T, Wollman Y, Chemihovsky T, Peer G, Grosskopf I et al: Low nitric oxide production in patients with chronic renal failure. *Nephron* 1998; 79: 265-268.
31. Bonetti PO, Lerman LO, Napoli C, Lerman A: Statins effects beyond lipid lowering: are they clinically relevant?. *Eur Heart J* 2003; 24: 225-248.
32. Boratyrska M, Boratyrska J, Klinger M, Szyber P, Pawlowski S, Pupka A et al: Lipid peroxidation and cytokines in chronic allograft failure: influence of nonimmunological risk factors. *Transplant Proc* 2000; 32(6): 1384-1386.
33. Bostom AG, Carpenter MA, Kusek JW, Hunsicker LG, Pfeffer MA, Levey AS, Jacques PF, McKenney J; FAVORIT Investigators: Rationale and design of the Folic Acid for Vascular Outcome Reduction In Transplantation (FAVORIT) trial. *Am Heart J* 2006; 152(3): 448.e1-7.
34. Bouby N, Hassler C, Parvy P, Bankir L: Renal synthesis of arginine in chronic renal failure: In vivo and in vitro studies in rats with 5/6 nephrectomy. *Kidney Int* 1993; 44: 676-683.
35. Bamm B, Koomans HA: Nitric oxide antagonizes the actions of angiotensin II to enhance tubuloglomerular feedback responsiveness. *Kidney Int* 1995; 48: 1406-1411.
36. Brown MS, Goldstein JL: A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science* 1986; 232: 34-47.

37. Burke A, FitzGerald GA, Lucey MR: A prospective analysis of oxidative stress and liver transplantation. *Transplantation* 2002; 74(2): 217-221.
38. Camejo G, Fager G, Rosengren B, Hurt-Camejo E, Bondjers G: Binding of low density lipoproteins in serum: mechanisms and effect on the interaction of LDL with human macrophages. *J Lipid Res* 1998; 39: 755-766.
39. Candeias LP, Patel KB, Stratford MR, Wardman P: Free hydroxyl radicals are formed on reaction between the neutrophil-derived species superoxide anion and hypochlorous acid. *FEBS* 1993; Lett. 333: 151-153.
40. Carlberg I and Mannervik B: Glutathione reductase. *Methods Enzymol* 1985; 113: 484-490.
41. Carr A, Frei B: Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions? *FASEB J* 1999; 13: 1007-1024.
42. Carr AC, Tijerina T, Frei B: Vitamin C protects against and reserves specific hypochlorous acid- and chloramina-dependent modifications of low-density lipoprotein. *Biochem J* 2000; 346: 491-499.
43. Cathcart MK, McNally AK, Morel DW, Chisolm GM: Superoxide anion participation in human monocyte-mediated oxidation of low-density lipoprotein and conversion of low-density lipoprotein to a cytotoxin. *J Immunol* 1989; 142: 1963-1969.
44. Ceballos-Picot I, Witko-Sarsat V, Merad-Boudia M, Nguyen AT, Thevenin M, Jaudon MC et al: Glutathione antioxidant system as a marker of oxidative stress in chronic renal failure. *Free Radic Biol Med* 1996; 21: 845-853.
45. Clair DK, and Chow CK. Glutathione peroxidase: activity and steady-state level of mRNA. In: PUNCHARD NA, KELLI FJ (editors): *Free Radicals: A practical approach*. Oxford University Press; 1996, pp. 227-240.
46. Cockerill GW, Huehns TY, Weerasinghe A, Stocker C, Lerch PG, Miller NE et al: Elevation of plasma high-density lipoprotein concentration reduces interleukin 1-induced expression of E-selectin in an in vivo model of acute inflammation. *Circulation* 2001; 103: 108-112.
47. Cockerill GW, Saklatvala J, Ridley SH, Yarwood H, Miller NE, Oral B et al: High-density lipoproteins differentially modulate cytokine-induced expression of E-selectin and cyclooxygenase-2. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 910-917.

48. Cofan F, Núñez R, Gilabert R, Zambon D, Ros E, Cofan M et al: Increased Prevalence of Carotid and femoral atherosclerosis in renal transplant recipients. *Transplant Proc* 2001; 33: 1254-1256.
49. Cofan F, Zambon D, Laguna JC, Ros E, Casals E, Cofan M et al: Oxidation of low-density lipoproteins in renal transplant recipients treated with tacrolimus. *Transplant Proc* 2002a; 34: 377-376.
50. Cofan F, Zambon D, Laguna JC, Casals E, Ros E, Cofan M et al: Pravastatin improves low-density lipoprotein oxidation in renal transplantation. *Transplant Proc* 2002b; 34(1):389-391.
51. Cofan F, Gilabert R, Núñez I, Zambon D, Ros E, Casals E et al: Influence of renal posttransplantation dyslipemia on the degree and severity of carotid and femoral atherosclerosis evaluated by B-mode ultrasound. *Transplant Proc* 2002c; 34: 412-414.
52. Cofan F, Cofan M, Campos B, Guerra R, Campistol JM, Oppenheimer F: Effect of calcineurin inhibitors on low-density lipoprotein oxidation. *Transplant Proc* 2005; 37(9):3791-3793.
53. Coleman JW: Nitric oxide in immunity and inflammation. *Int Immunopharmacol* 2001; 1: 1397-1406.
54. Coon MJ, Ding X, Pernecky SJ, Vaz AND: Cytochrome P450: Progress and predictions. *FASEB J* 1992; 6: 669-673.
55. Corsini A, Bellosta S, Baetta R, Fumagalli R, Paoletti R, Bernini F: New insights into the pharmacodynamic and pharmacokinetic properties of statins. *Pharmacol Ther* 1999; 84: 413-428.
56. Crane FL: Biochemical functions of coenzyme Q10. *J Am Coll Nutr* 2001; 20: 591-598.
57. Cristol JP, Vela C, Maggi MF, Descomps B, Mourad G: Oxidative stress and lipid abnormalities in renal transplant recipients with or without chronic rejection. *Transplantation* 1998; 65 (10): 1322-1328.
58. Cutts JL, Bankhurst AD: Reversal of lovastatin-mediated inhibition of natural killer cell cytotoxicity by interleukin 2. *J Cell Physiol* 1990; 145: 244-252.
59. Chade AR, Lerman A, Lerman LO: Kidney in early atherosclerosis. *Hypertension* 2005; 45(6): 1042-1049.

-
60. Channon KM, Guzik TJ: Mechanisms of superoxide production in human blood vessels: relationship to endothelial dysfunction, clinical and genetic risk factors. *J Physiol Pharmacol.* 2002; 53(4 Pt 1): 515-524.
 61. Chen G, Wang SH, Warner TD: Regulation of iNOS mRNA levels in endothelial cells by glutathione, a double-edged sword. *Free Radic Res* 2000; 32: 223-234.
 62. Cheng G, Cao Z, Xu X, van Meir EG, Lambeth JD: Homologs of gp91phox: cloning and tissue expression of Nox3, Nox4, and Nox5. *Gene* 2001; 269(1-2):131-140.
 63. Chobanian A, Bakris GL, Black HR, Cushman W, Green LA, Izo JL et al: The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. The JNC 7 Report. *JAMA* 2003; 289: 2560-2572.
 64. Chu FF and Esworthy RS: The expression of an intestinal form of glutathione peroxidase (GSHPx-GI) in rat intestinal epithelium. *Arch Biochem Biophys* 1995; 323: 288-294.
 65. Dabbagh AJ, Shwaery GT, Keany JF Jr, Frei B: Effect of iron overload and iron deficiency on atherosclerosis in the hypercholesterolemic rabbit. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 2638-2645.
 66. Davignon J: Beneficial cardiovascular pleiotropic effects of statins. *Circulation* 2004; 109: 39-43.
 67. Day AP, Bellavia S, Jones OT, Stanbie D: Effect of simvastatin therapy on cell membrane cholesterol content and membrane function as assessed by polymorphonuclear cell NADPH oxidase activity. *Ann Clin Biochem* 1997; 34: 269-275.
 68. De Graaf J, Hak-Lemmers HL, Hectors MP, Demacker PN, Hendriks JC, Stalenhoef AF: Enhanced susceptibility to in vitro oxidation of the dense low density lipoprotein subfraction in healthy subjects. *Arterioscler Thromb* 1991; 11(2): 298-306.
 69. De Mattia G, Bravi MC, Laurenti O, Cassone-Faldetta M, Proietti A, De Luca O et al: Reduction of oxidative stress by oral N-acetyl-cysteine treatment decreases plasma soluble vascular cell adhesion molecule-1 concentrations in non-obese, non-dyslipidaemic, normotensive, patients with non-insulin-dependent diabetes. *Diabetología* 1998; 41: 1392-1396.

-
70. De Sain-Van Der Velden MG, Reijngoud DJ, Kaysen GA, Gadellaa MM, Voorbij H, Stellaard F et al: Evidence for increased síntesis of lipoprotein(a) in the nephrotic síndrome. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9(8):1474-1481.
71. De Vega L, Pérez Fernández R, Martín Mateo MC, Bustamante J, Bustamante A, Mendiluce Herrero A et al: Study of the activity of glutathione-peroxidase, glutathione transferase, and glutathione.reductase in renal transplants. *Transplant Proc* 2003; 35: 1346-1350.
72. Deterding LJ, Barr DP, Mason RP, Tomer KB: Characterization of cytochrome c free radical reactions with peptides by mass spectrometry. *J Biol Chem* 1998; 273: 12863-12869.
73. Devlin TM. Bioquímica. Segunda edición. Editorial Reverté SA 1989: pp 510-514.
74. Diaz M, Frei B, Vita JA, and Keaney JF Jr.: Antioxidants and atherosclerotic heart disease. *N Engl J Med* 1997; 337: 408-416.
75. Díez J: Enfermedad renal y patología cardiovascular. Bases fisiopatológicas de la asociación. *Nefrología* 2004; 24 (Suppl 6): 21-26.
76. Dimmeler S, Aicher A, Vasa M, Midner-Rihm C, Adler K, Tiemman M et al: HMG CoA reductase inhibitors (statins) increase endothelial progenitor cells via the PI 3-kinase/Akt pathway. *J Clin Invest* 2001; 108: 391-397.
77. Diniz YS, Rocha KK, Souza GA, Galhardi CM, Ebaid GM, Rodrigues HG et al: Effects of N-acetylcysteine on sucrose-rich diet-induced hyperglycaemia, dyslipidemia and oxidative stress in rats. *Eur J Pharmacol* 2006; 543(1-3):151-157.
78. Dobashi K, Singh I, Orak JK, Asayama K, Singh AK: Combination therapy of N-acetylcysteine, sodium nitroprusside and phosphoramidon attenuates ischemia-reperfusion injury in rat kidney. *Mol Cell Biochem* 2002; 240(1-2): 9-17.
79. Dornbrook-Lavender KA, Joy MS, Denu-Ciocca CJ, Chin H, Hogan SL, Pieper JA: Effects of atorvastatin on low-density lipoprotein cholesterol phenotype and C-reactive protein levels in patients undergoing long-term dialysis. *Pharmacotherapy* 2005; 25(3): 335-344.
80. Drager LF, Andrade L, Barros de Toledo JF, Laurindo FR, Machado Cesar LA, Seguro AC: Renal effects of N-acetylcysteine in patients at risk for contrast nephropathy: decrease in oxidant stress-mediated renal tubular injury. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19(7):1803-1807.

81. Drueke TB, Abdulmassih Z, Lacour B, Bader C, Chevalier A, Kreis H: Atherosclerosis and lipid disorders after renal transplantation. *Kidney Int* 1991; 39 (Suppl 31): S24-S28.
82. Duffy SJ, Keaney JF Jr, Holbrook M, Gokce N, Swedloff PL, Frei B et al: Short and long-term black tea consumption reserves endothelial dysfunction in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2001; 104: 151-156.
83. EBPG Expert Group on Renal Transplantation. European Best Practice Guidelines for renal transplantation. Section IV: Long-term management of the transplant recipient. IV.5.3. Cardiovascular risks. Hyperlipidaemia. *Nephrol Dial Transplant* 2002(a); 17(Suppl 4): 26-28.
84. EBPG Expert Group on Renal Transplantation. European Best Practice Guidelines for renal transplantation. Section IV: Long-term management of the transplant recipient. IV.5.1. Cardiovascular risks. Cardiovascular disease after renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant* 2002(b); 17(Suppl 4): 24-25.
85. Efrati S, Dishy V, Averbukh M, Blatt A, Krakover R, Weisgarten J: The effect of N-acetylcysteine on renal function, nitric oxide, and oxidative stress after angiography. *Kidney Int* 2003; 64(6): 2182-2187.
86. Eikelbloom JW, Lonn E, Genest J, Hankey G, Yusuf S: Homocysteine and cardiovascular disease: a critical review of the epidemiologic evidence. *Ann Intern Med* 1999; 131: 363-375.
87. Eiserich JP, Cross CE, Jones AD; Halliwell B, van der Vliet A: Formation of nitrating and chlorinating species by reaction of nitrite with hypochlorous acid. A novel mechanism for nitric oxide-mediated protein modification. *J Biol Chem* 1996; 271: 19199-19208.
88. Eiserich, JP, Hristova M, Cross CE, Jones AD, Freeman BA, Halliwell B, van der Vliet A: Formation of nitric oxide-derived inflammatory oxidants by myeloperoxidase in neutrophils. *Nature* 1998; 391: 393-397.
89. Emerit J, Beaumont C, Trivin F: Iron metabolism, free radicals, and oxidative injury. *Biomed Pharmacother* 2001; 55(6):333-339.
90. Erdogan H, Fadillioglu E, Yagmurca M, Ucar M, Irmak MK: Protein oxidation and lipid peroxidation after renal ischemia-reperfusion injury: protective effects of erdosteine and N-acetylcysteine. *Urol Res* 2006; 34(1):41-46.

-
91. Ernster L, Dallner G: Biochemical, physiological and medical aspects of ubiquinone function. *Biochim Biophys Acta* 1995; 1271: 195-204.
 92. Esterbauer H, Gebicki J, Puhl H, and Jürgens G: The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radic Biol Med* 1992; 13: 341-390.
 93. Faruqi RM, Poptic EJ, Faruqi TR, De La MC, DiCorleto PE: Distinct mechanisms for N-acetylcysteine inhibition of cytokine-induced E-selectin and VCAM-1 expression. *Am J Physiol* 1997; 273: H817-H826.
 94. Favreau F, Petit-Paris I, Hauet T, Dutheil D, Papet Y, Mauco G, Tallineau C: Cyclooxygenase 1-dependent production of F2-isoprostane and changes in redox status during warm renal ischemia-reperfusion. *Free Radic Biol Med* 2004; 36(8):1034-1042.
 95. Fellstrom B, Holdaas H, Jardine AG, Holme I, Nyberg G, Fauchald P et al; Assessment of Lescol in Renal Transplantation Study Investigators. Effect of fluvastatin on renal end points in the Assessment of Lescol in Renal Transplant (ALERT) trial. *Kidney Int* 2004; 66(4): 1549-1555.
 96. Fernández-Fresnedo G, Escallada R, de Francisco ALM, Rodrigo E, Zubimendi JA, Ruiz JC et al: Post-transplant diabetes is a cardiovascular risk factor in renal transplant patients. *Transplant Proc* 2003; 35: 700.
 97. Feron O, Dessy C, Desager JP, Balligand JL: Hydroxy-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibition promotes endothelial nitric oxide synthase activation through a decrease in caveolin abundance. *Circulation* 2001; 103: 113-118.
 98. First MR, Neylan JF, Rocher LL, Tejani A: Hypertension after renal transplantation. *J Am Soc Nephrol* 1994; 4 (Suppl 8): 30-36.
 99. Fishel RS, Eisenberg S, Shai S-Y, Redden RA, Bernstein KE, Berk BC: Glucocorticoids induce angiotensin-converting enzyme expression in vascular smooth muscle. *Hypertension* 1995; 25: 343-349.
 100. Flesch M, Sachinidis A, Ko YD, Kraft K, Vetter H: Plasma lipids and lipoproteins and essential hypertension. *Clin Invest* 1994; 72(12): 944-950.
 101. Foote CS, Gozue TE, Lehrer RI: Assesment of chlorination by human neutrophils. *Nature* 1983; 301: 715-726.

102. Foresti R, Sarathchandra P, Clark JE, Green CJ, Motterlini R: Peroxynitrite induces heme oxygenase-1 in vascular endothelial cells: a link to apoptosis. *Biochem J* 1999; 339 (Pt 3): 729-736.
103. Forsmark-Andrée P, Dallner G, Ernster L: Endogenous ubiquinol prevents protein modification accompanying lipid peroxidation in beef heart submitochondrial particles. *Free Radic Biol Med* 1995; 19: 749-757.
104. Fort J: Chronic renal failure: A cardiovascular risk factor. *Kidney Int* 2005; 68 (suppl 99): S25-S29.
105. Franceschini G, Werba JP, Safa O, Gikalov I, Sirtori CR: Dose-related increase of HDL-cholesterol levels after N-acetylcysteine in man. *Pharmacol Res* 1993; 28(3): 213-218.
106. Fredrikson GN, Hedblad B, Berglund G, Alm R, Ares M, Cercek B et al: Identification of immune responses against aldehyde-modified peptide sequences in apoB associated with cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 872-878.
107. Frei B, Stocker R, England L, and Ames BN: Ascorbate: the most effective antioxidant in human blood plasma. *Adv Exp Med Biol* 1990; 264: 155-163.
108. Fridovich I: Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annu Rev Biochem* 1995; 64: 97-112.
109. Friedman AN, Bostom AG, Laliberty P, Selhub J, Shemin D: The effect of N-acetylcysteine on plasma total homocysteine levels in hemodialysis: a randomized, controlled study. *Am J Kidney Dis* 2003; 41(2):442-446.
110. Fuh MM, Lee CM, Jeng CY, Shen DC, Shieh SM, Reaven GM et al: Effect of chronic renal failure on high-density lipoprotein kinetics. *Kidney Int* 1990; 37: 1295-1300.
111. Fuhrman B, Koren L, Volkova N, Keidar S, Hayek T, Aviram M: Atorvastatin therapy in hypercholesterolemic patients suppresses cellular uptake of oxidized-LDL by differentiating monocytes. *Atherosclerosis* 2002; 164(1):179-85.
112. Fukui T, Ishizaka N, Rajagopalan S, Laursen JB, Capers Q IV, Taylor WR et al: p22phox mRNA expression and NADPH oxidase activity are increased in aortas from hypertensive rats. *Circ Res* 1997; 80: 45-51.
113. Furtner M, Kiechl S, Mair A, Seppi K, Weger S, Oberhollenzer F et al: Urinary albumin excretion is independently associated with carotid and femoral artery

- atherosclerosis in the general population. *European Heart Journal* 2005; 26: 279–287.
114. Galle J. Oxidative stress in chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: 2135-2137.
115. García López F, Robles R, Gentil MA, Lorenzo Sellarés V, Clèries M, Escayola M et al, en representación del Grupo de Registros de Enfermos Renales de España: Comparación de la incidencia, prevalencia, modalidad de tratamiento y mortalidad en pacientes con tratamiento renal sustitutivo en cinco comunidades autónomas españolas en el período 1991-1996. *Nefrología* 1999; 19: 443-59.
116. Garner B, Jessup W: Cell-mediated oxidation of low-density lipoprotein: the elusive mechanism(s). *Redox Report* 1996; 2: 97-104.
117. Geiszt M, Kopp JB, Varnai P, Leto TL: Identification of renox, an NAD(P)H oxidase in kidney. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97(14): 8010-8014.
118. Ghanem H, van den Dorpel MA, Weimar W, Man in 'T Veld AJ, El-Kannishy MH, Jansen H: Increased low density lipoprotein oxidation in stable kidney transplant recipients. *Kidney Int* 1996; 49(2): 488-493.
119. Ghigliotti G, Mereto E, Eisenberg PR, Martelli A, Orsi P, Sini D et al: N-acetylcysteine reduces neointimal thickening and procoagulant activity after balloon-induced injury in abdominal aortae of New Zealand white rabbits. *Thromb Haemost* 2001; 85: 724-729.
120. Giannarelli R, Coppelli A, Aragona M, Boggi U, Napoli V, Donadio F et al: Disociation between carotid artery lesions and lipid parameters in recipients of successful kidney graft. *Diabetes Nutr Metab* 2003; 16(4): 232-235.
121. Girelli D, Lupo A, Trevisan MT, Olivieri O, Bernich P, Zorzan P et al: Red blood cell susceptibility to lipid peroxidation, membrane lipid composition, and antioxidant enzymes in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int* 1992; 12(2):205-210.
122. Giroux LM, Davignon J, Narszewick M: simvastatin inhibits the oxidation of low-density lipoproteins by activated human monocyte-derived macrophages. *Biochim. Biophys. Acta* 1993; 1165: 335-338.
123. Goldstein JL, Brown MS: Regulation of the mevalonate pathway. *Nature* 1990; 343: 425-430.

124. Gómez-Fernández P, Pérez Requena J, Sánchez-Margalet V, Esteban J, Murillo-Carretero M, Almaraz-Jiménez M: Daño Vascular en la insuficiencia renal crónica. El aumento de depósitos vasculares de nitrotirosina y citocinas se acompaña de una elevación de la expresión vascular de la óxido nítrico sintasa endotelial. *Nefrología* 2005; 25(2): 155-162.
125. Gouldsbrough DR, Axelsen RA: Arterial endothelialitis in chronic renal allograft rejection: a histopathological and immunocytochemical study. *Nephrol Dial Transplant* 1994; 9: 35-40.
126. Grahame-Clarke C, Chan NN, Andrew D, Ridgway GL, Betteridge DJ, Emery V et al: Human cytomegalovirus seropositivity is associated with impaired vascular function. *Circulation* 2003; 108(6): 678-683.
127. Granger DL, Taintor RR, Boockvar KS, Hibbs JB: Measurement of nitrate and nitrite in biological samples using nitrate reductase and Griess reaction. *Methods Enzymol* 1996; 268: 142-151.
128. Grant EG, Benson CB, Moneta GL, Alexandrov AV, Baker JD, Bluth EI et al. Carotid artery stenosis: gray-scale and Doppler US diagnosis-Society of radiologists in ultrasound consensus conference. Ultrasound consensus conference. *Ultrasound Q* 2003; 19(4): 190-198.
129. Griendling KK, Minieri CA, Ollerenshaw JD, Alexander RW: Angiotensin II stimulates NADH and NADPH oxidase activity in cultured vascular smooth muscle cells. *Circ Res* 1994; 74: 1141-1148.
130. Griendling KK, Sorescu D, Ushio-Fukai M: NAD(P)H oxidase: Role in cardiovascular biology and disease. *Circ Res* 2000; 86: 494-501.
131. Griffith RL, Virella GT, Stevenson HC, Lopes-Virella MF: Low-density lipoprotein metabolism by human macrophages activated with low-density lipoprotein immune complexes. A possible mechanism of foam cell formation. *J Exp Med* 1998; 168: 1041-1059.
132. Groth C, Backman L, Morales JM, Calne R, Kreis H, Lang P et al: Sirolimus (rapamycin)- based therapy in human renal transplantation. *Transplantation* 1999; 67: 1036-1042.
133. Grune T, Sommerburg O, Siems WG: Oxidative stress in anemia. *Clin Nephrol* 2000; 53: S18-S22.

-
134. Hakala JK, Oksjoki R, Laine P, Du H, Grabowski GA, Kovanen PT et al: Lysosomal enzymes are released from cultured human macrophages, hydrolyze LDL in Vitro, and are present extracellularly in human atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 1430-1436.
135. Halliwell B: Vitamin C: antioxidant or pro-oxidant in vivo?. *Free Radic Res* 1996; 25: 439-454.
136. Halloran PF, Melk, Barth C: Rethinking chronic allograft nephropathy: the concept of accelerated senescence. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 167-181.
137. Harris K, Thomas M, Short C, Moore R: Assessment of the efficacy of treatment of dyslipidaemia in renal outpatients. *J Nephrol* 2002; 15: 263-269.
138. Hartog JW, de Vries AP, Lutgers HL, Meerwaldt R, Huisman RM, van Son WJ et al: Accumulation of advanced glycation products, measured as skin fluorescence, in renal disease. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1043: 299-307.
139. Hazell LJ, Davies MJ, Stocker R: Secondary radicals derived from chloramines of apolipoprotein B-100 contribute to HOCl-induced lipid peroxidation of low-density lipoproteins. *Biochem J* 1999; 339: 489-495.
140. Hazell LJ, van den Berg JJM, Stocker R: Oxidation of low-density lipoprotein by hypochlorite causes aggregation that is mediated by modification of lysine residues rather than lipid oxidation. *Biochem J* 1994; 302: 297-304.
141. Hazen SL, Heinecke JW: 3-chlorotyrosine, a specific marker of myeloperoxidase-catalyzed oxidation, is markedly elevated in low density lipoprotein isolated from human atherosclerotic intima. *J Clin Invest* 1997; 99: 2075-2081.
142. Hazen SL, Zhang R, Shen Z, Wu W, Podrez EA, MacPherson JC et al: Formation of nitric oxide-derived oxidants by myeloperoxidase in monocytes: pathways for monocyte-mediated protein nitration and lipid peroxidation in vivo. *Circ Res* 1999; 85: 950-958.
143. Hernández-Perera O, Pérez-Sala D, Soria E, Lamas S: Involvement of Rho GTPases in the transcriptional inhibition of preproendothelin-1 gene expression by simvastatin in vascular endothelial cells. *Circ Res* 2000; 87: 616-622.
144. Hernández-Presa MA, Martín-Ventura JL, Ortego M, Gómez-Hernández A, Tunon J, Hernández-Vargas P et al: Atorvastatin reduces the expresión of cyclooxygenasa-2 in a rabbit model of atherosclerosis and in cultured vascular smooth muscle cells. *Atherosclerosis* 2002; 160: 49-58.

145. Himmelfarb J, McMenamin E, McMonagle E: Plasma aminothiols oxidation in chronic renal failure. *Kidney Int* 2002; 61: 705-716.
146. Hizoh I, Haller C: Radiocontrast-induced renal tubular cell apoptosis: hypertonic versus oxidative stress. *Invest Radiol* 2002; 37: 428-434.
147. Holdaas H, Fellstrom B, Jardine AG, Holme I, Nyberg G, Fauchald P et al; Assessment of LEscol in Renal Transplantation (ALERT) Study Investigators: Effect of fluvastatin on cardiac outcomes in renal transplant recipients: a multicentre, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet* 2003; 361(9374):2024-31.
148. Holdaas H, Fellstrom B, Jardine AG, Nyberg G, Gronhagen-Riska C, Madsen S et al; ALERT Study Group. Beneficial effect of early initiation of lipid-lowering therapy following renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20(5): 974-80.
149. Hostetter TH, Olson JL, Rennke HG, Venkatachalam MA, Brenner BM: Hyperfiltration in remnant nephrons: a potentially adverse response to renal ablation. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 1315-1325.
150. Hricik DE, Bartucci MR, Mayes JT, Schulak JA: The effects of steroid withdrawal on the lipoprotein profiles on cyclosporine-treated kidney and kidney pancreas transplant recipients. *Transplantation* 1992(a); 54: 868-872.
151. Hricik DE, Bartucci MR, Moir EJ, Majes JT, Schulak JA: Effects of steroid withdrawal on posttransplant diabetes mellitus in cyclosporine-treated renal transplant recipients. *Transplantation* 1992(b); 53: 1232-1235.
152. Huang A, Vita JA, Venema RC, Keaney JF Jr: Ascorbic acid enhances endothelial nitric-oxide synthase activity by increasing intracellular tetrahydrobiopterin. *J Biol Chem* 2000; 275: 17399-17406.
153. Ichiki T, Takeda K, Tokunou T, Funakoshi Y, Ito K, Iino N et al: Reactive oxygen species-mediated homologous downregulation of angiotensin II type I receptor mRNA by angiotensin II. *Hypertension* 2001; 37: 535-540.
154. Ignarro LJ: Nitric oxide as a unique signalling molecule in the vascular system: a historical overview. *J Physiol Pharmacol* 2002; 53: 503-514.
155. Inoue I, Goto S, Mizotani K, Awata T, Mastunaga T, Kawai S et al: Lipophilic HMG-CoA reductase inhibitor has an anti-inflammatory effect: reduction of mRNA levels for interleukin-1 β , interleukin-6, cyclooxygenase-2, and p22phox by regulation

- of peroxisoma proliferators-activated receptor α (PPAR α) in primary endothelial cells. *Life Sci* 2000; 67: 863-876.
156. Inselmann G, Blank M, Baumann K: Cyclosporine A induces lipid peroxidation in microsomes and effects on active and passive glucose transport by brush border membrane vesicles of rat kidney. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1998; 62: 207-220.
157. Inselmann G, Hannemann J, Baumann K: Cyclosporin A induced lipid peroxidation and influence on glucose-6-phosphatase in rat hepatic and renal microsomes. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1990; 68: 189-203.
158. Ischiropoulos H, al Mehdi AB: Peroxynitrite-mediated oxidative protein modifications. *FEBS Lett* 1995; 364: 279-282, 1995.
159. Ito S: Nitric oxide in the kidney. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1995; 4: 28-30.
160. Izawa S, Inoue Y, Kimura A: Importance of catalase in the adaptative response to hydrogen peroxide: analysis of acatalasemic *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochem J* 1996; 320 (Pt 1): 61-67.
161. Jayalakshmi K, Sairam M, Singh SB, Sharma SK, Ilavazhagan G, Banerjee PK: Neuroprotective effect of N-acetyl cysteine on hypoxia-induced oxidative stress in primary hippocampal culture. *Brain Res* 2005; 1046(1-2): 97-104.
162. Jiajal I, Stein D, Balis D, Grundy SM, Adams-Huet B, Devaraj S: Effect of hydroxymethyl glutaryl coenzyme a reductase inhibitor therapy on high sensitive c-reactive protein levels. *Circulation* 2001; 103: 1933-1935.
163. Johnson DW, Saunders HJ, Field MJ, Pollock CA: In vitro effects of simvastatin on tubulointerstitial cells in a human model of cyclosporine nephrotoxicity. *Am J Physiol* 1999; 276(3 pt 2): F467-F475.
164. Jun T, Ke Yan F, Catalano M: Increased superoxide anion production in humans: a possible mechanism for the pathogenesis of hypertension. *J Hum Hypertens* 1996; 10: 305-309.
165. Juul K, Nielsen LB, Munkholm K, Stender S, Nordestgaard BG: Oxidation of plasma low-density lipoprotein accelerates its accumulation and degradation in the arterial wall in vivo. *Circulation* 1996; 94: 1698-1704.
166. Kahan BD, Ponticelli C: Cardiovascular disease. *Principles and practice of renal transplantation*. Ed. Dunitz. 2001(a): p 599.

167. Kahan BD, Ponticelli C. Rejection and other renal complications. *Principles and practice of renal transplantation*. Ed. Dunitz. 2001(b): p 499
168. Kahan BD, Ponticelli C: Rejection and other renal complications. *Principles and practice of renal transplantation*. Ed. Dunitz. 2001(c): pp 494-506.
169. Kamoun PP, Zingraff JJ, Turlin G, Lebreton P: Ascorbate-cyanide test on red blood cells in uremia: effect of guanidinopropionic acid. *Nephron* 1981; 28(1):26-29.
170. Kandoussi, AM, Gloacki F, Duriez P, Tacquet A, Fruchart JC, Christian N: Evolution pattern of auto-antibodies against oxidized low-density lipoproteins in renal transplant recipients. *Nephron* 2001; 89: 303-308.
171. Kasiske BL, Tortorice KL, Heim DKL, Awni WM, Rao KV: The adverse impact of cyclosporine on serum lipids in renal transplant patients. *Am J Kidney Dis* 1991; 17: 700-707.
172. Kasiske BL, Guijarro C, Maíz ZA, Wiederkehr MR, Ma J: Cardiovascular disease after renal transplantation. *J Am Soc Nephrol* 1996; 7: 158-165.
173. Kasiske BL: Hyperlipidemia in patients with chronic renal disease. *Am J Kidney Dis* 1998; 32 (suppl 3): S142-S156.
174. Kasiske BL, Vázquez MA, Harmon WE, Brown RS, Danovitch GM, Gaston RS et al. Recommendations for the outpatient surveillance of renal transplant recipients. *J Am Soc Nephrol* 2000(a); 11: S1-S86.
175. Kasiske BL: Cardiovascular disease after renal transplantation. *Semin Nephrol* 2000(b); 20: 170-187.
176. Kasiske BL, Chakkerla HA, Roel J: Explained and unexplained ischemic heart disease risk after renal transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2000(c); 11: 1735-1743.
177. Katznelson S, Wang XM, Chia D, Ozawa M, Zhong HP, Hirata M et al: The inhibitory effects of pravastatin on natural killer cell activity in vivo and cytotoxic T lymphocyte activity in vitro. *J Heart Lung Transplant* 1998; 17: 335-340.
178. Kaysen GA and Eiserich JP: The role of oxidative stress–altered lipoprotein structure and function and microinflammation on cardiovascular risk in patients with minor renal dysfunction. *J Am Soc Nephrol* 15: 538–548, 2004.
179. Kettle AJ, Winterbourn CC: Assays for the chlorination activity of myeloperoxidase. *Methods Enzymol.* 1994; 233: 502-512.
180. Kettle AJ, Winterbourn CC: Myeloperoxidase: A key regulator of neutrophil oxidant production. *Redox. Rep.* 1997; 3: 3-15, 1997.

181. Kinnula VL: Focus on antioxidant enzymes and antioxidant strategies in smoking related airway diseases. *Thorax* 2005; 60 (8): 693-700.
182. Kinscherf R, Cafaltzis K, Roder F, Hildebrandt W, Edler L, Deigner HP et al: Cholesterol levels linked to abnormal plasma thiol concentrations and thiol/disulfide redox status in hyperlipidemic subjects. *Free Radic Biol Med* 2003; 35(10):1286-1292.
183. Klebanoff SJ, Clark RA: The neutrophil: functions and clinical disorders. Amsterdam: Elsevier Scientific Publishing Co: 1978.
184. Kobashigawa JA, Kasiske BL: Hyperlipidemia in solid organ transplantation. *Transplantation* 1997; 63(3):331-338.
185. Konstadinidou I, Boletis JN, Perrea D, Triantafyllou A, Filiopoulos V, Stamataki E, Kostakis A, Stathakis ChP: Beneficial effects of fluvastatin on progressive renal allograft dysfunction. *Transplant Proc* 2003; 35(4):1364-1367.
186. Koschinsky ML, Marcovina SM: Lipoprotein (a): structural implications for pathophysiology. *Int J Clin Lab Res* 1997; 27(1):14-23.
187. Kosieradzki M, Kuczynska J, Piwowarska J, Wegrowicz-Rebandel I, Kwiatkowski A, Lisik W et al: Prognostic significance of free radicals: mediated injury occurring in the kidney donor. *Transplantation* 2003; 75(8): 1221-7.
188. Krinsky NI: Singlet excited oxygen as a mediator of the antibacterial action of leukocytes. *Science* 1974; 186: 363-365.
189. Kronenberg F, Kuen E, Ritz E, Junker R, Konig P, Kraatz G et al: Lipoprotein (a) serum concentrations and apolipoprotein (a) phenotypes in mild and moderate renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11: 105-115.
190. Kronenberg F, Steinmetz A, Kostner GM, Dieplinger H. Lipoprotein(a) in health and disease. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1996; 33: 495-543.
191. Kronenberg F, Utermann G: Genetic control of lipoprotein(a) in renal disease. *Am J Kidney Dis* 1996; 27: 1-25.
192. Kurutas EB, Ciragil P, Gul M, Kilinc M: The effects of oxidative stress in urinary tract infection. *Mediators Inflamm* 2005; 31(4):242-4.
193. Kurz CR, Kissner R, Nauser T, Perrin D, Koppenol WH: Rapid scavenging of peroxy-nitrous acid by monohydroascorbate. *Free Radic Biol Med* 2003; 35: 1529-1537.

-
194. Kwak B, Mulhaupt F, Myit S, and Mach F: Statins as a newly recognized type of immunomodulator. *Nat Med* 2000; 6: 1399-1402.
195. LaLonde C, Nayak U, Hennigan J, Demling R. Plasma catalase and glutathione levels are decreased in response to inhalation injury. *J Burn Care Rehabil* 1997; 18(6): 515-519.
196. LaRosa JC: Pleiotropic effects of statins and their clinical significance. *Am J Cardiol* 2001; 88: 291-293.
197. Laufs, U, Liao JK: Post-transcriptional regulation of endothelial nitric oxide synthase mRNA stability by Rho GTPase. *J Biol Chem* 1998; 273: 24266-24271.
198. Laursen JB, Somers M, Kurz S, McCann L, Warnholtz A, Freeman BA et al: Endothelial regulation of vasomotion in apoE-deficient mice: implications for interactions between peroxynitrite and tetrahydrobiopterin. *Circulation* 2001; 103: 1282-1288.
199. Laursen JB, Rajagopalan S, Galis Z, Tarpey M, Freeman BA, Harrison DG: Role of superoxide in angiotensin II-induced but not catecholamine induced hypertension. *Circulation* 1997; 95:588 –593.
200. Le Hir M, Kaissling B: Distribution and regulation of renal ecto-5'-nucleotidase: implications for physiological functions of adenosine. *Am J Physiol* 1993; 264(3 Pt 2): F377-387.
201. Ledoux S, Laouari D, Essig M, Runembert I, Trugnan G, Michel JB et al: Lovastatin Enhances Ecto-5'-Nucleotidase Activity and Cell Surface Expression in Endothelial Cells: Implication of Rho-Family GTPases. *Circ Res* 2002 90: 420-427.
202. Leeuwenburg C, Ardí MM, Hazen SL, Wagner P, Oh-ishi S, Steinbrecher UP et al: Reactive nitrogen intermediates promote low density lipoprotein oxidation in human atherosclerotic intima. *J Biol Chem* 1997; 272: 1433-1436.
203. Lefer AM, Scalia R, Lefer DJ: Vascular effects of HMG CoA-reductasa inhibitors (statins) unrelated to cholesterol lowering: new concepts for cardiovascular disease. *Cardiovasc Res* 2001; 49: 281-287.
204. Leoncini G, Sacchi G, Ravera M, Viazzi F, Ratto E, Vettoretti S et al: Microalbuminuria is an integrated marker of subclinical organ damage in primary hypertension. *J Hum Hypertens* 2002; 16: 399–404.
205. Li C, Yang CW, Park JH, Lim SW, Sun BK, Jung JY et al: Pravastatin treatment attenuates interstitial inflammation and fibrosis in a rat model of chronic

- cyclosporine-induced nephropathy. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004; 286(1): F46-57.
206. Liao JK: Isoprenoides as mediators of the biological effects of statins. *J Clin Invest* 2002; 110: 285-288.
207. Liaudet L, Soriano FG, Szabo C: Biology of nitric oxide signaling. *Crit Care Med* 2000; 28(4 Suppl): N37-N52.
208. Locatelli F, Canaud B, Eckardt KU, Stenvinkel P, Wanner C, Zoccali C: Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to patient outcome. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18(7):1272-1280.
209. López Barea J, Bárcena JA, Bocanegra JA, Florindo J: Glutathione Metabolism and Physiological Functions. Vol 1. Boca Ratón FL 1990: pp105-116.
210. Lui SL, Chan LY, Zhang XH, Zhu W, Chan TM, Fung PC et al: Effect of mycophenolate mofetil on nitric oxide production and inducible nitric oxide synthase gene expression during renal ischaemia-reperfusion injury. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16(8):1577-1582.
211. Mackness MI, Arrol S, Abbott C, Durrington PN: Protection of low-density lipoprotein against oxidative modification by high density lipoprotein associated paraoxonase. *Atherosclerosis* 1993; 104: 129-135.
212. Majid DSA, Navar LG: Nitric oxide in the control of renal hemodynamics and excretory function. *Am J Hypertens* 2001; 14: S74-S81.
213. Makita K, Radolff S, Rayfield RJ, Yang Z, Skolnik E, Delaney V et al: Advanced glycosylation end products in patients with diabetic nephropathy. *N Engl J Med* 1991; 325: 836-842.
214. Marquez LA, Dunford HB, Van Wart H: Kinetic studies on the reaction of compound II of myeloperoxidase with ascorbic acid. Role of ascorbic acid in myeloperoxidase function. *J Biol Chem* 1990; 265: 5666-5670.
215. Martin KR, Kari FW, Barrett JC, French JE: N-acetyl-L-cysteine simultaneously increases mitogenesis and suppresses apoptosis in mitogen-stimulated B-lymphocytes from p53 haploinsufficient TgAC (v-Ha-ras) mice. *In Vitro Mol Toxicol* 2000; 13: 237-248.
216. Martinez-Castelao A, Grinyo JM, Gil-Vernet S, Seron D, Castineiras MJ, Ramos R et al: Lipid-lowering long-term effects of six different statins in

- hypercholesterolemic renal transplant patients under cyclosporine immunosuppression. *Transplant Proc* 2002; 34(1):398-400.
217. Martinez-González J, Raposo B, Rodriguez C, Badimon L: 3-Hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibition prevents endothelial NO synthase downregulation by atherogenic levels of native LDLs: balance between transcriptional and posttranscriptional regulation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21: 804-809.
218. Mason JC, Ahmed Z, Mankoff R, Lidington EA, Ahmad S, Bhatia V et al. Statin-induced expression of decay-accelerating factor protects vascular endothelium against complement-mediated injury. *Circ Res* 2002; 91(8): 696-703.
219. Mason JC: Statins and their role in vascular protection. *Clin Sci* 2003; 105: 251-266.
220. Massy ZA, Ceballos I, Chadeaux-Vekemens B, Nguyen-Khoa T, Descamps-Latscha B, Drueke TB et al: Homocysteine, oxidative stress, and endothelium function in uremic patients. *Kidney Int* 2001; 59: S243-S245.
221. Masterson R, Hewitson T, Leikis M, Walter R, Cohney S, Becker G: Impact of statin treatment on 1 year functional and histological renal allograft outcome. *Transplantation* 2005; 80(3): 332-338.
222. Masztalerz M, Wlodarczyk Z, Czuczejko J, Slupski M, Kedziora J: Superoxide anion as a marker of ischemia-reperfusion injury of the transplanted kidney. *Transplant Proc* 2006; 38(1):46-48.
223. Matas AJ, Humar A, Gilligan KJ, Payne WD, Gruessner RW, Kandaswamy R et al: Five preventable causes of kidney graft loss in the 1990s: a single-center analysis. *Kidney Int* 2002; 62: 704-714.
224. Matés JM and Sánchez-Jiménez F : Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiologic processes. *Front in Biosci* 1999; 4: d335-345.
225. Matsumoto S, Hanai T, Matsuura T, Uemura H, Nishioka T, Akiyama T: Can monitoring of serum 8-OHdG level for 2 hours after renal transplantation predict prognosis of the graft?. *Transplant Proc* 2006; 38(7): 2014-2015.
226. May JM, Cobb CE, Mendiratta S, Hill KE, Burk RF: Reduction of the ascorbyl free radical to ascorbate by thioredoxin reductase. *J Biol Chem* 1997; 272: 22607-22610.

-
227. McCord JM: Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med* 1985; 312: 159-163.
228. McCune TR, Thacker LR, Peters TG, Mulloy L, Rohr MS, Adams PA et al: Effects of tacrolimus on hyperlipidemia after successful renal transplantation: a Southeastern Organ Procurement Foundation multicenter clinical study. *Transplantation* 1998; 65(1): 87-92.
229. McIntyre M, Bohr DF and Dominiczak AF: Endothelial function in hypertension: the role of superoxide anion. *Hypertension* 1999; 34 (4 Pt 1); 539-545.
230. McNally JS, Davis ME, Giddens DP, Saha A, Hwang J, Dikalov S et al: Role of xanthine oxidoreductase and NAD(P)H oxidase in endothelial superoxide production in response to oscillatory shear stress. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 285: H2290-H2297.
231. Meister A: Glutathione metabolism and its selective modification. *J Biol Chem* 1988; 263(33):17205-17208.
232. Mendiratta S, Qu ZC, May JM: Enzyme-dependent ascorbate recycling in human erythrocytes, role of thioredoxin reductase. *Free Radic Biol Med* 1998; 25: 221-228.
233. Michel T, Feron O: Nitric oxide synthases: which, where, how and why?. *J Clin Invest* 1997; 100: 2146-2152.
234. Miida T, Miyazaki O, Hanyu O, Nakamura Y, Hirayama S, Narita I et al: LCAT-dependent conversion of prebeta1-HDL into alpha-migrating HDL is severely delayed in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14(3):732-738.
235. Miyata T, Maeda K, Kurokawa K, van Ypersele de Strihou C: Oxidation conspires with glycation to generate noxious advanced glycation end products in renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12: 255-258.
236. Modlinger PS, Wilcox CS, Aslam S: Nitric oxide, oxidative stress, and progression of chronic renal failure. *Semin Nephrol* 2004; 24(4): 354-65.
237. Montuschi P, Barnes PJ, Roberts J: Isoprostanes: markers and mediators of oxidative stress. *FASEB J.* 2004; 18(15): 1791-1800.
238. Moore R, Hernández D, Valantine H: Calcineurin inhibitors and post-transplant hyperlipidaemias. *Drug Saf* 2001; 24: 755-766.
239. Morales JM, González Molina M, Campistol JM, del Castillo D, Anaya F, Oppenheimer F et al. Prevención del riesgo cardiovascular en el trasplante renal. Documento de consenso. *Nefrología* 2002; 22(suppl 4): 35-36.

-
240. Morena M, Vela C, Garrigue V, Catanzano J, Descomps B, Cristol JP et al: Low-density lipoprotein composition and oxidation are not influenced by calcineurin inhibitors in renal transplant patients. *Transplant Proc* 2000; 32: 2785-2786.
241. Moreno JM, Ruiz MC, Ruiz N, Gómez F, Vargas F, Asensio C, Osuna A: Modulation factor of oxidative status in stable renal function. *Transplant Proc* 2005; 37: 1428-1430.
242. Morgan BP, Meri S: Membrane proteins that protect against complement lysis. *Springer Semin Immunopathol* 1994; 15: 369-396.
243. Morganelli PM, Rogers RA, Kitzmiller TJ, Bergeron A: Enhanced metabolism of LDL aggregates mediated by specific human monocyte IgH Fc receptors. *J Lipid Res* 1995; 36: 714-724.
244. Mori M, Gotoh T: Arginine metabolic enzymes, nitric oxide and infection. *J Nutr* 2004; 134: 2820S-2825S.
245. Mukai K, Kikuchi S, Urano S: Stopped-flow kinetic study of regeneration reaction of tocopheroxyl radical by reduced ubiquinone-10 in solution. *Biochim Biophys Acta* 1990; 1035: 77-82.
246. Munzel T and Keaney JF Jr: Are ACE inhibitors a “magic bullet” against oxidative stress? *Circulation*. 2001; 104: 1571–1574.
247. Nankivell BJ, Lau SG, Chapman JR, O’Connell PJ, Fletcher JP, Allen RD: Progression of macrovascular disease after transplantation. *Transplantation* 2000; 69(4):574-81.
248. Nauseef WM, Malech HL: Analysis of the peptide subunits of human neutrophil myeloperoxidase. *Blood* 1986; 67: 1504-1507.
249. Neuzil J, Stocker R: Bilirubin attenuates radical-mediated damage to serum albumin. *FEBS Lett* 1993; 331: 281-284.
250. Neuzil J, Stocker R: Free and albumin-bound bilirubin is an efficient co-antioxidant for α -tocopherol, inhibiting plasma and low density lipoprotein lipid peroxidation. *J Biol Chem* 1994; 269: 16712-16719.
251. Neylon M, Marshall JM: The role of adenosine in the respiratory and cardiovascular response to systemic hypoxia in the rat. *J Physiol (Cambridge, UK)*. 1991; 440: 529-545.

-
252. Nitescu N, Ricksten SE, Marcussen N, Haraldsson B, Nilsson U, Basu S et al: N-acetylcysteine attenuates kidney injury in rats subjected to renal ischaemia-reperfusion. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21(5): 1240-1247.
253. O'Rourke M: Mechanical principles in arterial disease. *Hypertension* 1995; 26: 2-9.
254. Ohara Y, Peterson TE, and Harrison DG: Hypercholesterolemia increases endothelial superoxide anion production. *J Clin Invest* 1993; 91: 2546-2551.
255. Ohkawa H, Ohishi N, and Yagi K: Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Annal Biochem* 1979; 95: 351-358.
256. Oppenheimer F, Aljama P, Asensio C, Bustamante J, Crespo JF, Guirado L: The impact of donor age on the results of renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19 (Suppl 3): iii11-iii15.
257. Ozan E, Kukner A, Canpolat L, Oner H, Gezen MR, Yilmaz S, Ozan S: Histological and biochemical effects of cigarette smoke on lungs. *Acta Physiol Hung* 2001; 88(3-4): 301-315.
258. Ozaras R, Tahan V, Aydin S, Uzun H, Kaya S, Senturk H: N-acetylcysteine attenuates alcohol-induced oxidative stress in rats. *World J Gastroenterol* 2003; 9(4): 791-794.
259. Paganga G, Rice-Evans C, Rule R, Leake D: The interaction between ruptured erythrocytes and low-density lipoproteins. *FEBS Lett* 1992; 303: 154-158.
260. Palomar R, Ruiz JC: Enfermedad cardiovascular en pacientes con trasplante renal. *Nefrología*. 2004; 24 (Suppl 6): 172-178.
261. Pallardó Mateu LM, Sancho Calabuig A, Capdevila Plaza L, Franco Esteve A: Acute rejection and late renal transplant failure: Risk factors and prognosis. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19 (Suppl 3): iii38-iii42.
262. Pansini F, Mollica G, Bergamini CM: Management of the menopausal disturbances and oxidative stress. *Curr Pharm Des* 2005; 11(16):2063-73.
263. Park SY, Song CY, Kim BC, Hong HK, Lee HS: Angiotensin II mediates LDL-induced superoxide generation in mesangial cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003; 285(5): F909-915.
264. Pecoits-Filho R, Stenvinkel P, Marhlewska A, Heimbürger O, Barany P, Hoff CM et al: A functional variant of the myeloperoxidase gene associated with

- cardiovascular disease in end-stage disease patients. *Kidney Int* 2003; Suppl 84: S172-S176.
265. Pérez Fernández R, Martín Mateo MC, De Vega L, Bustamante Bustamante J, Mendiluce Herrero A, Bustamante Munguira E: Antioxidant enzyme determination and study of lipid peroxidation in renal transplantation. *Renal Fail* 2002; 24(3): 353-359.
266. Perez-de-Arce K, Foncea R, Leighton F: Reactive oxygen species mediates homocysteine-induced mitochondrial biogenesis in human endothelial cells: modulation by antioxidants. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 338(2):1103-1109.
267. Preston E, Ellis MR, Kulinskaya E, Davies AH, Brown EA: Association between carotid artery intima-media thickness and cardiovascular risk factors in CKD. *Am J Kidney Dis* 2005; 46(5): 856-62.
268. Prichard A: Decision process about options in renal therapy substitution: selection versus election. *Nefrologia*. 2000; 20 (suppl 3): 8-11.
269. Puccetti L, Sawamura T, Pasqui AL, Pastorelli M, Auteri A, Bruni F: Atorvastatin reduces platelet-oxidized-LDL receptor expression in hypercholesterolaemic patients. *Eur J Clin Invest* 2005; 35(1): 47-51.
270. Raj DS, Lim G, Levi M, Qualls C, Jain SK: Advanced glycation end products and oxidative stress are increased in chronic allograft nephropathy. *Am J Kidney Dis* 2004; 43(1): 154-160.
271. Rajagopalan S, Kurz S, Munzel T, Tarpey M, Freeman BA, Griending KK et al: Angiotensin II-mediated hypertension in the rat increases vascular superoxide production via membrane NADH/NADPH oxidase activation: contribution to alterations of vasomotor tone. *J Clin Invest* 1996; 97:1916 –1923.
272. Rajman I, Harper L, McPake D, Kendall MJ, Wheeler DC: Low-density lipoprotein subfraction profiles in chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13(9): 2281-2287.
273. Rhoden EL, Rhoden CR, Lucas ML, Pereira-Lima L, Zettler C, Bello-Klein A: The role of nitric oxide pathway in the renal ischemia-reperfusion injury in rats. *Transpl Immunol* 2002; 10(4):277-84.
274. Ritz E, Deppisch R, Nawroth P: Toxicity of uraemia-does it come of age?. *Nephrol Dial Transplant* 1994; 9: 1-2.

275. Rizzo M, Berneis K: The clinical relevance of low-density-lipoproteins size modulation by statins. *Cardiovasc Drugs Ther* 2006; 20: 205-217.
276. Rogler G, Lackner KJ, Schmitz G: Effects of fluvastatin on growth of porcine and human vascular smooth muscle cells in vitro. *Am J Cardiol* 1995; 76(2):114A-116A.
277. Rokitansky C: A manual of Pathological Anatomy. London: Sydenham Society, 1852.
278. Roman MJ, Saba PS, Pini R, Spitzer M, Pickering TG, Rosen S et al: Parallel cardiac and vascular adaptation in hypertension. *Circulation* 1992; 86(6): 1909-1918.
279. Romano M, Diomedea L, Sironi M, Maximiliano L, Sottocoma M, Polentarutti N et al: Inhibition of monocyte chemotactic protein-1 synthesis by statins. *Lab Invest* 2000; 80: 1095-1100.
280. Romero R, Calvino J, Rodriguez J, Sanchez-Guisande D: Short-term effect of atorvastatin in hypercholesterolaemic renal-transplant patients unresponsive to other statins. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15(9): 1446-1449.
281. Rosenmund A, Binswanger U, Straub PW: Oxidative injury to erythrocytes, cell rigidity, and splenic hemolysis in hemodialyzed uremic patients. *Ann Intern Med* 1975; 82(4): 460-465.
282. Ross R and Glomset JA: Atherosclerosis and the arterial smooth muscle cell: proliferation of smooth cell is a key event in the genesis of the lesions of atherosclerosis. *Science* 1973; 180: 1332-1339.
283. Ross R: Atherosclerosis - an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340: 115-126.
284. Rossert J, Froissart M, Jacquot C: Anemia management and chronic failure progression. *Kidney Int* 2005; 68 (suppl 99); S76-S81.
285. Rostand SG, Kirk KA, Rutsky EA: Dialysis-associated ischemic heart disease: insights from coronary angiography. *Kidney Int* 1984; 25: 653-659.
286. Rotruck JT, Pope AL, Ganther HE, Swanson AB, Hafeman DG, Hoekstra WG: Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science* 1973; 179: 588-590.
287. Rudich SM, Mongini PK, Pérez RV, Katznelson S: HMG-CoA reductase inhibitors pravastatin and simvastatin inhibit human B-lymphocyte activation. *Transplant Proc* 1998; 30: 992-925.

-
288. Ruiz MC, Medina A, Moreno JM, Gomez I, Ruiz N, Bueno P, Asensio C, Osuna A: Relationship between oxidative stress parameters and atherosclerotic signs in the carotid artery of stable renal transplant patients. *Transplant Proc* 2005; 37(9): 3796-3798.
289. Santos AF, Keitel E, Bittar AE, Neumann J, Fuchs FD, Goldani JC et al: Safety and efficacy of simvastatin for hyperlipidemia in renal transplant recipients: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Transplant Proc* 2001; 33(1-2): 1194-1195.
290. Sarnak MJ, Levey AS, Schoolwerth AC, Coresh J, Culleton B, Hamm LL et al; A statement from the American Heart Association Councils on Kidney in Cardiovascular Disease, High Blood Pressure Research, Clinical Cardiology, and Epidemiology and Prevention: 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. *Circulation* 2003; 108(17): 2154-2169.
291. Sarnak MJ, Levey AS: Cardiovascular disease and chronic renal disease: a new paradigm. *Am J Kidney Dis* 2000; 35 (4 suppl 1): S117-S131.
292. Sato H, Suzuki S, Ueno M, Shimada H, Karasawa R, Nishi S et al: Localization of apolipoprotein (a) and apoB-100 in various renal diseases. *Kidney Int.* 1993; 43: 403-435.
293. Sawada H, Shimohama S: Estrogens and Parkinson disease: novel approach for neuroprotection. *Endocrine* 2003; 21(1): 77-79.
294. Schmidt RJ, Yokota S, Tracy TS, Sorkin MI, Baylis C: Nitric oxide production is low in end-stage renal disease patients on peritoneal dialysis. *Am J Physiol* 1999; 276 (5 Pt 2): F794-F797.
295. Schnackenberg CG: Physiological and pathophysiological roles of oxygen radicals in the renal microvasculature. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2002; 282(2): R335-42.
296. Scholz M, Cinatl J, Gross V, Vogel JU, Blaheta RA, Freisleben HJ et al: Impact of oxidative stress on human cytomegalovirus replication and on cytokine-mediated stimulation of endothelial cells. *Transplantation* 1996; 61(12):1763-1770.

-
297. Scholze A, Rinder C, Beige J, Riezler R, Zidek W, Tepel M: Acetylcysteine reduces plasma homocysteine concentration and improves pulse pressure and endothelial function in patients with end-stage renal failure. *Circulation* 2004; 109(3): 369-374.
298. Schwartz GG, Olsson AG, Ezekowitz MD, Ganz P, Oliver MF, Waters D et al, for the Myocardial Ischemia Reduction with Aggressive Cholesterol Lowering (MIRACL) Study Investigators: Effects of atorvastatin on early recurrent ischemic events in acute coronary syndromes: the MIRACL study: a randomised controlled trial. *JAMA* 2001; 285: 1711-1718.
299. Schwenke DC, Carew TE: Initiation of atherosclerotic lesions in cholesterol-fed rabbits. II. Selective retention of LDL vs. selective increases in LDL permeability in susceptible sites of arteries. *Arteriosclerosis* 1989; 9: 908-918.
300. Sebekova K, Podracka L, Hiedland A, Schinzel R: Enhanced plasma levels of advanced glycation end products (AGE) and pro-inflammatory cytokines in children/adolescents with chronic renal insufficiency and after renal replacement therapy by dialysis and transplantation-are they inter-related?. *Clin Nephrol* 2001; 56(6): S21-S26.
301. Seifert PS, Hugo F, Trandum-Jensen J, Zähringer U, Muhly M, Bhakdi S: Isolation and characterization of a complement-activating lipid extracted from human atherosclerotic lesions. *J Exp Med* 1990; 172: 547-557.
302. Seljeflot I, Tonstad S, Hjermann I, Arnesen H: Reduced expression of endothelial cell markers after 1 year treatment with simvastatin and atorvastatin in patients with coronary heart disease. *Atherosclerosis* 2002; 162: 179-185.
303. Serino F, Grevel J, Napoli KL, Kahan BD, Strobel HW: Oxygen radical formation by the cytochrome P450 system as a cellular mechanism for cyclosporine toxicity. *Transplant Proc* 1994; 26: 2916-2917.
304. Shemin D, Bostom AG, Selhub J: Treatment of hyperhomocysteinemia in end-stage renal disease. *Am J Kidney Dis* 2001; 38(4 Suppl 1): S91-94.
305. Shimizu MH, Coimbra TM, de Araujo M, Menezes LF, Seguro AC: N-acetylcysteine attenuates the progression of chronic renal failure. *Kidney Int* 2005; 68(5): 2208-2217.

-
306. Shoji T, Nishizawa Y, Kawagishi T, Tanaka M, Kawasaki K, Tabata T et al: Atherogenic lipoprotein changes in the absence of hyperlipidemia in patients with chronic renal failure treated by hemodialysis. *Atherosclerosis* 1997; 131(2): 229-236.
307. Siegfried G, Amiel C, and Friedlander G: Inhibition of Ecto-5'-nucleotidase by nitric oxide donors. Implications in renal epithelial cells. *J Biol Chem* 1996; 271(9): 4659-4664.
308. Sies H, Sharov VS, Klotz LO, and Briviba K: Glutathione Peroxidase Protects against peroxynitrite-mediated oxidations. A new function for selenoproteins as peroxynitrite reductase. *J Biol Chem* 1997; 272(44): 27812-27817.
309. Simmons EM, Langone A, Sezer MT, Vella JP, Recupero P, Morrow JD et al: Effect of renal transplantation on biomarkers of inflammation and oxidative stress in end-stage renal disease patients. *Transplantation*. 2005; 79(8): 914-919.
310. Singh R, Barden A, Mori T, Beilin L: Advanced glycation end-products: a review. *Diabetologia* 2001; 44(2):129-146.
311. Sola R, Alarcón A, Jiménez C, Osuna A: The influence of delayed graft function. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19 (Suppl 3): iii32-iii37.
312. Squadrito GL, Cueto R, Splenser AE, Valavanidis A, Zhang H, Uppu RM et al: Reaction of uric acid with peroxynitrite and implication for the mechanism of neuroprotection by uric acid. *Arch Biochem Biophys* 2000; 376: 333-337.
313. Stam F, Schalkwijk CG, van Guldener C, ter Wee PM, Stehouwer CD: Advanced glycation end-product peptides are associated with impaired renal function, but not with biochemical markers of endothelial dysfunction and inflammation, in non-diabetic individuals. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21(3): 677-682.
314. Sary HC, Blankerhorn DH, Chandler AB, Glagov S, Insull WJ, Richardson M et al: A definition of the intima of human arteries and of its atherosclerosis-prone regions. A report from the Committee on Vascular Lesions of The Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Arterioscler Thromb* 1992; 12: 120-134.
315. Sary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, Fuster V, Glagov S, Insull WJ et al: A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of The Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15(9): 1512-1531.

-
316. Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, Khoo JC, Witztum JL: Beyond cholesterol: modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N. Engl J Med* 1989; 320: 915-924.
317. Steinerova A, Racek J, Stozicky F, Zima T, Fialova L, Lapin A: Antibodies against oxidized LDL-Theory and Clinical use. *Physiol Res* 2001; 50: 131-141.
318. Stocker R and Frei B: Endogenous antioxidant defenses in human blood plasma. *Oxidative stress: Oxidants and Antioxidants*, edited by Sies H. London: Academic, p 213-243, 1991.
319. Stocker R and Keaney JF Jr: Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiol Rev* 2004; 84: 1381-1478.
320. Stocker R, Bowry VW, Frei B: Ubiquinol-10 protects human low density lipoprotein more efficiently against lipid peroxidation than does α -tocopherol. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 1646-1650.
321. Superko HR, Krauss RM: Coronary artery disease regression. Convincing evidence for the benefit of aggressive lipoprotein management. *Circulation*. 1994; 90: 1056-1069.
322. Sutherland WHF, Walker RJ, Ball MJ, Stapley SA, Robertson MC: Oxidation of low density lipoproteins from patients with renal failure or renal transplant. *Kidney Int* 1995; 48: 227- 236.
323. Suwelack B., Witta J., Hausberg M., Müller S., Rahn KH., Barenbrock M: Studies on structural changes of the carotid arteries and the heart in asymptomatic renal transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 160-165.
324. Tahmasebpour HR, Buckley AR, Cooperberg PL, Fix CH: Sonographic examination of the carotid arteries. *Radiographics* 2005; 25(6): 1561-1575.
325. Tamba M, O'Neill P: Redox reactions of thiol free radicals with the anti-oxidants ascorbate and chlorpromazine: role in radioprotection. *J Chem Soc Perkin Trans* 1991; 2: 1681-1685.
326. Tanaka M, Umemoto S, Kawahara S, Kubo M, Itoh S, Umeji K et al: Angiotensin II Type 1 receptor antagonist and angiotensin-converting enzyme inhibitor altered the activation of Cu/Zn-containing superoxide dismutase in the heart of stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Hypertens Res* 2005; 28(1): 67-77.

-
327. Tauer A, Zhang X, Schaub TP, Zimmeck T, Niwa T, Passlick-Deetjen J, Pischetsrieder M: Formation of advanced glycation end products during CAPD. *Am J Kidney Dis* 2003; 41(3 Suppl 1):S57-S60.
328. Tepel M, van der Giet M, Statz M, Jankowski J, Zidek W: The antioxidant acetylcysteine reduces cardiovascular events in patients with end-stage renal failure: a randomized, controlled trial. *Circulation* 2003; 107(7): 992-995.
329. Thiemermann C, Patel NS, Kvale EO, Cockerill GW, Brown PA, Stewart KN et al: High density lipoprotein (HDL) reduces renal ischemia/reperfusion injury. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14(7): 1833-1843.
330. Thomas EL, Jefferson MM, Grisham MB: Myeloperoxidase-catalyzed incorporation of amines into proteins: role of hypochlorous acid and dichloramines. *Biochemistry* 1982; 21: 6299-6308.
331. Thuraisingham RC, Yaqoob MM: Oxidative consumption of nitric oxide: a potential mediator of uremic vascular disease. *Kidney Int Suppl* 2003; (84):S29-32.
332. Tian N, Rose RA, Jordan S, Dwyer TM, Hughson MD, Manning RD Jr: N-Acetylcysteine improves renal dysfunction, ameliorates kidney damage and decreases blood pressure in salt-sensitive hypertension. *J Hypertens* 2006; 24(11): 2263-2270.
333. Tojo A, Gross SS, Zhang L, Tisher CC, Schmidt HH, Wilcox CS et al. Immunocytochemical localization of distinct isoforms of nitric oxide synthase in the juxtaglomerular apparatus of normal rat kidney. *J Am Soc Nephrol* 1994; 4: 1438-1447.
334. Torzewski J, Torzewski M, Bowyer DE, Fröhlich M, Koenig W, Waltenberger J et al: C-reactive protein frequently colocalizes with the terminal complement complex in the intima of early atherosclerotic lesions of human coronary arteries. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18:1386-1392.
335. Torzewski J, Bowyer DE, Waltenberger J, and Fitzsimmons C: Processes in atherogenesis: complement activation. *Atherosclerosis* 1997; 132: 131-138.
336. Trimarchi H, Mongitore MR, Baglioni P, Forrester M, Freixas EA, Schropp M et al: N-acetylcysteine reduces malondialdehyde levels in chronic hemodialysis patients--a pilot study. *Clin Nephrol* 2003; 59(6): 441-446.
337. Troen BR: The biology of aging. *Mt Sinai J Med* 2003; 70(1): 3-22.

-
338. Turrens JF: Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J Physiol* 2003; 552 (2): 335-344.
339. Ujiie K, Yuen J, Hogarth L, Danziger R, Star RA: Localization and regulation of endothelial NO synthase mRNA expression in rat kidney. *Am J Physiol* 1994; 267: F296-F302.
340. Ursini F, Heim S, Kiess M, Maiorino M, Roveri A, Wissing J et al: Dual function of the selenoprotein PHGPx during sperm maturation. *Science* 1999; 285: 1393-1396.
341. Ursini F, Maiorino M, Gregolin C: The selenoenzyme phospholipids hydroperoxide glutathione peroxidase. *Biochim Biophys Acta* 1985; 839: 62-70.
342. US Renal Data System. Annual Data Report. National Institutes of Health, Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. Bethesda, 1999.
343. Van Berkel JL, De Rijke YB, and Kruijt JK: Different fate in vivo of oxidatively modified low density lipoprotein and acetylated low density lipoprotein in rats. Recognition by various scavenger receptors on Kupffer and endothelial liver cells. *J Biol Chem* 1991; 266: 2282-2289.
344. Van der Vliet A, Eiserich JP, Halliwell B, Cross CE: Formation of reactive nitrogen species during peroxidase-catalyzed oxidation of nitrite. A potential additional mechanism of nitric oxide-dependent toxicity. *J Biol Chem* 1997; 272: 7617-7625.
345. Vasquez-Vivar J, Kalyanaraman B, Martásek P, Hogg N, Masters BS, Karoui H et al: Superoxide generation by endothelial nitric oxide synthase: the influence of cofactors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 9220-9225.
346. Vaziri ND, Deng G, Liang K: Hepatic HDL receptor, SR-BI and Apo A-1 expression in chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 1462-1466.
347. Vaziri ND, Dicus M, Ho ND, Boroujerdi-Rad L, Sindhu RK: Oxidative stress and dysregulation of superoxide dismutase and NADPH oxidase in renal insufficiency. *Kidney Int* 2003; 63: 179-185.
348. Vaziri ND: Dyslipidemia of chronic renal failure: the nature, mechanisms, and potential consequences. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006; 290(2): F262 - F272.
349. Vaziri ND: Oxidative stress in Uremia: Nature, Mechanisms, and Potential Consequences. *Semin Nephrol* 2004; 24(5):469-473.

-
350. Vela C, Cristol JP, Maggi MF, Ribstein J, Mimran A, Descomps B et al: Oxidative stress in renal transplant recipients with chronic rejection: rationale for antioxidant supplementation. *Transplant Proc.* 1999; 31: 1310-1311.
351. Vignais PV: The superoxido-generating NADPH oxidase: structural aspects and activation mechanism. *Cell Mol Life Sci* 2002; 59: 1428-1459.
352. Vijayagopal P, Srinivasan SR, Radhakrishnamurthy B, and Berenson GS: Lipoprotein- proteoglycan complexes from atherosclerotic lesions promote cholesteryl ester accumulation in human monocytes/macrophages. *Arterioscl Thromb* 1992; 12: 237-249.
353. Vincent L, Soria C, Mirshahi F, Opolon P, Mishal Z, Vannier JP et al: Cerivastatin, an inhibitor of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase, inhibits endothelial cell proliferation induced by angiogenic factors in vitro and angiogenesis in in vivo models: *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22: 623-629.
354. Vincenti F, Jensik SC, Filo RS, Miller J, Pirsch J: A long-term comparison of tacrolimus (FK506) and cyclosporine in kidney transplantation: Evidence for improved allograft survival at five years. *Transplantation* 2002; 73: 1370.
355. Vossen RC, Persoons MC, Slobbe-van Drunen ME, Bruggeman CA, van Dam-Mieras MC: Intracellular thiol redox status affects rat cytomegalovirus infection of vascular cells. *Virus Res* 1997; 48(2): 173-183.
356. Vural A, Yilmaz MI, Caglar K, Aydin A, Sonmez A, Eyileten T et al: Assessment of oxidative stress in the early posttransplant period: comparison of cyclosporine A and tacrolimus-based regimens. *Am J Nephrol* 2005; 25(3): 250-255.
357. Wagner AH, Köhler T, Rückschloss U, Just I, and Hecker M: Improvement of nitric oxide-dependent vasodilatation by HMG-CoA reductase inhibitors through attenuation of endothelial superoxide anion formation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 61-69.
358. Wang C, Salahudeen AK: Lipid peroxidation accompanies cyclosporine nephrotoxicity: effects of vitamin E. *Kidney Int* 1995; 47: 927-934.
359. Wardle EN: Cellular oxidative processes in relation to renal disease. *Am J Nephrol* 2005; 25: 13-22.
360. Wassmann S, Hilgers S, Laufs U, Bohm M, Nickenig G: Angiotensin II type 1 receptor antagonism improves hypercholesterolemia-associated endothelial dysfunction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22(7):1208-1212.

-
361. Wassmann S, Laufs U, Bäumer AT, Muller K, Ahlbory K, Linz W et al: HMG-CoA reductase inhibitors improve endothelial dysfunction in normocholesterolemic hypertension via reduced production of reactive oxygen species. *Hypertension* 2001; 37: 1450-1457.
362. Watanabe T, Pakala R, Katagiri T, Benedict CR: Synergistic effect of urotensin II with mildly oxidized LDL on DNA synthesis in vascular smooth muscle cells. *Circulation* 2001; 104: 16-18.
363. Wautier JL, Schmidt AM: Protein glycation: a firm link to endothelial cell dysfunction. *Circ Res* 2004; 95: 233-238.
364. Weis M, Kledal TN, Lin KY, Panchal SN, Gao SZ, Valantine HA et al: Cytomegalovirus infection impairs the nitric oxide synthase pathway: role of asymmetric dimethylarginine in transplant arteriosclerosis. *Circulation* 2004; 109(4): 500-505.
365. Weisberg LS, Kurnik PB, Kurnik BR: Radiocontrast-induced nephropathy in humans: role of renal vasoconstriction. *Kidney Int* 1992; 41(5): 1408-1415.
366. Weiss SJ, Klein R, Slivka A, Wei M: Chlorination of taurine by human neutrophils. Evidence for hypochlorous acid generation. *J Clin Invest* 1982; 70: 598-607.
367. Welch WJ, Wilcox CS: Macula densa arginine delivery and uptake in the rat regulates glomerular capillary pressure: Effects of salt intake. *J Clin Invest* 1997; 100: 2235-2242.
368. Whitin JC, Bhamre S, Tham DM, Cohen HJ: Extracellular glutathione peroxidase is secreted basolaterally by human renal proximal tubule cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 2002; 283: F20-F28.
369. Whitin JC, Tham DM, Bhamre S, Ornt DB, Scandling JD, Tune BM et al: Plasma glutathione peroxidase and its relationship to renal proximal tubule function. *Mol Genet Metab* 1998; 65(3): 238-245.
370. Wilcox CS, Gutterman D: Focus on oxidative stress in the cardiovascular and renal systems. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005; 288(1):H3-6.
371. Wilcox CS, Welch WJ, Murad F, Gross SS, Taylor G, Levi R et al: Nitric oxide synthase in macula densa regulates glomerular capillary pressure. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 11993-11997.

-
372. Wilcox CS. Reactive oxygen species: Role in blood pressure and kidney function. *Curr Hypertens Rep* 2002; 4: 160-166.
373. Willerson JT, Ridker PM: Inflammation as a Cardiovascular Risk Factor. *Circulation* 2004; 109(Suppl II): II2-II10.
374. Williams KJ, Petrie KA, Brocia RW, Swenson TL: Lipoprotein lipase modulates net secretory output of apolipoprotein B in vitro. A possible pathophysiologic explanation for familial combined hyperlipidemia. *J Clin Invest* 1991; 88: 1300-1306.
375. Winterbourn CC, van den Berg JJ, Roitman E, Kuypers FA: Chlorohydrin formation from unsaturated fatty acids reacted with hypochlorous acid. *Arch Biochem Biophys* 1992; 296: 547-555.
376. Wissing KM, Unger P, Ghisdal L, Broeders N, Berkenboom G, Carpentier Y, Abramowicz D: Effect of atorvastatin therapy and conversion to tacrolimus on hypercholesterolemia and endothelial dysfunction after renal transplantation. *Transplantation* 2006; 82(6):771-778.
377. Witting PK, Westerlund C, Stocker R: A rapid and simple screening test for potential inhibitors of tocopherol-mediated peroxidation of LDL lipids. *J Lipid Research* 1996; 37: 853-867.
378. Wu TW, Carey D, Wu J, Sugiyama H: The cytoprotective effects of bilirubin and biliverdin on rat hepatocytes and human erythrocytes and the impact of albumin. *Biochem Cell Biol* 1991; 69: 828-834.
379. Wu TW, Wu J, Li RK, Mickle D, Carey D: Albumin-bound bilirubins protect human ventricular myocytes against oxyradical damage. *Biochem Biophys* 1992; 294: 75-82.
380. Xie Q, Nathan C: The high-output nitric oxide pathway: Role and regulation. *J Leukocyte Biol* 1994; 56: 576-582.
381. Xu XX and Tabas I: Sphingomyelinase enhances low density lipoprotein uptake and ability to induce cholesterol ester accumulation in macrophages. *J Biol Chem* 1991; 266: 24849-24858.
382. Yamamoto A, Hoshi K, Ichihara K: Fluvastatin, an inhibitor of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase, scavenges free radicals and inhibits lipid peroxidation in rat liver microsomes. *Eur J Pharmacol* 1998; 361(1): 143-149.
383. Yan H and Harding JJ: Glycation-induced inactivation and loss of antigenicity of catalase and superoxide dismutase. *Biochem J* 1997; 328: 599-605.

-
384. Yildiz L, Kayaoglu N, Aksoy H: The changes of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in erythrocytes of active and passive smokers. *Clin Chem Lab Med* 2002; 40(6): 612-615.
385. Ylä-Herttuala S, Rosenfeld ME, Parthasarathy S, Glass CK, Sigal E, Witztum JL et al: Colocalization of 15-lipoxygenase mRNA and protein with epitopes of oxidized low density lipoprotein in macrophage-rich areas of atherosclerotic lesions. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 6959-6963.
386. Yokoyama Y, Beckman TK, Wheat JK, Cash TG, Freeman BA, Parks DA: Circulating xanthine oxidase: potential mediator of ischemic injury. *Am J Physiol* 1990; 258: G564-570.
387. Yoshimura S, Suemizu H, Nomoto Y, Sakai H, Katsuoka Y, Kawamura N et al: Plasma glutathione peroxidase deficiency caused by renal dysfunction. *Nephron* 1996; 73(2): 207-211.
388. Yuan XM, Anders WL, Olsson AG, Brunk UT: Iron in human atheroma and LDL oxidation by macrophages following erythrophagocytosis. *Atherosclerosis* 1996; 124: 61-73.
389. Zachara BA, Salak A, Koterska D, Manitius J, Wasowicz W: Selenium and glutathione peroxidases in blood of patients with different stages of chronic renal failure. *J Trace Elem Med Biol* 2004; 17(4): 291-299.
390. Zachara BA, Włodarczyk Z, Masztalerz M, Adamowicz A, Gromadzinska J, Wasowicz W: Selenium concentrations and glutathione peroxidase activities in blood of patients before and after allogenic kidney transplantation. *Biol Trace Elem Res* 2004; 97(1): 1-13.
391. Zafarullah M, Li WQ, Sylvester J, Ahmad M: Molecular mechanisms of N-acetylcysteine actions. *Cell Mol Life Sci* 2003; 60: 6-20.
392. Zhang Y, Handy DE, Loscalzo J: Adenosine-dependent induction of glutathione peroxidase in human primary endothelial cells and protection against oxidative stress. *Circ Res* 2005; 96: 831-837.
393. Zhong Z, Arteel GE, Connor HD, Yin M, Frankenberg MV, Stachlewitz RF et al: Cyclosporin A increases hypoxia and free radical production in rat kidneys: prevention by dietary glycine. *Am J Physiol* 1998; 275(4 Pt 2):F595-604.
394. Zhou YF, Shou M, Guetta E, Guzman R, Unger EF, Yu ZX et al: Cytomegalovirus infection of rats increases the neointimal response to vascular injury

without consistent evidence of direct infection of the vascular wall. *Circulation* 1999; 100(14):1569-1575.

395. Zoccali C, Mallamaci F, Tripepi G: AGEs and carbonyl stress: potential pathogenic factors of long-term uraemic complications. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15 (suppl 2): 7-11.