DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICAS Y QUIRÚRGICAS
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD. ULPGC

UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS
DE GRAN CANARIA

Tesis Doctoral

Elena Oliva Dámaso

Estudio prospectivo de morbimortalidad en pacientes en hemodiálisis crónica. Papel de la dimetilarginina asimétrica (ADMA).

Las Palmas de Gran Canaria. 2015

UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS
DE GRAN CANARIA
Departamento de Ciencias Médicas y Quirúrgicas

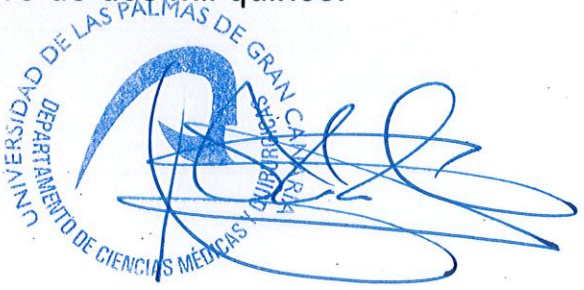
Anexo I

D. JUAN RAMÓN HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ, SECRETARIO DEL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICAS Y QUIRÚRGICAS DE LA UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA,

CERTIFICA

Que el Consejo Ordinario de Departamento de Doctores en su sesión de fecha 7 de octubre de 2015, tomó el acuerdo de dar el consentimiento para su tramitación, a la tesis doctoral titulada: ESTUDIO PROSPECTIVO DE MORBIMORTALIDAD EN PACIENTES EN HEMODIÁLISIS CRÓNICA. PAPEL DE LA DIMETILARGININA ASIMÉTRICA (ADMA), presentada por el/la doctorando/a, Doña Elena Oliva Dámaso y dirigida por los doctores, Don José Carlos Rodríguez Pérez, Don Francisco Rodríguez Esparragón.

Y para que así conste, y a efectos de lo previsto en el Artº 73.2 del Reglamento de Estudios de Doctorado de esta Universidad, firmo la presente en Las Palmas de Gran Canaria, a siete de octubre de dos mil quince.



Anexo II

UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS
DE GRAN CANARIA

UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA

Facultad: Facultad de Ciencias de la Salud
Departamento: Departamento de Ciencias Médicas y Quirúrgicas
Programa de doctorado: Avances en Medicina Interna

Título de la Tesis:

"ESTUDIO PROSPECTIVO DE MORBIMORTALIDAD EN PACIENTES EN HEMODIÁLISIS CRÓNICA. PAPEL DE LA DIMETILARGININA ASIMÉTRICA (ADMA)."

Tesis Doctoral presentada por Dª. **Elena Oliva Dámaso**

Dirigida por el **Dr. D. José Carlos Rodríguez Pérez**

Dirigida por el **Dr. D. Francisco Rodríguez Esparragón**

El Director **El Director** **La Doctoranda**

Las Palmas de Gran Canaria, a 20 de Noviembre de 2015

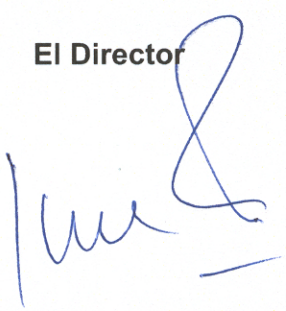
D. José Carlos Rodríguez Pérez, Jefe de Servicio de Nefrología del Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín y Profesor Titular de Medicina en la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria

Certifica:

Que Doña **Elena Oliva Dámaso**, Licenciada en Medicina, ha realizado bajo mi tutela en el Departamento de Ciencias Médicas y quirúrgicas y en la Unidad de Investigación del Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín la tesis doctoral titulada "**Estudio prospectivo de morbimortalidad en pacientes en hemodiálisis crónica. Papel de la dimetilarginina asimétrica (ADMA)**" que presenta para la obtención del grado de Doctor en Medicina, y que una vez revisada la presente Memoria, la encuentro apta para su defensa como Tesis Doctoral.

Y para que así conste y surta los efectos oportunos, extiendo el presente certificado.

El Director



Dr. D. José Carlos Rodríguez Pérez

Las Palmas de Gran Canaria, a 20 de Noviembre de 2015

D. Francisco Rodríguez Esparragón, Responsable de la Unidad de Investigación del Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín e Investigador Científico del Servicio Canario de Salud

Certifica:

Que Doña **Elena Oliva Dámaso**, Licenciada en Medicina, ha realizado bajo mi tutela en el Departamento de Ciencias Médicas y quirúrgicas y en la Unidad de Investigación del Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín la tesis doctoral titulada "**Estudio prospectivo de morbimortalidad en pacientes en hemodiálisis crónica. Papel de la dimetilarginina asimétrica (ADMA)**" que presenta para la obtención del grado de Doctor en Medicina, y que una vez revisada la presente Memoria, la encuentro apta para su defensa como Tesis Doctoral.

Y para que así conste y surta los efectos oportunos, extiendo el presente certificado.

El Director

Dr. D. Francisco Rodríguez Esparragón

Las Palmas de Gran Canaria, a 20 de Noviembre de 2015

A mis niños, Rubén y Elena.

AGRADECIMIENTOS

Son muchas las personas a las que les tengo que agradecer su ayuda y apoyo para llevar a cabo este trabajo, que de alguna manera han colaborado y me han dado ánimos para poder seguir adelante. Probablemente se me olvide nombrar a muchas de ellas, así que de antemano, expreso aquí mi agradecimiento a todos aquellos que en algún momento me han dado su apoyo o simplemente una palabra de ánimo, porque aunque no lo crean, me ha servido para continuar.

Pero si hay alguien a quien dedico este trabajo y agradezco infinitamente su existencia y su presencia en mi vida es a mis hijos, Rubén y Elena. Porque todo cuanto hago en la vida lo hago por y para ustedes. Porque, desde el instante en que les vi y les toqué por primera vez, las prioridades en mi vida se reordenaron, como si le hubieran dado a algún botón de "reset" en mi mente. El inmenso cariño que me dan en cada momento es el motor de mi vida, que me hace seguir creciendo y progresando.

A Rubén, porque desde el primer momento creyó en mí. Por ser mi apoyo en todo momento y por quererme siempre como soy, pase lo que pase.

A mis padres, Carmen y Agustín, porque en este momento de mi vida, me veo reflejada y me reconozco en ellos. Les agradezco muchas cosas, pero sobre todo, el ejemplo que me han dado en la vida, de amor y de superación de las adversidades. La única forma en que puedo agradecerles todos los desvelos que tuvieron siempre por nosotros, y todos los sacrificios que hicieron, ahora entiendo, que sólo puede ser de una manera, y es haciendo lo mismo por mis hijos. Porque creo firmemente, que los hijos no aprenden lo que les decimos, sino lo que nos ven hacer. Por eso, el tiempo que no les he podido dedicar por estar haciendo esta tesis, en el fondo, es tiempo dedicado a vuestra educación.

Gracias Néstor, hermano, por haber sido un gran compañero de juegos, y ahora de fatigas. Gracias por estar siempre ahí para echarme una mano.

Tengo que agradecer también a mis suegros su generosidad y ayuda, porque sin ellos, no hubiera podido hacer jamás este "trabajo imposible".

A José Carlos, porque desde que comencé a trabajar en el Hospital, siempre confió en mí y en mis posibilidades, muchas veces más incluso que yo misma. Por ser un gran jefe, por saber encontrar las cualidades de cada persona, obviando muchas veces los defectos, y otras ayudando a corregirlos. Por saber crear un ambiente de trabajo y respeto con su propio ejemplo. Por su gran valía como profesional y como persona.

A Fran, por ser un gran director de tesis y un gran amigo. Por su infinita paciencia y saber estar. Es una suerte contar con una persona tan válida y tan valiosa, por su actitud y aptitud.

A Miguel, por el esfuerzo realizado y por ser un gran compañero, a Juan por su genialidad y por saber captar las ideas que le planteaba "al vuelo", a Ramón, por su presencia, a Raquel, por saber "estresarme" en el momento adecuado, a Yanet, por ser como es, a Cristina y Herminia, por entender mi "ausencia", y a todos mis compañeros, porque siempre me daban alguna palabra de ánimo cuando me veían por las tardes en el Hospital, y siempre me han echado una mano.

Índice de contenidos

ÍNDICE DE CONTENIDOS

ABREVIATURAS **7**

ÍNDICE DE TABLAS **13**

ÍNDICE DE FIGURAS **17**

RESUMEN **21**

ABSTRACT **25**

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN **29**
1. ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA 31
1.1. Definición 31
1.2. Epidemiología 32
1.3. Clasificación 33
1.4. Mecanismos de progresión 34
1.4.1. Papel de la proteinuria 35
1.4.2. Papel de la hiperlipidemia 38
1.4.3. Alteraciones hemodinámicas e hipertrofia glomerular 39
1.4.4. Compuestos vasoactivos, factores de crecimiento y citocinas 40
1.4.5. Isquemia renal y alteraciones del óxido nítrico 41
1.5. Clínica 42
1.6. Complicaciones 44
1.6.1. Toxicidad urémica 44
1.6.2. Alteraciones hidroelectrolíticas y del equilibrio ácido-base 44
1.6.3. Anemia. Papel como factor de riesgo cardiovascular emergente 45
1.6.4. Alteraciones del metabolismo mineral y óseo. Papel como factor de riesgo cardiovascular emergente 47
1.6.5. Alteraciones cardiovasculares en la ERC 50
1.6.5.1. Aterosclerosis 53
1.6.5.2. Arteriosclerosis 55
1.6.6. Malnutrición 56
1.6.7. Síndrome cardiorrenal 57
1.7. Tratamiento sustitutivo renal 58
1.7.1. La diálisis 59
1.7.1.1. Hemodiálisis 60
1.7.1.1.1. Principios físicos 60
1.7.1.1.2. Modalidades de hemodiálisis 63
1.7.1.1.3. Técnica de hemodiálisis 63
1.7.1.1.4. Acceso vascular 64
1.7.1.1.5. Diálisis adecuada 65
1.7.1.1.6. Complicaciones 65

1.7.1.2. Diálisis peritoneal 66
1.7.1.2.1. Características técnicas 67
1.7.1.2.2. Modalidades de diálisis peritoneal 68
1.7.1.2.3. Ventajas y desventajas frente a la hemodiálisis .. 69
1.7.1.2.4. Complicaciones 69
1.7.1.3. Tratamiento médico conservador 70
1.7.1.4. Trasplante renal 70
1.8. Riesgo cardiovascular y complicaciones cardiovasculares en la enfermedad renal crónica 71
2. DISFUNCIÓN ENDOTELIAL 74
2.1. El endotelio vascular 74
2.1.1. Fisiología del endotelio vascular 74
2.1.1.1. Control del tono vascular 77
2.1.1.2. Regulación de la proliferación de la fibra muscular lisa vascular 78
2.1.1.3. Regulación de la hemostasia 79
2.1.1.4. Control de la permeabilidad e inflamación 79
2.1.2. Óxido nítrico y función endotelial 80
2.2. Disfunción endotelial 82
2.2.1. Disfunción endotelial e inflamación 83
2.2.2. Disfunción endotelial y estrés oxidativo 84
2.2.3. Disfunción endotelial, estrés oxidativo y uremia 87
2.2.4. Disfunción endotelial, estrés oxidativo e hipertensión arterial 91
2.2.5. Papel de la dimetilarginina asimétrica (ADMA) 93
2.2.5.1. La paradoja de la arginina 101
2.3. El eje FGF23-Klotho 102

CAPÍTULO II. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS 107
1. JUSTIFICACIÓN 109
2. OBJETIVOS 110

CAPÍTULO III. HIPÓTESIS 111
1. HIPÓTESIS PRINCIPAL 113
2. HIPÓTESIS SECUNDARIAS 113

CAPÍTULO IV. MATERIAL Y MÉTODOS 115
1. DISEÑO DEL ESTUDIO 117
1.1. Selección de los pacientes 117
1.2. Obtención de muestras biológicas 117
1.3. Seguimiento 118
1.4. Tamaño muestral 119
1.5. Parámetros analizados 120
1.6. Mediciones de laboratorio 121
1.6.1. Procesamiento de las muestras para la determinación de ADMA ... 121
1.6.2. Fundamento teórico 122
1.6.3. Reactivos 122

1.6.4. Equipamiento 122
1.6.5. Soluciones estándar 123
1.6.6. Reactivo de derivatización 123
1.6.7. Preparación de la muestra 124
1.6.8. Condición cromatográfica 125
1.6.9. Calibración 125
2. ANÁLISIS ESTADÍSTICO 126

CAPÍTULO V. RESULTADOS 129
1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LA MUESTRA POBLACIONAL 131
1.1. Características demográficas y clínicas basales de la muestra 131
1.2. Datos analíticos de la muestra 133
1.3. Datos de adecuación de diálisis de la muestra 134
1.4. Datos de medicación que tomaban los pacientes en el momento del estudio 134
1.5. Datos ecocardiográficos 135
1.6. Evolución a 18 meses: morbilidad cardiovascular 135
1.7. Evolución a 36 meses: mortalidad global y de causa cardiovascular 136
2. ADMA, MORTALIDAD Y EVENTOS CARDIOVASCULARES 136
2.1. ADMA y mortalidad global 136
2.2. ADMA y mortalidad de causa cardiovascular 140
2.3. ADMA y eventos cardiovasculares 141
3. ADMA Y TRATAMIENTO 141
4. OTRAS RELACIONES CON ADMA 147
4.1. ADMA y edad 147
4.2. ADMA e hipertensión arterial 148
4.3. ADMA y diabetes mellitus 149
4.4. ADMA e índice de Charlson 150
4.5. ADMA y etiología de la ERC 150
4.6. ADMA y acceso vascular 151
4.7. ADMA y resto de variables 152

CAPÍTULO VI. DISCUSIÓN 157
1. ADMA, MORTALIDAD Y ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR 160
2. ADMA Y PARICALCITOL 162
3. ADMA Y MEDICACIÓN 169
4. ADMA, HIPERTENSIÓN ARTERIAL Y MORBIMORTALIDAD CARDIOVASCULAR . 172
5. ADMA E HIPERTROFIA DEL VENTRÍCULO IZQUIERDO 176
6. ADMA E INFLAMACIÓN. PAPEL DEL ACCESO VASCULAR PARA HEMODIÁLISIS 177
7. ADMA Y EDAD 178
8. ADMA Y HEMODIÁLISIS 179
9. ADMA E ÍNDICE DE CHARLSON 180
10. ADMA, DIABETES MELLITUS Y OBESIDAD 180
11. ADMA, ANEMIA Y ERITROPOYETINA 181
12. ADMA E HIPERHOMOCISTEINEMIA 182

CAPÍTULO VII. LIMITACIONES DEL ESTUDIO **183**

CONCLUSIONES **187**

CONCLUSIONS **191**

BIBLIOGRAFÍA **195**

ANEXOS **241**
1. INFORME DEL COMITÉ ÉTICO 243
2. CONFORMIDAD DE LA DIRECCIÓN DEL CENTRO 245
3. CONSENTIMIENTO INFORMADO 247

Abreviaturas

ABREVIATURAS

$^{\cdot}O_2^-$: Anión superóxido.
$^{\cdot}OH$: Radical hidroxilo.
1,25(OH)$_2$D$_3$: 1,25 dihidroxivitamina D.
5-HT: 5-hidroxitriptamina.
25(OH)D$_3$: 25 hidroxivitamina D.
A/CR: Índice albúmina/creatinina.
ACE2: Enzima convertidora de angiotensina 2.
ACTN4: Alpha-actinina-4.
ACV: Accidente cerebrovascular.
ADMA: Dimetilarginina asimétrica.
ADP: Adenosín difosfato.
AGEs: Productos de glicosilación avanzada.
AGXT2: A*lanine glyoxylate aminotransferase.*
ALEs: Productos de lipooxidación avanzada.
Ang-1-7: Angiotensina 1-7.
ApoA1: Apoproteína A1.
ApoB: Apoproteína B.
ARAII: Antagonista de los receptores de angiotensina II.
ARN: Ácido ribonucleico.
ARNm: Ácido ribonucleico mensajero.
ATII: Angiotensina II.
ATP: Adenosín trifosfato.
BH$_4$: Tetrahidrobiopterina.
BK: Bradicinina.
CML: Célula muscular lisa.
CD2AP: Proteína asociada a CD2.
cGMP: Guanosín monofosfato cíclico.
CKD: *Chronic Kidney Disease*.
CV: Cardiovascular.
CVC: Catéter venoso central.
DDAH: Dimetilarginina dimetilamina hidrolasa.
DM: Diabetes Mellitus.
DP: Diálisis peritoneal.
DPA: Diálisis peritoneal automatizada.
DPCA: Diálisis peritoneal continua ambulatoria.
ECV: Evento cardiovascular.

EDHF: Factor hiperpolarizante dependiente de endotelio.
EDRF: Factor relajante derivado del endotelio.
EDTA: Ácido etildiaminotetraacético.
ELAM-1: *Endothelial-leukocyte adhesion molecule 1.*
eNOS: Óxido nítrico sintasa endotelial.
EPC: *Endothelial progenitor cells.*
EPIRCE: Epidemiología de la Insuficiencia Renal Crónica en España.
EPO: Eritropoyetina.
ERC: Enfermedad renal crónica.
ERCA: Enfermedad renal crónica avanzada.
ET-1: Endotelina-1.
ETA: Endotelina A.
Cbfa-1: *Core-binding factor alpha (1).*
FAD: Flavín adenín dinucleótido.
FAV: Fístula arterio-venosa.
FG: Filtrado glomerular.
FGF: *Fibroblast growth factor.*
FGFR-1: *FGF receptor type-1.*
FGF-β: *Fibroblast growth factor- β.*
FMN: Flavín mononucleótido.
FVIIa: Factor VIIa.
GBM: Membrana basal glomerular.
GPx: Glutation peroxidasa.
H^+: Hidrogeniones.
HD: Hemodiálisis.
HDF: Hemodiafiltración.
HF: Hemofiltración.
HMG-CoA: Hidroximetilglutaril coenzima A.
HPLC: Cromatografía Líquida de Alta Resolución.
HPS: *Hepatopulmonary syndrome.*
HTA: Hipertensión arterial.
HUGCDN: Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín.
HVI: Hipertrofia del ventrículo izquierdo.
IAM: Infarto agudo de miocardio.
IBP: Inhibidor de la bomba de protones.
ICAM-1: Molécula de adhesión intracelular-1.
ICC: Insuficiencia cardíaca crónica.
IECA: Inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina.
IGF: *Insulin like growth factor.*
IGF-1: *Insulin like growth factor-1.*

ILK: Kinasa ligada a integrina.
IMC: Índice de Masa Corporal.
iNOS: Óxido nítrico sintasa inducible.
JAF: Filamentos de actina asociados a la unión.
K/DOQI: *Kidney Disease Outcome Quality Initiative.*
KDIGO: *Kidney Disease Improving Global Outcomes.*
KoA: Coeficiente de transferencia de masas.
KOH: Hidróxido potásico.
Kt/V: Índice de calidad de diálisis (K es el aclaramiento de urea del dializador, t es la duración de la sesión y V el volumen de distribución de la urea en el paciente).
LDL: Lipoproteína de baja densidad.
L-NMMA: L-N^G-monomethyl Arginina.
LP (a): Lipoproteína (a).
MCP-1: *Monocyte chemotactic protein-1.*
MDRD: *Modification of Diet in Renal Disease.*
MIA: M*alnutrition-Inflammation-Atherosclerosis.*
MICS: M*alnutrition-Inflammation-Complex Syndrome.*
MIF: *Migration inhibitory factor.*
MMPs: *Matrix metalloproteinases.*
TIMPs: *Tissue inhibitors of metalloproteinases.*
Mϕ: Macrófagos.
NADH: Nicotinamida adenina dinucleótido de hidrógeno.
NADPH: Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato de hidrógeno.
NF-κB: Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas.
NKF: *National Kidney Foundation.*
nNOS: Óxido nítrico sintasa neuronal.
NOS: Óxido nítrico sintasa.
NPC: *Nuclear Pore Complex.*
O_2: Oxígeno.
OPA: Ophtaldehído.
p22phox: *Human neutrophil cytochrome b light chain (CYBA).*
PA: Presión arterial.
PAF: Factor activante plaquetario.
PAI-1: Inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1.
PCR: Proteína C reactiva.
PDGF: Factor derivado de plaquetas.
PDTC: *Pyrrolidine dithiocarbamate.*
PECAM: *Platelet endothelial cell adhesion molecule.*

PGI2: Prostaciclina I 2.
PGH2: Prostaciclina H 2.
Pit-1: *Pituitary specific transcription factor.*
PM: Peso molecular.
PQRAD: Poliquistosis renal autosómica dominante.
PRMT: Proteinarginina metiltransferasa.
PRU: Porcentaje de reducción de la urea.
PTFE: Politetrafluoretileno.
PTH: Hormona paratiroidea.
RAGE: Receptor de AGEs (Productos de glicosilación avanzada).
RANTES: *Regulated on Activation Normal T Expressed and Secreted (CCL5).*
ROS: Radicales libres derivados del oxígeno.
RP: Fase reversa.
RP-HPLC: *Reverse Phase High Performance Liquid Chromatography.*
SDMA: Dimetilarginina simétrica.
SEN: Sociedad Española de Nefrología.
SMC: Célula muscular lisa.
SOD: Superóxido dismutasa.
TCA: Tricloroacético.
TFG: Tasa de filtración glomerular.
TFPI: Factor inhibidor de la vía del factor tisular.
TGF-β: Factor transformador del crecimiento- β.
Th-1: *T helper*
THF: Tetrahidrofuran.
TIMP: Inhibidores tisulares de metaloproteinasas.
TNFα: Tumour necrosis factor-α.
ILs: Interleukinas.
t-PA: Factor activador del plasminógeno.
TRPC6: *Transient receptor potential cation channel 6.*
TXA2: Tromboxano A2.
UV: Ultravioleta.
VCAM-1: Moléculas de adhesión vascular.
VDR: Receptor de la vitamina D.
VEGF: Vascular endothelial growth factor.

Índice de tablas

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación pronóstica de la ERC de la KDIGO 2012 basada en estadios de FG y albuminuria..... 34
Tabla 2. Manifestaciones clínicas y bioquímicas en la ERC..... 43
Tabla 3. Principales toxinas urémicas clasificadas según su peso molecular..... 44
Tabla 4. Factores de riesgo tradicionales y no tradicionales presentes en enfermos urémicos..... 50
Tabla 5. Alteraciones cardiovasculares en la enfermedad renal crónica..... 52
Tabla 6. Trastornos cardiovasculares en pacientes con ERC y sus consecuencias clínicas..... 52
Tabla 7. Consecuencias de la desnutrición..... 56
Tabla 8. Variables demográficas, clínicas y analíticas analizadas..... 120
Tabla 9. Variables de calidad de diálisis, medicación, datos ecocardiográficos y evolución a 18 y 36 meses..... 121
Tabla 10. Características demográficas y clínicas basales de la muestra..... 132
Tabla 11. Datos analíticos de la muestra..... 133
Tabla 12. Datos de adecuación de diálisis..... 134
Tabla 13. Datos de medicación que tomaban los pacientes en el momento del estudio..... 134
Tabla 14. Datos ecocardiográficos..... 135
Tabla 15. Evolución a 18 meses: eventos cardiovasculares..... 135
Tabla 16. Evolución a 36 meses: mortalidad global y causa de la misma..... 136
Tabla 17. Estadísticos de la variable ADMA categórica..... 138
Tabla 18. Riesgo de mortalidad por ADMA como variable continua ajustado por edad como variable dependiente de tiempo. Análisis de regresión de los riesgos proporcionales de Cox multivariado..... 139
Tabla 19. Riesgo de mortalidad por ADMA como variable continua ajustado por edad como variable dependiente de tiempo, sexo varón, PA elevada y DM. Análisis de regresión de los riesgos proporcionales de Cox multivariado..... 140
Tabla 20. Asociación entre ADMA (variable categórica) muy elevado y exitus de causa cardiovascular..... 141
Tabla 21. Riesgo de presentar un evento cardiovascular a los 18 meses según niveles de ADMA como variable continua ajustado por edad como variable dependiente de tiempo. Análisis de regresión de los riesgos proporcionales de Cox multivariado..... 141
Tabla 22. Asociación entre niveles de ADMA y medicación..... 144
Tabla 23. Diferencias entre grupos con y sin paricalcitol..... 145
Tabla 24. Anova analizando ADMA como variable dependiente y paricalcitol como variable independiente. Interacción con la DM..... 146
Tabla 25. Anova analizando ADMA como variable dependiente y paricalcitol como variable independiente. Interacción con la vitamina D..... 146

Tabla 26. Anova analizando ADMA como variable dependiente y paricalcitol como variable independiente. Interacción con la DM y la vitamina D…… 146
Tabla 27. Anova analizando ADMA como variable dependiente y paricalcitol como variable independiente, en pacientes con DM…….. 147
Tabla 28. Anova analizando ADMA como variable dependiente y paricalcitol como variable independiente, en pacientes sin DM…… 147
Tabla 29. Anova analizando ADMA como variable dependiente y paricalcitol como variable independiente, e interacción con DM y vitamina D…….. 147
Tabla 30. Probabilidad de estar en el grupo ADMA p>75 según el hecho de recibir medicación antihipertensiva o no…….. 148
Tabla 31. Probabilidad de estar en el grupo ADMA p>75 según niveles de PA…….. 149
Tabla 32. Probabilidad de estar en el grupo ADMA p>75 según presencia o no de DM…….. 149
Tabla 33. Asociación entre niveles de ADMA y etiología de la ERC…… 150
Tabla 34. Probabilidad de estar en el grupo ADMA p>75 según el hecho de ser portador de un catéter venoso central…… 151
Tabla 35. Análisis estadístico de la relación de ADMA (como variable continua) con otras variables continuas analizadas…….. 152
Tabla 36. Análisis estadístico de la relación de ADMA (como variable continua) con otras variables categóricas analizadas…… 153
Tabla 37. Análisis estadístico de la relación de ADMA (como variable categórica) con otras variables continuas analizadas…… 154
Tabla 38. Análisis estadístico de la relación de ADMA (como variable categórica) con otras variables categóricas analizadas…….. 155

Índice de figuras

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura de la barrera de filtración glomerular..... 36
Figura 2. Efectos dañinos de la angiotensina II en el podocito..... 38
Figura 3. Esquema de la teoría de la hiperfiltración glomerular..... 40
Figura 4. Influencia de la angiotensina II en los procesos de esclerosis renal..... 41
Figura 5. Enfermedad cardiovascular y anemia..... 47
Figura 6. Clasificación de la osteodistrofia renal..... 48
Figura 7. Alteraciones del metabolismo mineral asociadas al deterioro progresivo de la función renal..... 49
Figura 8. Evolución de las lesiones vasculares en la aterosclerosis..... 53
Figura 9. Factores que contribuyen a la formación de la placa de ateroma inestable..... 55
Figura 10. Hemodiálisis..... 61
Figura 11. Principios físicos de la hemodiálisis. Difusión y convección..... 62
Figura 12. Enfermedad vascular en la enfermedad renal. Factores fisiopatológicos implicados en las calcificaciones cardiovasculares y aterosclerosis..... 73
Figura 13. Factores de riesgo para el desarrollo de aterosclerosis en pacientes con ERC avanzada..... 74
Figura 14. Endotelio vascular. Factores derivados, funciones e interacciones..... 76
Figura 15. Sustancias liberadas por el endotelio..... 77
Figura 16. Relación entre la disfunción endotelial asociada a diferentes factores de riesgo cardiovascular y la inflamación..... 84
Figura 17. Especies reactivas de oxígeno y óxido nítrico (NO) 86
Figura 18. Disfunción endotelial y estrés oxidativo en la patogenia de la aterosclerosis..... 87
Figura 19. Vías que unen la desmetilación de metionina para formar homocisteína y argininas metiladas..... 88
Figura 20. Fórmulas químicas de la arginina, de la dimetilarginina asimétrica (ADMA) y de la dimetilarginina simétrica (SDMA), así como de L-NMMA y de ADMA, de sus inhibidores competitivos endógenos..... 94
Figura 21. Síntesis y destinos de la dimetilarginina asimétrica (ADMA)..... 97
Figura 22. Regulación del catabolismo de la ADMA por diversos metabolitos..... 98
Figura 23. La vía ADMA–DDAH–NOS..... 99
Figura 24. Influencia de ADMA en las funciones de NO. A) Niveles de ADMA normal. B) Niveles de ADMA aumentados..... 100
Figura 25. Mecanismos propuestos para explicar la elevación de ADMA..... 101
Figura 26. Representación de FGF23 unido a su receptor (FGFR) y a su correceptor Klotho, en su forma de membrana y en su forma soluble..... 103
Figura 27. Efectos cardiovasculares de la disminución de los niveles de Klotho..... 105
Figura 28. Diagrama de flujo del estudio..... 119

Figura 29. Imágenes del cromatógrafo disponible en la Unidad de Investigación con el cual se llevó a cabo la determinación de las concentraciones de ADMA del presente estudio…… 123
Figura 30. Imágenes del proceso que se llevó a cabo para realizar la determinación de las concentraciones de ADMA…… 124
Figura 31. Cromatograma de estándares (concentración conocida de ADMA) sobre un pool de sueros…… 125
Figura 32. Cromatograma mostrando pico de ADMA y SDMA…….. 126
Figura 33. Muestra total del estudio sin extremo del que se prescinde para el análisis estadístico…….. 131
Figura 34. Mortalidad global de la cohorte…… 137
Figura 35. Curva basada en modelo de regresión logística que muestra la probabilidad de exitus en relación con los niveles de ADMA…… 137
Figura 36. Análisis de supervivencia (Kaplan-Meier) para evaluar la correlación entre ADMA (como variable categórica) y mortalidad…….. 139
Figura 37. Curva de Kaplan-Meier para evaluar la presencia de eventos cardiovasculares según los niveles de ADMA…….. 140
Figura 38. Figura de cajas y bigotes donde se muestra la diferencia entre niveles de ADMA en grupos con y sin paricalcitol…….. 142
Figura 39. Histograma de niveles de ADMA según los pacientes estén en tratamiento con paricalcitol (línea roja) o no (línea negra) …….. 142
Figura 40. Figura de cajas y bigotes donde se muestra la diferencia entre niveles de ADMA y la medicación…….. 143
Figura 41. Correlación de Pearson entre edad y niveles de ADMA…….. 148
Figura 42. Correlación de Pearson entre índice de Charlson y niveles de ADMA…… 150
Figura 43. Gráfico de cajas y bigotes representando valores de ADMA según los pacientes tengan o no catéter venoso central…… 151
Figura 44. Rutas bioquímicas para la generación, eliminación y degradación de ADMA. Mecanismo de acción propuesto a través del cual paricalcitol disminuiría los niveles de ADMA en plasma…… 168
Figura 45. Diversos mecanismos de acción de paricalcitol mediante los cuales paricalcitol disminuye la morbimortalidad cardiovascular propuestos en la literatura…….. 169

Resumen

RESUMEN

La Enfermedad Renal Crónica (ERC) es un importante problema de salud pública. En la última década, se ha demostrado que las primeras etapas de la ERC se asocian con un estado inflamatorio que implica un aumento del riesgo de morbilidad y mortalidad cardiovascular a largo plazo. En los pacientes con ERC y más concretamente en aquellos en hemodiálisis los eventos cardiovasculares son la causa más común de muerte. La dimetilarginina asimétrica (ADMA) es un inhibidor endógeno de la óxido nítrico sintasa que puede ser un factor de riesgo independiente para la disfunción endotelial y la enfermedad cardiovascular. Por otro lado, se ha observado que ADMA es el compuesto endógeno más específico con efecto inhibidor sobre la síntesis de óxido nítrico, y que se encuentra aumentado de manera significativa en pacientes con ERC avanzada. En pacientes en diálisis, ADMA pudiera constituir un predictor de eventos cardiovasculares y mortalidad.

Atendiendo a las consideraciones anteriores, llevamos a cabo un estudio prospectivo de morbimortalidad en pacientes en hemodiálisis crónica para evaluar el papel de ADMA en la predicción de la mortalidad global y de eventos cardiovasculares. Efectuamos también un análisis transversal para evaluar la asociación de ADMA con diversos fármacos y con variables clínicas y analíticas. Observamos que aquellos pacientes con concentraciones superiores de ADMA presentaban un incremento estadísticamente significativo de la mortalidad y una tendencia a presentar más eventos cardiovasculares. Asimismo observamos una asociación significativa entre niveles de ADMA y el tratamiento con paricalcitol, de manera que los pacientes tratados con paricalcitol presentaron niveles de ADMA disminuidos significativamente respecto a los que no recibieron este tratamiento. Es posible que los efectos beneficiosos en cuanto a morbimortalidad cardiovascular demostrados por paricalcitol, puedan estar relacionados con esta asociación. El mecanismo sugerido implicaría la reducción de ADMA con una mejora de la respuesta endotelial. No obstante, son necesarios más estudios que puedan confirmar este efecto, y determinen el mecanismo fisiopatológico subyacente.

Abstract

ABSTRACT

Chronic Kidney Disease (CKD) is a major public health problem. In the last decade, it has been shown that the early stages of CKD are associated with an inflammatory condition involving an increased risk of cardiovascular morbidity and long-term mortality. In patients with CKD and more specifically those on hemodialysis, cardiovascular events are the most common cause of death. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) is an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase and may be an independent risk factor for endothelial dysfunction and cardiovascular disease. Furthermore, it has been found that ADMA is an endogenous compound with specific inhibitory effect on nitric oxide synthesis, and is significantly increased in patients with advanced CKD. In dialysis patients, ADMA could be a predictor of cardiovascular events and mortality.

Bearing in mind the above considerations, we conducted a prospective study of morbidity and mortality in patients on chronic hemodialysis to evaluate the role of ADMA in predicting overall mortality and cardiovascular events. We also carried out a transversal analysis to assess the association of ADMA with various drugs and clinical and laboratory variables. We observed that patients with higher ADMA levels showed a statistically significant increase in mortality and a tendency to have more cardiovascular events. We observed as well a significant association between ADMA levels and treatment with paricalcitol, so patients treated with paricalcitol presented significantly decreased ADMA levels compared to those who did not receive this treatment. It is possible that the beneficial effects in terms of cardiovascular morbidity and mortality demonstrated by paricalcitol, may be related to this association. The mechanism we suggest involves reducing ADMA with an improved endothelial response. However, more studies to confirm this effect and determine the underlying pathophysiological mechanisms are necessary.

Introducción

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

1. ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA

La enfermedad renal crónica (ERC) representa actualmente un importante problema de salud pública. En los últimos años hemos asistido a un progresivo incremento de su incidencia y prevalencia, aumentado también el número de pacientes que alcanzan su estadio más avanzado, requiriendo depuración extrarrenal. Todo esto ha supuesto que la ERC se considere hoy en día como una verdadera epidemia (Alcazar y de Francisco, 2006).

En la última década, se ha demostrado que las primeras etapas de la ERC se asocian con un estado inflamatorio (Stenvinkel et al., 2002) que implica un aumento del riesgo de morbilidad y mortalidad cardiovascular a largo plazo (Ruggenenti et al., 2001; Sarnak et al., 2003), mayor incluso que el riesgo de progresión a enfermedad renal terminal (Mann et al., 2001; Sarnak et al., 2003), siendo los eventos cardiovasculares la causa más común de muerte en estos pacientes (Muntner et al., 2002). Por esta razón, la microalbuminuria y la reducción de la tasa de filtración glomerular (TFG) (< 60 ml/min) se han añadido a la lista de factores de riesgo cardiovascular no tradicionales (Chobanian et al., 2003). En muchos pacientes, la concurrencia de estos marcadores con factores clásicos como la diabetes mellitus (DM), la hipertensión (HTA) o la obesidad, predice el daño vascular acelerado y multiplica el riesgo asociado (Ruggenenti et al., 2001; Sarnak et al., 2003).

1.1. DEFINICIÓN

La ERC es un término genérico que define un conjunto de enfermedades heterogéneas que afectan a la estructura y a la función renal. La variabilidad de su expresión clínica es debida, al menos en parte, a su etiopatogenia, la estructura del riñón afectada (glomérulo, vasos, túbulos o intersticio renal), su gravedad y el grado de progresión.

En el año 2002, se publican las guías K/DOQI (Kidney Disease Outcome Quality Initiative) (2002) por parte de la National Kidney Foundation (NKF) sobre definición, evaluación y clasificación de la ERC y se propone una clasificación independiente de la edad, basada en estadios de severidad, definidos por el filtrado glomerular (FG) además del diagnóstico clínico. Las guías posteriores incluyendo las guías KDIGO 2012 (Kidney Disease Improving Global Outcomes) (2012b; Levey y Coresh, 2012) han ratificado la definición de ERC, independientemente del diagnóstico clínico. Por lo tanto, actualmente se define la ERC como una disminución de la función renal, expresada por un FG estimado inferior a 60 ml/min/1,73 m^2 o como la presencia de daño renal (alteración histológica, presencia de marcadores urinarios como albuminuria o proteinuria elevadas, alteraciones en el sedimento urinario o en las pruebas de imagen) durante al menos 3 meses (K/DOQI, 2002).

1.2. EPIDEMIOLOGÍA

La ERC es un problema emergente a nivel mundial. Según los resultados del estudio EPIRCE (Epidemiología de la Insuficiencia Renal Crónica en España) (Otero et al., 2010) realizado para conocer la prevalencia de la ERC en España y promovido por la Sociedad Española de Nefrología (SEN) con el apoyo del Ministerio de Sanidad y Consumo, se estimó que aproximadamente el 10% de la población adulta sufría de algún grado de ERC. El 6,83% de los pacientes con ERC se encontraban en los estadios 3-5, aunque existían diferencias importantes con la edad (3,33% entre 40-64 años y 21,42% para mayores de 64 años). La prevalencia por estadios fue del 0,99% para el estadio 1, 1,3% para el estadio 2, 5,4% para el estadio 3a, 1,1% para el estadio 3b, 0,27% para el estadio 4 y finalmente, 0,03% para el estadio 5. En cuanto a los pacientes que reciben tratamiento sustitutivo renal, actualmente existen unos 20000 pacientes en diálisis (estadio 5D) en España, con una prevalencia global de 1122,3 por millón de población (2014).

La importancia del diagnóstico de la ERC radica en que supone un importante problema de Salud Pública, debido a la necesidad de un tratamiento sustitutivo con importantes costes económicos en la fase terminal de la enfermedad y al gran aumento

del riesgo de eventos cardiovasculares (infarto agudo de miocardio (IAM), insuficiencia cardiaca crónica (ICC), accidente cerebrovascular (ACV), arteriopatía periférica, etc.) con los consiguientes costes económicos, derivados de ingresos hospitalarios complejos, una mortalidad prematura y disminución de la calidad de vida. Se estima que el 40% de la población con enfermedad renal oculta, aún no diagnosticada, fallecerá fundamentalmente de problemas cardiovasculares antes de entrar en un programa de diálisis. Estos pacientes tienen por tanto, más probabilidades de morir por una complicación secundaria a la ERC que de entrar en un programa de diálisis (Keith et al., 2004).

Por otro lado, la supervivencia global evaluada para los pacientes en diálisis es de un 12,9% a los diez años, a pesar de los importantes avances técnicos realizados. Esto probablemente se deba al hecho de que el 50% tiene una media de tres factores de riesgo cardiovascular y una importante comorbilidad asociada. Hoy en día se acepta que la ERC constituye una de las principales causas de muerte en el mundo occidental, y su prevalencia aumenta por el envejecimiento de la población, el incremento de la prevalencia de sus factores de riesgo como la enfermedad cardiovascular, la DM, la HTA o la obesidad y, por el diagnóstico precoz de la misma (2012a).

1.3. CLASIFICACIÓN

Existe un acuerdo general en que la clasificación de la ERC se base en la estimación del FG, como parámetro de medición de la función renal, especialmente en rangos con FG inferiores a 60 ml/min. La fórmula más recomendada actualmente para la estimación del FG es la ecuación abreviada del estudio MDRD (Modification of Diet in Renal Disease) (Levey et al., 2006), como han manifestado la mayoría de las sociedades nefrológicas internacionales, entre las que se encuentra la española (Gracia et al., 2006).

Clásicamente se había utilizado una clasificación de la ERC en estadios, basada en el valor del FG calculado o estimado con las diversas fórmulas. Sin embargo, en el 2012 se estableció en las guías KDIGO una nueva clasificación pronóstica de la ERC basada en estadios de FG y albuminuria (Levey y Coresh, 2012). (Tabla 1)

Tabla 1. Clasificación pronóstica de la ERC de la KDIGO 2012 basada en estadios de FG y albuminuria. Tomada de Levey y Coresh (2012).

				Albuminuria Estadios, descripción e intervalo (mg/g)				
				A1		A2	A3	
				Óptimo y alto-normal		Alto	Muy alto y nefrótico	
				<10	10-29	30-299	300-1999	≥2000
FG Estadios, (mL/min/ 1.73m^2)	G1	Alto y óptimo	>105					
			90-104					
	G2	Leve	75-89					
			60-74					
	G3a	Leve-moderado	45-59					
	G3b	Moderado-Grave	30-44					
	G4	Grave	15-29					
	G5	Fallo renal	<15					

Los colores muestran el riesgo relativo ajustado para cinco eventos (mortalidad global, mortalidad cardiovascular, fracaso renal tratado con diálisis o trasplante, fracaso renal agudo y progresión de la enfermedad renal) a partir de un metaanálisis de cohortes de población general (Levey y Coresh, 2012). El riesgo menor corresponde al color verde (categoría "bajo riesgo", si no hay datos de lesión renal no se puede catalogar como ERC), seguido del color amarillo (riesgo "moderadamente aumentado"), naranja ("alto riesgo"), rojo y rojo oscuro ("muy alto riesgo"), que expresan riesgos crecientes para los eventos mencionados. Las unidades de albuminuria representados en la gráfica corresponden a mg/g y son aproximadamente 10 veces los niveles expresados en mg/mmol (A1 = A/CR < 3 mg/mmol, A2 = A/CR 3-30 mg/mmol, A3=A/CR ≥ 30 mg/mmol) (2012a)

1.4. MECANISMOS DE PROGRESIÓN

Una de las características más importantes de la ERC es la tendencia que presenta a la progresión de la misma. En la mayoría de los pacientes, se observa un deterioro progresivo de la función renal con diminución del FG por dos mecanismos fundamentales: por un lado, un daño específico ligado a la enfermedad causal, y por otro, una progresión inespecífica, independiente de la causa inicial, y cuyos mecanismos patogénicos comparten todas las enfermedades renales, una vez que el daño estructural es suficientemente grave como para transformarse en irreversible. Esta progresión inespecífica permitiría explicar la evolución desfavorable de muchos pacientes, en los cuales la causa inicial ha desaparecido, pero ha dejado un daño histológico residual importante. En los últimos años se han llevado a cabo numerosos estudios que nos han permitido conocer mejor los mecanismos patogénicos de esta vía final común hacia la

ERC avanzada mediante modelos experimentales y estudios clínicos. Gracias a ello, actualmente disponemos de diversos agentes terapéuticos que han demostrado su utilidad en el ser humano, y que permiten frenar o retrasar la progresión de la ERC (Praga, 2009a).

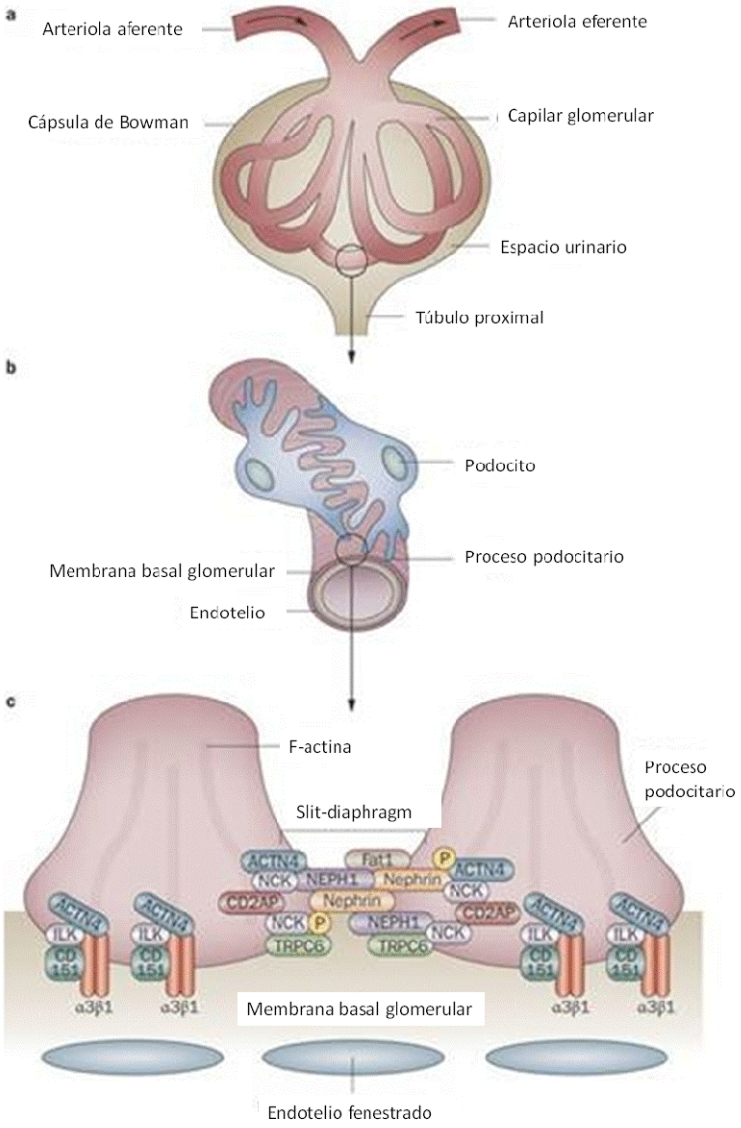
La similitud de las vías patogénicas finales en la ERC se demuestra en los hallazgos histológicos, los cuales son muy similares en los pacientes con ERC avanzada, independientemente de la etiología inicial. Es frecuente observar en estadios avanzados de ERC glomérulos con esclerosis segmentaria o global, fibrosis tubulointersticial y vasos sanguíneos con engrosamiento de la íntima y reducción de la luz vascular (Praga, 2009a).

1.4.1. Papel de la proteinuria

La importancia de la proteinuria en la progresión de la ERC es cada vez más evidente. Tradicionalmente se consideraba que era un marcador de la actividad de determinadas enfermedades renales o una expresión de las lesiones glomerulares producidas tras la fase aguda. No obstante, se ha demostrado que la proteinuria representa, además, un auténtico factor de daño renal sostenido, lo que explica, en gran parte, su importancia pronóstica (Praga, 2009a; Taal y Luyckx, 2005).

En circunstancias normales, la barrera del capilar glomerular impide el paso de proteínas del interior de los capilares al espacio urinífero. Sin embargo, en situaciones patológicas, este equilibrio se rompe y una cantidad variable de albúmina y otras proteínas llega al túbulo renal. Estas proteínas filtradas por el glomérulo y presentes en la luz tubular se reabsorben de manera activa en las células epiteliales del túbulo proximal. (Figura 1) Esto conduce a lesiones histológicas, que a nivel de los lisosomas producen un acúmulo de las proteínas reabsorbidas y, finalmente, rotura lisosomal. Se produce una transformación epitelio-mesenquimal, así como un infiltrado celular en el intersticio renal, que es más intenso cuanto mayor es el grado de proteinuria. Finalmente, aparecen zonas de fibrosis intersticial extensa (Praga, 2009a; Taal y Luyckx, 2005).

Figura 1. Estructura de la barrera de filtración glomerular.

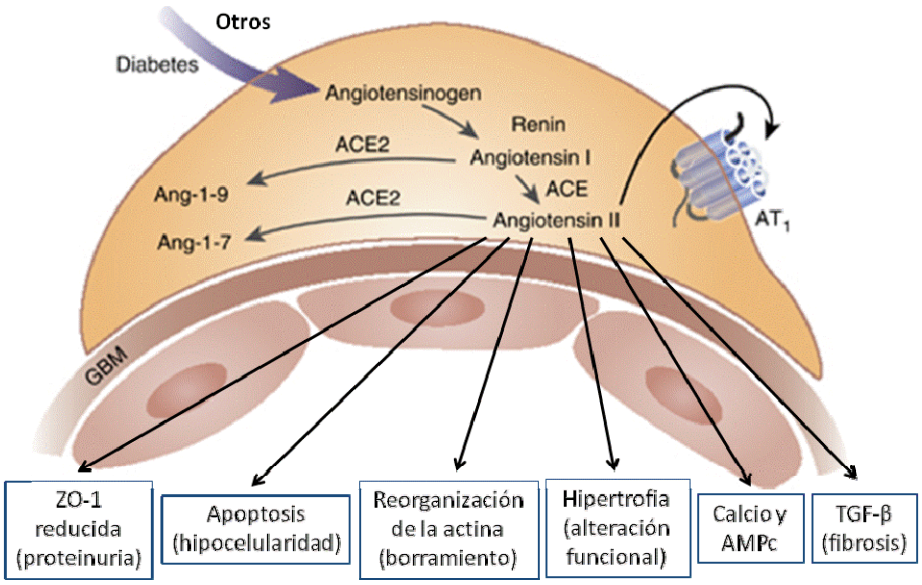


a. El filtrado glomerular pasa a través de la pared capilar hacia el espacio urinario, el cual vierte a los túbulos proximales. b. La pared capilar contiene al endotelio fenestrado, la membrana basal glomerular, y una capa de podocitos con procesos interdigitales. c. Los procesos podocitarios, interconectados por "slit-diaphragms" (poros de filtración), forman finalmente la barrera de filtración. Las proteínas que anclan los procesos podocitarios a la membrana basal glomerular (α3β1 integrina, ACTN4, ILK y CD151) así como las asociadas al "slit-diaphragm" (nephrina, NEPH1, podocina, Fat1, ACTN4, NCK, CD2AP, y TRPC6) son cruciales para el normal funcionamiento de la barrera de filtración glomerular. Abreviaturas: ACTN4, alpha-actinina-4; CD2AP, proteína asociada a CD2; ILK, kinasa ligada a integrina; P, podocina; TRPC6, transient receptor potential cation channel 6. Adaptado de Patrakka y Tryggvason (2009).

Las células del epitelio tubular proximal poseen receptores específicos para muchas sustancias proinflamatorias y vasoactivas que pasan a la luz tubular en situaciones de proteinuria. Asimismo, se ha constatado un aumento de la síntesis de numerosas citocinas, factores de crecimiento y compuestos vasoactivos (MCP-1, RANTES, TNF, TGF-β, IGF-1, endotelina, etc.) por parte de estas células cuando existe proteinuria. La activación de NF-κB desempeña un papel fundamental en la síntesis aumentada de muchos de estos factores fibrogénicos y proinflamatorios, que son en última instancia, los responsables del infiltrado celular y de la aparición de fibrosis (Praga, 2009a; Taal y Luyckx, 2005).

Aquellas intervenciones terapéuticas con efecto antiproteinúrico que van seguidas de una clara mejoría de las alteraciones estructurales previamente comentadas, ponen de manifiesto la importancia de la proteinuria como factor patogénico de progresión de la ERC. Esto es especialmente evidente con los fármacos bloqueantes del sistema-renina-angiotensina, como los IECA (inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina) y los ARAII (antagonistas de los receptores de angiotensina II), que producen una reducción evidente de la proteinuria, constatado clínica y experimentalmente en numerosos estudios. Los efectos hemodinámicos, antihipertróficos y antifibróticos del bloqueo del sistema renina-angiotensina colaboran en la reducción de la proteinuria, pero existen datos de que también puede existir un efecto directo sobre los podocitos, ya que se ha visto que estos fármacos son capaces de restaurar la expresión de la nefrina y la podocina, proteínas cuya expresión se ve afectada en las nefropatía proteinúricas (Harris, 2012; Shankland, 2006; Taal y Luyckx, 2005). (Figura 2)

Figura 2. Efectos dañinos de la angiotensina II en el podocito.



Se muestran las numerosas acciones deletéreas de la angiotensina II (ATII) y su receptor, apoyando el uso de IECA y ARAII en pacientes con proteinuria (Harris, 2012; Shankland, 2006) Abreviaturas: ACE2, enzima convertidora de angiotensina 2; Ang-1-7, angiotensina-(1-7); Ang-1-9, angiotensina-(1-9); AT1, receptor tipo 1 de la angiotensina; GBM, membrana basal glomerular. Adaptado de Harris et al. (2012).

1.4.2. Papel de la hiperlipidemia

Se ha observado como la administración de dietas ricas en colesterol acelera la progresión de la ERC, mientras que el tratamiento con determinados fármacos hipolipemiantes conduce a una evolución favorable. La formación de lipoproteínas oxidadas parece ser la vía más importante para el daño renal causado por lípidos, observándose en muchas nefropatías crónicas un incremento en la formación de oxígeno activado, lo cual favorece la oxidación de LDL, que a su vez estimula la síntesis de endotelina, tromboxano y angiotensina, así como diversas citocinas proinflamatorias (Praga, 2009a; Taal y Luyckx, 2005).

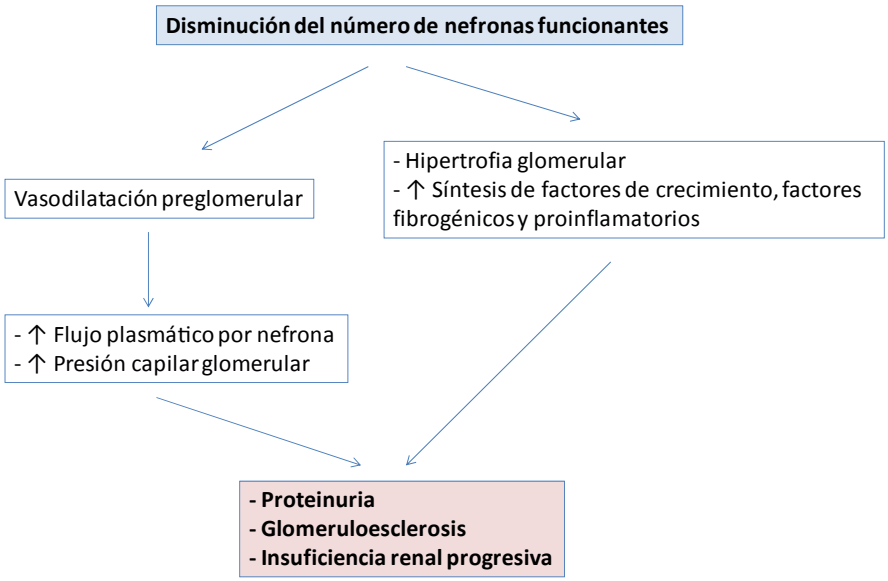
Los fármacos hipolipemiantes contrarrestan estos mecanismos a través de una disminución en los niveles de lípidos. Los inhibidores de la HMG-CoA reductasa (las estatinas) además, poseen una serie de efectos específicos independientes de su acción hipolipemiante, como son la inhibición del efecto de factores de crecimiento, de la

síntesis de citocinas proinflamatorias y la estimulación de la producción de células progenitoras endoteliales encargadas de reparar las lesiones endoteliales (Urbich y Dimmeler, 2005). Estos mecanismos, podrían explicar también su efecto favorable sobre el daño vascular y sobre la progresión de la esclerosis renal en condiciones en las que no existe hiperlipidemia (Praga, 2009a).

1.4.3. Alteraciones hemodinámicas e hipertrofia glomerular

La "teoría de la hiperfiltración" ha marcado un cambio en la interpretación de las enfermedades renales y las posibilidades de prevención o intervenciones basadas en la inhibición del sistema renina-angiotensina, siendo actualmente la piedra angular de la nefrología moderna. Tras una disminución de masa renal funcionante, se producen unas serie de cambios hemodinámicos en las nefronas como son la vasodilatación preglomerular (vasodilatación de la arteriola aferente) con incremento del flujo plasmático por nefrona, aumento de la presión hidrostática del capilar glomerular (aumento de la presión intraglomerular), del filtrado glomerular por nefrona y de la fracción de filtración. Todos estos cambios hemodinámicos, aunque inicialmente se trate de un mecanismo de compensación, van seguidos de proteinuria, hipertensión e insuficiencia renal progresiva. Asimismo, se observan alteraciones histológicas como son la esclerosis glomerular progresiva, infiltrados intersticiales y fibrosis tubulointersticial con dilataciones pseudoquísticas de los túbulos renales. Aquellas intervenciones terapéuticas que producen una disminución de la presión intraglomerular (restricción proteica y bloqueo del sistema renina-angiotensina, etc.), ejercen efectos favorables sobre la estructura renal. Estas medidas contrarrestan además los cambios hemodinámicos y tienen un efecto antihipertrófico a nivel glomerular (Praga, 2009a; Taal y Luyckx, 2005). (Figura 3)

Figura 3. Esquema de la teoría de la hiperfiltración glomerular. Adaptado de Praga et al. (2009a).



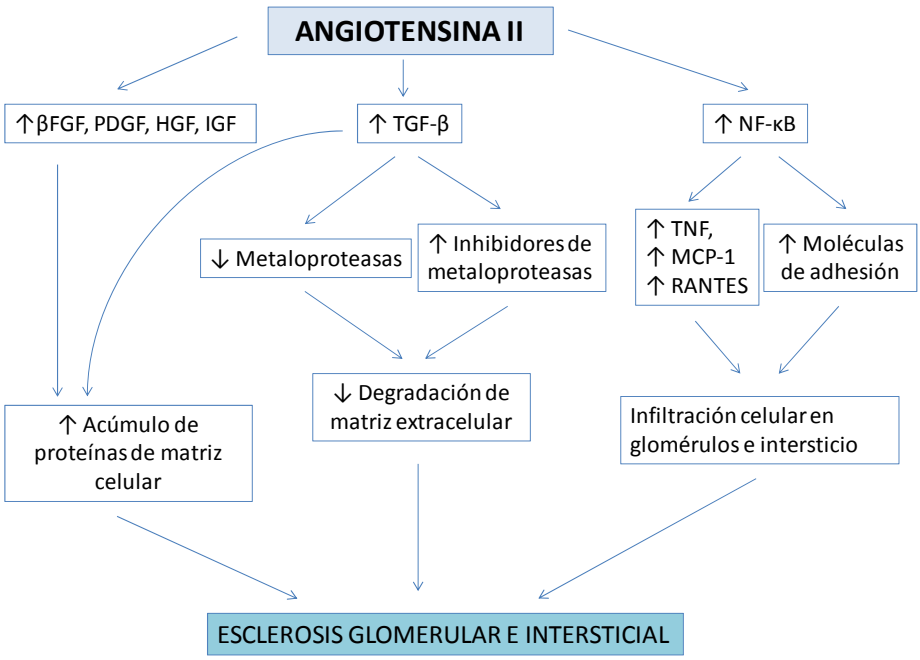
1.4.4. Compuestos vasoactivos, factores de crecimiento y citocinas

Existen una serie de compuestos vasoactivos como la endotelina, angiotensina II, tromboxano A2 y las prostaglandinas, que ejercen, además de sus efectos vasculares, una profunda influencia sobre las vías de hipertrofia e hiperplasia celulares, así como la aparición de fibrosis. De estos, el que parece tener más importancia en las enfermedades renales es la angiotensina II (Figura 4). Todos los elementos del eje renina-angiotensina-aldosterona están presentes en el riñón, y su concentración intrarrenal aumenta en los trastornos renales crónicos. La ATII estimula la síntesis de varios factores de crecimiento, como el factor transformador del crecimiento (TGF-β), el derivado de plaquetas (PDGF), el "insulin like growth factor" (IGF) y el básico de los fibroblastos (βFGF). El más relevante en la patología renal parece ser el TGF-β, pero todos tienen la capacidad de estimular el crecimiento celular y la fibrosis glomerular e intersticial a través de un incremento en la síntesis de proteínas de matriz extracelular (colágeno, fibronectina, laminina, osteopontina). TGF-β, tiene además la capacidad de inhibir la degradación de esta matriz, aumentado la actividad de los inhibidores tisulares de metaloproteinasas (TIMP) e inhibiendo estas últimas, llevando a una fibrosis progresiva en el intersticio renal con

glomeruloesclerosis (Candido et al., 2005; Praga, 2009a; Ruiz-Ortega et al., 1994; Taal y Luyckx, 2005).

La ATII aumenta también el estrés oxidativo y la síntesis de diversas citocinas proinflamatorias (TNF, RANTES, MCP-1) y diversas moléculas de adhesión (ICAM-1, VCAM-1 y ELAM-1), que contribuyen de manera decisiva a la infiltración intersticial de macrófagos y otras células. NF-κB es activado directamente por la ATII y regula la síntesis de muchas de estas citocinas. Por otro lado aumenta la aldosterona, la cual se ha involucrado también en la fibrosis renal y cardiaca (Candido et al., 2005; Praga, 2009a; Ruiz-Ortega et al., 1994; Taal y Luyckx, 2005). (Figura 4)

Figura 4. Influencia de la angiotensina II en los procesos de esclerosis renal. Adaptado de Praga et al. (2009a).



1.4.5. Isquemia renal y alteraciones del óxido nítrico

La hipoxia es un importante regulador de los genes responsables de diversos factores de crecimiento (TGF-β, PDGF y VEGF), así como de activación del sistema renina-angiotensina. El descenso en la tensión de oxígeno tisular inhibe la degradación de las

proteínas de matriz extracelular a través de una disminución en la actividad de las metaloproteinasas. Por ello, se cree que la isquemia renal colabora en la generación de la esclerosis y/o fibrosis característica de la ERC progresiva. Teniendo en cuenta que la circulación renal postglomerular se ve comprometida en la mayoría de las enfermedades renales, la hipoxia puede desempeñar un papel importante en las lesiones tubulointersticiales inespecíficas crónicas de cualquier nefropatía (Praga, 2009a; Taal y Luyckx, 2005).

Asimismo, en la ERC se acumulan inhibidores endógenos del óxido nítrico, como la dimetilarginina asimétrica (ADMA), existiendo una relación clara entre esta sustancia y la mortalidad cardiovascular y progresión a ERC avanzada (ver más adelante).

1.5. CLÍNICA

La ERC en un principio da muy poca sintomatología, apareciendo ésta a medida que se produce un deterioro progresivo de la función renal. Los signos y síntomas que más frecuentemente aparecen en la ERC avanzada (ERCA) incluyen la sobrecarga de volumen, la hiperpotasemia, la acidosis metabólica, la hipertensión, la anemia y los trastornos del metabolismo óseo. Toda esta constelación de signos y síntomas se conocen como "uremia", y sus manifestaciones incluyen anorexia, náuseas, vómitos, pericarditis, neuropatía periférica, y alteraciones del sistema nervioso central que pueden ir desde una falta de concentración y letargia hasta convulsiones, coma y muerte. Sin embargo, no existe una correlación directa entre los niveles de urea o creatinina en sangre y el desarrollo de estos síntomas. Mientras algunos pacientes con niveles de productos nitrogenados en sangre bajos presentan una sintomatología florida, otros con niveles de urea en sangre elevados, pueden permanecer oligosintomáticos (2015; Anderson et al., 2005). (Tabla 2)

Tabla 2. Manifestaciones clínicas y bioquímicas en la ERC. Adaptado de Ribes (2004).

Sistema nervioso	Encefalopatía urémica Polineuropatía periférica Disfunción del sistema nervioso autónomo Depresión y alteraciones psicológicas
Sistema hematológico	Anemia Disfunción plaquetar Hipercoagulabilidad Inmunodeficiencia humoral y celular (infecciones y neoplasias)
Sistema cardiovascular	Hipertensión arterial Miocardiopatía Cardiopatía isquémica Pericarditis Vasculopatía periférica Accidentes cerebrovasculares
Sistema respiratorio	Derrame pleural Edema pulmonar Calcificaciones pulmonares
Sistema digestivo	Anorexia Náuseas y vómitos Ascitis Ulcus gastroduodenal Angiodisplasia de colon Diverticulitis
Sistema endocrino y metabolismo	Hiperinsulinemia Resistencia periférica a la insulina Alteración en glucagón, TSH, T3, T4, cortisol, LJ, FSH, prolactina, GH y leptina. Disfunción eréctil Amenorrea Desnutrición
Sistema osteoarticular	Enfermedad ósea de remodelado alto Enfermedad ósea de remodelado bajo Amiloidosis por depósitos de β-2-microglobulina Artritis gotosa Pseudogota cálcica
Piel	Prurito Hiperpigmentación Xerosis Pseudoporfiria Foliculitis perforante Calcifilaxis
Alteraciones Bioquímicas	Retención nitrogenada (aumento de urea y creatinina) Hiperuricemia Hiponatremia Hipernatremia Hiperpotasemia Acidosis metabólica Alcalosis metabólica Hipocalcemia Hiperfosfatemia Alteración de enzimas cardiacas, hepáticas, pancreáticas y marcadores tumorales.

1.6. COMPLICACIONES

1.6.1. Toxicidad urémica

Las toxinas urémicas son motivo de estudio desde hace años. En la ERC se elevan una serie de sustancias en el organismo, que no necesariamente implica que sean tóxicas, y por tanto, es preciso demostrar que la detección de niveles anormalmente elevados se relaciona con disfunción urémica. En la actualidad, se reconocen 90 sustancias como toxinas urémicas (Tabla 3). Se clasifican en moléculas pequeñas hidrosolubles (<500 d), moléculas medias (>500 d) y moléculas pequeñas unidas a proteínas (<500 d) (Anderson et al., 2005; Ribes, 2004).

Tabla 3. Principales toxinas urémicas clasificadas según su peso molecular. Adaptado de Ribes (2004).

Moléculas pequeñas (<500δ)	Moléculas pequeñas ligadas a proteínas (<500 δ)	Moléculas medias (>500 δ)
Dimetilarginina asimétrica (ADMA)	Á. carboximetilpropilfuranpropiónico	Adrenomedulina
A. ß-guanidinpropiónico	Fuctoselisina	Péptido natriurético atrial
Creatinina	Glioxal	ß2microglobulina
Guanidina	A. hipúrico	ß-endorfina
A. guanidinoacético	Homocisteína	Factor D complemento
A. guanidinosuccínico	Hidroquinona	Cistatina C
Hipoxantina	A. indoxil-3-acético	Endotelina
Malonildialdehído	Indoxilsulfato	A. hialurónico
Metilguanidina	Metilglioxal	Interleukina 1-ß
Mioinositol	Carboximetil-lisina	Interleukina 6
A. erótico	P-cresol	Inmunoglobulinas cadenas ligeras (IgLCs) k, l
Orotidina	Pentosidina	Leptina
Oxalato	Fenol	Neuropéptido Y
Urea	A. Hidroxihipúrico	Parathormona (PTH)
A. úrico	A. quinolínico	Proteína ligada al retinol
Xantina	Espermidina	TNFα
	Espermina	

1.6.2. Alteraciones hidroelectrolíticas y del equilibrio ácido-base

La capacidad del riñón para eliminar agua y electrolitos se mantiene hasta fases avanzadas de la ERC. Al existir un menor número de nefronas funcionantes, existe una

adaptación para permitir la eliminación de solutos, a través de los mecanismos previamente comentados (sección de patogenia). Por tanto, los trastornos hidroelectrolíticos o del equilibrio ácido-base no aparecen hasta fases avanzadas de la ERC, cuando el filtrado glomerular está severamente reducido. En estas fases (estadios 4 y 5 de la ERC), cuando se produce una sobrecarga hidrosalina existe tendencia a la hipervolemia e hipertensión. Por otra parte, en una situación opuesta de deshidratación el riñón es incapaz de reabsorber sodio y mantener una volemia adecuada (Abassi et al., 2005; Berl y Verbalis, 2005).

La disminución severa del FG también comporta una pérdida de la adaptación a la sobrecarga de potasio. Aunque los niveles séricos de potasio suelen aumentar, no suelen observarse hiperpotasemias graves hasta fases muy avanzadas de insuficiencia renal, con FG inferior a 15 ml/min. No obstante, deben considerarse otros factores que pueden inducir hiperpotasemia, aún con FG no tan reducido, como el hipoaldosteronismo hiporreninémico asociado a nefropatía diabética o nefropatías intersticiales, o el tratamiento con fármacos como IECA, ARA II y diuréticos ahorradores de potasio (Mount y Zandi-Nejad, 2005).

La ERC es también causa de acidosis metabólica, pero el balance ácido-base normal se mantiene mientras el FG no es inferior a 25 ml/min. Es debida fundamentalmente a la disminución de la amoniogénesis tubular y a la retención de H^+, dando lugar a una acidosis hiperclorémica con hiato aniónico normal. Por otra parte, cuando la insuficiencia renal progresa se produce una retención de aniones fosfato, sulfato y ácidos orgánicos, lo cual conlleva un aumento del hiato aniónico. En la ERC terminal (estadio 5) la acidosis es predominantemente mixta (DuBose, 2005).

1.6.3. La anemia. Papel como factor de riesgo cardiovascular emergente.

La anemia en la ERC se debe fundamentalmente al déficit de secreción de eritropoyetina (EPO) por parte del riñón. La EPO es una glicoproteína sintetizada por las células intersticiales peritubulares renales en el adulto. La hipoxia estimula su secreción, con el fin de conservar la masa de hematíes para satisfacer la demanda tisular de oxígeno (Cases, 2009; Remuzzi et al., 2005).

Se caracteriza por ser normocítica y normocrómica, y puede detectarse con FG inferior a 60 ml/min, haciéndose más severa a medida que empeora la función renal. No obstante, existen otros factores que contribuyen al desarrollo de la anemia como el acortamiento de la vida media del hematíe, y la presencia de determinadas toxinas urémicas que actúan inhibiendo la eritropoyesis (espermina y espermidina). Por otra parte, también es frecuente el déficit de hierro y vitaminas, pérdidas hemáticas y fibrosis de la médula ósea secundaria a hiperparatiroidismo (Cases, 2009; Remuzzi et al., 2005).

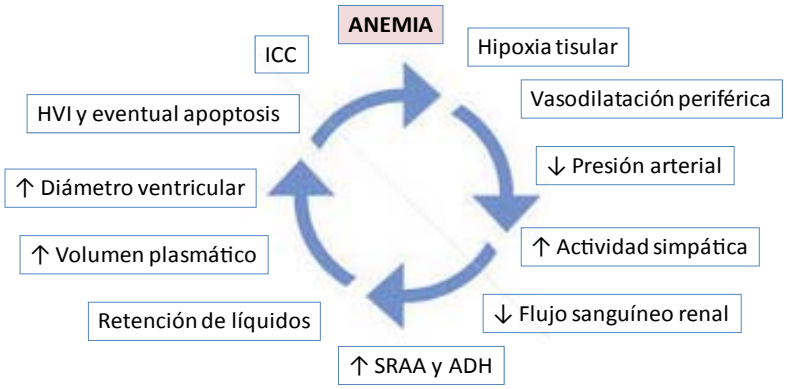
Además de la sintomatología propia de cualquier anemia crónica, en la ERC tiene repercusión sobre las funciones cognitivas, el sistema cardiovascular, la trombopatía urémica, la nutrición, la inmunidad y la disfunción sexual, así como en la miocardiopatía urémica y en el desarrollo de la hipertrofia ventricular izquierda (HVI) (Cases, 2009; Remuzzi et al., 2005).

La EPO es además un importante regulador de la proliferación y diferenciación de las células progenitoras endoteliales (EPCs) (Remuzzi et al., 2005). Las células madre CD34+ de la médula ósea pueden diferenciarse en dos vías, la hematopoyética y también la endotelial. La EPO, además de estimular la producción de hematíes, tiene la función de movilizar la circulación de EPCs y actuar sobre las EPCs maduras que expresan receptores de EPO (Remuzzi et al., 2005). Estas células tienen una particular relevancia en los fenómenos reparadores de neoangiogénesis (Cases, 2009; Remuzzi et al., 2005).

La anemia es un factor condicionante de hipertrofia ventricular izquierda (HVI), lo que implica un elevado riesgo de enfermedad coronaria y muerte cardiaca. La prevalencia de la HVI aumenta progresivamente con el declinar de la función renal, de manera que aproximadamente el 70% de los pacientes que inician diálisis presentan esta dolencia (Foley et al., 1995; Levin et al., 1999). Asimismo, se ha demostrado una relación inversa entre los niveles de hematocrito y la morbimortalidad cardiovascular en pacientes en prediálisis y en diálisis (Kovesdy et al., 2006). Además diversos estudios han demostrado que la corrección de la anemia limita la progresión de la enfermedad renal y, en parte, regresa la HVI (Chen et al., 2008), por lo que es obligado tratar la anemia cuando se presenta. (Figura 5) Un problema relevante lo constituye la resistencia a la EPO, que afecta aproximadamente a un 30% de los pacientes con ERC (Cases, 2009). Las causas de resistencia a la EPO son diversas, teniendo un papel preponderante el estrés oxidativo y la

inflamación, así como la hepcidina, que es un péptido de 25 aminoácidos producido a nivel hepático y que parece ser un auténtico puente de unión entre inflamación y anemia, actuando sobre la ferroprotina, un transportador celular del hierro (Kwack y Balakrishnan, 2006; Malyszko et al., 2005).

Figura 5. Enfermedad cardiovascular y anemia. Adaptado de Cases (2009).

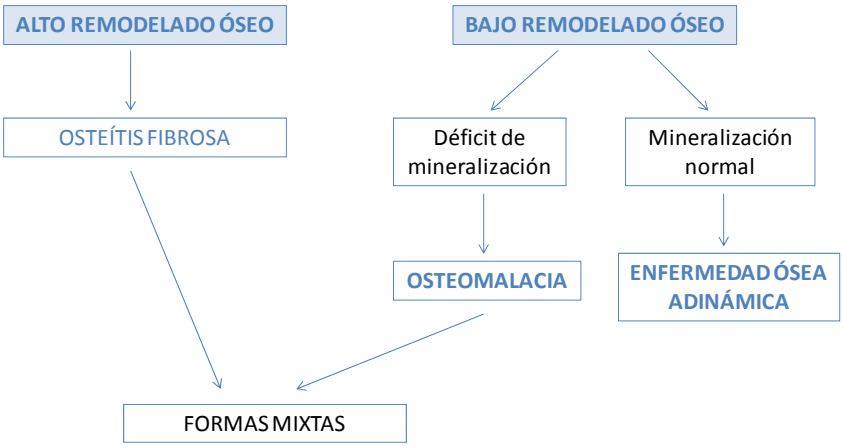


1.6.4. Alteraciones del metabolismo mineral y óseo. Papel como factor de riesgo cardiovascular emergente.

Las lesiones óseas que aparecen en la ERC se clasifican en (Figura 6):

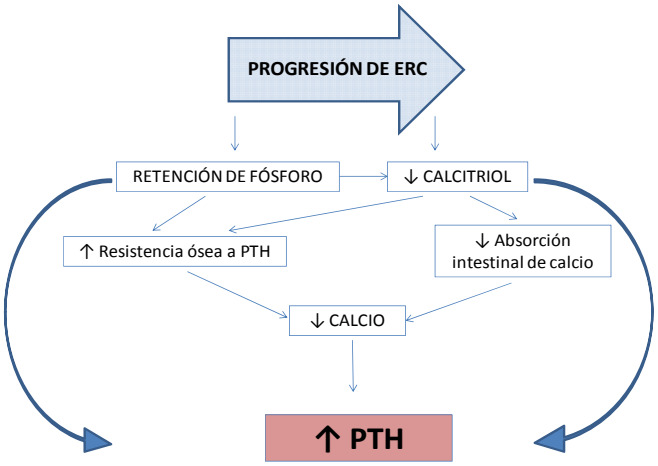
- *Enfermedad ósea de remodelado alto (osteítis fibrosa) o hiperparatiroidismo secundario*: predomina la actividad de osteoblastos y osteoclastos con aumento de la reabsorción y una anómala estructuración de la matriz osteoide.
- *Enfermedad ósea de remodelado bajo (osteomalacia):* existe una disminución de la celularidad y una disminución en la producción de osteoide.
- *Otras:* formas mixtas y amiloidosis por ß$_2$microglobulina.

Figura 6. Clasificación de la osteodistrofia renal. Adaptado de Cannata Andía y Rodríguez Portillo (2009).



La retención de fosfato en la ERC conduce a una disminución del calcio, el cual a su vez estimula la síntesis de PTH. Por otra parte, la hiperfosforemia estimula también la síntesis de PTH y la proliferación de células paratiroideas (Cannata Andía y Rodríguez Portillo, 2009; Martin et al., 2005). Tanto la hipocalcemia como la hiperfosforemia aumentan ARNm postranscripcional de PTH. Asimismo, la pérdida de masa renal funcionante conduce a una menor actividad de 1 α-hidroxilasa, necesaria para la síntesis a nivel del túbulo proximal de $1,25(OH)_2D_3$ a partir del $25(OH)D_3$. El déficit de calcitriol tiene como consecuencia la disminución de la absorción intestinal de calcio que, como se ha comentado previamente, estimula la producción de PTH. Por otro lado en la ERC existe también una resistencia esquelética a la PTH, y el exceso de ésta estimula la resorción ósea. A nivel de las glándulas paratiroideas el déficit de calcitriol impide actuar sobre su receptor VDR que disminuye la transcripción del ARNm de PTH y la proliferación celular (Cannata Andía y Rodríguez Portillo, 2009; Martin et al., 2005; Ribes, 2004). (Figura 7)

Figura 7. Alteraciones del metabolismo mineral asociadas al deterioro progresivo de la función renal. Adaptado de Cannata Andía y Rodríguez Portillo (2009).



Un aspecto de especial relevancia es la tendencia que existe en la uremia a desarrollar calcificaciones extraóseas, en vísceras, articulaciones, arterias de diverso calibre e incluso en válvulas cardiacas. En presencia de hiperfosfatemia, el cotransportador NPC facilita la entrada de fosfato en la célula muscular lisa vascular. El factor de trascripción Cbfa-1 en presencia de factores locales e inhibidores de calcificación hace posible el cambio de fenotipo de la célula muscular lisa a osteoblasto (Martin et al., 2005).

Diversos estudios epidemiológicos muestran un nexo de unión entre el metabolismo mineral y la mortalidad cardiovascular en pacientes con ERC (Block et al., 2004; Marco et al., 2003). El aumento progresivo de los niveles de fósforo plasmático en pacientes con ERC se relaciona con un aumento del riesgo de mortalidad de manera que por cada aumento de 1 mg/dl de fósforo aumenta un 23% la mortalidad. La diferencia alcanza significación estadística a partir de 3.5 mg/dl de fósforo sérico independientemente de los factores de riesgo cardiovascular clásicos (Kestenbaum et al., 2005). Niveles de fósforo elevados tienen la capacidad de inducir cambios en la pared vascular por lo que influye directamente en el riesgo cardiovascular (Amann et al., 2003).

El hiperparatiroidismo secundario está también implicado en la morbimortalidad cardiovascular. Se ha observado una relación directa del nivel de PTH con el riesgo relativo de muerte cardiovascular, siendo el riesgo casi cuatro veces superior si los niveles

de PTH están por encima de 50 pmol /L (Marco et al., 2003). La elevación de las cifras de PTH se ha relacionado con un aumento de la rigidez arterial, medida mediante velocidad de la onda del pulso y la presión de pulso, desde estadios precoces de insuficiencia renal. En pacientes en HD se ha demostrado una asociación entre la calcificación arteriolar y la elevación de la velocidad de la onda de pulso (Haydar et al., 2004).

1.6.5. Alteraciones cardiovasculares en la ERC

Los eventos cardiovasculares (cardiopatía isquémica, insuficiencia cardiaca, vasculopatía periférica, accidente vascular cerebral) son la principal causa de morbimortalidad de los pacientes con ERC en cualquier estadio, incluyendo la diálisis y el trasplante, debido a que en la uremia coexiste un proceso de aterosclerosis acelerada. En la ERC son frecuentes los factores de riesgo cardiovascular tradicionales como la edad avanzada, HTA, dislipemia tipo IV, diabetes y tabaquismo. Por otro lado, se dan otros factores relacionados con la uremia, no tradicionales o emergentes como la anemia, la homocisteína, alteraciones en el metabolismo fosfocálcico, la hipervolemia, el estrés oxidativo, la inflamación, la tendencia protrombótica y la hiperactividad simpática (Caramelo Díaz y García Pérez, 2009; McMahon y Parfrey, 2005). (Tabla 4)

Tabla 4. Factores de riesgo tradicionales y no tradicionales presentes en enfermos urémicos. Adaptado de Caramelo Díaz y García Pérez (2009).

Factores de riesgo tradicionales	Factores de riesgo no tradicionales
Edad avanzada	Alteraciones en el metabolismo Ca/P (hiperfosfatemia)
Género masculino	Déficit de vitamina D
Hipertensión	Anemia
Diabetes mellitus	Estrés oxidativo
Hipercolesterolemia	Inflamación
Tabaquismo	Hiperhomocisteinemia
Obesidad	Aumento de Lp(a)
Dislipidemia	Malnutrición
Hipertrofia ventricular izquierda	Hipoalbuminemia
Inactividad física	Factores trombogénicos
Menopausia	Alteraciones del sueño
Historia familiar de enfermedad cardiovascular	Alteración en los niveles de óxido nítrico
Trombogenicidad	ADMA
	Toxinas urémicas

La HTA es a la vez causa y consecuencia de la ERC. Su prevalencia aumenta con la disminución del FG, alcanzando hasta el 80% de pacientes con ERC en estadio 5 (Caramelo Díaz y García Pérez, 2009). Están implicados diversos mecanismos patogénicos, como la estimulación endotelial, aumento del calcio intracelular, calcificaciones vasculares y posible enfermedad vascular renal (McMahon y Parfrey, 2005).

A nivel cardiaco, se producen calcificaciones de las válvulas con disfunción valvular, calcificaciones y lesiones del sistema de conducción que dan lugar a arritmias, miocardiopatía con insuficiencia cardiaca y aterosclerosis coronaria que conduce a cardiopatía isquémica. Por otro lado, está la miocardiopatía urémica, la cual se produce por un lado por la sobrecarga de presión y por otro, por la sobrecarga de volumen. La HTA y la falta de elasticidad de la aorta condicionan una sobrecarga de presión que induce una HVI concéntrica. Asimismo, existe un aumento de la presión sistólica, incremento de miofibrillas, con engrosamiento de la pared y pocos cambios en el volumen ventricular. La hipervolemia, la anemia y la fístula arteriovenosa crean una sobrecarga de volumen y una HVI excéntrica, dando lugar a un aumento de la presión diastólica, formación de nuevos sarcómeros y aumento del volumen de las cavidades cardiacas. En la progresión de la miocardiopatía subyacen muerte celular de miocitos y fibrosis, y destaca también la disminución de la densidad de capilares. Inicialmente, las alteraciones estructurales se traducen en disfunción ventricular diastólica y posteriormente disfunción ventricular sistólica (Caramelo Díaz y García Pérez, 2009; McMahon y Parfrey, 2005). (Tablas 5 y 6)

Tabla 5. Alteraciones cardiovasculares en la enfermedad renal crónica. Adaptado de Caramelo Díaz y García Pérez (2009).

- Cambios estructurales en la capa muscular de los vasos arteriales
  · Aumento de la rigidez
  · Fibrosis
  · Calcificación
- Alteraciones luminales en vasos arteriales
  · Arterioesclerosis grave: coronaria, periférica y cerebral
- Hipertensión arterial.
- Disfunción ventricular izquierda
  · Sistólica
  · Diastólica → Hipertrofia ventrículo izquierdo.
- Arritmias
  · Calcificación de las vías de conducción
  · Alteraciones miocárdicas
- Pericarditis
- Calcificaciones y disfunción valvular
  · Mitral
  · Aórtica

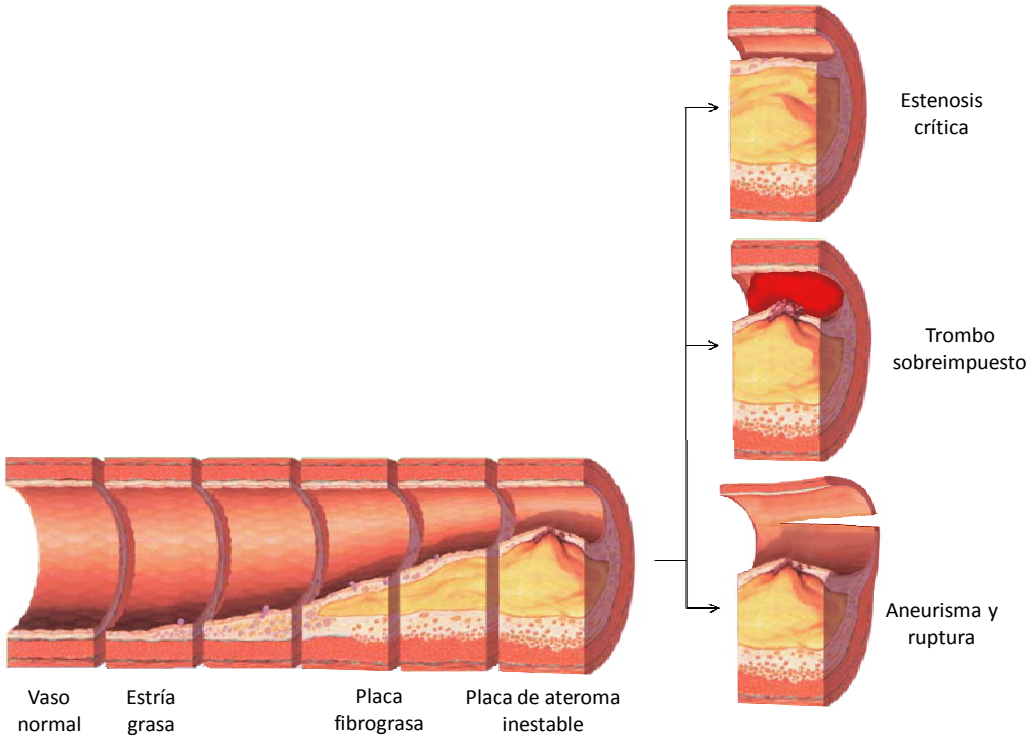
Tabla 6. Trastornos cardiovasculares en pacientes con ERC y sus consecuencias clínicas. Adaptado de Caramelo Díaz y García Pérez (2009).

Tipo de trastorno	Consecuencia clínica
Disminución general de la distensibilidad del árbol circulatorio.	Aumento de la poscarga, con HVI y aumento de la demanda de O_2.
Disminución de la distensibilidad de la circulación coronaria.	Alteración de la perfusión y distribución del flujo sanguíneo coronario. Disminución de la reserva de perfusión en el estrés.
Calcificación de fibras de conducción miocárdicas y pequeños vasos tróficos de las fibras de conducción.	Arritmias.
Disminución de la contractilidad de las arterias elásticas.	Déficit del componente vascular de la hemostasia: agravamiento de tendencia hemorrágica.
Alteración generalizada de las propiedades elásticas de los grandes vasos arteriales.	Déficit de contractilidad coordinada ante descensos tensionales y de contracción local ante soluciones de continuidad: mala respuesta a la hipotensión.
Rarefacción vascular y calcificaciones a nivel de pequeños vasos en diversos territorios.	Hipoperfusión periférica, con depuración menos eficaz de solutos e incremento de fenómenos de rebote.
Calcificaciones vasculares mesentéricas.	Trastornos de intercambio en DPCA. Necrosis segmentaria de colon.
Lesiones calcificadas de la íntima.	Tendencia trombogénica con incremento del riesgo de oclusión vascular. Dificultades en la realización de anastomosis quirúrgicas vasculares.
Rarefacción vascular y sustitución de fibras contráctiles de miocardio por áreas de fibrosis.	Desadaptación hemodinámica ante la pérdida de volumen intravascular, causando hipotensión y arritmias intradiálisis.
Patología arterial del territorio pélvico-genital.	Disfunción eréctil, impotencia y gangrena peneana.

1.6.5.1. Aterosclerosis

La afectación cardiovascular en el enfermo con ERC incluye varios tipos de lesiones vasculares con sus correspondientes presentaciones clínicas (Sarnak et al., 2003). La lesión vascular más característica es la aterosclerosis que consiste en la presencia de calcificaciones de localización preferente en la capa media junto a hiperplasia intimal (Figura 8). Su patogénesis es multifactorial (Figura 9) y su presentación clínica suele caracterizarse por cardiopatía isquémica, muerte súbita y enfermedad cerebrovascular.

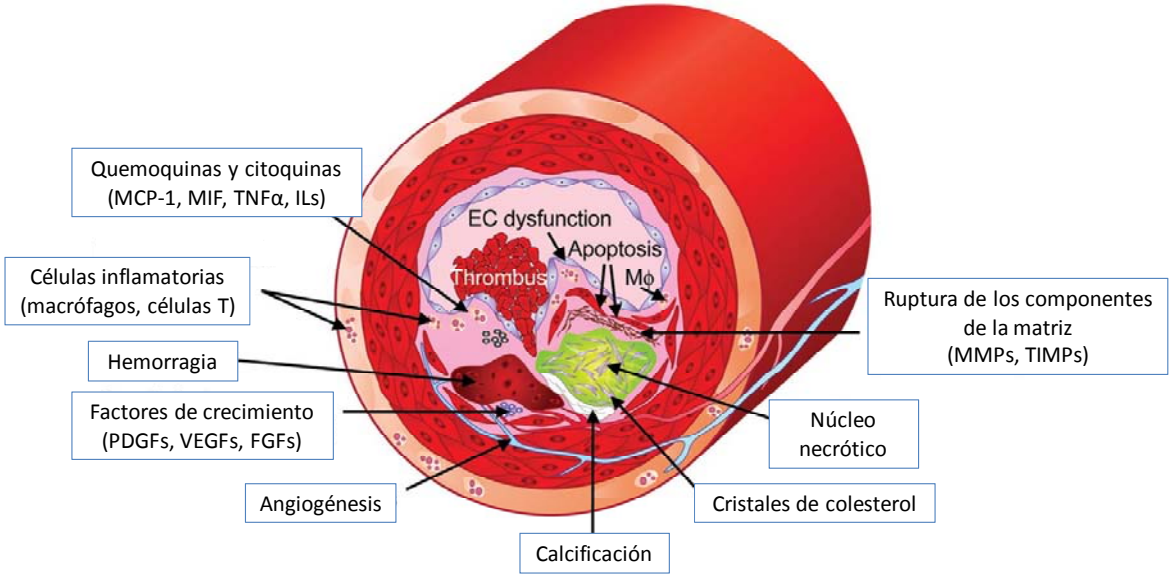
Figura 8. Evolución de las lesiones vasculares en la aterosclerosis.



Durante años se ha pensado que la aterosclerosis se formaba por el depósito pasivo de colesterol en la pared arterial, como un mecanismo propio del envejecimiento. Pero, en los últimos años, se ha demostrado que se trata de un proceso de carácter inflamatorio (Caramelo Díaz y García Pérez, 2009). El estímulo inicial para la formación de

la placa de ateroma es la disfunción endotelial. El daño del endotelio resulta del desequilibrio entre la agresión y las células reparadoras EPCs (Jaipersad et al., 2014). En la ERC con pequeños descensos del FG ya se puede observar disfunción endotelial. La placa de ateroma inestable, cuya ruptura da lugar a la trombosis y al síndrome coronario agudo, se forma por acumulo de macrófagos y células espumosas, mediadores de inflamación y LDL-oxidada. La ruptura de la placa se produce por una erosión superficial, una disrupción por la neoangiogénesis o una activación de mediadores pro-inflamatorios por células T-helper 1 (Th 1) (Jaipersad et al., 2014; Yla-Herttuala et al., 2013). En la ERC es característica la presencia de marcadores de estrés oxidativo y de inflamación, estando ambos procesos implicados en la patogenia de la aterosclerosis. En el balance entre factores oxidantes y antioxidantes el estrés oxidativo consiste en el predominio de especies reactivas de oxígeno (ROS). En el medio urémico predomina ROS que, junto a otros mediadores, son capaces de activar células inflamatorias como macrófagos y linfocitos. A través del factor de transcripción NF-κB se liberarían mediadores pro-inflamatorios, como la IL-6, que provocarían modificaciones en la pared arterial que darían lugar al fenómeno de aterosclerosis acelerada, con oxidación de LDL, migración de leucocitos, proliferación de células musculares lisas, calcificación y activación de metaloproteinasas (MMP) (Stenvinkel et al., 2002; Stenvinkel et al., 2005). La angiogénesis y remodelado vascular es otro hecho clave en la aterosclerosis. La expresión del factor de crecimiento endotelial (VEGF) está aumentada, y la neovascularización de la placa de ateroma puede promover el crecimiento de lesiones inestables. La calcificación de la media arterial en general y de las arterias coronarias en particular se produce con mucha mayor frecuencia en la ERC, que en otras circunstancias, posiblemente por la transformación osteoblástica de las células musculares lisas que condiciona el depósito de sales de calcio (McMahon y Parfrey, 2005). (Figura 9)

Figura 9. Factores que contribuyen a la formación de la placa de ateroma inestable. Adaptado de Yla-Herttuala et al. (2013).



MCP-1, proteína quimiotáctica de monocitos-1; MIF, factor de inhibición migratoria; TNFα, factor de necrosis tumoral-α; ILs, interleuquinas; MMPs, metaloproteinasas de matriz; TIMPs, inhibidores tisulares de metaloproteinasas; PDGFs, factores de crecimiento derivado de plaquetas; VEGFs, factores de crecimiento del endotelio vascular; FGFs, factores de crecimiento de fibroblastos; Mϕ, macrófagos.

1.6.5.2. Arteriosclerosis

La otra afectación vascular presente es la arteriosclerosis, la cual se caracteriza por un engrosamiento, infiltración y la calcificación de la media, que conlleva el remodelado de los grandes vasos. El diámetro arterial y el espesor de la pared se ven aumentados como consecuencia del exceso de presión ejercida contra la pared vascular lo que se acompaña de una disminución de la distensibilidad o "compliance" arterial, responsable del aumento de la presión arterial sistólica, hipertrofia ventricular izquierda, aumento de la presión de pulso y disminución de la perfusión coronaria. Tanto la disminución de la distensibilidad aórtica como el aumento de la presión de pulso han demostrado ser factores de riesgo independientes para la enfermedad cardiovascular en pacientes en diálisis (Sarnak et al., 2003).

1.6.6. Malnutrición

La desnutrición hace referencia no sólo a deficiencias en los marcadores bioquímicos y/o antropométricos de las reservas de nutrientes, o de composición corporal, sino que, además, engloba complicaciones derivadas de estas deficiencias (Tabla 7).

Tabla 7. Consecuencias de la desnutrición. Adaptado de Lorenzo (2009).

Directas
- Mala curación de las heridas
- Descenso de resistencia a episodios intercurrentes
- Retraso en la rehabilitación
- Susceptibilidad a contraer infecciones
- Aumento de la intolerancia hemodinámica a la diálisis
- Depresión, astenia
Indirectas
- Aumento de la morbimortalidad
- Incremento de las estancias hospitalarias
- Aumento del coste

La desnutrición calórico-proteica puede afectar a más del 50% de los pacientes en diálisis, y su riesgo aumenta a medida que aumenta el grado de ERC (Lorenzo, 2009). La desnutrición en la ERC, y en el paciente en diálisis en concreto, no sólo es atribuible a una disminución del aporte, ya que se conocen distintos mecanismos que estimulan el catabolismo proteico y consumen la masa muscular. La acidosis metabólica activa el sistema proteolítico ubiquitínproteosoma y destruye de forma irreversible los aminoácidos esenciales, degradando las proteínas musculares y disminuyendo la albúmina en suero (Kalantar-Zadeh et al., 2003). Por otro lado, la inflamación crónica, estrechamente relacionada con la aterosclerosis acelerada, se acompaña de un aumento de citokinas circulantes que también estimulan la proteolisis por la misma vía. Ciertas toxinas urémicas, podrían también, por algún mecanismo no conocido en su totalidad, producir anorexia y desnutrición (Stenvinkel et al., 2002).

Existe una relación directa entre la inflamación crónica silente y la desnutrición. Por ello recientemente se ha definido el síndrome MICS (Malnutrition-Inflammation-Complex Syndrome) y el síndrome MIA (Malnutrition-Inflammation-Atherosclerosis), los cuales influyen de forma importante en la aceleración del proceso arterioesclerótico y en la morbimortalidad cardiovascular del paciente en programa de diálisis (Kalantar-Zadeh et al., 2003).

1.6.7. Síndrome cardiorrenal

En 2008, Ronco et al. describieron las cinco categorías clínicas de un síndrome extraordinariamente frecuente que acontece cuando el fallo agudo o crónico del corazón o del riñón puede causar disfunción del otro órgano. En el tipo I o síndrome cardiorrenal agudo, un fallo agudo de la función cardiaca desencadena un fracaso renal agudo. En el tipo II o síndrome cardiorrenal crónico, la insuficiencia cardiaca crónica desencadenará un fallo progresivo y potencialmente permanente de la función renal. En el tipo III o síndrome renocardiaco agudo, un empeoramiento agudo de la función renal causa un fallo cardiaco agudo. El tipo IV o síndrome renocardiaco crónico se da cuando la insuficiencia renal crónica es la causa de la disfunción cardiaca. Por último el tipo V que se denomina síndrome cardiorrenal secundario, se daría cuando una circunstancia sistémica como la diabetes o una sepsis causarían ambos fallos cardiaco y renal (Ronco et al., 2008).

Los mecanismos fisiopatológicos implicados en cada una de las categorías previamente mencionadas son distintos. Analizaremos aquellos implicados en el síndrome cardiorrenal tipo II y tipo IV, al ser los de mayor interés para el actual trabajo.

Un gasto cardiaco disminuido de forma crónica, puede desencadenar hipotensión e hipoperfusión renal. Estas situaciones estimulan una respuesta neurohumoral compensatoria que incluye la activación del sistema renina-angiotensina y del sistema nervioso simpático, así como un aumento en la expresión de moléculas como la vasopresina, endotelina y péptido natriurético atrial (Rea y Dunlap, 2008). El aumento de la producción renal de angiotensina II y aldosterona promoverán la retención de agua y sodio y causará enfermedad macro y microvascular (Struthers y MacDonald, 2004). La angiotensina II es también capaz de elevar los niveles renales de endotelina I, que es

capaz a su vez de activar el factor de crecimiento β y el NFκB, iniciando y favoreciendo la progresión de inflamación y fibrosis renal (Onozato et al., 2007). Junto con la angiotensina II, altos niveles de aldosterona estimularán la producción de fibronectina conduciendo a la fibrosis renal y la glomeruloesclerosis. La hipoxemia renal aumentará el estrés oxidativo, empeorará el óxido nítrico y la función endotelial y promoverá un estado inflamatorio crónico. Los niveles elevados de factor de necrosis tumoral, interleukina 1 e interleukina 6 asociados a la inflamación crónica pueden causar daño tóxico de forma progresiva y apoptosis de las células renales, que conllevará un daño renal permanente y pérdida de la función renal (Bongartz et al., 2005). Este mecanismo inflamatorio puede ser la ruta principal del deterioro de la función renal en pacientes con insuficiencia cardiaca crónica y función del ventrículo izquierdo conservada (síndrome cardiorrenal tipo II).

Tanto la albuminuria como la disminución del filtrado glomerular son factores de riesgo independientes para eventos cardiovasculares (Mann et al., 2001). Los trastornos cardiovasculares presentes en los enfermos renales son múltiples y a menudo se presentan en el mismo paciente. La aterosclerosis está presente de manera frecuente, como ya se ha comentado previamente, en los pacientes con ERC debido a la alta prevalencia de diabetes, dislipemia e hipertensión, aparte de todos los factores de riesgo no tradicionales que se asocian a los estadios avanzados de insuficiencia renal y que se desarrollan en los diferentes apartados de esta introducción. La hipertrofia ventricular concéntrica, debido a la presencia de hipertensión, la arteriosclerosis y en ocasiones la estenosis de la válvula aórtica, es también un fenómeno frecuentemente asociado a la ERC. Esto explicaría el mecanismo fisiopatológico implicado en el síndrome cardiorrenal tipo IV (Mann et al., 2001).

En conclusión, existe una compleja relación bidireccional entre riñón y corazón cuyo objetivo es mantener la homeostasis del volumen sanguíneo y de la presión arterial, y la insuficiencia de cualquiera de estos órganos será capaz de causar el fallo del otro.

1.7. TRATAMIENTO SUSTITUTIVO RENAL

La valoración de un paciente con ERC como candidato a diálisis crónica es un proceso delicado que requiere analizar en profundidad todas sus características. En la mayoría de los países desarrollados no existe una limitación económica para la entrada en diálisis, lo cual, unido al incremento progresivo de la DM2 y la nefroangioesclerosis como causas más frecuentes de ERC, explican que la edad media de los pacientes que inician programas de depuración extrarrenal sea cada año mayor, con las consiguientes repercusiones sociales y económicas que conlleva (Praga, 2009b).

Los pacientes con ERC progresiva deben conocer con suficiente antelación la futura necesidad de diálisis, y estar familiarizados con los distintos tipos de depuración extrarrenal que existen, para que ellos puedan participar activamente en la elección de la técnica. No existen pautas de aplicación general, debiendo ser individualizada la selección de la técnica (hemodiálisis o diálisis peritoneal) idónea para cada paciente en función de las características médicas, trabajo o preferencias del paciente. La posibilidad de un trasplante renal de donante vivo, siempre que exista la posibilidad de un donante adecuado que reúna todos los requisitos clínicos y legales, debe de ser siempre considerada (Soriano Cabrera y Martín Malo, 2009).

1.7.1. La diálisis

Generalmente se indica la diálisis crónica cuando comienzan a aparecer los primeros síntomas urémicos. Los más frecuentes son digestivos (náuseas, vómitos, pérdida de apetito), neurológicos (apatía, falta de concentración, nerviosismo), calambres, prurito, síndrome de piernas inquietas, y síntomas generales, como malestar generalizado, fatiga y astenia progresiva. Esta sintomatología suele aparecer cuando el filtrado glomerular es inferior a 10 ml/min, pero existe una gran variabilidad interindividual, y puede aparecer con filtrados mayores. Existen complicaciones graves que obligarían a comenzar la diálisis sin dilación, como la pericarditis, la insuficiencia cardiaca por sobrecarga de volumen que no responde a diuréticos, la hiperpotasemia grave que no responde al tratamiento médico o la polineuritis avanzada. No obstante, se

debe siempre evitar llegar a estas complicaciones programando adecuadamente el inicio de la diálisis en cada paciente. Las guías europeas de diálisis (Tattersall et al., 2007) recomiendan el inicio de la diálisis con un aclaramiento de creatinina menor de 10 ml/min, y entre 10 y 15 ml/min en pacientes diabéticos y aquellos con otras enfermedades que se beneficiarían de un comienzo más precoz de la diálisis.

El apoyo psicológico en la fase inicial de la diálisis es otro aspecto de fundamental importancia, así como suministrar al paciente y a la familia, sobre todo en ancianos, la ayuda social necesaria para que superen lo mejor posible el cambio de vida que supone la diálisis crónica (Soriano Cabrera y Martín Malo, 2009). En esta línea, la información adecuada a los familiares y el apoyo continuo por parte de estos es trascendental.

1.7.1.1. Hemodiálisis

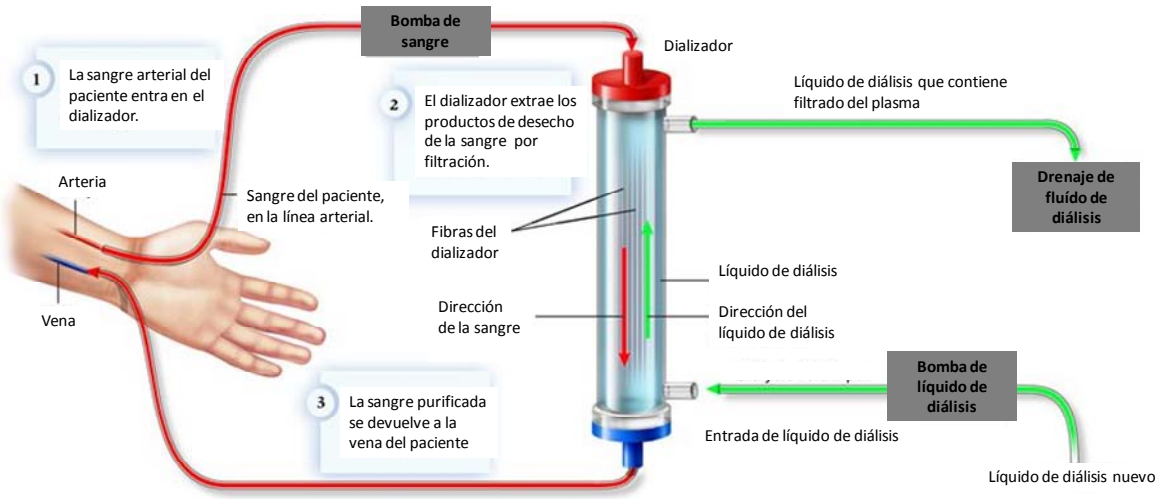
En el año 1925 se realizó el primer intento de eliminar las sustancias tóxicas de la sangre humana, pero hasta los años cuarenta no se consiguió la primera diálisis renal efectiva. En la década de los sesenta nació la diálisis moderna, de manera que en el año 2005 ya existían más de un millón de personas en el mundo (22.000 en España) que recibían periódicamente tratamiento con hemodiálisis (Soriano Cabrera y Martín Malo, 2009). La hemodiálisis es la técnica depurativa más ampliamente utilizada para el tratamiento de la ERC. Los avances tecnológicos en los últimos años, como monitores con control volumétrico, membranas de elevada biocompatibilidad y permeabilidad, bicarbonato como buffer y el desarrollo de nuevas técnicas como la hemodiafiltración online, han hecho que sea mejor tolerada por los pacientes.

1.7.1.1.1. Principios físicos

La hemodiálisis tiene como objetivo depurar la sangre mediante un sistema extracorpóreo por el cual se eliminan las sustancias tóxicas derivadas del catabolismo, restablecer el equilibrio ácido-base y corregir las alteraciones hidroelectrolíticas, así como eliminar el exceso de líquido que se acumula en el organismo. Se trata de una técnica de depuración extrarrenal que consiste en el intercambio de agua y solutos entre dos

soluciones (la sangre y el líquido de diálisis) separadas por una membrana semipermeable presente en el dializador. Esta membrana permite el paso de agua y moléculas de pequeño y mediano peso molecular (hasta 50.000 Daltons), impidiendo el paso de solutos de mayor tamaño como las proteínas y las células que forman parte de la sangre. Durante la diálisis, la sangre del paciente entra en contacto con la membrana, cuya superficie está impregnada de líquido de diálisis. La composición de este líquido permite la depuración de sustancias acumuladas en la sangre, a la vez que aporta al paciente otros elementos como el calcio y el bicarbonato, permitiendo un transporte bidireccional (Ronco y Ghezzi, 2006). (Figura 10)

Figura 10. Hemodiálisis. Adaptado de biology-forums.com



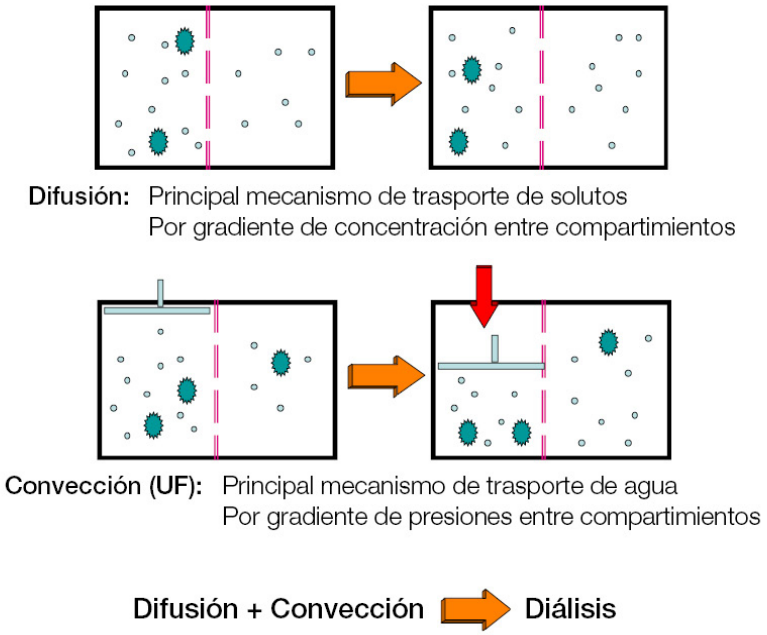
- Eliminación de fluidos: ultrafiltración

La eliminación de fluidos se consigue a través de la ultrafiltración, utilizando el gradiente de presión hidrostática entre ambos lados de la membrana semipermeable para hacer pasar fluido del compartimento sanguíneo al dializado. Influyen en la tasa de ultrafiltración el gradiente de presión transmembrana, la permeabilidad hidráulica y la superficie de la membrana (Ojeda López y Martín Malo, 2009). (Figura 11)

- Eliminación de solutos: difusión, convección y adsorción.

El transporte de agua y solutos a través de la membrana se lleva a cabo por dos mecanismos: la difusión y la convección. La difusión es el movimiento de los solutos a través de una membrana semipermeable según un gradiente de concentración. La eficacia depende del coeficiente de transferencia de masas (KoA), propio de cada dializador según la permeabilidad y la superficie de su membrana, así como del gradiente de concentración. La convección tiene lugar cuando los solutos son arrastrados junto al agua durante la ultrafiltración. El transporte convectivo tiene como función eliminar el exceso de líquido acumulado por el paciente en el período interdiálisis, así como depurar los solutos que acompañan a este líquido ultrafiltrado, que en definitiva es rico en toxinas urémicas. La capacidad depurativa de la convección depende fundamentalmente de la cantidad de volumen eliminado. Finalmente, la adsorción es un mecanismo físico de menor relevancia, que consiste en la unión de moléculas a la propia membrana del dializador que contribuye al aclaramiento de moléculas de tamaño medio (Ronco y Ghezzi, 2006). (Figura 11)

Figura 11. Principios físicos de la hemodiálisis. Difusión y convección. Adaptado de Ronco y Ghezzi (2006).



1.7.1.1.2. Modalidades de hemodiálisis

Existen varias modalidades de hemodiálisis, dependiendo del mecanismo utilizado para realizar el intercambio de agua y de solutos.

a) Hemodiálisis convencional. Se basa fundamentalmente en la difusión, a la cual se le añade la ultrafiltración necesaria para eliminar la sobrecarga hídrica. No precisa líquido de reposición.
b) Hemofiltración (HF). Se basa en la convección pura. Consiste en la extracción de un volumen de líquido superior a 20 litros por sesión, el cual es reemplazado por un líquido de reposición. No se usa líquido de diálisis, por lo que no existe el mecanismo de la difusión.
c) Hemodiafiltración (HDF). Combina la difusión y la convección, y se usa dializado y líquido de reposición. Se tiende a conseguir elevados volúmenes de reposición mediante el uso del propio líquido de diálisis como solución de reposición (HDF-on line) (Ojeda López y Martín Malo, 2009).

1.7.1.1.3. Técnica de hemodiálisis

Para llevar a cabo una sesión de hemodiálisis se precisa un acceso vascular, un monitor, un dializador, las líneas del circuito extracorpóreo y el líquido de diálisis. (Figura 10)

Los dializadores pueden ser de fibras capilares o de placas paralelas. Los de fibra capilar son los más utilizados, y están formados por un haz de miles de fibras capilares dentro de un cilindro, de manera que la sangre circula por el interior de los capilares y el líquido de diálisis por fuera. La membrana del dializador puede ser de celulosa (regenerada o modificada) o de origen sintético. El tipo y la superficie de membrana determinan la ultrafiltración, el aclaramiento de solutos y el grado de respuesta biológica del paciente, es decir, la biocompatibilidad. Las membranas sintéticas de alta permeabilidad presentan un mayor tamaño de los poros, lo que aumenta la permeabilidad, especialmente a moléculas de mayor tamaño (500 a 30.000 Dalton). Estas

membranas presentan beneficios a largo plazo, como un mayor aclaramiento de $\beta_2$microglobulina, un mejor perfil lipídico y una mayor biocompatibilidad que las membranas de celulosa (Ojeda López y Martín Malo, 2009).

La sangre del paciente se obtiene a través del acceso vascular a un flujo aproximado entre 300 y 500 ml/min, y se hace circular impulsada por una bomba rotatoria hacia el compartimento sanguíneo del dializador a través de la línea arterial. Por el otro lado de la membrana del dializador circula el líquido de diálisis (obtenido al mezclar agua desionizada ultrapura con el concentrado de solutos, y con una composición final similar a la del plasma) a contracorriente a un flujo entre 500 y 800 ml/min para así lograr el máximo gradiente de concentración. En el compartimento del líquido de diálisis se genera además una presión hidrostática negativa para lograr la ultrafiltración deseada. La sangre, tras pasar por el dializador, es devuelta al paciente por la línea venosa (Ojeda López y Martín Malo, 2009). (Figura 10)

Los monitores de diálisis disponen de una serie de sensores (de presión, aire, conductividad, ultrafiltración, sangre, etc.) que garantizan en todo momento la seguridad del proceso (Ojeda López y Martín Malo, 2009).

Las sesiones de hemodiálisis se suelen hacer en régimen ambulatorio, en un centro de diálisis o en un hospital, aunque con el entrenamiento adecuado, se puede realizar de manera domiciliaria. Suelen durar aproximadamente 4 horas por sesión, tres veces por semana, aunque se puede aumentar su duración y/o frecuencia para lograr una diálisis más fisiológica (Ojeda López y Martín Malo, 2009).

1.7.1.1.4. Acceso vascular

Uno de los aspectos fundamentales de la hemodiálisis crónica es la realización de un acceso vascular para conseguir un flujo sanguíneo suficiente para poder llevar a cabo la diálisis. El acceso vascular de elección es la fístula arterio-venosa para que las venas sean adecuadas para poder ser puncionadas. Es conveniente realizar la fístula con antelación para evitar la colocación de catéteres venosos centrales, dado el riesgo de infección y la menor eficacia de la diálisis con estos últimos. Se anastomosa una arteria con una vena con el fin de desarrollar una red venosa arterializada. Como primera opción

se realiza en el antebrazo, entre la arteria radial y la vena cefálica, aunque si no es posible o falla existen otras posibilidades en extremidades superiores. En ausencia de venas adecuadas, se puede utilizar una prótesis vascular, normalmente de politetrafluoretileno (PTFE), que se implanta anastomosando un extremo a una arteria y el otro a una vena y se deja subcutáneo. Las FAV y las prótesis presentan como complicaciones las trombosis, infecciones y desarrollo de aneurismas (Schulman y Himmelfarb, 2005).

Cuando no se dispone de una FAV o prótesis, se opta por un catéter venoso central (CVC) de doble luz, hasta que se logre un acceso vascular definitivo. Si este no es posible (imposibilidad técnica, a la espera de maduración de FAV o en pacientes con expectativa de vida corta), se procurará obtener un CVC permanente (preferiblemente en vena yugular interna derecha), con tunelización y fijación subcutánea, ya que tienen menor riesgo de infección que los temporales (Soriano Cabrera y Martín Malo, 2009).

1.7.1.1.5. Diálisis adecuada

Se considera diálisis adecuada aquella que sea eficaz y suficiente, que consiga una buena tolerancia, mejore la calidad de vida del paciente y que prolongue la supervivencia. Para monitorizar la dosis de diálisis se emplea el modelo cinético de la urea, al ser un método sencillo, práctico, objetivo e incruento. El índice Kt/V (donde K es el aclaramiento de urea del dializador, t es la duración de la sesión y V el volumen de distribución de la urea en el paciente) y el porcentaje de reducción de la urea (PRU) son los parámetros más utilizados para evaluar si la diálisis es adecuada o no. Las recomendaciones mínimas actuales son un Kt/V de 1.3 y un PRU del 70%. Además, una dosis de diálisis adecuada se ha relacionado con la mejoría de la anemia, el estado nutricional y con la supervivencia del paciente (Maduell Canals y Arias Guillén, 2009).

1.7.1.1.6. Complicaciones

Las complicaciones agudas son aquellas que aparecen durante la sesión de hemodiálisis o en las horas siguientes a la misma, repercutiendo negativamente en la eficacia y tolerancia a la misma. La complicación más frecuente es la hipotensión,

generalmente causada por una excesiva ultrafiltración con disminución excesiva del volumen plasmático. Son también comunes los calambres y la cefalea. Las reacciones de hipersensibilidad a la membrana o al esterilizante son menos frecuentes, así como el síndrome de desequilibrio, debido al descenso rápido de la osmolaridad plasmática por la eliminación de urea, lo que produce un desequilibrio osmótico entre la sangre y el cerebro resultando en un edema cerebral. Pueden darse también arritmias cardiacas (favorecidas por los rápidos cambios de los niveles de electrolitos durante la diálisis), angina, complicaciones hemorrágicas (por la necesidad de anticoagulación en diálisis), y las complicaciones mecánicas y/o iatrogénicas, como la hemólisis y embolia gaseosa. Las complicaciones derivadas del acceso vascular (infección, disfunción o trombosis) son la causa de ingreso hospitalario más común en los pacientes en hemodiálisis (Schulman y Himmelfarb, 2005).

Con respecto a las complicaciones crónicas, la patología cardiovascular (ACV, cardiopatía isquémica, enfermedad vascular periférica, insuficiencia cardiaca, arritmia y muerte súbita) es la principal causa de muerte en los pacientes en hemodiálisis, responsable del 40-50% de fallecimientos (Soriano Cabrera y Martín Malo, 2009). La segunda causa de mortalidad son las infecciones, debido a los defectos de la inmunidad relacionados con la producción de citocinas proinflamatorias, como IL-1, IL-6 y TNFα, ya elevadas en la uremia, y que pueden verse incrementadas en relación con el procedimiento dialítico. Este estado proinflamatorio se ha relacionado también con otras complicaciones como la malnutrición, la anemia, la enfermedad cardiovascular y la mortalidad. La patología osteoarticular incluye la osteodistrofia renal y la amiloidosis asociada diálisis por depósito de $\beta_2$microglobulina. Otras complicaciones incluyen la polineuropatía urémica y una mayor incidencia de hepatitis B o C, entre otras (Álvarez de Lara Sánchez y Aljama García, 2009).

1.7.1.2. Diálisis Peritoneal

El peritoneo constituye la membrana serosa más extensa del organismo. Su principal función es permitir el movimiento de las vísceras abdominales, reducir su fricción y facilitar la llegada a ellas de la circulación arterial, venosa y linfática.

Precisamente, son la membrana peritoneal, la vascularización peritoneal y el drenaje linfático, las estructuras anatómicas que van a jugar el papel principal en el proceso de la diálisis peritoneal (DP). La DP se basa en la capacidad que posee la membrana peritoneal, ricamente vascularizada y con una superficie efectiva de entre 1 y 2 m^2, de permitir el intercambio de solutos y agua entre los capilares peritoneales y la solución de diálisis introducida en la cavidad peritoneal. Los principios físicos en los que se basa son la difusión (con un menor aclaramiento para moléculas pequeñas y mayor para moléculas de mediano tamaño que la hemodiálisis) y la ultrafiltración, que permite la eliminación del exceso de líquido mediante el gradiente osmótico generado por la solución de diálisis (Burkart et al., 2005; Macia, 2005).

1.7.1.2.1. Características Técnicas

El catéter de diálisis peritoneal y las soluciones de diálisis son los elementos necesarios para llevar a cabo esta técnica. El catéter es habitualmente de silicona, con una línea radiopaca en toda su longitud para poder seguir su trayecto en estudio radiológicos, y permite la entrada y salida de la solución de diálisis a la cavidad peritoneal. El extremo interno debe ubicarse en el fondo de saco de Douglas y presenta múltiples orificios por donde fluye y drena el líquido de diálisis. El extremo exterior, previa fijación en la pared abdominal y tras seguir un trayecto subcutáneo, sale a través de la piel en la zona paraumbilical. La parte distal de este extremo se conecta a un prolongador, que permite la conexión segura con las soluciones de diálisis para poder realizar los intercambios mediante un dispositivo. El catéter se puede implantar de forma percutánea, quirúrgica o por laparoscopia (Burkart et al., 2005; Teixido et al., 1999).

La solución de diálisis está constituida por agua, electrolitos, un agente osmótico (habitualmente la glucosa, a diferentes concentraciones) y un tampón. El agente osmótico genera un gradiente de osmolaridad con el capilar sanguíneo peritoneal permitiendo el paso de agua desde los vasos hacia la cavidad peritoneal, para lograr un balance hídrico negativo. La sobrecarga de glucosa, sin embargo puede tener efectos adversos tanto a nivel sistémico como sobre la membrana peritoneal. A parte de favorecer un mal control de la diabetes, desarrollo de dislipemia, hiperinsulinismo y

aumento de peso, en el proceso de esterilización de las soluciones se generan productos de degradación de la glucosa, que a su vez son los precursores de los productos avanzados de glucosilacion. Estos últimos lesionan la membrana peritoneal y comprometen su viabilidad a medio-largo plazo. Por otro lado, a nivel sistémico incrementan el daño oxidativo, ya de por sí elevado en paciente con ERC. Por ello se han desarrollado soluciones exentas de glucosa, utilizando otros agentes osmóticos como la icodextrina y aminoácidos. Como agente tampón se usa el lactato, el bicarbonato o soluciones mixtas (Burkart et al., 2005; Cases et al., 2002).

En estos pacientes la función renal residual es importante y debe monitorizarse periódicamente ya que contribuye de manera notable a la eficacia de la diálisis, permitiendo la eliminación de agua y solutos. Los índices que se utilizan para monitorizar la adecuación del tratamiento son el Kt/V semanal, aclaramiento semanal de creatinina y la ultrafiltración diaria (valores recomendamos de 1,7, 50 litros/,73m^2 y 1 litro/día respectivamente). Es también importante conocer las características de transporte de la membrana peritoneal (que varía de un paciente a otro), mediante el test de equilibrio peritoneal (Burkart et al., 2005; Cases, 2012).

1.7.1.2.2. Modalidades de diálisis peritoneal

Las dos modalidades de diálisis peritoneal que existen son la manual (diálisis peritoneal continua ambulatoria o DPCA) y la automatizada (DPA), realizándose ambas en el domicilio del paciente. En la DPCA el paciente se hace varios intercambios de la solución de diálisis (habitualmente cuatro), con un tiempo de permanencia en la cavidad peritoneal de entre 4 y 8 horas (tiempo necesario para lograr la difusión de toxinas urémicas y del tampón). El paciente debe infundir en cada cambio a través del catéter aproximadamente un volumen de 2 litros de la solución de diálisis a la cavidad abdominal. Tras el tiempo de permanencia, drenará el líquido en la cavidad peritoneal saturado de toxinas urémicas y con un volumen recuperado mayor al infundido, al sumarse el líquido ultrafiltrado por el gradiente osmótico generado. En la DPA los intercambios se realizan de manera automática con un dispositivo denominado cicladora, la cual se encarga de realizar de forma automática la entrada y salida de los volúmenes de la solución de

diálisis durante el periodo de descanso nocturno (de 8 a 9 horas). Aquí los tiempos de permanencia son menores y aunque los volúmenes infundidos son similares, el volumen total es mayor al haber mayor número de intercambios. Ambas técnicas muestran resultados similares, pero la DPA tiene menor número de infecciones y proporciona una mejor calidad de vida al paciente al disponer éste de más tiempo libre (Teixido et al., 1999).

1.7.1.2.3. Ventajas y desventajas frente a la hemodiálisis

La diálisis peritoneal ofrece resultados clínicos similares a la HD, pero con las ventajas de ofrecer al paciente un mayor grado de autonomía, una depuración más lenta y continuada, mayor estabilidad hemodinámica, preservar mejor la función renal residual y no precisar de un acceso vascular ni heparinización. Las ventajas de la diálisis peritoneal son similares a las de la hemodiálisis domiciliaria diaria. Entre las desventajas están el mayor tiempo necesario para realizar la técnica, así como la implicación del paciente y sus familiares (Teixido et al., 1999; Teixido et al., 2009).

1.7.1.2.4. Complicaciones

Las complicaciones infecciosas junto con la disfunción del catéter son las complicaciones más habituales. La peritonitis es la complicación más frecuente, causada habitualmente por una manipulación incorrecta del catéter, siendo también habitual la infección del orificio de inserción. La disfunción del catéter por estreñimiento, posición incorrecta del mismo o atrapamiento por las asas puede dificultar la realización de la técnica. Existen otras complicaciones menos frecuentes como el hemoperitoneo, dolor durante la infusión del líquido de diálisis o alteraciones electrolíticas, así como las relacionadas con aumento de presión en la cavidad abdominal (fugas, hernias abdominales, etc.). Finalmente, con los años se puede observar una esclerosis de la membrana peritoneal que puede imposibilitar la difusión y la ultrafiltración, requiriendo un cambio de técnica a hemodiálisis (Cases, 2012).

1.7.1.3. Tratamiento médico conservador

A pesar de que en los países desarrollados no existe una limitación económica para la entrada en diálisis, no debe considerarse a todos los pacientes con ERC avanzada como candidatos a diálisis. En pacientes de edad avanzada, con patologías multiorgánicas que hagan prever, con razonable certeza, la incapacidad el paciente para soportar el tratamiento con diálisis, o la influencia negativa de este tratamiento sobre la calidad de vida de enfermos con expectativas de supervivencia limitadas, es preferible continuar con un tratamiento conservador de la ERC, y no someter al paciente a sufrimientos innecesarios. No existen pautas o límites de edad que puedan ser aplicados a este proceso de valoración. Cada caso debe ser tratado individualmente, analizando no sólo el contexto clínico, sino también la opinión y actitud vital del paciente, teniendo especial relevancia el deseo de vivir del paciente. Hay que tener también en cuenta sus condiciones sociales y la opinión de sus familiares o allegados. La idoneidad de un paciente como candidato a depuración extrarrenal o a tratamiento conservador de su ERC, no debe ser valorada de forma precipitada, sino sopesada a lo largo del seguimiento del paciente, en la medida de lo posible. Por otro lado, el que un paciente sea candidato a tratamiento conservador de su ERC no debe suponer en ningún caso el abandono de su control por los nefrólogos, siendo imprescindible el ajuste periódico del tratamiento y las medidas paliativas oportunas en cada momento (Praga, 2009b).

1.7.1.4. Trasplante renal

El trasplante renal en menos de 50 años ha pasado de ser un tratamiento experimental de alto riesgo a un tratamiento consolidado con grandes garantías de éxito para la mayor parte de los pacientes con ERC. Actualmente es considerado el tratamiento de elección en los enfermos con insuficiencia renal crónica terminal. No obstante, estos pacientes presentan una elevada mortalidad, principalmente de origen cardiovascular (30-40%), con respecto a la población general (Pilmore et al., 2010). Las principales causas de pérdida de los injertos son la disfunción crónica del injerto (DCI) y la muerte del paciente con injerto funcionante. Asimismo, la mortalidad de origen infeccioso (20-30%) y

tumoral (10-20%) ha aumentado en el contexto de una población de donantes y receptores más envejecida que recibe una potente inmunosupresión. Estos hechos justifican que los excelentes resultados a corto plazo no lleven una trayectoria paralela a medio y largo plazo en muchos casos. La introducción de los nuevos y potentes inmunosupresores ha permitido una excelente tasa de supervivencia de los injertos en el primer año, pero existe controversia a más largo plazo (Magee y Milford, 2005).

Aunque no es el objetivo de este trabajo, decidimos nombrar el trasplante renal, al tratarse de una opción de tratamiento sustitutivo consolidada y que ofrece a los pacientes una importante mejora en su calidad de vida.

1.8. RIESGO CARDIOVASCULAR Y COMPLICACIONES CARDIOVASCULARES EN LA ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA

Como ya se ha comentado anteriormente, el enfermo renal es un paciente extremadamente vulnerable frente a la patología cardiovascular. La prevalencia de los factores de riesgo tradicionales es muy alta en esta población, pero aún así, la extensión y la severidad de las complicaciones cardiovasculares son claramente desproporcionadas al perfil de riesgo que estos proporcionan. Por ello, en los últimos años ha aumentado el interés en los factores de riesgo cardiovascular no tradicionales o emergentes.

En la uremia se producen mayor número de placas de ateroma que progresan más rápidamente y se calcifican con más facilidad que en pacientes no renales. Se ha demostrado que la enfermedad renal es un factor de riesgo independiente para la aterosclerosis carotídea, sugiriendo que la insuficiencia renal per se acelera el proceso aterosclerótico (Ishimura et al., 2001).

El riesgo vascular en los enfermos con ERC tiene importancia incluso desde los estadios iniciales de la enfermedad. El estudio retrospectivo Kaiser Permanent Center evaluó el riego cardiovascular en pacientes con leves descensos del filtrado glomerular. El seguimiento en años posteriores demostró que sólo un 1% de los pacientes llegarían a fases avanzadas de insuficiencia renal pero sin embargo, entre un 19 a un 24% con enfermedad renal leve-moderada moriría de alguna complicación cardiovascular en los siguientes cinco años (Go et al., 2004). En las fases avanzadas de ERC el riesgo

cardiovascular es alarmante; si bien en edades muy avanzadas, entre 85 y 95 años supone un riesgo cinco veces mayor respecto a la población sana, en el rango de edad entre 45 a 54 años es de 65 veces más, y en el grupo de 25 a 35 años llega a ser de hasta 500 veces mayor (Foley et al., 1998b; Parfrey y Harnett, 1994). Visto de otro modo, el riesgo de enfermedad cardiovascular en un enfermo renal con ERC de 30 años es similar al riesgo calculado para población sin ERC entre 70 y 80 años (Foley et al., 1998b). Los pacientes en diálisis tienen una tasa de mortalidad ajustada para la edad 3,5 a 4 veces superior a la de la población general, siendo la patología cardiovascular la principal causa de muerte. La probabilidad de morir de complicaciones cardiovasculares en estos pacientes es entre 10 y 20 veces superior a la de la población general tras ajustar por la edad, raza, sexo o presencia de diabetes, siendo alrededor del 50% de las muertes debidas a complicaciones cardiovasculares (Foley et al., 1998b). La prevalencia aproximada de enfermedad coronaria, hipertrofia ventricular izquierda e insuficiencia cardiaca en pacientes en diálisis es del 40, 75 y 40% comparado con un 5-12, 20 y 5%, respectivamente, en la población general (Foley et al., 1998b). En una cohorte de pacientes en hemodiálisis la incidencia de hospitalización por cardiopatía isquémica (infarto o angina) fue de un 8% anual, mientras que en los pacientes en diálisis peritoneal la aparición de una cardiopatía isquémica de novo era de un 8,8% el primer año y un 15% a los dos años (Lameire, 2000). El riesgo de eventos cardiacos, tales como el infarto de miocardio, en pacientes en tratamiento sustitutivo renal es 6,1 a 7,8 veces superior a la población general, según datos del registro americano (Saran et al., 2015).

La ERC se asocia con una mayor prevalencia de factores de riesgo cardiovascular "clásicos", como son la edad, historia familiar de enfermedad cardiovascular, HTA, diabetes, tabaquismo, hiperlipemia, hipertrofia ventricular izquierda o sedentarismo. Sin embargo estos factores no explican totalmente el extraordinario aumento de morbimortalidad cardiovascular en los pacientes urémicos. Por ello, se ha postulado que factores de riesgo cardiovascular alternativos estarían implicados en este elevado riesgo cardiovascular. Estos pacientes presentan una elevada prevalencia de nuevos factores de riesgo cardiovascular "emergentes" o no tradicionales, como son: niveles elevados de lipoproteína (a) o de homocisteína, un aumento de factores trombogénicos, como el fibrinógeno, un estrés oxidativo aumentado, un estado inflamatorio crónico, etc.

Asimismo, estos pacientes presentan situaciones propias de la insuficiencia renal crónica terminal: la hipervolemia y la consiguiente hipertensión; la anemia, o el estado hiperdinámico inducido por el acceso vascular que aumentan el gasto cardiaco y favorecen el desarrollo de hipertrofia ventricular izquierda; las alteraciones del metabolismo calcio-fósforo e hiperparatiroidismo; la acumulación de productos metabólicos, como los AGEs, o de inhibidores de la síntesis de óxido nítrico, como la dimetilarginina asimétrica (ADMA) o simétrica (SDMA), etc. (Cases, 2002) La interacción de factores de riesgo clásicos y emergentes podrían contribuir a la elevada prevalencia de morbimortalidad cardiovascular en estos pacientes (Figura 12). Sin embargo, y hasta la fecha, la contribución relativa de la mayoría de estos factores de riesgo a la morbimortalidad cardiovascular en pacientes en diálisis no está totalmente esclarecida. (Figura 13)

Figura 12. Enfermedad vascular en la enfermedad renal. Factores fisiopatológicos implicados en las calcificaciones cardiovasculares y aterosclerosis. Adaptado de Nolan (2005).

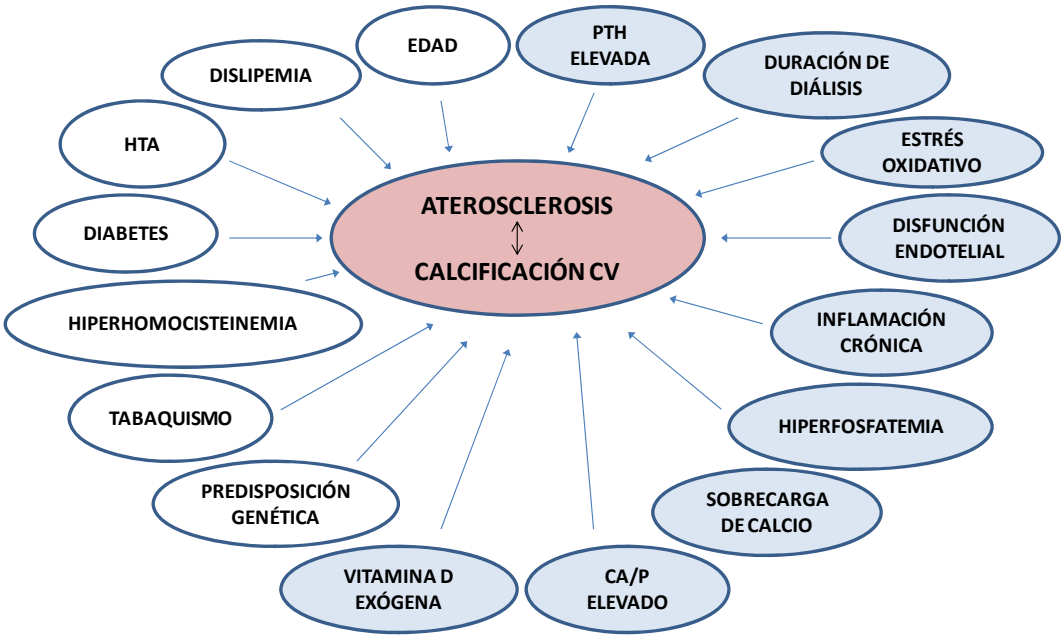
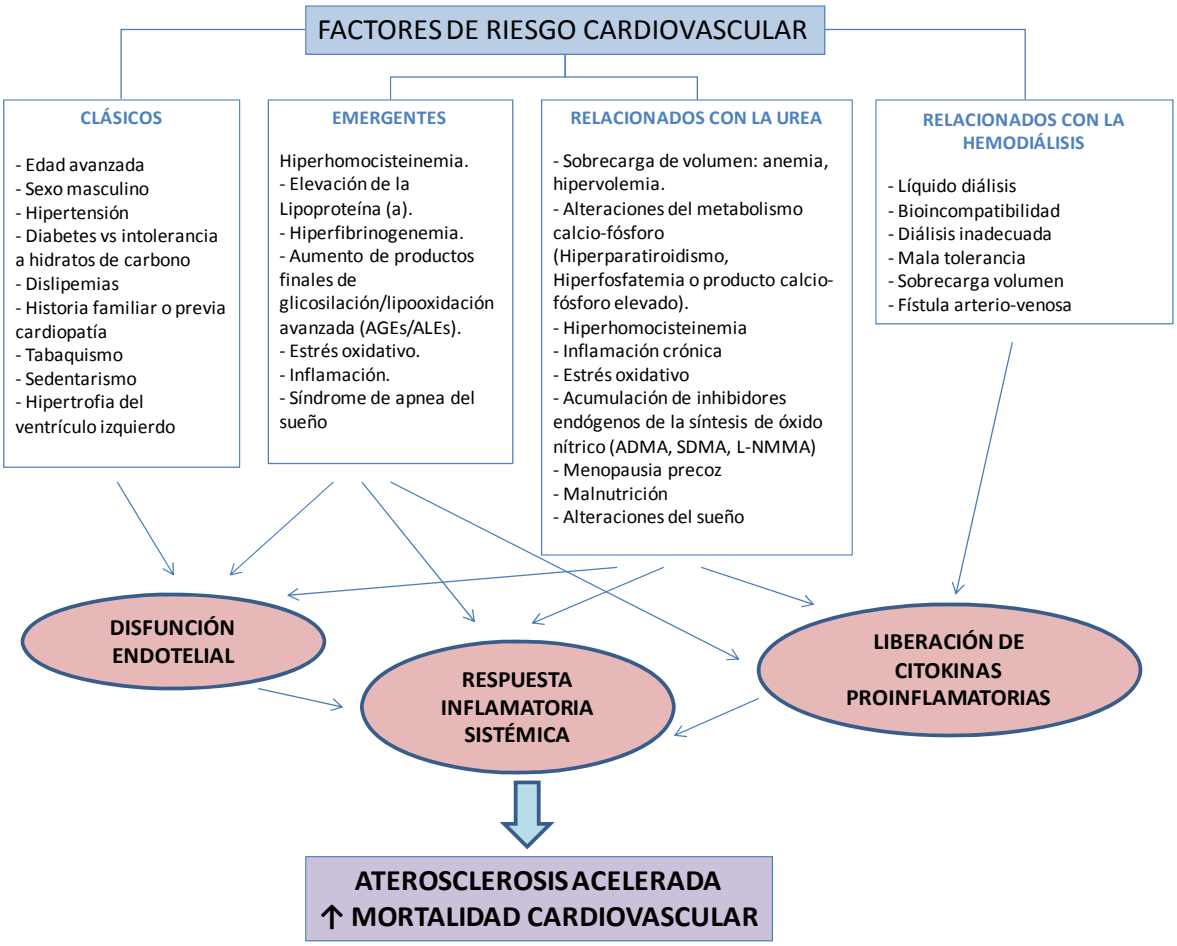


Figura 13. Factores de riesgo para el desarrollo de aterosclerosis en pacientes con ERC avanzada. Adaptado de Vidt (2006).



2. DISFUNCIÓN ENDOTELIAL

2.1. EL ENDOTELIO VASCULAR

2.1.1. Fisiología del endotelio vascular

El endotelio no es tan sólo una barrera anatómica inerte que previene la extravasación de la sangre circulante en la pared vascular, sino que se trata de un órgano metabólicamente activo capaz de mantener la homeostasis vascular. Debido a su localización en la pared vascular, esta capa monocelular de células planas está expuesta

permanentemente a estímulos mecánicos como la fricción ejercida por el flujo sanguíneo y la presión arterial. Las células endoteliales reciben además numerosos estímulos químicos, humorales y celulares, respondiendo a ellos mediante la liberación de numerosos factores vasoactivos (Figura 14). Las células endoteliales actúan, por tanto, como un sistema receptor y emisor de señales, que justifica por qué una hormona o la dinámica sanguínea pueden modificar la función vascular sin tener acceso directo a los componentes de la pared del vaso. El endotelio es considerado actualmente como un auténtico «órgano» de regulación vascular con acciones endocrina, paracrina y autocrina que está implicado en procesos vasoactivos, metabólicos e inmunes (Lahera et al., 2003). (Figura 14)

Las funciones ejercidas por el endotelio son múltiples (Haller, 1997; Jaffe, 1985):

a) Función de barrera selectiva entre los compartimentos extra e intravascular, mediante la permeabilidad selectiva al tamaño y a la carga eléctrica.

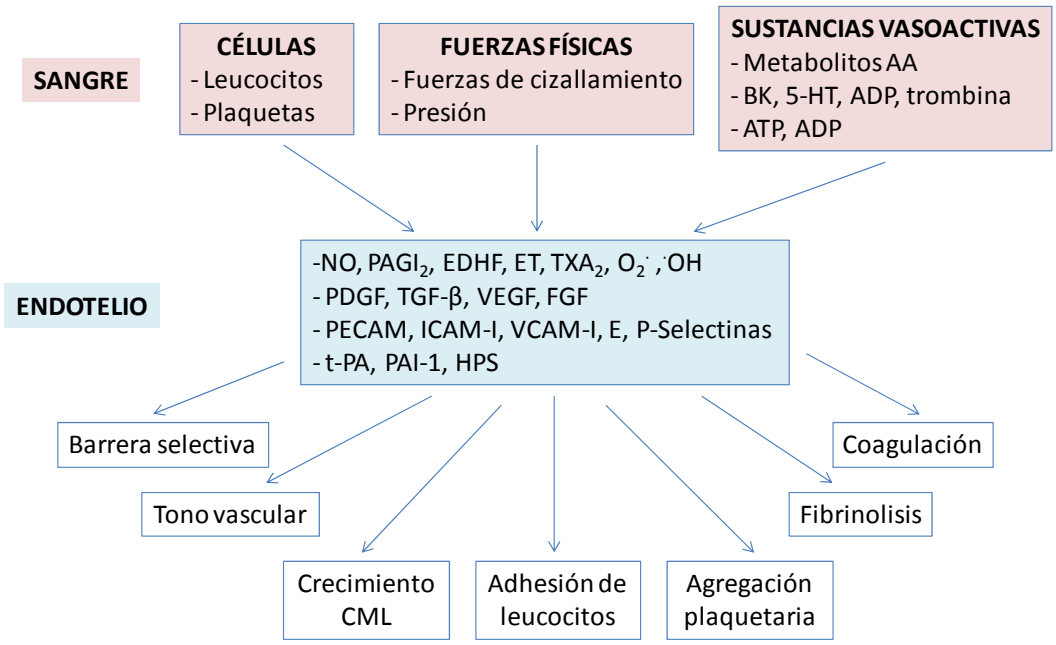
b) Regulación del tono vascular mediante las acciones de factores constrictores y relajantes de las células musculares lisas.

c) Regulación de la proliferación y crecimiento de las células de la pared vascular, mediante las acciones de factores con actividades estimuladoras e inhibidoras del crecimiento.

d) Regulación de los procesos de agregación plaquetaria, coagulación y fibrinólisis.

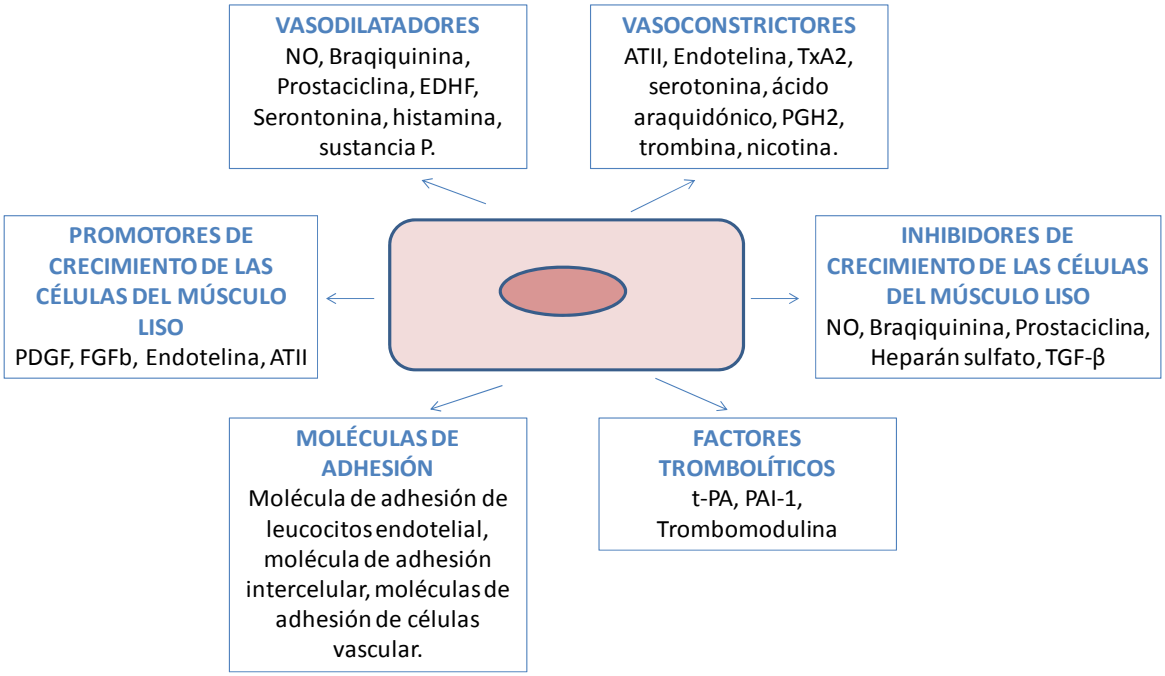
e) Regulación de la adhesión de leucocitos a las células endoteliales.

Figura 14. Endotelio vascular. Factores derivados, funciones e interacciones. Adaptado de Lahera et al. (2003).



Estas funciones se ejercen mediante las acciones ejercidas por numerosos agentes sintetizados y liberados por el endotelio vascular (Haller, 1997; Jaffe, 1985) como el óxido nítrico (NO), el factor hiperpolarizante (EDHF), la prostaciclina, (PGI2) la endotelina-1 (ET-1), el tromboxano A2 (TXA2), las especies reactivas del oxígeno como los aniones superóxido e hidroxilo y el peróxido de hidrógeno, los factores estimuladores del crecimiento (PDGF, VEGF, TGF, etc.), moléculas de adhesión de leucocitos (ICAM-1, VCAM-1), factores que intervienen en la coagulación como el factor tisular, la tromboplastina, factores reguladores de la fibrinolisis (t-PA y PAI-1) y otros (Drexler, 1998). (Figura 15)

Figura 15. Sustancias liberadas por el endotelio. Adaptado de Drexler (1998).



2.1.1.1. Control del tono vascular

El endotelio regula el tono vascular mediante la liberación de distintos agentes vasoactivos. El óxido nítrico (NO), sintetizado a nivel de la célula endotelial, constituye uno de los factores vasodilatadores más estudiados en los últimos años y más importantes en este aspecto, por lo que le dedicaremos un apartado más adelante (ver sección óxido nítrico y función endotelial).

Además del NO, la célula endotelial produce otros agentes vasodilatadores, tales como el factor hiperpolarizante dependiente de endotelio (EDHF), que abre los canales de K+ (Cines et al., 1998), el péptido natriurético atrial tipo C (Chen y Burnett, Jr., 1998), la adrenomedulina (Cases y Mora-Maciá, 2001), o la prostaciclina (Cines et al., 1998) (PGI2). Esta última es sintetizada a nivel de la célula endotelial a partir del ácido araquidónico y tiene un papel en la relajación de las células musculares lisas e inhibición de la agregación plaquetaria aumentando la producción de AMP cíclico (Moncada y Vane, 1978).

Los mediadores endoteliales que participan en la vasoconstricción son: la angiotensina II, la endotelina, productos derivados del metabolismo del ácido araquidónico (tromboxano A2 o endoperóxidos), o los radicales libres de oxígeno. La angiotensina II se produce localmente mediante la participación de la enzima convertidora de la angiotensina I que se encuentra expresada en la superficie de las células endoteliales (Adam y Raij, 2000). La angiotensina II a través de la activación de los receptores AT1 induce vasoconstricción, favorece la proliferación celular, induce fenómenos de inflamación y un estado protrombótico (Adam y Raij, 2000). Por otro lado, la endotelina es el vasoconstrictor más potente sintetizado por la célula endotelial, actúa induciendo la vasoconstricción de la fibra muscular lisa vascular a través del receptor ETA (receptor de la endotelina A) de forma autocrina/paracrina (Yanagisawa et al., 1988). Estudios utilizando antagonistas de endotelina han demostrado que la producción basal de endotelina contribuye al tono vascular basal en el hombre. Además, este péptido favorece la proliferación de la fibra muscular lisa vascular (Yanagisawa et al., 1988). Así pues el endotelio vascular regula el tono vascular a través de la producción de sustancias vasodilatadoras y vasconstrictoras, de las que las más importantes son el óxido nítrico, la angiotensina II y la endotelina.

2.1.1.2. Regulación de la proliferación de la fibra muscular lisa vascular

En presencia de un endotelio normal, la fibra muscular lisa vascular permanece en un estado estable, pero cuando desaparece el endotelio existe una proliferación de la fibra muscular lisa vascular para formar una neoíntima. La célula endotelial produce una serie de sustancias que inhiben la proliferación de la fibra muscular lisa vascular, como la heparina, heparán sulfato, el NO o el TGFβ. Pero también puede producir varios factores que favorecen su crecimiento, como la angiotensina II, endotelina o factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF). Cuando el endotelio se activa se rompe el balance a favor de los factores que promueven la disfunción endotelial (Cines et al., 1998).

2.1.1.3. Regulación de la hemostasia

El endotelio vascular ejerce también un papel importante en la regulación de la hemostasia. La integridad tanto funcional como estructural del endotelio es fundamental para el mantenimiento del equilibrio entre los mecanismos de coagulación y los de fibrinólisis. Las células endoteliales proporcionan una superficie no trombogénica, debido en parte a la expresión de glicosaminoglicanos, que inactivan el factor X y la trombina. La trombomodulina que se liga a la trombina, la producción del factor inhibidor de la vía del factor tisular (TFPI), o de factor activador del plasminógeno (t-PA), que activa la fibrinólisis, participan también en esta labor. Sin embargo, en determinadas circunstancias el endotelio puede favorecer la trombosis mediante la expresión de factor tisular que acelera la activación de factor X dependiente de FVIIa o la producción del inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1 (PAI-1), que inhibe la fibrinolisis. El NO y prostaciclina inhiben también la agregación plaquetaria. Por el contrario, la angiotensina II favorece la trombosis al aumentar la liberación de PAI-1 o la expresión de factor tisular. El tromboxano A2 a su vez tiene un efecto proagregante plaquetario. Alteraciones como las que ocurren en zonas de inflamación o por un estrés de cizallamiento elevado rompen el equilibrio e inducen a las células endoteliales a crear un ambiente protrombótico y antifibrinolítico (Cines et al., 1998; Pearson, 1993).

2.1.1.4. Control de la permeabilidad y la inflamación

El endotelio vascular es también el responsable de controlar el paso de agua, solutos, lípidos y células sanguíneas del espacio vascular hacia los tejidos. La permeabilidad selectiva del endotelio es regulada por proteínas de las uniones intercelulares, receptores endocíticos y el glicocáliz de la superficie celular. La regulación del tamaño de los poros intercelulares a través del sistema de filamentos de actina asociados a la unión (JAF) por diversos factores permite el control del paso desde el espacio vascular (Cines et al., 1998). En este aspecto, la célula endotelial tiene un papel importante en la regulación de los fenómenos inflamatorios. Cuando existe activación endotelial se produce un aumento de la expresión de selectinas (E-selectina), moléculas

de adhesión intracelular (ICAM) y de moléculas de adhesión vascular (VCAM). Estas moléculas actuarían como puntos de anclaje de los leucocitos y plaquetas que participan en los procesos inflamatorios, y permiten el paso de monocitos hacia el espacio subendotelial que formarán las células espumosas, iniciando la formación de la placa de ateroma. Además, el endotelio produce quimoquinas/activadores, como la IL-8, MCP- 1, o el factor activante plaquetario (PAF), expresado en la superficie de la célula endotelial, que se une y activa los receptores leucocitarios y actúa con las selectinas para favorecer la adhesión leucocitaria (Cines et al., 1998). El NO tiene un efecto inhibidor sobre la expresión de moléculas de adhesión de leucocitos al endotelio, inhibiendo la quimiotaxis de los monocitos hacia el espacio subendotelial, la permeabilidad microvascular o la producción de matriz subendotelial. Por el contrario, la angiotensina II tiene efectos opuestos al NO (Cines et al., 1998).

2.1.2. Óxido nítrico y función endotelial

En 1980, un factor relajante derivado del endotelio (EDRF) era propuesto como el mediador responsable de la relajación del músculo liso vascular causada por acetilcolina, un proceso que requería un endotelio intacto (Furchgott y Zawadzki, 1980). Posteriormente se demostró que el EDRF era farmacológicamente idéntico al óxido nítrico (NO) y que su acción vasodilatadora estaba mediada por el incremento de la concentración de cGMP, y reducción consiguiente del calcio intracelular, tras su estimulación por la guanilato ciclasa (Moncada et al., 1988a; Moncada et al., 1988b).

El óxido nítrico es un radical libre ($^{\cdot}$NO), un derivado gaseoso e inestable del nitrógeno con un número impar de electrones que le confiere una extraordinaria reactividad química. Es un compuesto extremadamente lábil, de vida efímera (2-30 segundos) (Lowenstein et al., 1994) y con una alta afinidad por la hemoglobina que lo inactiva e inhibe sus efectos. Como consecuencia de su reacción con oxígeno y agua se convierte en nitrato y nitrito, los productos finales estables de excreción del NO en el organismo (Anggard, 1994). Es sintetizado, dependiendo de las necesidades fisiológicas, a partir de uno de los nitrógenos del grupo guanidino terminal de la L-arginina mediante una compleja reacción oxidativa catalizada por una familia de isoenzimas denominadas

genéricamente óxido nítrico sintasas (NOS). Existen al menos tres isoformas diferentes de NOS. Todas requieren oxígeno molecular, NADPH, FAD, FMN y tetrahidrobiopterina (BH4) como cofactores. Las NOS endotelial (eNOS) y neuronal (nNOS) son constitutivas, calcio/calmodulina dependientes, y generan pequeñas cantidades de NO con funciones fisiológicas diversas. Una tercera isoforma (iNOS) es calcio/calmodulina independiente y está implicada en la producción de grandes cantidades de NO durante periodos prolongados siendo un mediador esencial en la defensa del organismo. La actividad de las iNOS es regulada por control transcripcional actuando como señales inductoras ciertas citoquinas (interferon-γ, TNFα, IL-1) o sustancias proinflamatorias de origen bacteriano (LPS) (Moncada et al., 1988a; Moncada et al., 1988b).

Las tres isoformas han sido purificadas, secuenciadas, clonadas y expresadas, y todas ellas son inhibidas por análogos competitivos de la L-arginina (Moncada y Higgs, 1993; Singh y Evans, 1997).

El óxido nítrico (NO), sintetizado a nivel de la célula endotelial, constituye uno de los factores vasodilatadores más estudiados en los últimos años. Es producido por la transformación de la L-arginina a L-citrulina mediante la participación de la NO sintasa. La isoforma que se encuentra a nivel de las células endoteliales es la tipo III (eNOS), que se expresa de forma constitutiva, y se activa en respuesta a estímulos mecánicos —fuerza de rozamiento—, a través de receptores específicos (p.ej.: acetilcolina) o tras estimulación de canales de calcio. La NOS precisa un cofactor, la tetrahidrobiopterina (BH4), que es esencial para conseguir un flujo adecuado de electrones para oxidar la L-arginina, por lo que la producción endotelial de NO precisa de concentraciones adecuadas de este agente. Además, las citoquinas pueden estimular la forma inducible de la NO sintasa (iNOS). El óxido nítrico producido por las células endoteliales alcanza las células musculares lisas de la capa subyacente, donde, a través de la activación de la guanilatociclasa soluble aumenta los niveles de GMP cíclico intracelulares, lo que conlleva una relajación de las células musculares y vasodilatación. El NO también inhibe la adhesión, activación y secreción plaquetarias, la adhesión de leucocitos al subendotelio y la expresión de moléculas de adhesión, así como la migración y proliferación de la fibra muscular lisa vascular, entre otros efectos (Cines et al., 1998).

2.2. DISFUNCIÓN ENDOTELIAL

Bajo condiciones normales existe un equilibrio entre los factores producidos por el endotelio, lo que implica un equilibrio entre la contracción y la relajación de la musculatura de los vasos, así como de los procesos de coagulación y de proliferación celular. Sin embargo, la edad, los factores de riesgo cardiovascular y diversos procesos patológicos, entre los que se encuentran la HTA, la diabetes y la hipercolesterolemia pueden alterar la compleja función endotelial (Gonzalez, 1997). Esta situación, denominada disfunción endotelial, contribuye fuertemente a la enfermedad vascular y en su prevención y/o corrección se perfilan los futuros tratamientos de las enfermedades vasculares (Gonzalez, 1997).

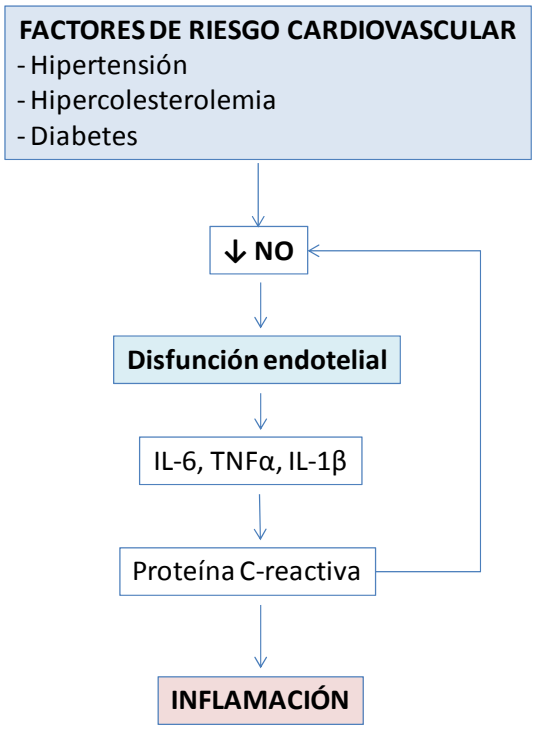
El equilibrio fisiológico entre agentes vasodilatadores y vasoconstrictores depende de la integridad funcional del endotelio. Sin embargo, la función endotelial se deteriora con el tiempo. La continua influencia de la presión tangencial, el estrés oxidativo y los numerosos factores de riesgo cardiovascular aceleran el envejecimiento de las células endoteliales y afectan su proceso de regeneración. A medida que se incrementa el número de células endoteliales regeneradas disminuye la capacidad endotelial de impedir la agregación plaquetaria y la formación de trombina, además de fracasar en el control del tono vascular (Gonzalez, 1997).

Aunque en la actualidad el término de disfunción endotelial se identifica con cambios en la función vasomotora caracterizada por una reducción en la relajación dependiente de endotelio, la disfunción endotelial en realidad traduce una serie de alteraciones que afectan a una o varias funciones vasculares reguladas por los agentes liberados por las células endoteliales (Cannon, III, 1998). Como resultado de estas modificaciones, la pared vascular promueve la inflamación, la oxidación de lipoproteínas, la proliferación de células de músculo liso, el depósito de matriz extracelular, la activación de plaquetas y la formación del trombo (Liao, 1998). A través de estos procesos, la disfunción endotelial favorece las complicaciones cardiovasculares de la hipertensión existente, acelera la progresión de la aterosclerosis, el fallo renal, la enfermedad cerebrovascular y puede desencadenar isquemia cardiaca aguda y accidentes cerebrovasculares (Gonzalez, 1997).

2.2.1. Disfunción endotelial e inflamación

El mecanismo de unión entre el proceso inflamatorio y disfunción endotelial no está del todo claro, aunque recientemente se ha observado que alguno de los marcadores de inflamación, especialmente la PCR, puede favorecer el desarrollo de la disfunción endotelial al participar en alguno de los mecanismos responsables de las alteraciones de la misma. Como ya se ha comentado, el principal factor que subyace en la disfunción endotelial es una reducción de la biodisponibilidad de NO (Schiffrin, 2002), tanto por una menor producción como por una mayor degradación del mismo debido a un aumento de radicales libres (Munzel et al., 1997). La PCR puede participar en el desarrollo de la disfunción endotelial disminuyendo la producción y por tanto la disponibilidad de NO (reduciendo la expresión de la óxido nítrico sintasa endotelial, eNOS), y aumentado la producción de la endotelina, la cual es un potente agente vasoconstrictor (Verma et al., 2002). Esta relación entre disfunción endotelial e inflamación podría explicar el hecho de que la disfunción endotelial es un predictor de futuros eventos cardiovasculares, como el infarto de miocardio y la insuficiencia cardiaca (Schachinger et al., 2000; Suwaidi et al., 2000), la diabetes, la obesidad y la inflamación subclínica (Meigs et al., 2004). Es importante mencionar que la disfunción endotelial no sólo favorece el proceso inflamatorio, sino que también la respuesta inflamatoria está asociada a alteraciones funcionales del endotelio (Cachofeiro et al., 2004). (Figura 16)

Figura 16. Relación entre la disfunción endotelial asociada a diferentes factores de riesgo cardiovascular y la inflamación. Adaptado de Cachofeiro et al. (2004).



2.2.2. Disfunción endotelial y estrés oxidativo

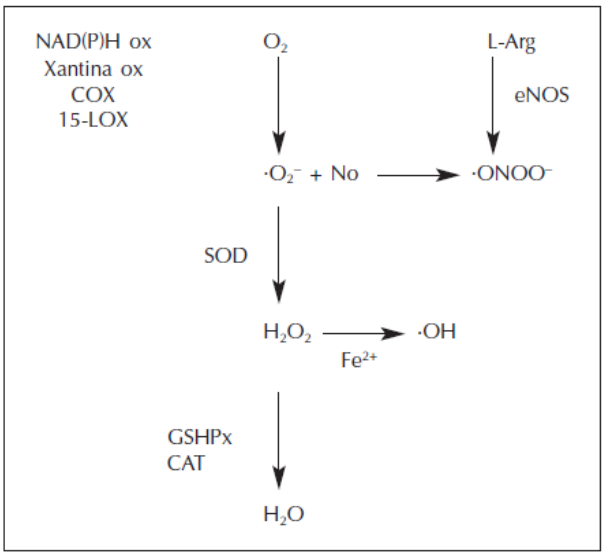
El estrés oxidativo, definido como un desequilibrio entre la producción de radicales libres y las defensas antioxidantes en favor de los primeros, está implicado en numerosos procesos fisiopatológicos (Drexler, 1998) ya que afecta la regulación del flujo sanguíneo, la inhibición de la agregación plaquetaria y de la adhesión leucocitaria y el control del crecimiento celular (Alexander, 1995; Harrison, 1997). La disregulación de estos procesos, como ya hemos comentado, está relacionada con la disfunción endotelial que media la enfermedad vascular asociada a la hipertensión, diabetes, arteriosclerosis, hipercolesterolemia, shock séptico y síndrome de distrés respiratorio del adulto (Davies et al., 1995; Sinclair et al., 1994). (Figura 18)

Los radicales libres son una consecuencia inevitable del metabolismo celular. Son entidades químicas (normalmente fragmentos de moléculas) con electrones desapareados que les confieren una extraordinaria reactividad. En los radicales libres

derivados del oxígeno (ROS) el electrón no apareado se sitúa sobre el átomo de oxígeno (McIntyre et al., 1999). Entre los radicales libres mejor estudiados se encuentra el radical hidroxilo ($^{\cdot}OH$), el más potente de los oxidantes conocidos. De vida extremadamente corta y elevada reactividad, el radical hidroxilo reacciona en su lugar de formación con la mayoría de las moléculas biológicas mediando la propagación de reacciones en cadena. El anión superóxido ($^{\cdot}O_2^-$) no es en sí particularmente reactivo aunque puede actuar como oxidante débil o como agente reductor relativamente potente de complejos de hierro como el citocromo c. Su importancia fundamental radica en ser fuente de radicales hidroxilo y peróxido de hidrógeno, otra especie oxidante aunque sin estructura de radical (Betteridge, 2000; McIntyre et al., 1999). (Figura 17) El ejemplo princeps de radical libre es el óxido nítrico ($^{\cdot}NO$), un ejemplo de radical fisiológico de gran interés, del que ya se ha hablado ampliamente en este trabajo.

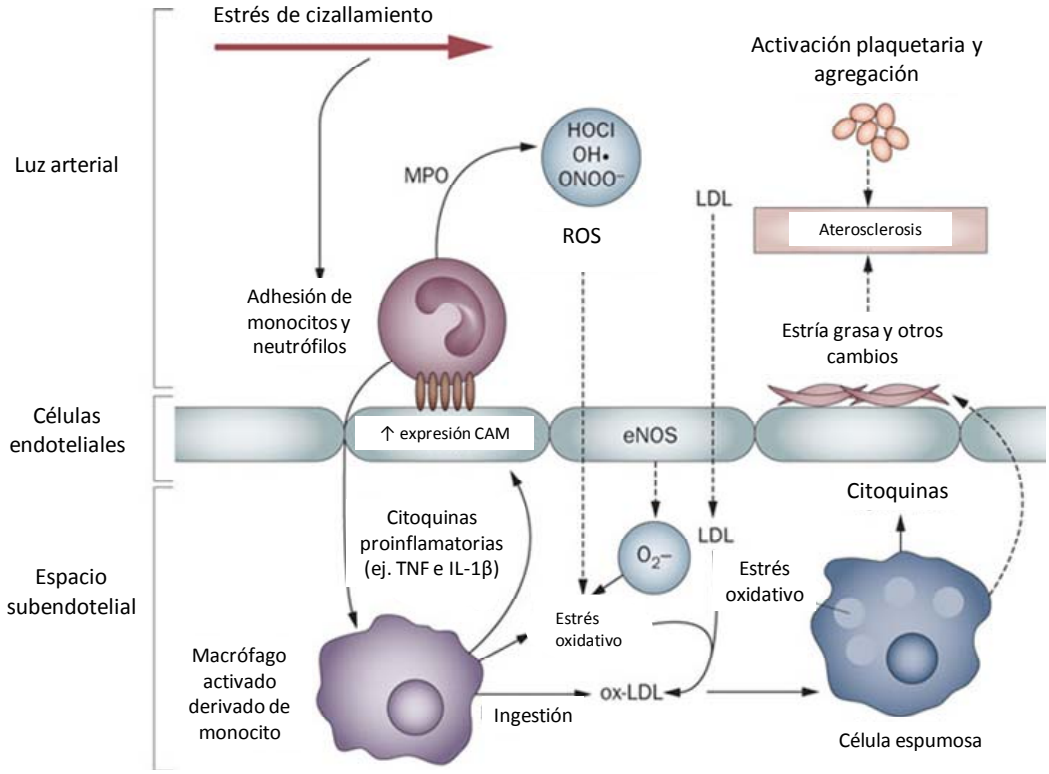
Las células endoteliales así como otros componentes de la pared vascular, producen numerosas especies reactivas de oxígeno (ROS) como los aniones superóxido ($^{\cdot}O2^-$) a través del metabolismo oxidativo en las mitocondrias, o de diversas actividades enzimáticas como las oxidasas dependientes de NADH/NADPH, la xantina oxidasa, las ciclooxigenasas 1 y 2, la citocromo P450 reductasa, y otras (Munzel et al., 1997). Los aniones $^{\cdot}O2^-$ son radicales libres con un electrón desapareado en su última órbita y tienen una gran capacidad para unirse al NO, formando el anión peroxinitrito (Figura 17). Los peroxinitritos carecen de la actividad relajante del NO sobre el músculo liso y participan en procesos de daño celular (nitrosación de proteínas, peroxidación lipídica, alteraciones de los ácidos nucleicos y de la expresión génica) (Beckman et al., 1990).

Figura 17. Especies reactivas de oxígeno y óxido nítrico (NO). Adaptado de Lahera et al. (2003)



La toxicidad potencial de los radicales libres ha llevado a los organismos a desarrollar mecanismos defensivos contra ellos (Frei, 1999), las denominadas defensas antioxidantes. Antioxidante se define como cualquier sustancia que estando presente a bajas concentraciones, en relación a las del sustrato oxidable, retrasa considerablemente o inhibe la oxidación de dicho sustrato. Los sistemas defensivos contra la acción pro-oxidante de los intermediarios reactivos del oxígeno (ROS) incluyen varios grupos de moléculas y mecanismos diferentes que contribuyen al unísono a mantener el frente antioxidante celular. El sistema intracelular más efectivo es la triada enzimática formada por la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa y la glutation peroxidasa (GPx) responsables de la dismutación del radical $O2^{\cdot -}$ a H_2O_2 y de la reducción de éste y de otros peróxidos, respectivamente, a especies más estables (Lahera et al., 2003). (Figura 18)

Figura 18. Disfunción endotelial y estrés oxidativo en la patogenia de la aterosclerosis. Adaptado de Mok y Lau (2010).

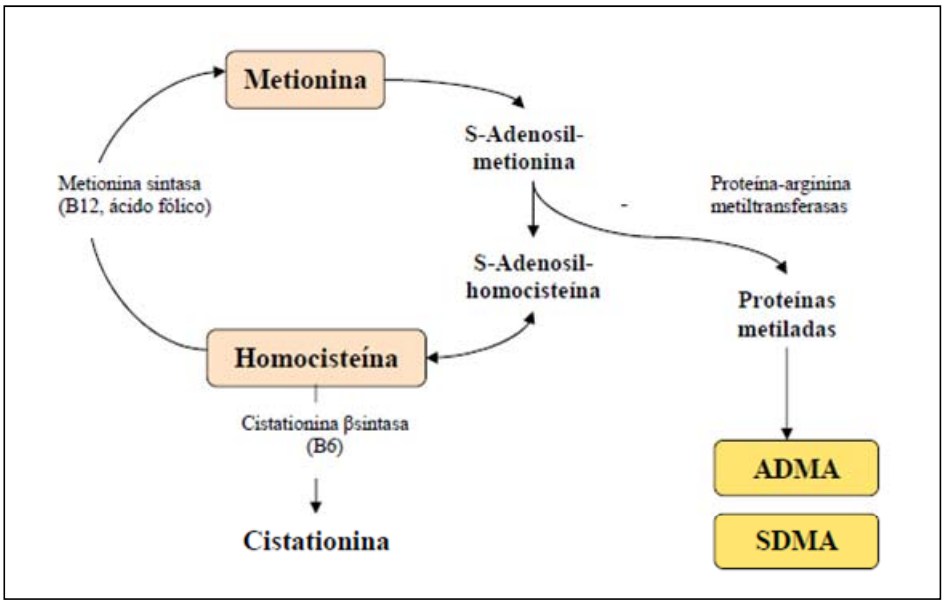


2.2.3. Disfunción endotelial, estrés oxidativo y uremia

La disfunción endotelial descrita en la uremia podría deberse a la frecuente presencia de factores que alteran la función endotelial como la hipertensión arterial, la hiperlipemia, la diabetes o el tabaquismo, aunque otros factores podrían estar también implicados (De, 2000). La hiperhomocisteinemia, frecuente en estos pacientes, se ha asociado con aumento de patología cardiovascular en la población general. Los mecanismos por los que la homocisteína afecta la función vascular incluyen la disminución de la biodisponibilidad de óxido nítrico, aumento del estrés oxidativo, aumento de la proliferación de la fibra muscular lisa vascular o la alteración de las propiedades elásticas de la pared vascular, así como la disminución de la S-adenosil metionina que se asocia con hipometilación global (Van y Stehouwer, 2000). Sin embargo, aunque la administración de suplementos de ácido fólico y vitamina reducen los niveles

plasmáticos de homocisteína en estos pacientes, ello no se asocia con una mejora de la disfunción endotelial (Thambyrajah et al., 2000; Van et al., 1998a; Van et al., 1998b). (Figura 19)

Figura 19. Vías que unen la desmetilación de metionina para formar homocisteína y argininas metiladas. Adaptado de Boger y cols. (1996).



Los pacientes urémicos presentan con frecuencia una resistencia a la insulina (Hager, 1989). Estudios en la población general indican que la vasodilatación dependiente de endotelio se correlaciona con la sensibilidad a la misma en sujetos normales y pacientes diabéticos tipo 2 (Avogaro et al., 1997; Fossum et al., 1998). Ello sugiere que la resistencia a la insulina y la hiperinsulinemia favorecen la disfunción endotelial. Los mecanismos por los cuales la hiperinsulinemia altera la función endotelial son desconocidos, pero se ha demostrado que la insulina produce endotelina 1 (Hu et al., 1993) y que es un factor facilitador de la activación del factor de transcripción NF-κB (Schmidt y Stern, 2000). Además, en la hiperinsulinemia existe una resistencia del territorio vascular a la activación de la síntesis de NO o de la Na-K-ATPasa, probablemente secundario a la activación de la protein kinasa C (Kirpichnikov y Sowers, 2001).

La síntesis de NO por la NO sintasa puede ser inhibida de forma competitiva por análogos endógenos de la L-arginina, como L-NMMA, ADMA, SDMA u otros metabolitos que se acumulan en presencia de insuficiencia renal (Fleck et al., 2001; Sorrentino et al., 1993; Vallance et al., 1992a). La acumulación de los mismos en la insuficiencia renal podría pues jugar un papel en la disfunción endotelial presente en la uremia. En este sentido los pacientes urémicos con aterosclerosis presentan unos niveles de ADMA superiores a los pacientes sin aterosclerosis (Kielstein et al., 2001), aunque el papel patogénico de estos inhibidores endógenos de la NO sintasa en la disfunción endotelial en la uremia precisa ser confirmado. Sin embargo, los estudios in vitro sugieren que los factores circulantes no son enteramente responsables de la disfunción endotelial en la uremia (Morris et al., 2001).

Los pacientes urémicos presentan un estrés oxidativo aumentado. La LDL-oxidada altera la vasodilatación endotelio-dependiente en animales de experimentación, y altera el metabolismo de NO inhibiendo su formación y sus acciones. Asimismo aumenta la liberación de endotelina y de moléculas de adhesión solubles en células endoteliales en cultivo, favorece su apoptosis, y favorece un estado protrombogénico. Además, la LDL-oxidada y su derivado peróxido lisofosfatidilcolina estimulan la proteinkinasa C, el turn-over de fosfoinositoles y el aumento de calcio intracelular (Wanner y Quaschning, 2001).

Los radicales libres de oxígeno favorecen la formación de AGEs. Los radicales libres alteran la biosíntesis de BH4 vía depleción de NADPH, inhibiendo su reciclado y a través de la formación de peroxinitrito favoreciendo su oxidación a dihidrobiopterina. El déficit de BH4 induce desacoplamiento de la NOS, lo que conduce a que la NOS produzca aniones superóxido en lugar de NO (Xia et al., 1998). Algunos estudios indican también que el anión superóxido inhibe la actividad de la guanilatociclasa soluble, lo que explicaría la resistencia vascular a la acción de NO (Mulsch et al., 1997). Por otro lado, productos derivados de la oxidación de proteínas estarían implicados en el desarrollo de fenómenos inflamatorios (Descamps-Latscha y Witko-Sarsat, 2001). Finalmente la generación de radicales libres media la apoptosis de varias líneas celulares, entre ellas las células endoteliales.

Los AGEs quelan el NO y aumentan la susceptibilidad de la LDL a ser oxidada. Además, la activación de su receptor (RAGE) activa la generación de radicales libres de

oxígeno, aumenta la traslocación del factor nuclear NF-κB, aumenta la expresión de genes proinflamatorios, la expresión de moléculas de adhesión, de la permeabilidad endotelial y de la generación de factor tisular (Wautier et al., 2001).

El estado microinflamatorio crónico presente en los pacientes urémicos podría contribuir a la disfunción endotelial (Schomig et al., 2000). La disfunción endotelial es un hallazgo constante en situaciones de inflamación. La respuesta inflamatoria está orquestada por citoquinas tales como IL-1 o TNF-α que inducen la producción de radicales libres de oxígeno en células endoteliales y estimulan el factor de transcripción NF-κB aumentando la transcripción de moléculas de adhesión como VCAM-1 (Cines et al., 1998). Existe una relación entre vasodilatación endotelio-dependiente y marcadores de inflamación en pacientes urémicos, sugiriendo el papel patogénico de la inflamación en la disfunción endotelial asociada a la uremia (Bolton et al., 2001).

Respecto a la técnica de tratamiento sustitutivo parece que la hemodiálisis con membranas celulósicas agrava la disfunción endotelial de forma aguda (Miyazaki et al., 2000), efecto atribuido al estrés oxidativo generado durante la técnica (Descamps-Latscha et al., 2001), aunque por otra parte no parecen existir diferencias en cuanto a la función endotelial entre pacientes en hemodiálisis y pacientes en diálisis peritoneal (Kennedy et al., 2001).

Estudios en animales de experimentación sugieren que el tratamiento con eritropoyetina recombinante altera la función endotelial (Noguchi et al., 2001). Mientras que estudios in vitro indican que la rhuEPO reduce la expresión de eNOS en células endoteliales (Wang y Vaziri, 1999). Aunque no hay estudios que demuestran el efecto crónico del tratamiento en pacientes urémicos existen discrepancias sobre si el tratamiento con rhuEPO aumenta o no los niveles de diversos marcadores de disfunción endotelial en estos pacientes (Aguilera et al., 1999; Borawski et al., 2001a; Borawski et al., 2001b).

Finalmente, existe una relación entre vasodilatación endotelio-dependiente y los parámetros de remodelado cardiovascular en pacientes urémicos, sugiriendo que la disfunción endotelial estaría implicada en el remodelado cardiovascular (arteriosclerosis, hipertrofia ventricular izquierda) urémico (Pannier et al., 2000).

2.2.4. Disfunción endotelial, estrés oxidativo e hipertensión arterial

La hipertensión se acompaña de un aumento del estrés hemodinámico que puede llegar a producir cambios en la estructura y en la función del endotelio (Mombouli y Vanhoutte, 1999). Se han descrito dos tipos de fuerzas físicas que actúan sobre las células endoteliales vasculares y que aumentan su magnitud en la hipertensión (Davies, 1995; Prewitt, 1999): 1) la fuerza circunferencial, que depende de la presión de la sangre en el interior del vaso, del radio de éste y del grosor de la pared, y produce una deformación por estiramiento de las células endoteliales, y 2) la fuerza tangencial, que depende de factores como la viscosidad de la sangre, la velocidad de flujo sanguíneo y el radio del vaso, y produce una deformación tangencial de las células endoteliales. A medida que las cifras de presión arterial son más elevadas, las mencionadas fuerzas son mayores y la capacidad para deformar el citoesqueleto de las células endoteliales aumenta. Sin embargo dicha deformación no sólo tiene consecuencias estructurales, sino que se traduce en alteraciones de la maquinaria génica de las células (Topper y Gimbrone, Jr., 1999). Es decir, la modificación de las condiciones hemodinámicas pueden llegar a modificar la síntesis y liberación de numerosos factores producidos por las células endoteliales. Se ha descrito que el aumento de la fuerza circunferencial aumenta la expresión de los genes de pre-pro-ET, NAD(P)H oxidasa, xantina oxidasa, moléculas de adhesión de monocitos como ICAM-1, moléculas quimiotácticas de monocitos (MCP-1) y del inhibidor del activador del plasminógeno tisular (PAI-1). El aumento de la fuerza tangencial produce un aumento de la expresión de la eNOS, de la ciclooxigenasa 2, de factores de crecimiento como TGF beta y PDGF, de genes que regulan el crecimiento rápido como c-fos y c-jun, factores de transcripción nuclear como NFκB y AP-1, así como ICAM-1 y MCP-1 (Topper y Gimbrone, Jr., 1999).

La disfunción endotelial asociada a la hipertensión no es homogénea en sus características y su distribución, sino que varía en función del mecanismo responsable de la elevación de los niveles de presión arterial, así como con el lecho vascular que se considere. Asimismo, los mecanismos que subyacen a las alteraciones de la función endotelial pueden ser múltiples e incluyen cambios en la síntesis, liberación, difusión o

degradación de los diversos factores derivados del endotelio (Lahera et al., 2003; Cachofeiro et al., 2004).

En la hipertensión se produce una alteración de la disponibilidad del NO, más que una reducción en la respuesta de las células del músculo liso al NO, así como una menor vasoconstricción producida por el inhibidor de la eNOS, L-NMMA, que los sujetos normotensos, indicando que en la hipertensión existe una alteración en la producción de NO tanto basal como estimulada (Calver et al., 1992).

Cabe preguntarse si la disfunción endotelial es causa o consecuencia de la hipertensión. En la hipertensión secundaria como la asociada al hiperaldosteronismo primario o a una estenosis de la arteria renal, la alteración de la función endotelial parece ser consecuencia del aumento de los niveles de presión arterial ya que cuando se corrige el problema que originó la hipertensión y, por lo tanto, se normalizan los niveles de presión arterial, se restaura la vasodilatación dependiente de endotelio (Taddei et al., 1993). En el caso de la hipertensión esencial la situación no es tan clara como en la hipertensión secundaria. Los individuos normotensos hijos de padres hipertensos, presentan una respuesta a la acetilcolina alterada incluso en presencia de niveles normales de presión arterial, indicando que la alteración de la función endotelial podría ser un fenómeno previo al desarrollo de la hipertensión (Taddei et al., 1996). En pacientes con hipertensión esencial, la vasodilatación inducida por la acetilcolina no muestra una correlación lineal con los niveles de presión arterial (PA), lo que podría sugerir que no existe una relación directa entre ambos parámetros. Además, la normalización de los niveles de presión arterial, no siempre mejora la respuesta vasodilatadora dependiente de endotelio en sujetos con hipertensión esencial y depende del tipo de fármaco utilizado para reducir las cifras de PA (Lyons et al., 1994; Schiffrin y Deng, 1995; Schiffrin y Deng, 1996). Por tanto, la opinión actual más generalizada apoya el concepto de que la disfunción endotelial se produce como consecuencia del mantenimiento de las cifras de PA elevadas, y que produce un deterioro progresivo del endotelio, que participaría en el mantenimiento y las complicaciones de la hipertensión arterial.

Un aumento del estrés oxidativo, consecuencia de la estimulación de enzimas que median su formación o de la activación de células inflamatorias en la pared vascular, se ha asociado con la hipertensión. La administración intrabraquial de vitamina C, que actúa

como antioxidante y por tanto agente inactivador del $^{\cdot}O2^{-}$, mejora la relajación dependiente de endotelio en pacientes hipertensos aunque no en sujetos normotensos, sugiriendo la existencia de un exceso de producción de superóxido que inactiva el NO (Taddei et al., 1998). Se ha detectado una mayor producción de $^{\cdot}O2^{-}$ en ratas espontáneamente hipertensas que en animales normotensos, lo cual sugiere una posible relación entre un aumento del estrés oxidativo y la hipertensión arterial (Nakazono et al., 1991). En esta línea, se ha observado que la administración tanto de superóxido dismutasa como de la xantina oxidasa, que reducen los niveles $^{\cdot}O2^{-}$ a través de diferentes mecanismos, disminuyen los niveles de presión arterial. Uno de los posibles mecanismos que subyacen al incremento del estrés oxidativo en la hipertensión podría ser una activación del sistema renina-angiotensina ya que diferentes trabajos han observado que la administración crónica de angiotensina II produce un incremento en los niveles de ARNm de la p22phox uno de los componentes de la enzima NADH/NADPH oxidasa (Fukui et al., 1995; Rajagopalan et al., 1996). Este incremento se pudo prevenir con el tratamiento con superóxido dismutasa (Zalba et al., 2000).

2.2.5. Papel de la dimetilarginina asimétrica (ADMA)

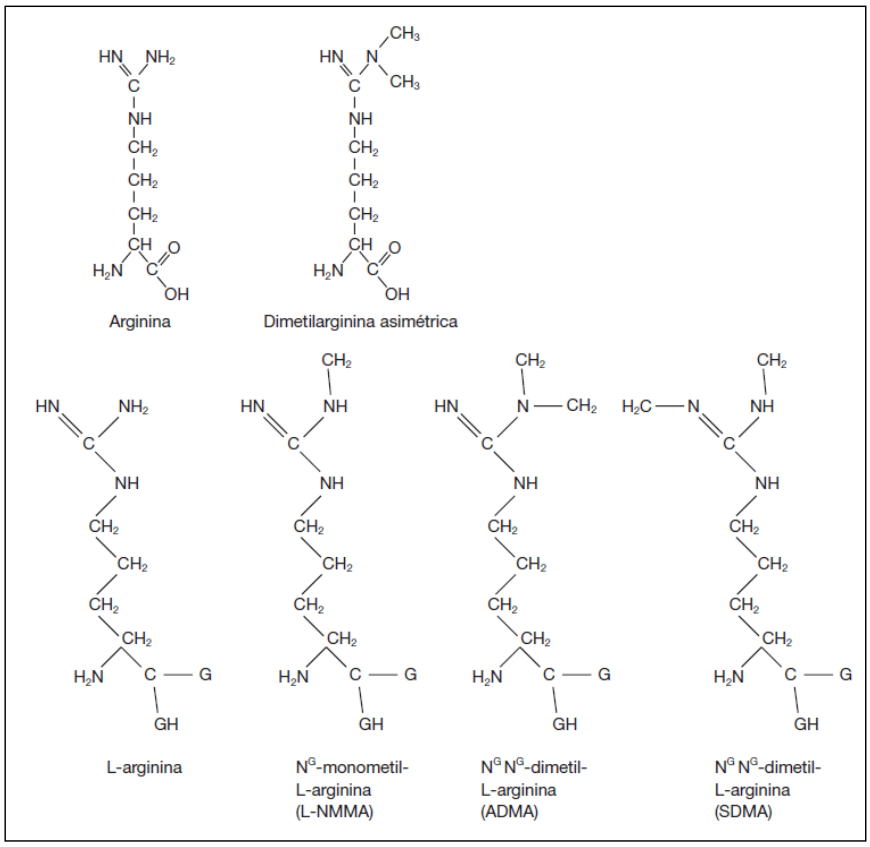
La dimetilarginina asimétrica (ADMA) es el inhibidor competitivo endógeno más potente de la NOS que se conoce en la actualidad. Está recibiendo creciente interés por su contribución a la disfunción endotelial. ADMA parece ser un predictor de mortalidad cardiovascular o mortalidad por cualquier causa en pacientes con insuficiencia renal crónica y eventos coronarios agudos. La concentración normal de ADMA en plasma es del orden de 1-2 µM, habiéndose descrito elevaciones en distintas patologías tales como hipertensión, hiperlipemia, hiperhomocisteinemia, enfermedad coronaria, oclusión arterial periférica, insuficiencia cardiaca congestiva, accidentes cerebrovasculares, hipertensión pulmonar, enfermedad renal avanzada, etc. (Sydow y Munzel, 2003).

La ADMA y su estereoisómero, la dimetilarginina simétrica (SDMA) se aislaron por primera vez en la orina en 1970 (Kakimoto y Akazawa, 1970). La relevancia biológica de ADMA como inhibidor endógeno de la óxido nítrico sintasa fue descrita por primera vez en 1992, por Vallance et al. en Londres. Publicaron un artículo en Lancet, que ya se ha

convertido en un clásico, donde documentaban que los pacientes con ERCA presentaban niveles más elevados de ADMA que los sujetos sanos, y mostraban que ADMA era capaz de inhibir la producción de óxido nítrico tanto in vivo como in vitro. En base a estas observaciones, Vallance et al. postularon que ADMA, por disminución de la síntesis de óxido nítrico, podía contribuir al exceso de mortalidad y morbilidad cardiovascular en pacientes con ERC (Vallance et al., 1992b).

ADMA es una molécula endógena que se encuentra de manera natural en el plasma y en los tejidos humanos, y que se excreta en la orina. Es un inhibidor endógeno de la óxido nítrico sintasa (NOs), y presenta una homología estructural con el aminoácido L-arginina. Se trata de un aminoácido (PM 202 Daltons) relativamente estable, que normalmente es sintetizado intracelularmente y que puede difundir fácilmente entre las células (Vallance y Leiper, 2004). (Figura 20)

Figura 20. Fórmulas químicas de la arginina, de la dimetilarginina asimétrica (ADMA) y de la dimetilarginina simétrica (SDMA), así como de L-NMMA y de ADMA, de sus inhibidores competitivos endógenos. Adaptado de Vallance y Leiper (2004).



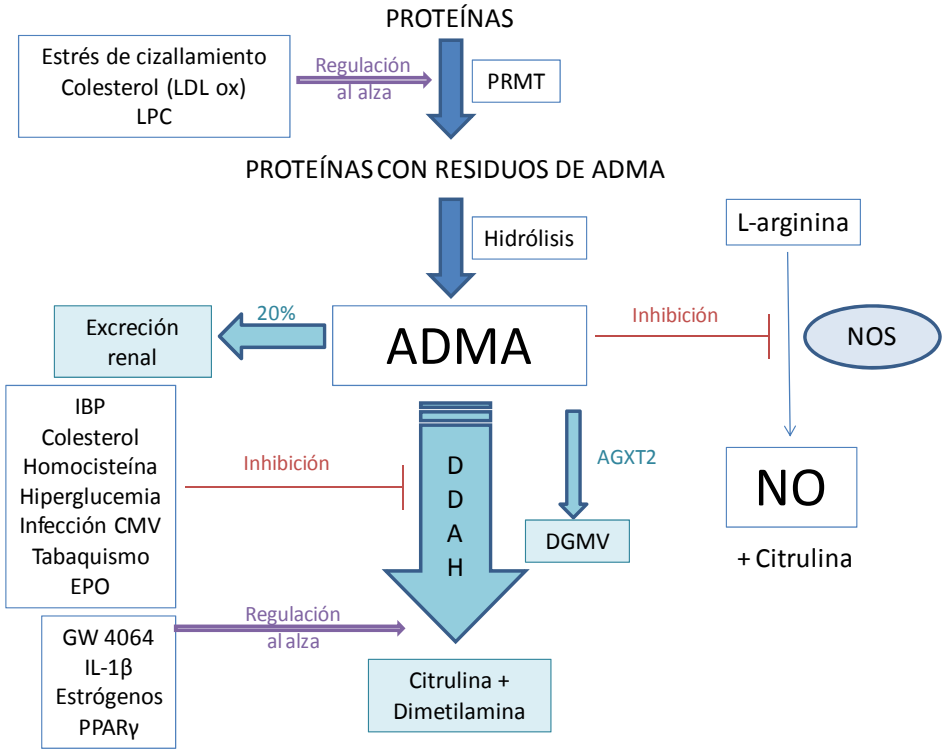
La ADMA procede de la hidrólisis de proteínas nucleares previamente metiladas, implicadas en el procesamiento y la transcripción del ARN. La enzima encargada de estas metilaciones se denomina proteinarginina metiltransferasa (PRMT). La PRMT tipo I se ocupa de la formación de restos de ADMA, mientras que la PRMT tipo II produce una metilación simétrica de los restos de arginina que luego originan una SDMA (por metilación en restos nitrogenados distintos, en vez de la dimetilación en un solo grupo nitrogenado que caracteriza la ADMA), que no interfiere con la NOS (San Miguel-Hernández et al., 2008; Schepers et al., 2014).

Una vez hidrolizadas las proteínas que contienen los restos de ADMA, este metabolito puede tener varios destinos (Figura 21): a) excreción renal (20%); b) hidrólisis hasta citrulina y metilaminas (catalizada por la enzima dimetilarginina dimetilaminohidrolasa, DDAH), c) transaminación por la enzima AGXT2 (alanine glyoxylate aminotransferase 2) que transforma ADMA en DMGV [α-keto-δ-(N,N-dimethylguanidino)valeric acid] (Rodionov et al., 2010), y d) otras vías metabólicas secundarias (reacciones de acetilación en el hígado) (Schepers et al., 2014). Los humanos generamos aproximadamente 300 µmol (aproximadamente 60 mg) de ADMA al día (Achan et al., 2003). La enzima DDAH, al regular los niveles plasmáticos y tisulares de ADMA, protege la actividad de la NOS. Que la actividad de DDAH como regulador de la NOS es crucial, quedó demostrado en los estudios con ratones transgénicos y knockout para DDAH. Los animales DDAH transgénicos manifestaban una actividad incrementada de DDAH, niveles de ADMA plasmático reducidos, aumento en plasma y en orina de óxido nítrico, y una reducción en la resistencia vascular (Dayoub et al., 2003). Los ratones knockout para DDAH no sobreviven, y los heterocigotos muestran unos niveles de ADMA en plasma elevados, disminución de NO en sangre y orina, y un incremento en las resistencias vasculares (Leiper et al., 2007).

La causa mejor establecida del aumento de las concentraciones plasmáticas de ADMA es la insuficiencia renal, aunque también puede aumentar por la inhibición de las enzimas que la catabolizan. Diferentes estudios han demostrado que la actividad de las enzimas involucradas en la síntesis y degradación de ADMA (PRMT y DDAH) es regulada por las condiciones redox. Esta inhibición la pueden originar en general las especies reactivas de oxígeno y, especialmente, las lipoproteínas de baja densidad (LDL) oxidadas

de forma dosis dependiente (Cooke, 2000). También se ha observado el efecto inhibidor de la homocisteína (Boger et al., 2001), de manera que la incubación de células endoteliales con elevadas concentraciones de metionina u homocisteína (precursores de la S-adenosilmetionina), aumenta considerablemente la concentración de ADMA en el sobrenadante (Sydow y Munzel, 2003). Este efecto es comparable al observado en pacientes con hiperhomocisteinemia (Boger et al., 2000a) y en animales de experimentación sometidos a dietas con un contenido elevado de homocisteína o colesterol (Boger et al., 2000b), condiciones en las que se ha descrito una elevación plasmática de los niveles de ADMA. Además, la incubación con homocisteína disminuye la actividad de la DDAH, cuya consecuencia sobre la concentración de ADMA es la misma, y se revierte aplicando al cultivo el antioxidante PDTC (Pyrrolidine dithiocarbamate) que preserva la actividad de la DDAH y reduce el acúmulo de ADMA (Stuhlinger et al., 2001). (Figura 21)

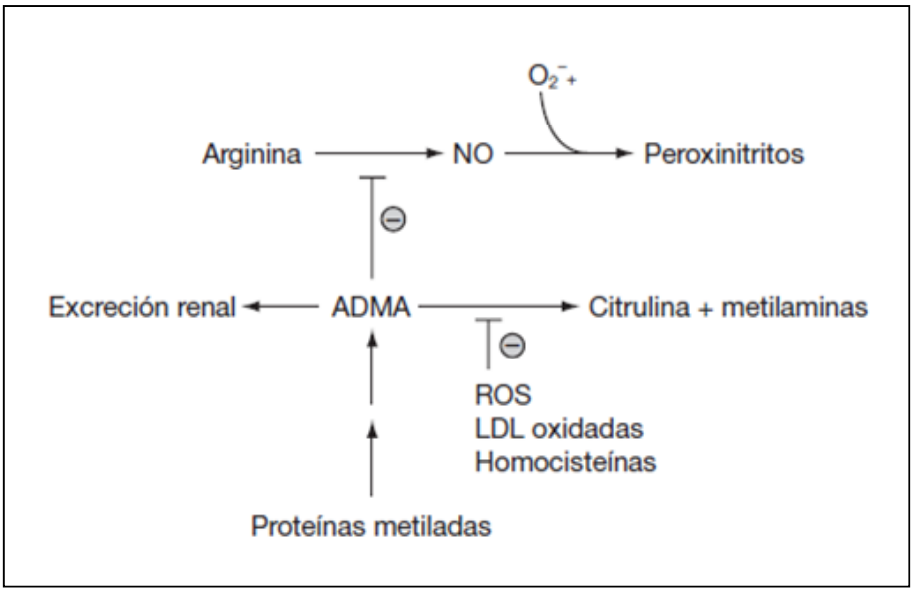
Figura 21. Síntesis y destinos de la dimetilarginina asimétrica (ADMA). Adaptado de Kielstein et al. (2007).



ADMA procede de la metilación de los residuos de arginina de las proteínas. La reacción es catalizada por PRMT (N-metiltransferasas). La hidrólisis de las proteínas metiladas genera ADMA, la cual inhibe competitivamente NOS. La excreción renal representa únicamente el 20% de la eliminación de ADMA. La vía fundamental de eliminación (80%) es el metabolismo de ADMA a través de la enzima DDAH. La enzima DDAH hidroliza ADMA dando lugar a L-citrulina y dimetilamina. Una tercera ruta para disminuir los niveles de ADMA es la transaminación por la enzima AGXT2 a DMGV, una aminotransferasa mitocondrial expresada primariamente en el riñón. La generación de ADMA se ve incrementada por el estrés de cizallamiento, por las LDL oxidadas y por la lisofosfatidilcolina, entre otros. Muchos factores de riesgo cardiovascular como la hipercolesterolemia (LDL oxidadas), la homocisteína, la hiperglucemia, la infección por CMV, el tabaquismo y los inhibidores de la bomba de protones disminuyen la actividad de DDAH y por tanto, incrementan ADMA. GW 4064, IL-1β, los estrógenos y PPARγ incrementan la actividad de DDAH, disminuyendo ADMA.
DDAH: dimetilarginina dimetilaminohidrolasa; PRMT: proteinarginina metiltransferasa.

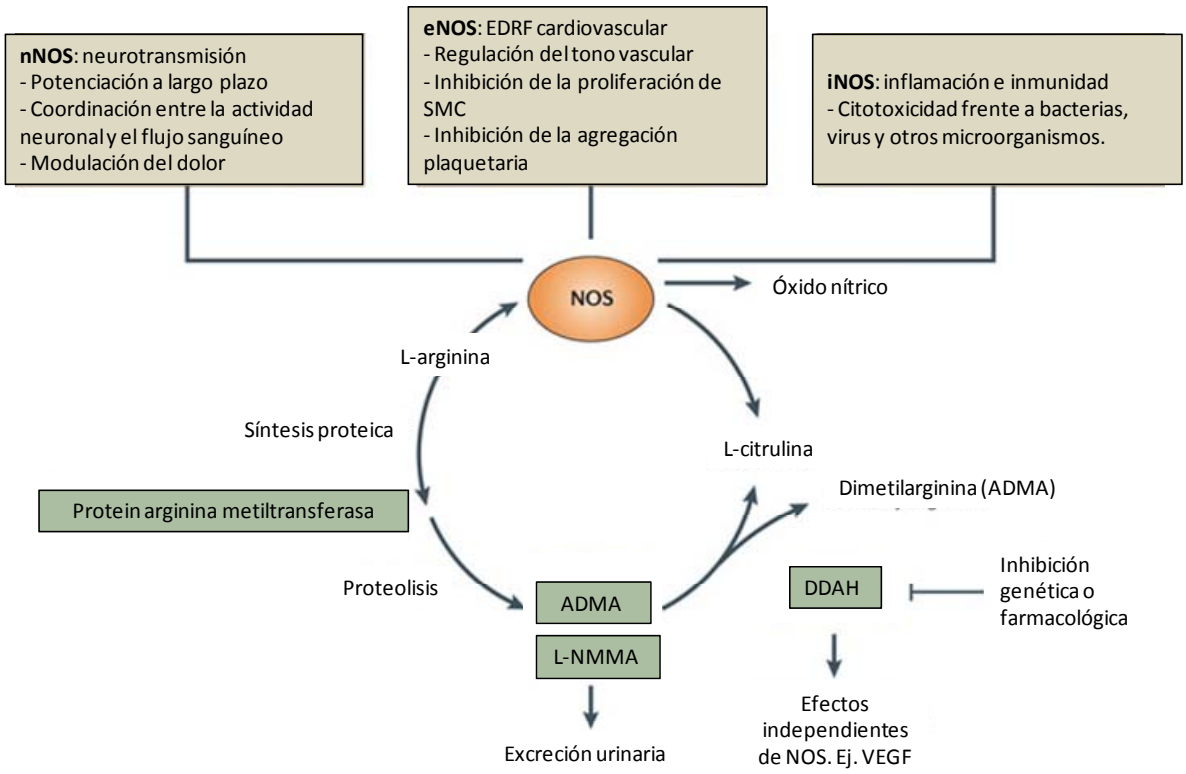
Las concentraciones endoteliales de NO no se reducen solamente a causa de la disminución de su síntesis. Como ocurre en el proceso aterosclerótico, la producción excesiva del radical superóxido hace que esta molécula reaccione con el NO, disminuya su concentración y se origine una especie oxidativa muy reactiva denominada peroxinitrito (Stamler y Hausladen, 1998; San Miguel-Hernández et al., 2008). (Figura 22)

Figura 22. Regulación del catabolismo de la ADMA por diversos metabolitos. LDL: lipoproteínas de baja densidad; ROS: radicales libres del oxígeno. Adaptado de San Miguel-Hernández et al. (2008)



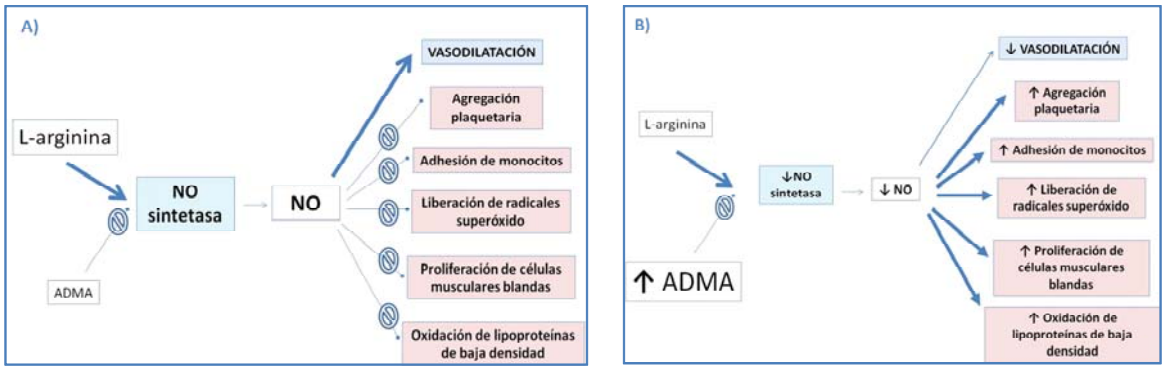
Respecto a la posible afectación de la eliminación de ADMA, se ha observado una elevación de este derivado de la arginina en enfermedades renales, ya que las dimetilargininas se eliminan vía renal. La producción de NO está disminuida en las enfermedades renales, por dos motivos. El primero es una disminución del sustrato precursor, la arginina, por afectación de la biosíntesis renal de este aminoácido, y por una inhibición del transporte de arginina hacia la célula endotelial, destinándose a otras rutas metabólicas. En segundo lugar, por las elevadas concentraciones de ADMA cuya eliminación está disminuida, al igual que su catabolismo por la enzima DDAH (Baylis, 2006; Vallance et al., 1992a). (Figura 23)

Figura 23. La vía ADMA–DDAH–NOS. Adaptado de Leiper y Nandi (2011).



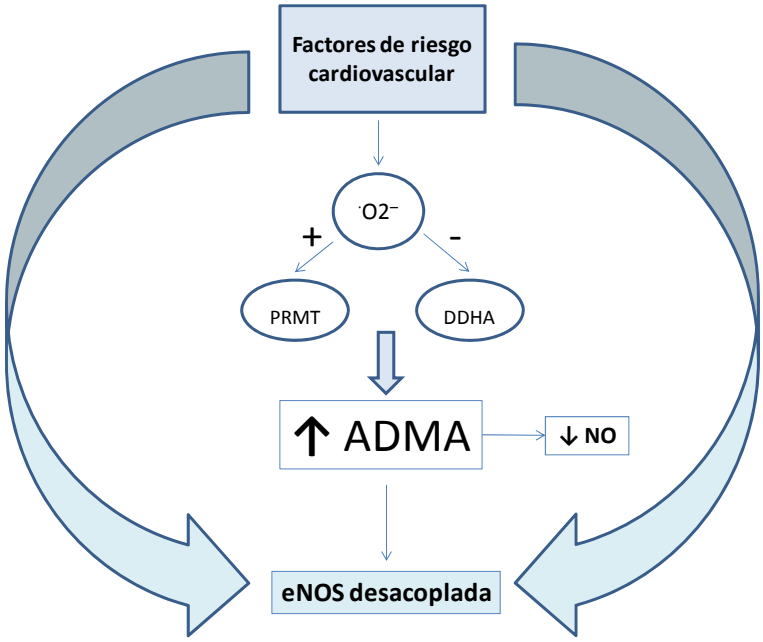
El cociente de las concentraciones de L-arginina y de ADMA determina la actividad de la NOs in vivo, influyendo así en la función vascular. En individuos sanos, la L-arginina en gran medida compensa la ADMA y da como resultado un tono y una estructura vascular normal. En pacientes con concentraciones de ADMA elevadas, la ADMA bloquea la NO sintetasa y la vasodilatación dependiente de NO, contrarrestando los efectos múltiples activados por NO. Esto apunta a favor de un desplazamiento competitivo de L-arginina endógena por la ADMA, como causa de estos cambios fisiopatológicos (San Miguel-Hernández et al., 2008). (Figura 24)

Figura 24. Influencia de ADMA en las funciones de NO. A) Niveles de ADMA normal. B) Niveles de ADMA aumentados. Adaptado de San Miguel-Hernández et al. (2008)



Los distintos factores de riesgo cardiovascular, incrementan la producción de anión superóxido ($O2^{\cdot-}$) que activa las PRMTs e inhibe a DDAH, dando como resultado final un aumento de la concentración de ADMA. La disminución de la biodisponibilidad del NO se debe a un aumento de su degradación inducida por superóxido, formación de peroxinitrito, oxidación del cofactor de la eNOS y/o biodisponibilidad limitada de arginina intracelular. La producción de anión superóxido por parte de la eNOS retroalimentaría positivamente el proceso (Figura 25). Por lo tanto, el aumento de la concentración de ADMA en pacientes con disfunción endotelial se asocia con un aumento en la producción de radicales libres de oxígeno, pero se desconoce si la elevación de ADMA es causa o consecuencia del aumento del estrés oxidativo (Sydow y Munzel, 2003). Asimismo, el estrés oxidativo a nivel endotelial, por tanto, puede estimular la producción de ADMA y/o inhibir su degradación. A su vez, tanto el estrés oxidativo como el aumento de ADMA podrían contribuir al desacoplamiento de la eNOS, facilitando su participación en la generación de superóxido con una consiguiente retroalimentación (Cooke, 2000).

Figura 25. Mecanismos propuestos para explicar la elevación de ADMA. Adaptado de Sydow y Munzel (2003).



2.2.5.1. La paradoja de la arginina

La arginina es el sustrato endógeno de la NOS. Las concentraciones intracelulares de L-arginina son del orden de 2nM (Griffith y Kilbourn, 1996), lo cual excede en mucho la constante de Michaelis de la NOS (Boger et al., 1996; Pollock et al., 1991). A pesar de encontrarse la NOS teóricamente saturada con las concentraciones de arginina intracelulares, contrariamente a lo esperado, se ha demostrado in vivo que el incremento en la concentración plasmática de L-arginina incrementa la generación de óxido nítrico (Tsikas et al., 2000). Esto es lo que se conoce como la "paradoja de la arginina" (Hand et al., 1998). Este efecto se ha demostrado en la hipercolesterolemia, hipertensión arterial, diabetes mellitus, enfermedad renal crónica y pacientes con enfermedad coronaria y enfermedad arterial periférica (Bode-Boger et al., 1996).

Se han propuesto diferentes hipótesis, no excluyentes, para explicar esta paradoja de la arginina. La primera de ellas aboga por la inhibición endógena de la eNOS por compuestos como ADMA o L-NMMA, condiciones que serían antagonizadas por el aporte de arginina (ya que aumentaría el cociente arginina/inhibidores), con el consiguiente

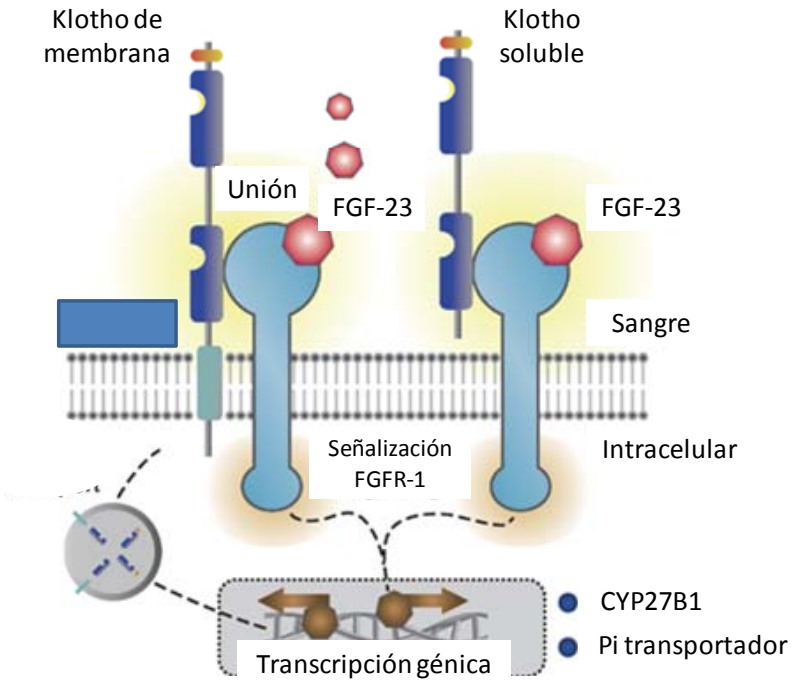
beneficio en la producción de NO. Otra posibilidad considera una competencia entre la eNOS y la arginasa por la arginina como sustrato común. Por tanto, es probable que, bajo ciertas circunstancias, la arginasa pueda actuar como elemento de control de la biodisponibilidad de arginina para la síntesis de NO. Una tercera hipótesis considera como principal efecto para explicar la paradoja de la arginina el desacoplamiento de la actividad eNOS. El desacoplamiento podría deberse a la depleción intracelular de arginina, en términos absolutos o relativos (competición con ADMA de la propia eNOS) o por deficiencia de BH4 (Bode-Boger et al., 2007). Los efectos de la arginina sobre la producción endotelial de NO podrían deberse, de acuerdo con una última hipótesis, a sus propiedades antioxidantes. Actuando como tal, la arginina podría secuestrar el superóxido y/u otros radicales libres del oxígeno, interrumpir la cascada de peroxidación lipídica, o reducir BH2 a BH4 (Cosentino y Luscher, 1998; Heitzer et al., 2000; Stroes et al., 1997) con los consiguientes beneficios para la síntesis de NO y, en general, para la prevención del daño endotelial. Esta posibilidad estaría apoyada por un amplio cuerpo de evidencias experimentales a favor de los efectos antioxidantes de la arginina y algunos de sus que ha crecido considerablemente en los últimos años (Boger et al., 1998; Kawano et al., 2002).

2.3. EL EJE FGF23 – KLOTHO

Klotho (tanto el gen, α-Klotho, como la proteína) fueron descubiertos en 1997 por Kuro-o et al (Kuro-o M et al., 1997). El nombre Klotho (en griego, “Hilandera”) se refiere a la mitología griega, donde Klotho es la una de las Moiras (personificaciones del destino), que “hilaba la hebra de vida”. Los ratones sin Klotho manifiestan un fenotipo parecido al envejecimiento humano acelerado, con una vida corta, con un fenotipo vascular desfavorable de arteriosclerosis, disfunción endotelial y angiogénesis deficiente (Kuro-o M et al., 1997). Por otro lado, los ratones que sobreexpresan Klotho tienen una expectativa de vida significativamente mayor en comparación con los ratones normales, por lo que Klotho se asocia con la longevidad (Kurosu et al., 2005). En un estudio en población humana, se observó también que variaciones genéticas de Klotho se asocian con la longevidad (Lewin y Olgaard, 2015).

La proteína Klotho en los mamíferos está presente en diferentes isoformas, como una proteína unida a membrana y como una forma soluble (Kuro-o M, 2013). La forma soluble de Klotho puede ser generada por liberación del dominio extracelular de Klotho unido a la membrana, que contiene dos repeticiones internas, KL1 y KL2 (Kuro-o M, 2013). Klotho unido a membrana puede formar un complejo con el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), los receptores 1c, 3c, y 4, y de ese modo crear sitios de unión a FGF23 de alta afinidad (Kuro-o M, 2013). FGF-23 es un péptido circulante que juega un papel clave en el control de las concentraciones de fosfato en suero (Kuro-o M, 2013) (Figura 26). Es considerada una hormona fosfatúrica secretada por los osteocitos y osteoblastos en respuesta a calcitriol, aumento de la carga dietética de fosfato, PTH y calcio, y que actúa sobre el riñón, favoreciendo la excreción de fosfato e inhibiendo la síntesis de calcitriol. (Cunningham et al., 2011; Liu et al., 2007; Liu y Quarles, 2007). La función de Klotho como un correceptor obligatorio para FGF23 explica los fenotipos casi idénticos que se observan en los ratones knockout que carecen de cualquiera Klotho o FGF23 (Shimada et al., 2004).

Figura 26. Representación de FGF23 unido a su receptor (FGFR) y a su correceptor Klotho, en su forma de membrana y en su forma soluble. Adaptado de Vervloet et al. (2014).



La función principal de FGF-23 es mantener la concentración normal de fosfato sérico mediante la reducción de la reabsorción renal de fosfato y la reducción de la absorción de fosfato intestinal a través de la disminución en la producción de calcitriol. En las células tubulares proximales renales, FGF-23 se une al receptor de FGF (FGFR) y su correceptor, Klotho, provocando la inhibición de la expresión del cotransportador de Na / Pi IIa (y posiblemente también el Na / Pi IIc transportador) (Miyamoto et al., 2007). FGF-23 también inhibe la expresión de la enzima 1-alfa-hidroxilasa, que conduce a la disminución en la síntesis de calcitriol por el riñón (Saito et al., 2003), y suprime la secreción de PTH por la glándula paratiroidea (Ben-Dov et al., 2007). Sin embargo, entre los pacientes con ERC, la presencia de altas concentraciones de PTH, a pesar de FGF-23 altas concentraciones, sugiere que la paratiroides es relativamente resistente a las elevadas concentraciones de FGF-23 en la uremia. Esto puede estar relacionado con la expresión marcadamente disminuida de FGFR 1 y la proteína Klotho en la glándula paratiroidea hiperplásica (Canalejo et al., 2010; Komaba et al., 2010).

Los pacientes con ERC presentan concentraciones séricas aumentadas de FGF-23 debido a la retención de fosfato por la disminución del aclaramiento (Gutierrez et al., 2005; Imanishi et al., 2004; Larsson et al., 2003).

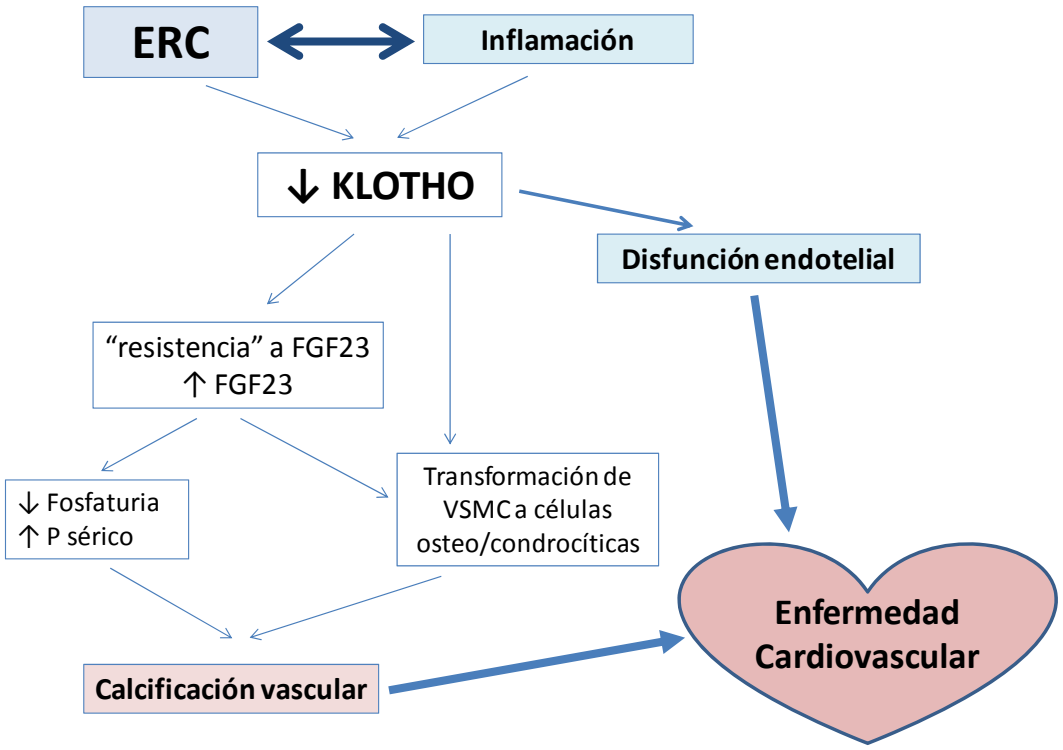
A Klotho soluble, sin embargo, se le han atribuido funciones pleiotrópicas que son independientes de FGF23. La forma soluble de Klotho, además, ha demostrado estar involucrada en la regulación de la señalización de las citoquinas y factores de crecimiento IGF-1, Wnt y TGF-β, siendo muchas de estas proteínas y vías de señalización fundamentales para la función vascular (Lewin y Olgaard, 2015).

La uremia es potencialmente un estado deficiente de Klotho, dado que en este estado se han objetivado, tanto a nivel de los tejidos como en la circulación, concentraciones bajas de Klotho (Lindberg et al., 2014). Por ello, y debido al importantísimo incremento de la morbimortalidad cardiovascular asociado a la ERC, es fundamental conocer mejor el funcionamiento de este mecanismo biológico, para entender si la deficiencia de Klotho contribuye a la longevidad reducida y otras muchas complicaciones graves en pacientes con ERC. En diferentes modelos experimentales Klotho soluble ha mostrado que protege frente a lesiones agudas del riñón, la fibrosis

renal, la cardiomiopatía urémica, la calcificación vascular y la disfunción endotelial (Lewin y Olgaard, 2015).

Estudios experimentales han demostrado que Klotho soluble, cuando es liberado como un factor humoral, puede proteger la vasculatura. La liberación de genes Klotho por un vector adenoviral aumentó la síntesis de óxido nítrico dependiente del endotelio y fue capaz de prevenir el remodelado vascular adverso en un modelo murino con arteriosclerosis y obesidad (Saito et al., 2000). Los resultados de varios estudios in vitro apuntan a un efecto directo de Klotho soluble en el tejido vascular. Recientemente, se ha demostrado in vitro que Klotho regula el tono vascular, y que poseía una capacidad estimuladora de óxido nítrico (Six et al., 2014). La forma soluble de Klotho logró suprimir la expresión vascular de la molécula ICAM-1 y de la molécula de adhesión endotelial-1 en células in vitro, y mostró también inhibir la calcificación celular de la musculatura lisa vascular inducida por niveles altos de fósforo, a través de la inhibición de Pit-1 y Pit-2 (Six et al., 2014). (Figura 27)

Figura 27. Efectos cardiovasculares de la disminución de los niveles de Klotho. Adaptado de Moe (2012).



Justificación y objetivos

CAPÍTULO II. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

1. JUSTIFICACIÓN

La enfermedad renal crónica (ERC) es un importante problema de salud pública. En la última década, se ha demostrado que las primeras etapas de la ERC se asocian con un estado inflamatorio (Stenvinkel et al., 2002) que implica un aumento del riesgo de morbilidad y mortalidad cardiovascular a largo plazo (Ruggenenti et al., 2001; Sarnak et al., 2003), mayor incluso que el riesgo de progresión a enfermedad renal terminal (Mann et al., 2001; Sarnak et al., 2003). En los pacientes con ERC en general, y más concretamente en aquellos en programa de depuración extrarrenal (hemodiálisis y diálisis peritoneal), los eventos cardiovasculares son la causa más común de muerte (Muntner et al., 2002). Por esta razón, en los últimos años la microalbuminuria y la reducción de la tasa de filtración glomerular (TFG) (<60 ml / min) se han añadido a la lista de factores de riesgo cardiovascular no tradicionales (Chobanian et al., 2003). En muchos pacientes, la concurrencia de estos marcadores con factores clásicos como la diabetes, la hipertensión o la obesidad, predice el daño vascular acelerado y multiplica el riesgo asociado (Ruggenenti et al., 2001; Sarnak et al., 2003).

La dimetilarginina asimétrica (ADMA) es un inhibidor endógeno de la óxido nítrico sintasa que según varios estudios puede ser un factor de riesgo independiente para la disfunción endotelial y la enfermedad cardiovascular (Thum et al., 2005). Tanto los pacientes con enfermedad coronaria establecida como los que aún no han desarrollado enfermedad cardiovascular tienen un mayor riesgo de presentar eventos coronarios agudos si presentan unos niveles de ADMA elevados (Cooke, 2004; Schnabel et al., 2005; Valkonen et al., 2001). Por otro lado, se ha observado que ADMA es el compuesto endógeno más específico con efecto inhibidor sobre la síntesis de óxido nítrico, y que se encuentra aumentado de manera significativa en pacientes con ERC avanzada (MacAllister et al., 1996). En pacientes en diálisis, ADMA puede ser un predictor significativo de eventos cardiovasculares y mortalidad (Zoccali et al., 2001).

2. OBJETIVOS

Los **objetivos** concretos de nuestro estudio han sido:

1. Evaluar la asociación entre concentraciones de ADMA en plasma con enfermedad cardiovascular a los 18 meses en una muestra de nuestra población de pacientes en programa de hemodiálisis crónica.
2. Evaluar la asociación entre concentraciones de ADMA en plasma con la mortalidad global y de causa cardiovascular a los 36 meses en una muestra de nuestra población de pacientes en programa de hemodiálisis crónica.
3. Evaluar la asociación entre concentraciones de ADMA con diversos fármacos utilizados en la práctica clínica para el tratamiento de la enfermedad cardiovascular (IECAs y/o ARAII, estatinas y ácido acetilsalicílico) o con efectos pleiotrópicos demostrados a nivel cardiovascular (paricalcitol).
4. Evaluar la asociación entre concentraciones de ADMA con otros datos clínicos y analíticos.

Hipótesis

CAPÍTULO III. HIPÓTESIS

Nuestras **hipótesis** de trabajo por lo tanto son las siguientes:

1. HIPÓTESIS PRINCIPAL:

Los pacientes en hemodiálisis con mayores concentraciones de ADMA en plasma presentan una mayor mortalidad.

2. HIPÓTESIS SECUNDARIAS:

- Los pacientes en hemodiálisis con mayores niveles de ADMA presentan una mayor incidencia de eventos cardiovasculares a los 18 meses de seguimiento.
- Los niveles de ADMA en pacientes en hemodiálisis están asociados al tratamiento farmacológico utilizado en la práctica clínica para el tratamiento de la enfermedad cardiovascular (IECAs y/o ARAII, estatinas y ácido acetilsalicílico) o con fármacos con efectos pleiotrópicos demostrados a nivel cardiovascular (paricalcitol).
- Los niveles de ADMA en pacientes en hemodiálisis están asociados a variables clínicas y analíticas.

Material y métodos

CAPÍTULO IV. MATERIAL Y MÉTODOS

1. DISEÑO DEL ESTUDIO

Se trata de un estudio prospectivo de morbimortalidad en pacientes en hemodiálisis crónica para evaluar el papel de la dimetilarginina asimétrica (ADMA) en la predicción de la morbimortalidad atendiendo a sus causas.

Paralelamente se lleva a cabo un análisis transversal de la asociación de ADMA con diversos fármacos así como con variables clínicas y analíticas.

1.1. SELECCIÓN DE LOS PACIENTES

Se recogieron datos de los 231 pacientes sometidos a tratamiento con diálisis en la unidad de hemodiálisis crónica del centro periférico perteneciente al Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín. Todos los pacientes reclutados recibieron información exhaustiva del estudio. Posteriormente se les solicitó su participación para lo que firmaron el correspondiente consentimiento. Los pacientes se realizaban la diálisis 3 veces por semana, con una duración media de 4 horas, con dializadores de 1.7 a 2.1 m^2 con membranas semisintéticas (polisulfona). Se les hacía una diálisis con bicarbonato estándar (Na^+ 138 mmol/L, HCO_3^- 35 nmol/L, K^+ 1.5 mmol/L, Ca^{2+} 1.25 mmol/L, Mg^{2+} 0.75 mmol/L). A todos ellos se les realizó una determinación analítica entre abril y mayo de 2011 que correspondía con la analítica anual que se suele realizar según protocolo habitual.

1.2. OBTENCIÓN DE MUESTRAS BIOLÓGICAS

Las muestras de sangre venosa periférica de los distintos sujetos se obtuvieron, el primer día de diálisis de la semana (lunes o martes), tras un periodo mínimo de ayuno de 8 horas. Se envió una parte de la muestra al laboratorio de referencia (Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín) para las determinaciones analíticas

mostradas en la Tabla 8, y un tubo (heparinizado) se remitió a la unidad de Investigación, tras su procesamiento inicial (ver más adelante) donde se conservó a -80ºC hasta el análisis de ADMA. Esta determinación se llevó a cabo en la Unidad de Investigación perteneciente al HUGCDN.

1.3. SEGUIMIENTO

Los pacientes que entraron en el presente estudio continuaron con el tratamiento habitual prescrito para sus patologías crónicas diagnosticadas previamente, y con el seguimiento habitual que se les realiza a los pacientes pertenecientes al centro periférico de hemodiálisis crónica del HUGCDN. No fueron sometidos a ninguna intervención para el presente estudio.

Se llevó a cabo una revisión de las historias clínicas, así como de las bases de datos informáticas utilizadas en el Servicio de Nefrología del HUGCDN y en el centro periférico de hemodiálisis crónica (RenalSoft-Baxter e intranet del HUGCDN) para recoger los datos de interés para el presente trabajo, incluyendo los datos demográficos, antropométricos, exploración física, constantes vitales, datos analíticos y de calidad de diálisis, así como datos ecocardiográficos. Se llevó a cabo también un registro de la medicación que tenían pautada los sujetos del estudio en el momento de la determinación analítica. (Tablas 8 y 9)

A los 18 meses tras la realización de la extracción analítica se realizó una nueva revisión de las historias clínicas, las bases de datos y los registros de mortalidad de los pacientes en programa de depuración renal sustitutiva pertenecientes al servicio de Nefrología de nuestro hospital, para evaluar la presencia de eventos cardiovasculares y mortalidad.

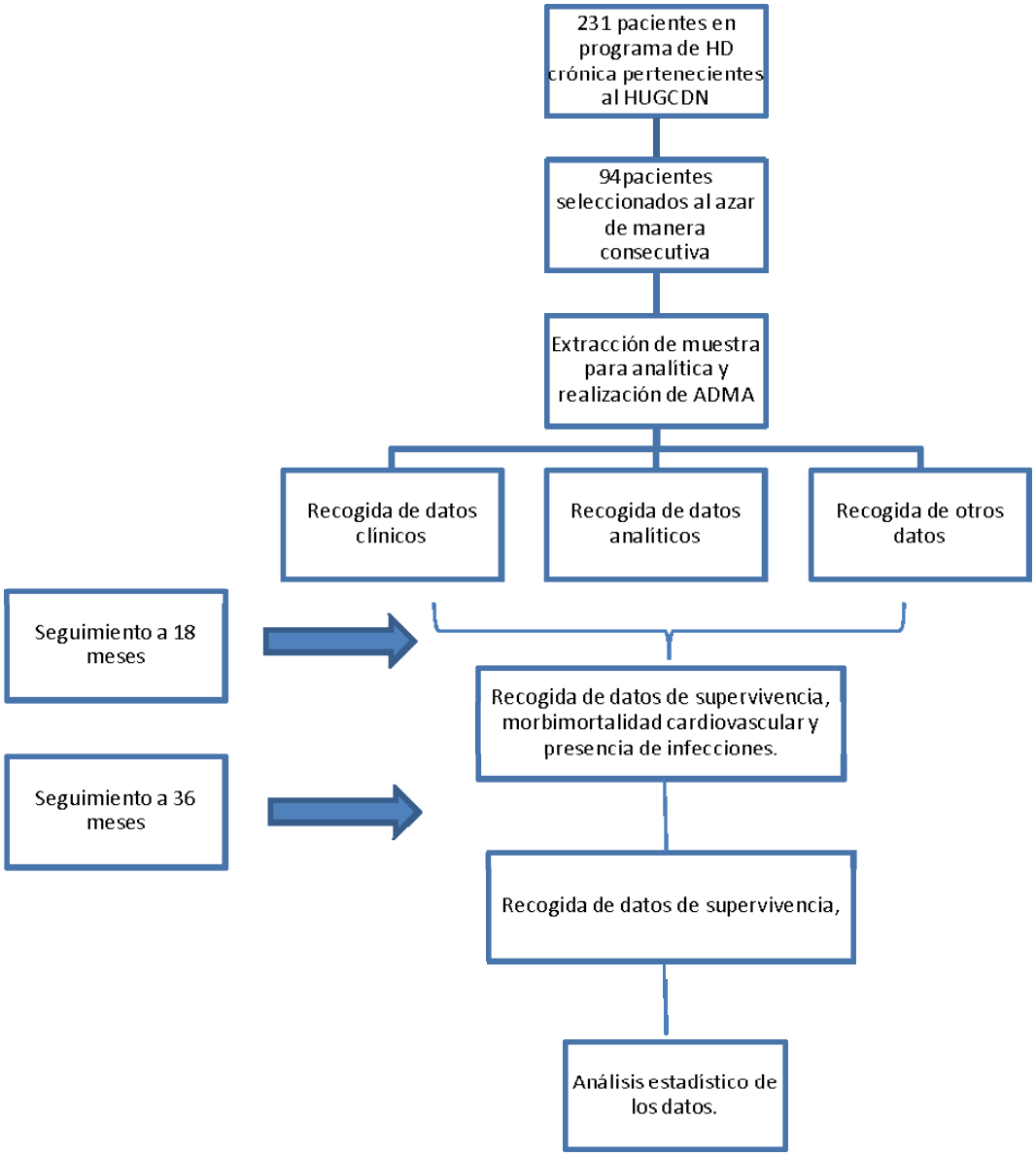
A los 36 meses, se llevó a cabo una última revisión de los registros de mortalidad pertenecientes al servicio de Nefrología de nuestro hospital. (Figura 28)

Finalmente se procedió al análisis estadístico de los resultados.

1.4. TAMAÑO MUESTRAL

Inicialmente se preveía estudiar a todos los pacientes prevalentes, aunque finalmente la determinación de ADMA sólo se llevó a cabo en 94 pacientes, de forma aleatoria, por orden de llegada de las muestras al laboratorio. Se prevé completar el estudio inicialmente previsto en un segundo tiempo. (Figura 28)

Figura 28. Diagrama de flujo del estudio



1.5. PARÁMETROS ANALIZADOS

A continuación se muestran las variables demográficas clínicas y analíticas analizadas, así como las de calidad de diálisis. Se analiza también la medicación que recibían los pacientes en el momento de la determinación analítica, así como datos ecocardiográficos. Finalmente se evalúa la evolución con respecto a eventos cardiovasculares a los 18 meses y la mortalidad a 36 meses. (Tablas 8 y 9)

Tabla 8. Variables demográficas, clínicas y analíticas analizadas.

Datos Demográficos	Edad
	Sexo
	Número de Historia Clínica
Datos Clínicos	Altura
	Peso seco
	Peso prediálisis
	Peso postdiálisis
	IMC
	Tiempo en HD
	Acceso vascular
	Índice de Charlson
	Etiología de la ERC
	DM
	Duración de la sesión de HD
	presión arterial sistólica prediálisis
	presión arterial diastólica prediálisis
Datos Analíticos	Glucosa
	Urea prediálisis
	Urea postdiálisis
	Calcio
	Fósforo
	Producto calcio/fósforo
	25OH vitamina D
	PTHi
	PTHi corregida Nichols
	Albúmina
	Colesterol
	Triglicéridos
	Hemoglobina
	Hematocrito
	PCR
	ApoA1
	ApoB
	Homocisteína
	ADMA

Tabla 9. Variables de calidad de diálisis, medicación, datos ecocardiográficos y evolución a 18 y 36 meses.

Datos de Adecuación de Diálisis	PRU	
	Kt/V simple	
	Kt/V Daugirdas	
	Kt/V Maduell	
	Kt/V equilibrado	
Medicación (si/no)	Ácido acetilsalicílico	
	IECA	
	ARAII	
	Paricalcitol	
	Estatinas	
Datos ecocardiográficos	FE	
	PP	
	SIV	
	DD	
Evolución a 18 meses	Exitus (si/no)	Causa Exitus (Cardiopatía isquémica, ACV, Infección, otras causas de ECV, otras causas no ECV)
		Fecha Exitus (fallecimiento)
	Evento cardiovascular (ECV)(si/no)	Causa Enfermedad cardiovascular (Cardiopatía isquémica, ACV, otros)
		Fecha Enfermedad cardiovascular
Evolución a 36 meses	Exitus (si/no)	Causa Exitus (Cardiopatía isquémica, ACV, Infección, otras causas de ECV, otras causas no ECV)
		Fecha Exitus

1.6. MEDICIONES DE LABORATORIO

Las determinaciones analíticas habituales incluidas en el protocolo anual de hemodiálisis se llevaron a cabo en el Laboratorio de Análisis Clínico del HUGCDN.

1.6.1. Procesamiento de las muestras para la determinación de ADMA

Inmediatamente tras la extracción, las muestras de sangre en tubo EDTA destinadas para el estudio se llevaron al laboratorio de la Unidad de Investigación, donde se procedió a la centrifugación antes de transcurridos 30 minutos a 4ºC (600 g, 10 min) para la obtención de plasma. Éste se distribuyó en tubos Eppendorf que se mantuvieron congelados a -80ºC hasta su utilización para la determinación de ADMA.

1.6.2. Fundamento teórico

La determinación de ADMA se realizó mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) utilizando una modificación del procedimiento descrito por Chu et al. (2003). El procedimiento utiliza la extracción en fase sólida mediante columnas de intercambio catiónico para el aislamiento previo de todos los aminoácidos básicos, seguido de su concentración y posterior separación cromatográfica en columnas de HPLC de fase reversa. Empleamos concentraciones crecientes de ADMA sobre una mezcla de sueros que constituyó la matriz sobre la que se calculó la recta de estándares. Seguidamente estándares y problemas se derivatizaron con ophthaldehído. El reactivo de derivatización contenía además β-mercaptoetanol. La reacción de derivatización se realizó en el propio cromatógrafo programándola justo antes de la inyección automática de la muestra o de los estándares y posterior separación y detección fluorimétrica

1.6.3. Reactivos

ADMA, el ophtaldehído (OPA), 2-mercaptoetanol, ácido tricloroacético (TCA), trietilamina, ácido bórico y acetato sódico fueron suministrados por Sigma Chemical Co. (St. Louis, Mo, USA). Acetonitrilo (grado HPLC), metanol (grado HPLC), hidróxido potásico (KOH) y tetrahidrofuran (THF) fueron de Merck.

1.6.4. Equipamiento

Para nuestro estudio empleamos un cromatógrafo VARIAN PS230 (serie 1644) y cromatografía de fase reversa (RP-HPLC). (Figura 29) La cromatografía de fase reversa, se basa en el principio de las interacciones hidrofóbicas que resultan de las fuerzas de repulsión entre un disolvente relativamente polar, un compuesto relativamente apolar y una fase estacionaria apolar. El equipo dispone de bomba ternaria, inyector automático, lector UV-visible, fluorímetro y colector de fracciones.

Figura 29. Imágenes del cromatógrafo disponible en la Unidad de Investigación con el cual se llevó a cabo la determinación de las concentraciones de ADMA del presente estudio.

1.6.5. Soluciones estándar

Se preparó una solución madre con 0,5 mg/ml de ADMA 10 mM de HCl. Esta solución se utilizó como sustrato que se añadió, en concentraciones crecientes, sobre una muestra constituida a su vez por una mezcla de sueros y conservada a -80^{o}C. Se utilizó la misma mezcla de sueros como matriz para constituir las rectas de estándares en todas las determinaciones realizadas. La pureza de las soluciones individuales se evaluó mediante el análisis cromatográfico.

1.6.6. Reactivo de derivatización

Preparamos una solución madre disolviendo 27 mg de ophtaldehído en 0,5 ml de etanol, seguido de la incorporación de 9,5 ml de 0,4M de tampón de borato (ajustado a un pH de 10 con 1 M de hidróxido de potasio). Posteriormente se añadieron 30 µl de β-

mercaptoetanol. Previamente a la derivatización se preparó una solución de trabajo que consistía en la solución madre con tampón borato, diluida 5 veces.

1.6.7. Preparación de la muestra

Se extrajeron todos los aminoácidos básicos en las muestras de plasma utilizando columnas de intercambio catiónico Chromabond® de Machery Nagel. Todos los procedimientos de extracción se llevaron a cabo a temperatura ambiente. La columna se activó con 1 ml de metanol, acondicionado con 2 ml de TCA al 2% y cargado con 1,5 ml de plasma. Posteriormente se lavó con una solución con 1 ml de TCA al 2%, 3 ml de tampón fosfato (pH 8) y 1 ml de metanol. ADMA y SDMA quedan así retenidas en la columna de intercambio catiónico de forma que posteriormente se eluyen con 2 ml de metanol conteniendo un 30% de agua destilada y 2% de trietilamina. El eluido fue posteriormente evaporado hasta quedar seco a 60ºC en un concentrador evaporador de Eppendorf. El extracto seco se volvía a disolver en 100 µl de agua destilada. La muestra se derivatizaba con el reactivo OPA en el automuestreador durante exactamente 3 minutos antes de la inyección en el sistema de HPLC. (Figura 30)

Figura 30. Imágenes del proceso que se llevó a cabo para realizar la determinación de las concentraciones de ADMA.

1.6.8. Condición cromatográfica

Se utilizó una fase móvil consistente en 50 mM de acetato sódico (pH 6,8), metanol y THF (A, 82:17:1; B, 22:77:1). Los gradientes se muestran en la tabla. Todas las separaciones se llevaron a cabo a 27ºC a una tasa de flujo de 1ml/min.

1.6.9. Calibración

La calibración se llevó a cabo usando un estándar de 5 puntos incorporado en el pool de plasma para lograr concentraciones de ADMA de 50, 100, 250, 500 a 1000 ng/ml. Su procesado fue similar al descrito previamente esto es, los estándares se sometieron a extracción en fase sólida, derivatización y cromatografía, como se ha mencionado. Debido a que en tanto en los blancos como en la mezcla de plasmas existe ADMA, SDMA y arginina endógena, la altura real del pico del estándar incorporado se calcula mediante la sustracción de la altura de los picos de las muestras del pool de plasma de las alturas de los picos de las muestras de los estándar incorporados. (Figuras 31 y 32)

Figura 31. Cromatograma de estándares (concentración conocida de ADMA) sobre un pool de sueros. Utilizamos un único pool de sueros o matriz sobre la que se constituyeron las correspondientes rectas de estándares.

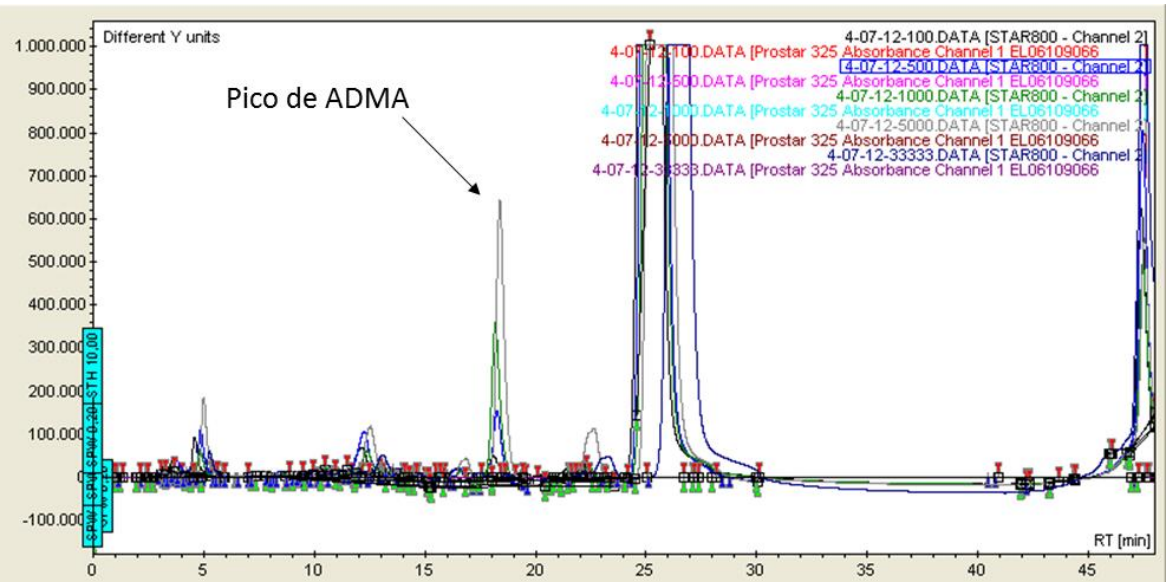
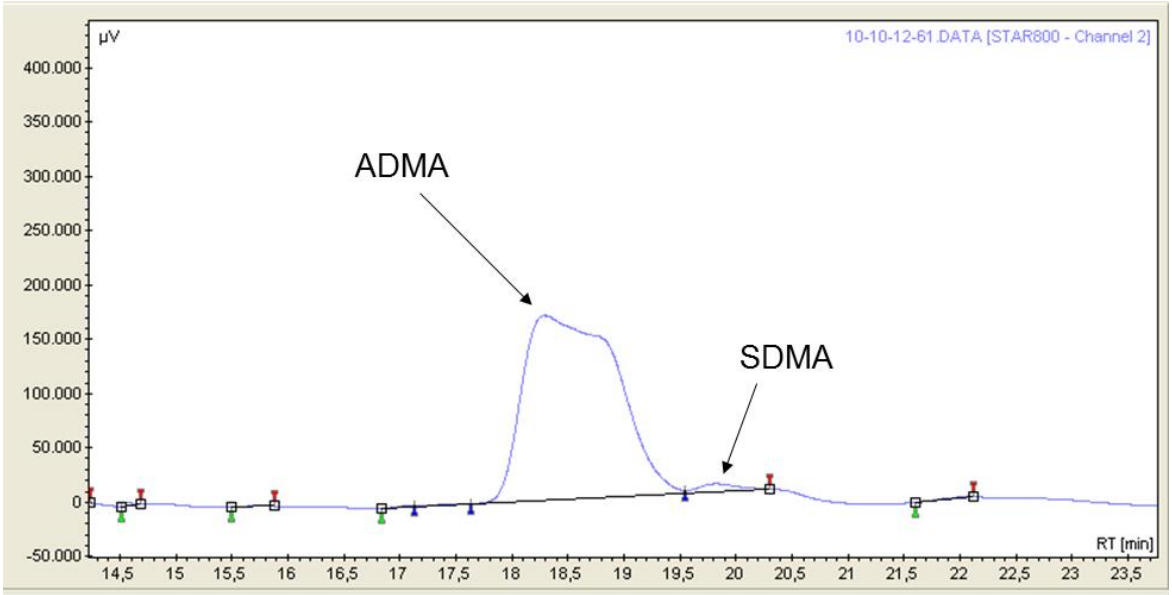


Figura 32. Cromatograma mostrando pico de ADMA y SDMA. Como se detalla en métodos se evalúa la altura y no el área del pico obtenido. La muestra constituye una excepción ya que la razón altura/área fue superior en ADMA versus SDMA.



2. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La muestra se describe por medio de frecuencias y porcentajes para las variables cualitativas y por media ± desviación típica o mediana (percentil 25-percentil 75) para las variables cuantitativas, en función del ajuste de las variables a la distribución normal. La hipótesis principal se evaluó por medio de regresión de Cox, realizándose un análisis de la variable ADMA cruda y ajustada por otras variables, incluida la variable edad dependiente de tiempo. No se usó ningún algoritmo de selección de variables.

Se aplicó Kaplan-Meier para valorar la supervivencia comparando el grupo formado por el cuartil superior de ADMA (p>75) frente al resto.

Se calcularon las probabilidades de exitus a la finalización del estudio por medio de una Regresión Logística. Asimismo, se exploraron las hipótesis secundarias utilizando comparación de medias de ADMA por medio de ANOVA (para más de dos grupos), T test o test de U de Mann-Whitney (para dos variables, según la forma de la distribución). En los T test se realizó la corrección de Welch cuando la prueba con homogeneidad de varianzas de Levene resultó significativa.

Para evaluar la asociación de ADMA con variables cuantitativas continuas, se hizo un diagrama de puntos y para aquellos diagramas en los que existía linealidad en la relación, se presentó el coeficiente de correlación de Pearson y se contrastó el dato muestral frente a la hipótesis nula de p=0. Por último, se categorizó ADMA según su cuartil superior, comparando el cuartil con mayor concentración de ADMA frente al resto.

Se evaluaron las asociaciones respecto a las variables cualitativas por medio de test de Fisher, según se cumplieran o no las condiciones de aplicación para el primero, y respecto a variables continuas utilizando T-test o test de U de Mann-Whitney, según el criterio anterior.

Resultados

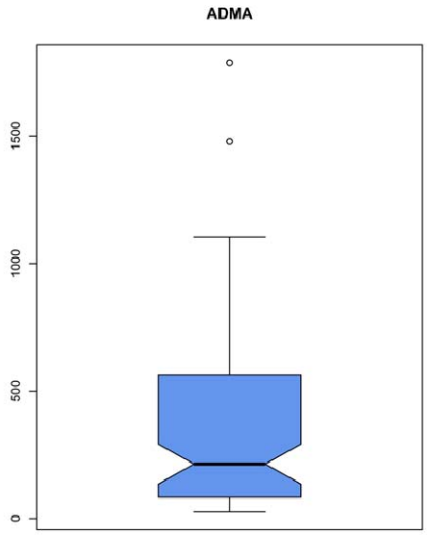
CAPÍTULO V. RESULTADOS

1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LA MUESTRA POBLACIONAL

1.1. CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS Y CLÍNICAS BASALES DE LA MUESTRA

El presente estudio fue llevado a cabo en un total de 94 pacientes seleccionados al azar (primeras 94 muestras recibidas en la Unidad de Investigación) de los 231 pacientes sometidos a tratamiento con diálisis en la unidad de hemodiálisis crónica del centro periférico perteneciente al Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín, a quienes se les realizó la determinación de ADMA. Al analizar los resultados, se observó que uno de los pacientes presentaba un resultado de ADMA anormalmente elevado, con 8,4 desviaciones típicas por encima de la media (z=8,4), presentando el siguiente valor más elevado una z= 2,2. Debido a que el valor de este resultado era mayor de 3 desviaciones estándar por encima de la media, se decidió desecharlo al considerar que se debía tratar de un error de medición. Por lo tanto, la muestra total a estudio fueron 93 pacientes. (Figura 33)

Figura 33. Muestra total del estudio sin extremo del que se prescinde para el análisis estadístico.



La población a estudio presentaba una edad media de 64,7±13,1 años siendo el 62,4% hombres y el 37,6% mujeres. Un 45,2% eran diabéticos, siendo la nefropatía diabética la etiología más frecuente de enfermedad renal (37,6%). El tiempo medio de permanencia en hemodiálisis era de 1975,8±1327,4 días. A continuación se muestran las características de la población estudiada (Tabla 10).

Tabla 10. Características demográficas y clínicas basales de la muestra.

Datos Demográficos	Edad (años)	66(56-75)
	Sexo	Hombre: 58 (62,4%) Mujer: 35 (37,6%)
Datos Clínicos	Peso seco (Kg)	71,0 ± 13,4
	IMC (Kg/m^2)	25,7 ± 4,7
	IMC ≥ 30 Kg/m^2	Sí: 16 (17,2%) No: 77 (82,8%)
	Tiempo en HD (meses)	53,1(31,8-89,7)
	Acceso vascular	Fístula arteriovenosa: 72 (77,4%) Acceso vascular protésico: 6 (6,5%) Catéter venoso central: 15 (16,1%)
	Índice de Charlson	4(3-5)
	Etiología de la ERC	Nefropatía diabética: 35 (37,6%) Nefroangioesclerosis: 6 (6,5%) Poliquistosis renal: 10 (10,8%) Glomerulonefritis: 13 (14%) Otras: 21 (22,6%) No filiada: 8 (8,6%)
	DM	Sí: 42 (45,2%) No: 51 (54,8%)
	PAS prediálisis (mmHg)	130(120-140)
	PAD prediálisis (mmHg)	70(63.8-80)
	PAS ≥140 mmHg.	Sí: 36 (39,1%) No: 56 (60,9%)
	PAD ≥90 mmHg.	Sí: 2 (2,2%) No: 90 (97,8%)
	PA elevada	Sí: 36 (39,1%) No: 56 (60,9%)
	Presión del pulso (mmHg)	61,4 ± 13,7

Los valores están expresados mostrando media ± desviación si se trata de una variable continua que sigue una distribución normal, o mediana (p25-p75) (si la variable es continua pero no sigue una distribución normal). Si se trata de una variable categórica, los valores están expresados como número de casos (porcentaje).

1.2. DATOS ANALÍTICOS DE LA MUESTRA

Los datos analíticos promedio de la población se muestran en la siguiente tabla. (Tabla 11)

Tabla 11. Datos analíticos de la muestra.

Datos Analíticos	Glucosa (mg/dL)	90 (72-127)
	Urea prediálisis (mg/dL)	145,6±36,8
	Urea postdiálisis (mg/dL)	38 (32,2-47,8)
	Calcio (mg/dL)	9,2 (8,8-9,5)
	Fósforo (mg/dL)	5,1±1,4
	Fósforo ≥ 4,5 mg/dL	60 (67,4%)
	Fósforo < 4,5 mg/dL	29 (32,6%)
	Producto calcioxfósforo (mg^2/dL^2)	46,9±13,1
	25OH vitamina D (ng/mL)	14 (9-20)
	PTHi (pg/mL)	339,5 (191-551,4)
	PTHi corregida Nichols	221,7 (109,2-396,1)
	Albúmina (g/dL)	3,9 (3,6-4)
	Albúmina ≤ 3,5 g/dL	13 (14,6%)
	Albúmina > 3,5 g/dL	76 (85,4%)
	Colesterol (mg/dL)	143,3±31,6
	Colesterol ≥ 200 mg/dL	4 (4,5%)
	Colesterol < 200 mg/dL	85 (95,5%)
	Triglicéridos (mg/dL)	106 (82-138)
	ApoA1 (mg/dL)	129 (112-154)
	ApoB (mg/dL)	57 (48-66)
	Hemoglobina (g/dL)	12,3 ± 1,3
	Hemoglobina ≥ 11 g/dL	72 (80,9%)
	Hemoglobina < 11 g/dL	17 (19,1%)
	Hematocrito (%)	35,6 ± 3,9
	PCR (mg/L)	3,4 (1,6-10,2)
	PCR ≥ 5 mg/L	33 (37,1%)
	PCR < 5 mg/L	56 (62,9%)
	Homocisteína (µmol/L)	24,4 (19,6-36,9)
	Homocisteína ≥ 15 µmol/L	84 (94,4%)
	Homocisteína < 15 µmol/L	5 (5,6%)
	ADMA ($x10^3$µmol/L)	213,6 (82,8-563,8)

Los valores están expresados mostrando media ± desviación si se trata de una variable continua que sigue una distribución normal, o mediana (p25-p75) (si la variable es continua pero no sigue una distribución normal). Si se trata de una variable categórica, los valores están expresados como número de casos (porcentaje).

1.3. DATOS DE ADECUACIÓN DE DIÁLISIS DE LA MUESTRA

A continuación se reflejan los datos de adecuación de diálisis de la muestra. (Tabla 12)

Tabla 12. Datos de adecuación de diálisis.

Datos de Adecuación de Diálisis	PRU (%)	73(67,7-78,1)
	Kt/V simple	1,3±0,4
	Kt/V Daugirdas	1,5±0,4
	Kt/V Maduell	1,3±0,4
	Kt/V equilibrado	1,3(1,1-1,6)
	Diálisis adecuada (Kt/V≥1,2 o PRU≥65%)	Sí: 68 (79,1%) No: 18 (20,9%)

Los valores están expresados mostrando media ± desviación si se trata de una variable continua que sigue una distribución normal, o mediana (p25-p75) (si la variable es continua pero no sigue una distribución normal). Si se trata de una variable categórica, los valores están expresados como número de casos (porcentaje).

1.4. DATOS DE MEDICACIÓN QUE TOMABAN LOS PACIENTES EN EL MOMENTO DEL ESTUDIO

Se recogió la medicación que tomaban los pacientes en el momento de la determinación analítica, y se analizó si recibían tratamiento con ácido acetilsalicílico, IECAs, ARAII, paricalcitol y/o estatinas. (Tabla 13)

Tabla 13. Datos de medicación que tomaban los pacientes en el momento del estudio.

Medicación (si/no)	Ácido acetilsalicílico	Sí: 63 (67%) No: 31 (33%)
	Estatinas	Sí: 65 (69,9%) No: 28 (30,1%)
	Paricalcitol	Sí: 37 (39,8%) No: 56 (60,2%)
	IECAs y/o ARAII	Sí: 22 (23,7%) No: 71 (73,3%)
	Medicación antihipertensiva (IECAs y/o ARAII y/o calcioantagonistas y/o alfabloqueantes y/o betabloqueantes)	Sí: 56 (60,2%) No: 37 (39,8%)

Los valores están expresados mostrando número de casos (porcentaje).

1.5. DATOS ECOCARDIOGRÁFICOS

Se analizaron también los datos ecocardiográficos para valorar función del ventrículo izquierdo y presencia o no de hipertrofia del ventrículo izquierdo. (Tabla 14)

Tabla 14. Datos ecocardiográficos.

Datos ecocardiográficos	FE (%)	64(58-69,8)
	Disfunción VI (FE < 55%)	Sí: 13 (15,1%) No: 73 (84,9%)
	PP (mm)	12,4±2,3
	SIV (mm)	12,7(11,5-14)
	HVI (PP o SIV ≥ 11 mm)	Sí: 70 (85,4%) No: 12 (14,6%)

Los valores están expresados mostrando media ± desviación si se trata de una variable continua que sigue una distribución normal, o mediana (p25-p75) (si la variable es continua pero no sigue una distribución normal). Si se trata de una variable categórica, los valores están expresados como número de casos (porcentaje).

1.6. EVOLUCIÓN A 18 MESES: MORBILIDAD CARDIOVASCULAR

Tras 18 meses de seguimiento se observaron 15 eventos cardiovasculares en la muestra estudiada. (Tabla 15)

Tabla 15. Evolución a 18 meses: eventos cardiovasculares.

Evolución a 18 meses	Evento cardiovascular (ECV)(si/no)	Sí: 15 (16,1%) - Cardiopatía isquémica: 7(7,5%) - ACV: 1 (1,1%) - Isquemia intestinal: 2 (2,2%) - Enfermedad arterial periférica: 5 (5,4%) No: 78 (83,9%)

Los valores están expresados mostrando el número de casos (porcentaje).

1.7. EVOLUCIÓN A 36 MESES: MORTALIDAD GLOBAL Y DE CAUSA CARDIOVASCULAR

A los 36 meses de seguimiento, se observó una mortalidad global del 30,1% con 28 exitus, de los cuales 15 fueron de causa cardiovascular. (Tabla 16)

Tabla 16. Evolución a 36 meses: mortalidad global y causa de la misma.

Evolución a 36 meses	Exitus (si/no)	Sí: 28 (30,1%) No: 65 (69,9%)
	Causa exitus	ECV: 15 (53,6%) - Cardiopatía isquémica: 6 (21,4%) - ACV: 2 (7,1%) - Isquemia intestinal: 2 (7,1%) - Enfermedad arterial periférica: 5 (17,9%) No ECV: 13 (46,4%) - Infecciosa: 3 (10,7%) - Tumoral: 2 (7,1%) - Retirada de tratamiento: 3 (10,7%) - Shock hemorrágico: 1 (3,6%) - Hematoma subdural: 1 (3,6%) - Muerte súbita y/o PCR: 3 (10,7%)

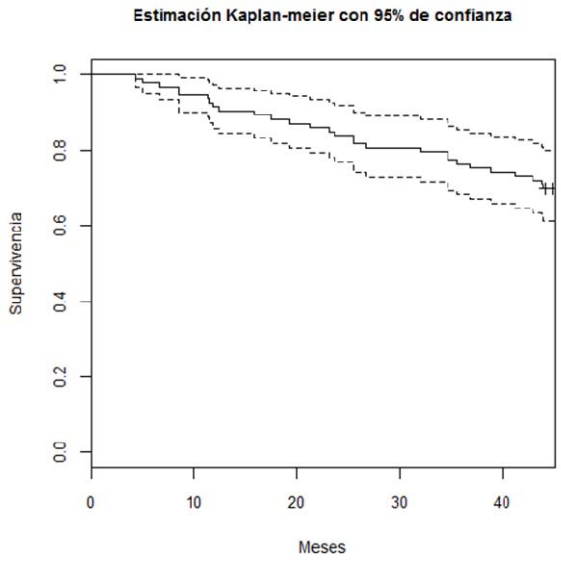
Los valores están expresados mostrando el número de casos (porcentaje).

2. ADMA, MORTALIDAD Y EVENTOS CARDIOVASCULARES

2.1. ADMA Y MORTALIDAD GLOBAL

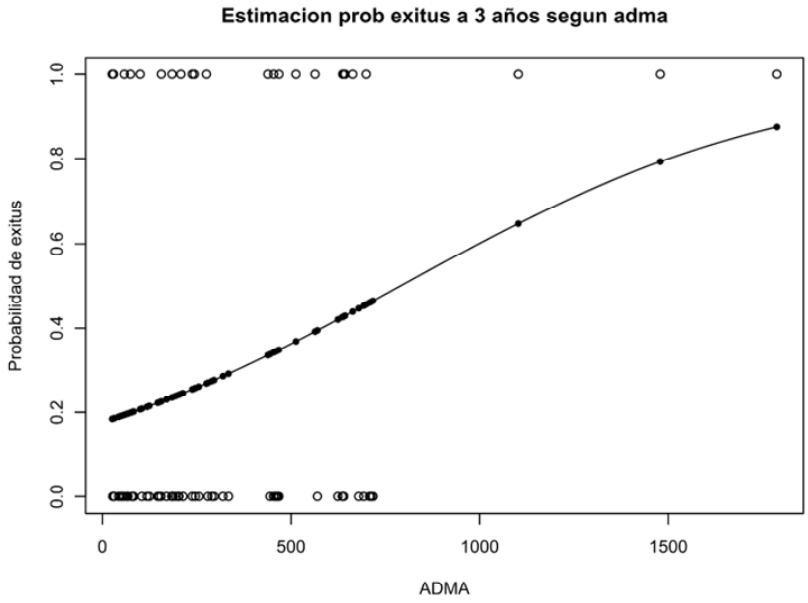
Si analizamos la mortalidad global de la cohorte, observamos que había una supervivencia del 91,4% a los 12 meses, del 83,9% a los 24 meses y del 76,3% a los 36 meses. (Figura 34)

Figura 34. Mortalidad global de la cohorte.



Tomando ADMA como una variable continua, vemos como a medida que aumenta la concentración de ADMA, existe mayor riesgo de mortalidad a la finalización del estudio, con una relación significativa (**p=0,0033**). Se aprecia además como a medida que aumentan los niveles de ADMA, aumenta también la probabilidad de exitus. (Figura 35)

Figura 35. Curva basada en modelo de regresión logística que muestra la probabilidad de exitus en relación con los niveles de ADMA.



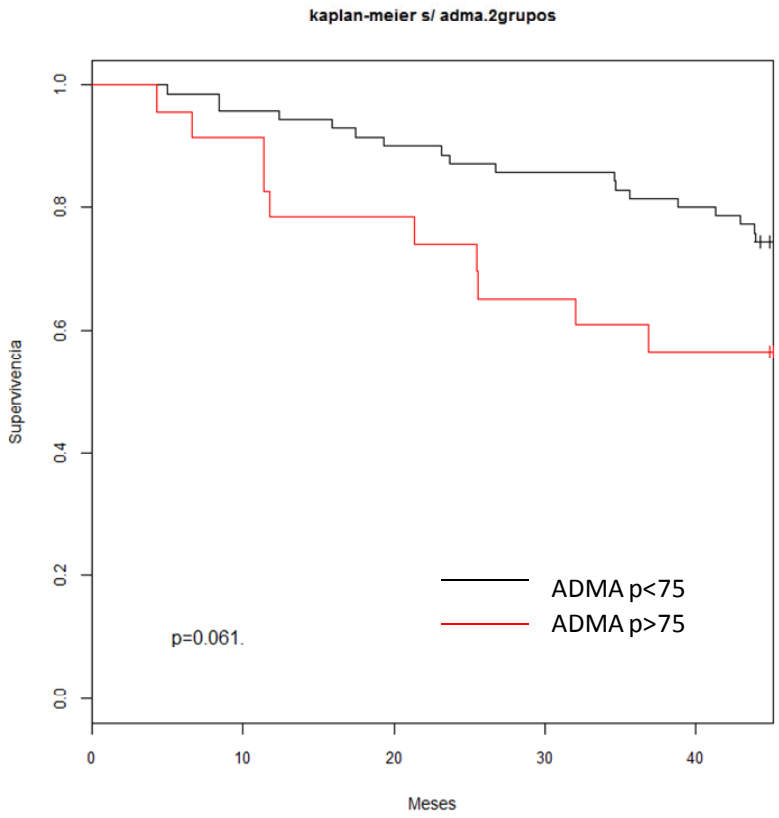
Para obtener una curva de Kaplan-Meier convertimos ADMA en una variable categórica. Dado que los niveles de ADMA son muy variables en los diferentes estudios publicados, especialmente en pacientes en hemodiálisis (Vanholder et al., 2007), decidimos separar la muestra tomando un punto de corte arbitrario, basándonos en lo que habían hecho otros autores (Zoccali et al., 2001). De esta manera, separamos la muestra en un grupo con ADMA muy alto, incluyendo aquellos valores de ADMA que se encontraban por encima del percentil 75, en contraposición con el resto. La media de ADMA en el cuartil superior era de 759,2±296,8 x 10^3µmol/L, mientras que en el grupo conformado por los otros 3 cuartiles era de 194,6±146,7 x 10^3µmol/L. (Tabla 17)

Tabla 17. Estadísticos de la variable ADMA categórica.

	ADMA p<75	ADMA p>75
n	70	23
media	194,6	759,2
SD	146,7	296,8
Mínimo	26	**570,0**
P25	69,5	637,5
Mediana	184,2	641,5
P75	253,4	703,7
Máximo	**563,8**	1787,8
swilks	<0,001	<0,001

De esta manera, tomando ADMA como una variable categórica, observamos como también existe una mayor mortalidad en el grupo con ADMA más alto (ADMA p>75), aunque no llega al umbral de la significación estadística (p=0,061). La supervivencia a los 36 meses en el cuartil superior de ADMA es de un 60,9%, mientras que en el resto de los pacientes, es de un 81,4%. (Figura 36)

Figura 36. Análisis de supervivencia (Kaplan-Meier) para evaluar la correlación entre ADMA (como variable categórica) y mortalidad.



En un modelo en el que se incluye solo ADMA (como variable continua) como variable predictora de mortalidad su valor es significativo (**p=0,0033**). Cuando en el modelo se incluyen otras variables (edad, sexo, HTA y DM), ADMA mantiene su valor predictor de mortalidad, aunque pierde significación. (Tablas 18 y 19)

Tabla 18. Riesgo de mortalidad por ADMA como variable continua ajustado por edad como variable dependiente de tiempo. Análisis de regresión de los riesgos proporcionales de Cox multivariado.

	coef	Exp (β)	se (coef)	se^2	Chisq	DF	p
ADMA (10^3µmol/L)	0,0008534	1,00085376	0,000518	0,0005164	2,71	1	0,099
Edad (meses), linear	0,0029207	1,00292497	0,001726	0,0017262	2,86	1	0,091
Edad (meses), no linear					2,99	2,99	0,390

Tabla 19. Riesgo de mortalidad por ADMA como variable continua ajustado por edad como variable dependiente de tiempo, sexo varón, PA elevada y DM. Análisis de regresión de los riesgos proporcionales de Cox multivariado.

	coef	Exp (β)	se (coef)	se^2	Chisq	DF	p
DM	-0,033293	0,96725511	0,4194719	0,4163003	0,01	1	0,940
Sexo varón	0,179841	1,19702702	0,4220317	0,4192570	0,18	1	0,670
PA elevada	-0,364224	0,69473556	0,4556155	0,4521342	0,64	1	0,096
Edad (meses), linear	0,034527	1,03512998	0,0207653	0,0207653	2,76	1	0,096
Edad (meses), no linear					2,8	2,95	0,410
ADMA (10^3µmol/L)	0,001023	1,00102352	0,0005755	0,0005739	3,16	1	0,075

2.2. ADMA Y MORTALIDAD DE CAUSA CARDIOVASCULAR

Con respecto a la asociación entre ADMA y la mortalidad por causa cardiovascular a los 36 meses de seguimiento, vemos que no existe asociación. (Figura 37 y Tabla 20)

Figura 37. Curva de Kaplan-Meier para evaluar la presencia de eventos cardiovasculares según los niveles de ADMA.

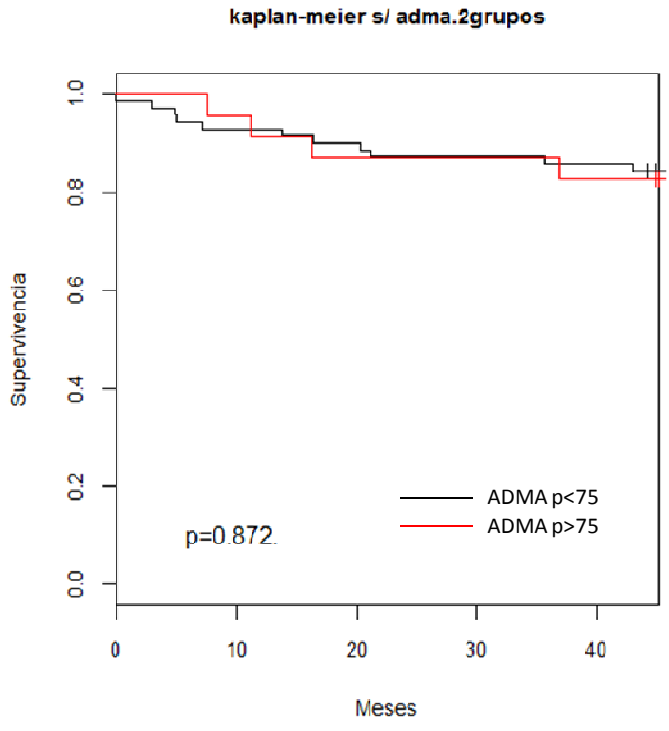


Tabla 20. Asociación entre ADMA (variable categórica) muy elevado y exitus de causa cardiovascular.

	No exitus o exitus no de causa CV (n=78)	Exitus de causa CV (n=15)
ADMA p<75 (n=70)	59(84,3%)	11(15,7%)
ADMA p>75 (n=24)	19(82,6%)	4(17,4%)
	p=1 (Fisher test)	

Los valores están expresados mostrando el número de casos (porcentaje).

2.3. ADMA Y EVENTOS CARDIOVASCULARES

En cuanto al análisis que se hizo a los 18 meses para evaluar la presencia de eventos cardiovasculares (mortales o no), realizando un análisis de regresión de Cox comparando ADMA con eventos cardiovasculares, no se observa una correlación significativa (p=0,32). (Tabla 21)

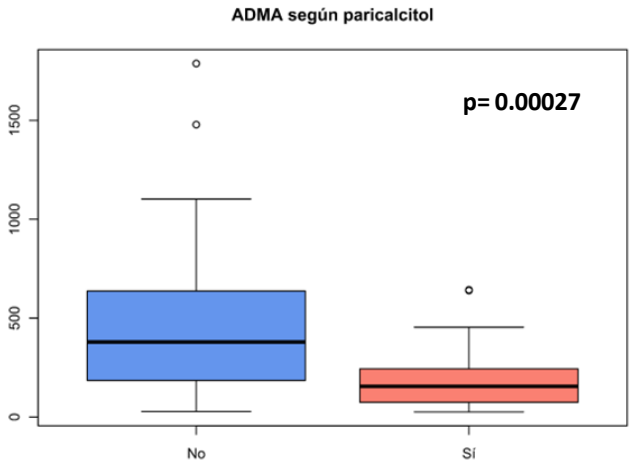
Tabla 21. Riesgo de presentar un evento cardiovascular a los 18 meses según niveles de ADMA como variable continua ajustado por edad como variable dependiente de tiempo. Análisis de regresión de los riesgos proporcionales de Cox multivariado.

	coef	Exp (β)	se (coef)	se^2	Chisq	DF	p
ADMA (10^3µmol/L)	0,000695	1,00069524	0,0006946	0,0006919	1	1	0,32
Edad (meses), linear	0,027286	1,02766167	0,0241213	0,0241213	1,28	1	0,26
Edad (meses), no linear					2,78	2,91	0,41

3. ADMA Y TRATAMIENTO

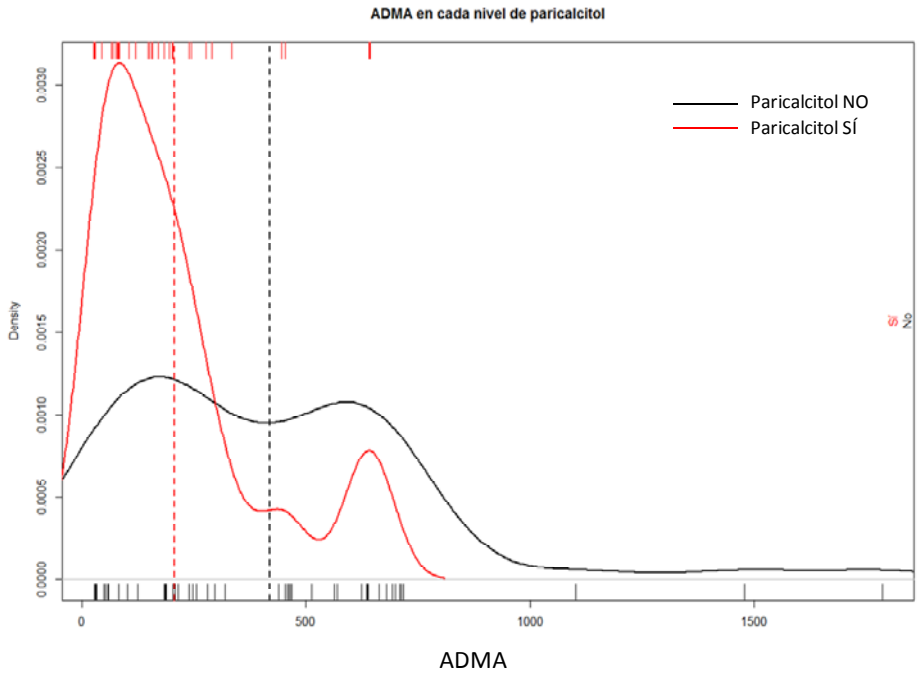
Con respecto a la relación existente entre niveles de ADMA y tratamiento, analizamos el tratamiento con IECAs y/o ARAII, ácido acetilsalicílico, estatinas y paricalcitol. Tomando ADMA como variable categórica sólo se observó que existía una diferencia estadísticamente significativa entre niveles de ADMA con paricalcitol, de manera que aquellos pacientes que estaban en tratamiento con paricalcitol presentaba unos niveles medios de ADMA más bajos (206,5±187,4 x 10^3µmol/L), que el grupo que no recibía tratamiento con este fármaco (418,6±348,3 x 10^3µmol/L), con una **p=0,00027**. (Figura 38)

Figura 38. Figura de cajas y bigotes donde se muestra la diferencia entre niveles de ADMA en grupos con y sin paricalcitol.



En la figura 39 se muestra como los pacientes en tratamiento con paricalcitol (en rojo) se agrupan al principio de la gráfica, donde los niveles de ADMA son menores, mientras que aquellos pacientes que no recibían el fármaco (en negro) se distribuían más uniformemente a lo largo del eje de ordenadas.

Figura 39. Histograma de niveles de ADMA según los pacientes estén en tratamiento con paricalcitol (línea roja) o no (línea negra).



Tomando ADMA como una variable categórica, esta asociación se mantenía, con una **p=0,014**. (Tabla 22)

El resto de los fármacos analizados, no mostraban diferencias estadísticamente significativas con ADMA, analizando esta última como variable categórica y como continua. (Figura 40 y Tabla 22)

Figura 40. Figura de cajas y bigotes donde se muestra la diferencia entre niveles de ADMA y la medicación.

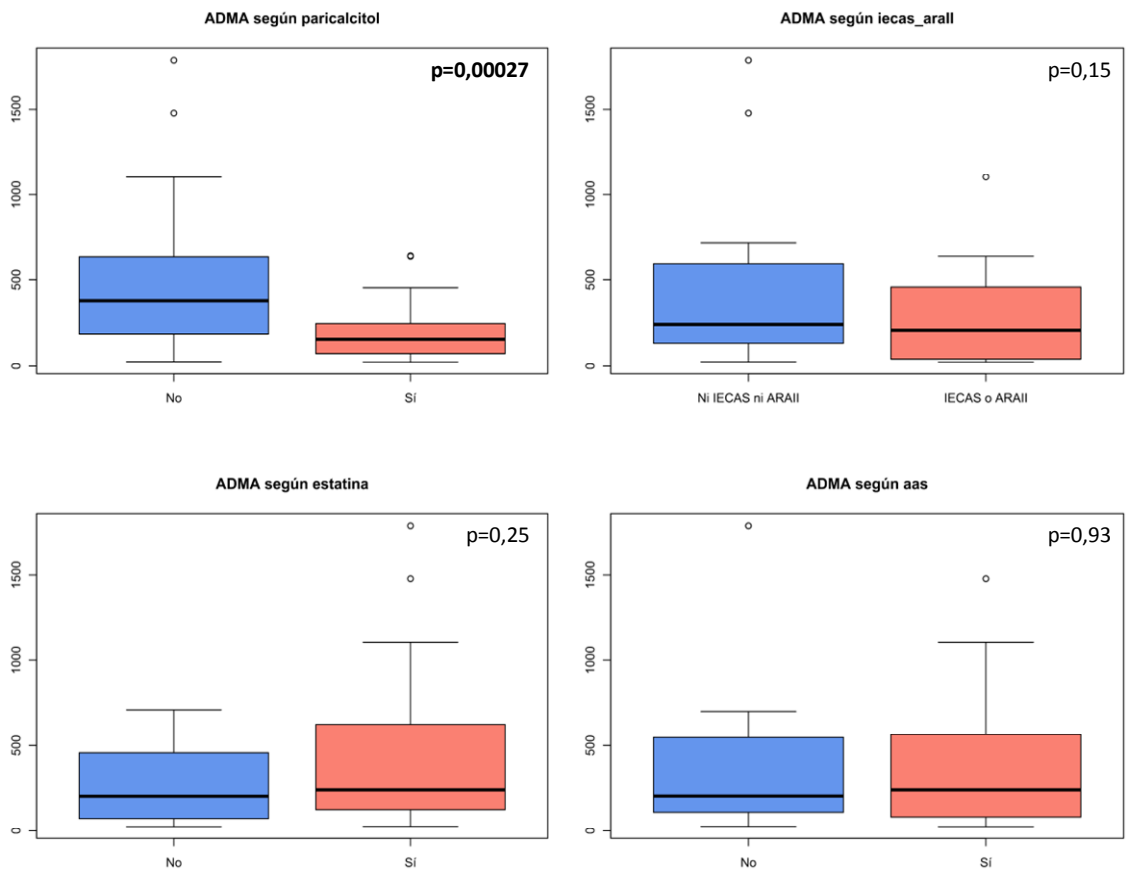


Tabla 22. Asociación entre niveles de ADMA y medicación.

Variables	ADMA p<75 (n=70)	ADMA p>75 (n=23)	Valor de p (Fisher test)
IECAs o ARAII			0,577
Ni IECAS ni ARAII, n(72)	53(73,6%)	19(26,4%)	
IECAS y/o ARAII, n(21)	17(81%)	4(19%)	
Paricalcitol			**0,014**
No, n(56)	37(66,1%)	19(33,9%)	
Sí, n(37)	33(89,2%)	4(10,8%)	
AAS			1
Sí, n(62)	47(75,8%)	15(24,2%)	
No, n(31)	23(74,2%)	8(25,8%)	
Estatinas			0,795
Sí, n(65)	48(73,8%)	17(26,2%)	
No, n(28)	22(78,6%)	6(21,4%)	

Los valores están expresados mostrando el número de casos (porcentaje).

Al analizar la relación entre los grupos con y sin paricalcitol con otras variables, se observó que no existían diferencias en ambos grupos en cuanto a edad, sexo, tratamiento (IECA y/o ARAII, estatinas y ácido acetilsalicílico), 25OH vitamina D, PTHi (estándar y corregida de Nichols), Kt/V Daugirdas, Kt/V equilibrado, homocisteína, tiempo en HD, calcio, fósforo, glucemia basal, IMC, colesterol y albúmina (p>0,05). Sí que se observó sin embargo, que en el grupo sin paricalcitol había más diabéticos que en el grupo con paricalcitol (**p=0,019** Fisher Test).

Tabla 23. Diferencias entre grupos con y sin paricalcitol.

Variables categóricas	No paricalcitol (n=56)	Sí paricalcitol (n=37)	Valor p (Fisher test)
SEXO			1
Hombre, n(57)	34(59,6%)	23(40,4%)	
Mujer, n(35)	21(60%)	14(40%)	
DM			**0,019**
No, n(51)	25(49%)	26(51%)	
Sí, n(42)	31(73,8%)	11(26,2%)	
IECAS y/o ARAII			1
Ni IECAS ni ARAII, n(71)	43(60,6%)	28(39,4%)	
IECAS o ARAII, n(22)	13(59,1%)	9(40,9%)	
AAS			0,27
Sí, n(62)	40(64,5%)	22(35,5%)	
No, n(31)	16(51,6%)	15(48,4%)	
Estatina			1
Sí, n(65)	39(60%)	26(40%)	
No, n(28)	17(60,7%)	11(39,3%)	
Medicación antiHTA			0,83
Si, n(56)	33(58,9%)	23(41,1%)	
No, n(37)	23(62,2%)	14(37,8%)	
PAS ≥ 140 mmHg			1
Si, n(36)	22(61,1%)	14(38,9%)	
No, n(56)	34(60,7%)	22(39,3%)	
PAD ≥ 90 mmHg			1
Si, n(56)	1(50%)	1(50%)	
No, n(37)	55(61,1%)	35(38,9%)	
Variables continuas			**Valor p (T test para grupos independientes)**
Edad (años)	66,2±13,0	62,4±13,1	0,17
IMC (Kg/m^2)	25,6±4,6	25,9±4,8	0,78
Tiempo en HD (meses)	58±33,4	74,7±55,2	0,12
Glucosa basal (mg/dL)	111,8±57,5	108,4±77,1	0,82
Colesterol (mg/dL)	146,4±34,7	138,7±26,2	0,26
Albúmina (g/dL)	3,8±0,4	3,8±0,3	0,45
Ca (mg/dL)	9,2±0,5	9,1±0,7	0,36
P (mg/dL)	5,2±1,6	4,9±1,1	0,31
PTHi (pg/mL)	417,2±375,7	487,5±423,2	0,41
PTHi corregida Nichols	292,8±293	336,3±330,1	0,52
25 OH Vitamina D (ng/dL)	14,4±7,9	19,8±16,8	0,08
Homocisteína (µmol/L)	32±22,2	31,76±24,3	0,96
Kt/V daugirdas	1,6±0,4	1,5±0,4	0,76
Kt/V equilibrado	1,3±0,5	1,2±0,5	0,36

Los valores están expresados mostrando el número de casos (porcentaje) en las variables categóricas y media±desviación típica en las variables continuas.

Para analizar la diferencia observada entre ambos grupos en cuanto a la presencia o no de DM, se llevó a cabo un análisis de la varianza (ANOVA) segmentado, y se observó que en los pacientes diabéticos, los que recibieron paricalcitol tuvieron niveles más bajos de ADMA que los que no recibieron paricalcitol (**p=0,0342**). (Tablas 24, 27 y 28) Asimismo, se observó también que en los pacientes que no eran diabéticos los que recibieron paricalcitol tuvieron también niveles más bajos de ADMA que los que no recibieron paricalcitol (**p=0,0157**). Por otro lado, al realizar un análisis multivariado de ADMA como variable dependiente y paricalcitol como variable independiente se observa el efecto de paricalcitol no hace interacción con la presencia o no de diabetes mellitus, ni con niveles de 25OH vitamina D, de manera que el efecto principal de paricalcitol sobre ADMA se mantiene significativo (**p=0,002**). (Tablas 25, 26 y 29)

Tabla 24. Anova analizando ADMA como variable dependiente y paricalcitol como variable independiente. Interacción con la DM.

	Estimación	Error estándar	Valor t	Valor p
(Intercept)	403,26	53,12	7,591	**<0,001**
Paricalcitol sí	-205,03	64,95	-3,157	**0,002**
DM	27,76	63,88	0,435	0,66

Tabla 25. Anova analizando ADMA como variable dependiente y paricalcitol como variable independiente. Interacción con la vitamina D.

	Estimación	Error estándar	Valor t	Valor p
(Intercept)	451,71	53,83	8,39	**<0,001**
Paricalcitol sí	-181,39	63,96	-2,84	**0,006**
Vitamina D	-3,1	2,53	-1,23	0,22

Tabla 26. Anova analizando ADMA como variable dependiente y paricalcitol como variable independiente. Interacción con la DM y la vitamina D.

	Estimación	Error estándar	Valor t	Valor p
(Intercept)	440,45	62,91	7	**<0,001**
Paricalcitol sí	-175,47	66,46	-2,64	**0,01**
Vitamina D	-3,15	2,54	-1,24	0,23
DM	22,6	64,41	0,35	0,73

Tabla 27. Anova analizando ADMA como variable dependiente y paricalcitol como variable independiente, en pacientes con DM

	Estimación	Error estándar	Valor t	Valor p
(Intercept)	451,77	66,33	6,81	**<0,001**
Paricalcitol sí	-284,24	129,62	-2,19	**0,034**

Tabla 28. Anova analizando ADMA como variable dependiente y paricalcitol como variable independiente, en pacientes sin DM.

	Estimación	Error estándar	Valor t	Valor p
(Intercept)	377,53	44,09	8,56	**<0,001**
Paricalcitol sí	-154,56	61,75	-2,50	**0,016**

Tabla 29. Anova analizando ADMA como variable dependiente y paricalcitol como variable independiente, e interacción con DM y vitamina D.

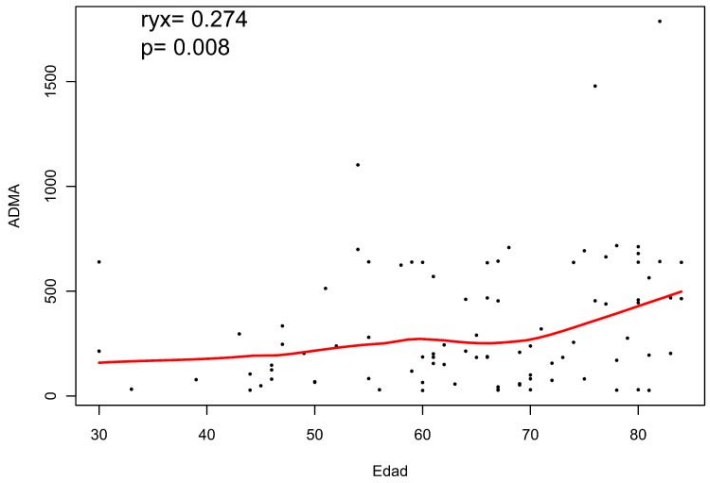
	Estimación	Error estándar	Valor t	Valor p
(Intercept)	350,57	59,41	5,9	**<0,001**
Paricalcitol sí	-125,31	82,48	-1,52	0,13
DM	65,49	79,67	0,82	0,41
Vitamina D (centrado)	-10,01	5,11	-1,96	0,05
Paricalcitol: DM	-114,22	133,97	-0,85	0,4
Paricalcitol: Vitamina D (centrado)	9,15	5,88	1,56	0,12

4. OTRAS RELACIONES CON ADMA

4.1. ADMA Y EDAD

Estudiamos la relación entre ADMA y edad, y comprobamos que existe una relación estadísticamente significativa entre ambas variables, de manera que a mayor edad, mayores son los niveles de ADMA (p=0,008; r=0,274). Aquellos pacientes con niveles de ADMA en el cuartil superior presentaban una media de edad de 68,4±13,1 años, mientras que el resto tenían 63,5±13 años. (Figura 41)

Figura 41. Correlación de Pearson entre edad y niveles de ADMA.



4.2. ADMA E HIPERTENSIÓN ARTERIAL

Analizamos aquellos pacientes que recibían medicación antihipertensiva (IECAs y/o ARAII y/o calcioantagonistas y/o alfabloqueantes y/o betabloqueantes) sin observar diferencias significativas, presentando el grupo sin medicación antihipertensiva unos niveles medios de ADMA 365,9±235,2 x 10^3µmol/L, y el grupo con medicación antihipertensiva 313,3±353,9 x 10^3µmol/L (p=0,43). Analizando ADMA como variable categórica, en la comparación de los dos grupos tampoco se observaron diferencias significativas (p=0,46). (Tabla 30)

Tabla 30. Probabilidad de estar en el grupo ADMA p>75 según el hecho de recibir medicación antihipertensiva o no.

	ADMA p < 75 (n=70)	ADMA p > 75 (n=23)	Valor p (Fisher test)
Medicación antihipertensiva			0,46
No, n(37)	26(70,3%)	11(29,7%)	
Sí, n(56)	44(78,6%)	12(21,4%)	

Los valores están expresados mostrando número de casos (porcentaje).

Analizamos también la variable PA elevada (PAS≥140 mmHg y/o PAD≥90 mmHg), observando una diferencia marginalmente significativa en ADMA entre ambos grupos (p=0,053). (Tabla 31) Se apreció una tendencia a que ADMA estuviera más elevado en

aquellos pacientes con la PA prediálisis menor de 140/90 mmHg (396±352,7 x 10^3 µmol/L) en comparación con el grupo de pacientes con la PA prediálisis mayor o igual a 140/90 mmHg (241,8±210,9 x 10^3 µmol/L) con una **p=0,001**.

Tabla 31. Probabilidad de estar en el grupo ADMA p>75 según niveles de PA.

	ADMA p < 75 (n=70)	ADMA p > 75 (n=23)	Valor p (Fisher test)
PA prediálisis elevada			0,053
No, n(56)	38(67,9%)	18(32,1%)	
Si, n(36)	31(86,1%)	5(13,9%)	
PAS ≥ 140 mmHg (prediálisis)			0,053
No, n(56)	38(67,9%)	18(32,1%)	
Si, n(36)	31(86,1%)	5(13,9%)	
PAD ≥ 90 mmHg (prediálisis)			1
No, n(90)	67(74,4%)	23(25,6%)	
Si, n(2)	2(100%)	0(0%)	

Los valores están expresados mostrando número de casos (porcentaje).

Finalmente, analizamos también la relación existente entre la variable ADMA y la presión del pulso, sin encontrar diferencias significativas entre ambos grupos al hacer un análisis mediante una correlación de Pearson (p=0,194; r=-0,137).

4.3. ADMA Y DIABETES MELLITUS

No se observaron diferencias significativas en ADMA entre los que tienen diabetes y los que no (p>0,05), aunque el grupo de diabéticos presentaba unos niveles de ADMA superiores (380,6±413,1 x 10^3 µmol/L) al grupo de no diabéticos (312,2±250,7 x 10^3 µmol/L) con una p=0,33. Al analizar ADMA como variable categórica, tampoco se observaron diferencias significativas. (Tabla 32)

Tabla 32. Probabilidad de estar en el grupo ADMA p>75 según presencia o no de DM.

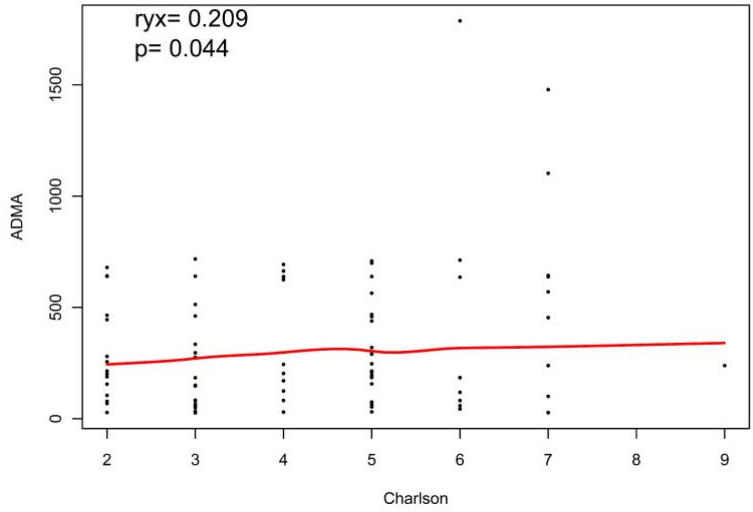
	ADMA p < 75 (n=70)	ADMA p > 75 (n=23)	Valor p (Fisher test)
DM			0,8
No, n(63)	48(76,2%)	15(23,8%)	
Si, n(30)	22(73,3%)	8(26,7%)	

Los valores están expresados mostrando número de casos (porcentaje).

4.4. ADMA E ÍNDICE DE CHARLSON

Observamos una correlación significativa con el índice de Charlson con una p=0,044 (r=0,209). (Figura 42) El grupo de pacientes con niveles de ADMA muy altos presentaba una media en el índice de Charlson de 4,7±1,7 puntos, mientras que el resto de los pacientes presentaban una media de 4,2±1,7 puntos.

Figura 42. Correlación de Pearson entre índice de Charlson y niveles de ADMA.



4.5. ADMA Y ETIOLOGÍA DE LA ERC

No se percibe que ninguna etiología de la ERC corresponda a niveles mayores de (p>0,05). (Tabla 33)

Tabla 33. Asociación entre niveles de ADMA y etiología de la ERC.

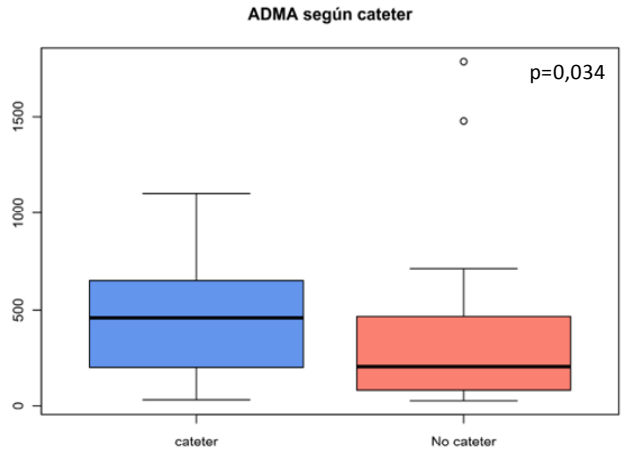
	ADMA p<75 (n=70)	ADMA p>75 (n=23)	Valor p (Fisher test)
Etiología de la ERC			0,74
Nefropatía diabética, n(35)	25(71,4%)	10(28,6%)	
Nefroangioesclerosis, n(6)	5(83,3%)	1(16,7%)	
Glomerulonefritis, n(13)	11(84,6%)	2(15,4%)	
PQRAD, n(10)	9(90%)	1(10%)	
Otras, n(21)	15(71,4%)	6(28,6%)	

Los valores están expresados mostrando número de casos (porcentaje).

4.6. ADMA Y ACCESO VASCULAR

Con respecto al acceso vascular, al analizar ADMA con un contraste no paramétrico (U de Mann-Whitney) observamos como el grupo que portaba catéter venoso central presentaba niveles de ADMA más elevado (444,6±292 x 10^3 µmol/L) que el grupo con fístula arteriovenosa o acceso vascular con prótesis de goretex (313±312,7 x 10^3 µmol/L), con una diferencia estadísticamente significativa (**p=0,034**) (Figura 43). Al ajustar sin embargo por edad, se pierde la significación estadística (p=0,26), presentando la edad una **p=0,014**.

Figura 43. Gráfico de cajas y bigotes representando valores de ADMA según los pacientes tengan o no catéter venoso central.



Si analizamos ADMA como variable categórica, no se observan diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 34. Probabilidad de estar en el grupo ADMA p>75 según el hecho de ser portador de un catéter venoso central.

	ADMA p<75 (N=70)	ADMA p>75 (N=23)	Valor p (Fisher test)
Catéter venoso Central			0,189
No n(78)	61(78,2%)	17(21,8%)	
Si n(15)	9(60%)	6(40%)	

Los valores están expresados mostrando número de casos (porcentaje).

4.7. ADMA Y RESTO DE VARIABLES

A continuación se muestra la relación existente entre el resto de las variables analizadas y ADMA. (Tablas 35, 36, 37 y 38)

Tabla 35. Análisis estadístico de relación de la ADMA (como variable continua) con otras variables continuas analizadas.

Variable		**Estadístico**
IMC (Kg/m^2)	r=0,14 (p=0,18)	Correlación de Pearson
Urea prediálisis (mg/dL)	r=0,07 (p=0,5)	Correlación de Pearson
Calcio (mg/dL)	r=-0,03 (p=0,81)	Correlación de Pearson
Fósforo (mg/dL)	r=0,008 (p=0,94)	Correlación de Pearson
Producto calcioxfósforo (mg^2/dL^2)	r=-0,0006 (p=0,99)	Correlación de Pearson
PTHi (pg/mL)	r=0,19 (p=0,08)	Correlación de Pearson
PTHi corregida Nichols	r=0,19 (p=0,08)	Correlación de Pearson
Albúmina (g/dL)	r=0,08 (p=0,48)	Correlación de Pearson
Colesterol (mg/dL)	r=0,13 (p=0,21)	Correlación de Pearson
Triglicéridos (mg/dL)	r=0,15 (p=0,16)	Correlación de Pearson
ApoA1 (mg/dL)	r=-0,03 (p=0,78)	Correlación de Pearson
ApoB (mg/dL)	r=0,14 (p=0,19)	Correlación de Pearson
Hemoglobina (g/dL)	r=-0,25 (p=**0,016**)	Correlación de Pearson
Hematocrito (%)	r=-0,2 (p=0,06)	Correlación de Pearson
PCR (mg/L)	r=0,012 (p=0,91)	Correlación de Pearson
Homocisteína (µmol/L)	r=-0,008 (p=0,94)	Correlación de Pearson
Kt/V simple	r=0,13 (p=0,24)	Correlación de Pearson
FE (%)	r=-0,12 (p=0,28)	Correlación de Pearson
PP (mm)	r=0,07 (p=0,56)	Correlación de Pearson
SIV (mm)	r=0,04 (p=0,72)	Correlación de Pearson

Tabla 36. Análisis estadístico de relación de la ADMA (como variable continua) con otras variables categóricas analizadas.

Variable	ADMA (x 10^3 µmol/L)	Valor de p
Obesidad (IMC ≥ 30 Kg/m^2)		0,11 (Test de Wilcoxon)
No, n(77)	208,2(80,1-467,9)	
Sí, n(16)	389,4(185,3-639)	
Hiperfosforemia (Fósforo ≥ 4,5 mg/dL)		0,91 (Test de Wilcoxon)
No, n(29)	202,9(100,1-635,7)	
Sí, n(60)	238,4(81,6-479,2)	
Hipovitaminosis D (25OH vitamina D ≤ 10 ng/mL)		0,35 (T-test)
No, n(58)	210,9(82-501,7)	
Sí, n(31)	238,4(113,4-546,1)	
Hipoalbuminemia (Albúmina ≤ 3,5 g/dL)		0,12 (Test de Wilcoxon)
No, n(76)	238,4(136,2-525,8)	
Sí, n(13)	81,3(30,5-438,9)	
Hipercolesterolemia (Colesterol ≥ 200 mg/dL)		0,08 (Test de Wilcoxon)
No, n(85)	208,2(81,3-467,9)	
Sí, n(4)	549,5(419,7-638,3)	
Anemia (Hemoglobina < 11 g/dL)		**0,03** (Test de Wilcoxon)
No, n(72)	201,9(79,5-456,6)	
Sí, n(17)	461(275,7-638,1)	
PCR ≥ 5 mg/L		0,79 (T-test)
No, n(56)	230(76,9-565,4)	
Sí, n(33)	213,6(156,2-467,9)	
Hiperhomocisteinemia (Homocisteína ≥ 15 µmol/L)		0,3 (Test de Wilcoxon)
No, n(5)	81,3(80,1-187,9)	
Sí, n(84)	238,3(95,8-525,8)	
Diálisis adecuada (Kt/V≥1,2 o PRU≥65%)		0,72 (Test de Wilcoxon)
No, n(18)	220,7(86,3-499,4)	
Sí, n(68)	238,3(136,2-583,6)	
HVI (PP o SIV ≥ 11 mm)		0,44 (Test de Wilcoxon)
No, n(12)	229,3(149,2-636,7)	
Sí, n(70)	210,9(78,3-501,8)	
Disfunción VI (FE < 55%)		0,37 (Test de Wilcoxon)
No, n(73)	203(80,1-467,9)	
Sí, n(13)	238,4(156,2-513,1)	

Cuando la variable a estudio sigue la normalidad se expresa media±desviación típica y se aplica T-test. Cuando la variable a estudio no sigue la normalidad se expresa mediana (p25-p75) y el estadístico aplicado es el Test de Wilcoxon, salvo que ambos grupos presenten n>30, aplicando entonces T test.

Tabla 37. Análisis estadístico de la relación de ADMA (como variable categórica) con otras variables continuas analizadas.

Variable	ADMA p<75	ADMA p>75	Valor p	Estadístico
Edad (años)	63,5±13	68,4±13,1	0,1	Test de U de Mann-Whitney
IMC (Kg/m^2)	25,6±4,5	26,3±5	0,54	T test
Tiempo en HD (meses)	63,9±44,6	69,5±42,3	0,44	Test de U de Mann-Whitney
Índice de Charlson	4,2±1,7	4,7±1,7	0,24	Test de U de Mann-Whitney
Urea prediálisis (mg/dL)	142,4±34,5	155,7±42,8	0,15	T test
Calcio (mg/dL)	9,2(8,8-9,5)	9,3(8,8-9,4)	1	Test de U de Mann-Whitney
Fósforo (mg/dL)	5,1±1,3	5,2±1,6	0,63	T test
Producto calcioxfósforo (mg^2/dL^2)	46,7±12,9	47,8±14,1	0,73	T test
25OH vitamina D (ng/mL)	17,3±13,2	14,1±9,6	0,27	Test de U de Mann-Whitney
PTHi (pg/mL)	338,8(191,9-492,6)	339,5(179,6-757,4)	0,4	Test de U de Mann-Whitney
Albúmina (g/dL)	3,9(3,6-4)	3,9(3,8-4)	0,83	Test de U de Mann-Whitney
Colesterol (mg/dL)	140,4±28,3	152,8±39,9	0,12	T test
Triglicéridos (mg/dL)	103,5(79-134)	124(98-158)	0,06	Test de U de Mann-Whitney
ApoA1 (mg/dL)	130,5(113,8-153,2)	124(110-164)	0,75	Test de U de Mann-Whitney
ApoB (mg/dL)	56(47,8-64,2)	58(52-77)	0,26	Test de U de Mann-Whitney
Hemoglobina (g/dL)	12,4±1,2	11,8±1,4	**0,049**	T test
Hematocrito (%)	35,9±3,8	34,7±4,4	0,22	T test
Kt/V simple	1,28±0,3	1,43±0,4	0,07	T test
PP (mm)	12,4±2	12,5±3,2	0,82	T test

Cuando la variable a estudio sigue la normalidad, el estadístico aplicado es un T test y se expresa media±desviación típica. Cuando la variable a estudio no sigue la normalidad, el estadístico aplicado es el Test de U de Mann-Whitney y se expresa mediana (p25-p75).

Tabla 38. Análisis estadístico de la relación de ADMA (como variable categórica) con otras variables categóricas analizadas.

Variable	ADMA p<75	ADMA p>75	Valor p (Test de Fisher)
Obesidad (IMC ≥ 30 Kg/m^2)			0,212
No, n(77)	60(77,9%)	17(22,1%)	
Sí, n(16)	10(62,5%)	6(37,5%)	
Hiperfosforemia (Fósforo ≥ 4,5 mg/dL)			0,598
No, n(29)	21(72,4%)	8(27,6%)	
Sí, n(60)	47(78,3%)	13(21,7%)	
Hipovitaminosis D (25OH vitamina D ≤ 10 ng/mL)			0,795
No, n(58)	45(77,6%)	13(22,4%)	
Sí, n(31)	23(74,2%)	8(25,8%)	
Hipoalbuminemia (Albúmina ≤ 3,5 g/dL)			1
No, n(76)	58(76,3%)	18(23,7%)	
Sí, n(13)	10(76,9%)	3(23,1%)	
Hipercolesterolemia (Colesterol ≥ 200 mg/dL)			0,235
No, n(85)	66(77,6%)	19(22,4%)	
Sí, n(4)	2(50%)	2(50%)	
Anemia (Hemoglobina < 11 g/dL)			0,108
No, n(72)	58(80,6%)	14(19,4%)	
Sí, n(17)	10(58,8%)	7(41,2%)	
PCR ≥ 5 mg/L			0,799
No, n(56)	42(75%)	14(25%)	
Sí, n(33)	26(78,8%)	7(21,2%)	
Hiperhomocisteinemia (Homocisteína ≥ 15 µmol/L)			1
No, n(5)	4(80%)	1(20%)	
Sí, n(84)	64(76,2%)	20(23,8%)	
Diálisis adecuada (Kt/V≥1,2 o PRU≥65%)			0,542
No, n(18)	15(83,3%)	3(16,7%)	
Sí, n(68)	50(73,5%)	18(26,5%)	
HVI (PP o SIV ≥ 11 mm)			0,474
No, n(12)	8(66,7%)	4(33,3%)	
Sí, n(70)	54(77,1%)	16(22,9%)	
Disfunción VI (FE < 55%)			1
No, n(73)	56(76,7%)	17(23,3%)	
Sí, n(13)	10(76,9%)	3(23,1%)	

Los valores están expresados mostrando número de casos (porcentaje).

Discusión

CAPÍTULO VI. DISCUSIÓN

La creciente epidemia de Enfermedad Renal Crónica y la fuerte asociación entre esta patología y el riesgo cardiovascular son uno de los grandes problemas a los que se enfrenta la nefrología contemporánea (Atkins, 2005). El elevado riesgo cardiovascular asociado con la insuficiencia renal, el cual aumenta a medida que progresa la enfermedad renal, y que llega a su máxima expresión en los pacientes con tratamiento renal sustitutivo está bien documentado en la literatura (Foley et al., 2005). Sin duda factores demográficos como la edad y el sexo son de primordial importancia para la enfermedad cardiovascular y la mortalidad asociada a la enfermedad renal crónica, pero aun considerando todos los factores de riesgo cardiovascular conocidos, no somos capaces de explicar el riesgo cardiovascular desproporcionado que presenta esta población. Por ello, uno de los retos a los que se enfrenta la nefrología moderna es la identificación de nuevos factores de riesgo cardiovascular modificables que permitan establecer medidas preventivas y/o terapéuticas con la intención de disminuir la morbimortalidad cardiovascular en pacientes con enfermedad renal crónica (Foley et al., 1998b).

En 1974, Lindner et al. fueron los primeros en señalar la excesiva morbilidad y mortalidad cardiovascular debido a las complicaciones de la aterosclerosis prematura en pacientes con enfermedad renal en etapa terminal (Lindner et al., 1974). Después de 40 años, este es un problema que sigue aún sin resolverse. Los pacientes en tratamiento sustitutivo renal presentan un riesgo de mortalidad por causas cardiacas, entre 10 y 100 veces superior al resto de la población ajustado por edad (Foley et al., 1998b; Parfrey et al., 1996). Se ha demostrado que la producción de NO en esta población de pacientes se encuentra significativamente disminuida (Schmidt et al., 1999b). Asimismo, existe amplia evidencia de que las concentraciones de ADMA se encuentran incrementadas de manera notable en pacientes con enfermedad renal crónica terminal, y de que esto puede contribuir al proceso de aterosclerosis (Cross et al., 2001a; Kielstein et al., 1999; Kielstein y Zoccali, 2005; MacAllister et al., 1996; Schmidt et al., 1999b; Vallance et al., 1992a; Zoccali et al., 2001). La disfunción endotelial, bien documentada en estos pacientes, podría ser consecuencia del aumento observado en la concentración de ADMA en plasma

(Hand et al., 1998; Joannides et al., 1997; Kari et al., 1997). En esta línea, Zoccali et al. publicaron en la revista Lancet en 2001, un estudio prospectivo longitudinal en 225 pacientes en programa de hemodiálisis, donde la evaluación de las concentraciones plasmáticas de ADMA mostró ser un predictor fuerte e independiente de la mortalidad general y de eventos cardiovasculares en esta población, ocupando el segundo lugar detrás de la edad, pero sorprendentemente delante de varios factores de riesgo clásicos como la hipertensión, la diabetes mellitus, la hipercolesterolemia o el tabaquismo (Zoccali et al., 2001).

1. ADMA, MORTALIDAD Y ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

En el análisis de supervivencia en nuestra cohorte observamos un 23,7% de mortalidad a los 36 meses de seguimiento, evidenciando que a mayores niveles de ADMA en plasma, existe mayor riesgo de mortalidad, con una relación significativa (**p=0,0033**). De esta manera, confirmamos que en nuestra población, ADMA parece ser un predictor fuerte e independiente de la mortalidad global en los pacientes con ERCA en programa de hemodiálisis. Sin embargo, no encontramos asociación entre ADMA y la mortalidad cardiovascular específicamente. A tenor de estos resultados, se sugiere que el vínculo entre ADMA y mortalidad por cualquier causa podría ser más fuerte que el que existe entre ADMA y mortalidad por causa cardiovascular. Esto se observó también en el estudio publicado por Aucella et al. (Aucella et al., 2009), donde encontraban asociación estadística con la mortalidad global pero no en la mortalidad por causa cardiovascular. En un estudio publicado por el mismo grupo en otra cohorte (Zoccali et al., 2001), no obstante, sí que encontraron relación entre mortalidad global y mortalidad de origen cardiovascular. En nuestro caso, esto puede deberse al escaso número de fallecimientos por causa cardiovascular (15 en toda la cohorte), o también a que muchos fallecimientos, no se codificaron como enfermedad cardiovascular por desconocer la causa real de la misma, y que posiblemente tenían un origen cardiovascular. De todos los fallecimientos detectados en nuestra cohorte, hubo 3 fallecimientos por muerte súbita y/o parada cardiorrespiratoria fuera del hospital, y dado que desconocíamos la causa exacta de exitus, no se codificaron como enfermedad cardiovascular, y 3 casos de pacientes que por

un deterioro importante del estado general, salieron de programa de hemodiálisis y fueron trasladados a paliativos, y tampoco se codificaron como enfermedad cardiovascular. Posiblemente con una cohorte mayor, se hubiera mantenido la asociación entre ADMA y mortalidad por cualquier causa, pero también se hubiera observado una asociación con la mortalidad de causa cardiovascular. No obstante, la asociación que existe entre ADMA y mortalidad global, también apunta a la posibilidad de que ADMA no sólo sea un marcador de disfunción endotelial e inflamación, sino que en la población en hemodiálisis, ADMA pueda tener también un efecto sobre la mortalidad a través de algún mecanismo no necesariamente relacionado con la enfermedad cardiovascular. Nuestros resultados son compatibles con la hipótesis de que la acumulación de ADMA en la ERCA, un proceso regulado principalmente a nivel celular por DDAH, representa un factor crítico para el elevado riesgo de mortalidad de esta población (Zoccali et al., 2001). Esto se ve corroborado por el hecho de que ADMA se ha asociado con una atenuación de la vasodilatación endotelio-dependiente (Boger et al., 1998) y también por la observación de que la infusión directa de ADMA en arterias braquiales provoca una disminución del flujo sanguíneo al antebrazo dosis-dependiente (Vallance et al., 1992a). Por otro lado, existen también evidencias de que ADMA puede ser una molécula proaterogénica, incrementando el estrés oxidativo a nivel endotelial y potenciando la adhesión celular, aumentando de esta manera el estrés oxidativo y disminuyendo la biodisponibilidad de NO y contribuyendo por tanto a la disfunción endotelial. De esta manera, ADMA se presenta como una consecuencia de la disfunción endotelial, pero también como causante de la misma.

Otro posible mecanismo que relaciona ADMA con el riesgo cardiovascular en diálisis podría ser la asociación recíproca entre ADMA y el tono simpático. Según datos experimentales, la inhibición de la síntesis del óxido nítrico con inhibidores sintéticos de la NOS conlleva un aumento en la secreción de norepinefrina a nivel de los nervios simpáticos tanto en ratas como en humanos (Costa et al., 2001; Owlya et al., 1997; Schwarz et al., 1995). Por otro lado, la activación simpática disminuye la activación simpática endotelio-dependiente y la vasodilatación mediada por óxido nítrico en humanos (Hijmering et al., 2002). La fuerte asociación entre niveles de norepinefrina y ADMA en pacientes con ERCA, apunta a que ambos probablemente se encuentren

implicados en la morbimortalidad cardiovascular en esta población (Mallamaci et al., 2004). En esta misma línea, Grassi et al. han publicado recientemente un estudio longitudinal en 14 pacientes con hipertensión arterial resistente sometidos a denervación renal bilateral, demostrando que los cambios en la actividad simpática tras la denervación renal se asociaba de manera significativa con una disminución en los niveles de ADMA (Grassi et al., 2015).

Por todo lo dicho anteriormente, ADMA no es simplemente una toxina urémica más, sino un mediador con relevancia fisiológica y patológica que puede ser útil como un marcador de diagnóstico precoz en pacientes con riesgo de progresión de la enfermedad renal, eventos cardiovasculares y mortalidad.

2. ADMA Y PARICALCITOL

Cada vez existe mayor evidencia que sugiere que la vitamina D juega un papel fundamental en la enfermedad cardiovascular (Achinger y Ayus, 2005; Chonchol et al., 2008; Giovannucci et al., 2008; Pittas et al., 2006; Wu-Wong et al., 2005) así como en la regulación de la función vascular y la inflamación (McGreevy y Williams, 2011; Sanchez-Nino et al., 2012). Paricalcitol (19-nor 1,25-dihidroxivitamina D_2), un análogo de la vitamina D con menos efecto hipercalcemiante que el calcitriol (Brown y Coyne, 2002), proporciona un beneficio en la supervivencia para pacientes con ERC, que es independiente de la hormona paratiroidea y el calcio (Reinhart, 2004; Wu-Wong et al., 2005). El mecanismo por el cual paricalcitol ejerce su potencial efecto beneficioso no está aún del todo aclarado. Su menor efecto hipercalcemiante y sobre el aumento de la fosfatemia podrían estar implicados, al menos en parte, en la reducción del riesgo de calcificación vascular y la mortalidad cardiovascular. Sin embargo, esto por sí solo no explicaría la mayor supervivencia con paricalcitol (Teng et al., 2003). Los receptores de vitamina D son ubicuos en todo el organismo y, cuando se activan, se produce una modificación de la inflamación, la función inmune, el crecimiento celular, y la diferenciación celular (Brown, 2001). Datos in vitro sugieren que la vitamina D y sus análogos pueden desempeñar un papel en la función endotelial (Wu-Wong et al., 2005) aunque existen pocos datos disponibles in vivo y en humanos. Por otro lado, existen

estudios que sugieren una reducción de los factores de riesgo de enfermedad cardiovascular con paricalcitol en comparación con otros compuestos relacionados con la vitamina D (Duplancic et al., 2013; Gonzalez-Parra et al., 2012; Ortiz et al., 2011; Reinhart, 2004; Teng et al., 2003; Wu-Wong et al., 2005).

Con respecto al papel de paricalcitol en la supresión de la inflamación, mediante un ensayo clínico prospectivo abierto, Navarro et al. evaluaron el efecto del paricalcitol oral durante 12 semanas en 25 pacientes sometidos a hemodiálisis, observando un descenso significativo en la PCR-hs, TNF-α e IL-6 (Navarro-Gonzalez et al., 2013). Es sin embargo posible, que paricalcitol pueda tener varios mecanismos de acción. Por ejemplo, existen estudios experimentales que sugieren que la protección renal y cardiovascular pueda ser debida a la supresión de la transcripción de la renina, (Freundlich et al., 2008; Li et al., 2002; Zhang et al., 2008) efectos antiproliferativos y/o efectos antifibróticos (Mizobuchi et al., 2007; Schwarz et al., 1998). En modelos experimentales, la activación del receptor de la vitamina D suprime TGF-β, la infiltración de macrófagos y reduce sustancialmente la glomeruloesclerosis (Mizobuchi et al., 2007; Tan et al., 2006). La activación de los receptores de la vitamina D también dio lugar a la regulación positiva de la nefrina y reducción de la actividad NF-κB (Jablonski et al., 2011; Tan et al., 2008; Zhang et al., 2008).

Además de lo comentado previamente, nuevas evidencias indican que el déficit de vitamina D, la enfermedad cardiovascular y la disfunción endotelial están vinculados por diversas asociaciones biológicas. El mecanismo de esta asociación no está del todo aclarado, pero la asociación que se ha observado entre niveles de vitamina D bajos y niveles elevados de ADMA (Ngo et al., 2010), pueden proporcionar una explicación parcial. Con paricalcitol, sin embargo, no se ha descrito la relación existente con ADMA hasta la fecha. En nuestro estudio encontramos una asociación significativa (**p=0,0003**) entre niveles de ADMA y paricalcitol, de manera que el grupo de pacientes en tratamiento con paricalcitol presenta unos niveles de ADMA más bajos que el grupo que no recibe tratamiento con este fármaco. Este dato podría arrojar algo de luz al mayor beneficio en términos de morbimortalidad cardiovascular en pacientes tratados con paricalcitol, en comparación con aquellos tratados con calcitriol. Dos posibles explicaciones serían la preservación de la función endotelial, o la supresión de la

inflamación por parte de paricalcitol, lo cual afectaría también a la función endotelial, reflejando esto la disminución de los niveles de ADMA. En este sentido, la asociación entre el déficit de vitamina D con la disfunción endotelial ha sido descrita en varios estudios (Sugden et al., 2008; Tarcin et al., 2009). Tarcin et al (2009), observaron que el déficit de 25OH vitamina D se asociaba con una menor dilatación flujo dependiente, y que además, tras la suplementación con vitamina D_3, este parámetro de función endotelial mejoraba. Por otro lado, Molinari et al. (2011) llevaron a cabo un experimento mediante el cual observaron que la administración de 1,25 dihidroxivitamina D producía un incremento dosis dependiente en la producción de óxido nítrico en células endoteliales cultivadas a través de la activación de la NOS endotelial. Recientemente, en el estudio PENNY (Paricalcitol y ENdothelial fuNction in chronic kidneY disease trial), Zoccali et al evaluaron mediante un estudio aleatorizado a doble ciego el efecto del paricalcitol sobre la vasodilatación dependiente e independiente del endotelio en 88 pacientes con ERC estadio 3 o 4 y PTHi > 65 pg/ml. Observaron que paricalcitol mejoraba la dilatación mediada por flujo dependiente de óxido nítrico, y por tanto la vasodilatación endotelio-dependiente, sin modificar la vasodilatación no dependiente del endotelio (Zoccali et al., 2014). Sin embargo, observaron también que FGF23 aumentaba en el grupo en tratamiento con paricalcitol, pero no en el grupo con placebo, aunque esta diferencia no llegó a la significación estadística (p=0,07), con una disminución también en los niveles de 1,25-OH_2D. Los propios autores no encuentran una explicación clara a este resultado, ya que FGF23 se asocia claramente con la disfunción endotelial, en la misma población (Zoccali et al., 2013). Asimismo, en estudios observacionales en pacientes con ERC, como en estudio CRIC (Chronic Renal Insufficiency Cohort) (Isakova et al., 2011) se observó una asociación entre FGF 23 y eventos cardiovasculares y renales desfavorables. Paricalcitol, sin embargo, ha demostrado ser un fármaco seguro, bien tolerado y con una reducción clara de la morbimortalidad cardiovascular. Un metaanálisis reciente (de Borst et al., 2013) mostró que en pacientes con ERC, paricalcitol es un medicamento seguro con efectos favorables sobre la proteinuria. En los estudios VITAL (De et al., 2010) y PENNY (Zoccali et al., 2014), paricalcitol inducía cambios favorables en biomarcadores para el riesgo de complicaciones ateroscleróticas en el primero, así como en la dilatación mediada por flujo dependiente de óxido nítrico en el segundo. Por otro lado, un análisis

post-hoc en el estudio PRIMO (Thadhani et al., 2012) mostró un marcada reducción del volumen de la aurícula izquierda, un indicador de disfunción diastólica. El mismo grupo del estudio PENNY, ha publicado recientemente un estudio en dos cohortes, una de 758 pacientes y otra de 173 pacientes con ERC. Observaron que tanto FGF23 como ADMA eran capaces de predecir eventos renales, pero que existía una interacción competitiva entre FGF23 y ADMA, de manera que el riesgo asociado a ADMA era mayor en el grupo de pacientes con niveles bajos de FGF23.

De acuerdo con estos resultados, nosotros creemos que los efectos beneficiosos demostrados por paricalcitol, se podrían explicar, al menos en parte, a través de la disminución de los niveles de ADMA observados en el presente trabajo. Tanto los niveles elevados de FGF23 como los de ADMA interfieren con el sistema del óxido nítrico, siendo la inhibición de NOS un mecanismo potente que favorece la disfunción endotelial, la aterosclerosis y por tanto la morbimortalidad cardiovascular. Hipotetizamos que paricalcitol tiene un efecto más potente disminuyendo ADMA que aumentando FGF23, o bien que es más potente el efecto de ADMA a nivel del endotelio que el de FGF23. En cualquier caso, no debemos olvidar que ADMA es tanto un marcador de disfunción endotelial como un mediador de la misma a través de la modulación de la producción de óxido nítrico, y el balance final parece que es favorable a ADMA, ya que clínicamente, se ha demostrado que paricalcitol es un fármaco con un perfil de seguridad demostrado y con claros beneficios a nivel cardiovascular.

En nuestro estudio, al analizar la relación entre los grupos con y sin paricalcitol con otras variables, se observó que no existían diferencias en ambos grupos en cuanto a edad, sexo, tratamiento (IECA y/o ARAII, estatinas y ácido acetilsalicílico), 25OH vitamina D, PTHi (estándar y corregida de Nichols), Kt/V Daugirdas, Kt/V equilibrado, homocisteína, tiempo en HD, Calcio, Fósforo, glucemia basal, IMC, colesterol y albúmina ($p>0.05$). Si que se observó sin embargo, que en el grupo sin paricalcitol había más diabéticos que en el grupo con paricalcitol (**p=0,019** Fisher Test). Esto probablemente se deba a que en los diabéticos en hemodiálisis, la alteración ósea más común es la enfermedad ósea adinámica y los valores de PTH son significativamente menores que los del resto de los pacientes (Cannata Andia, 2000). En diabéticos con distinto grado de insuficiencia renal se ha descrito una relación inversa entre los niveles de glucemia y PTH. Esto sugeriría que la

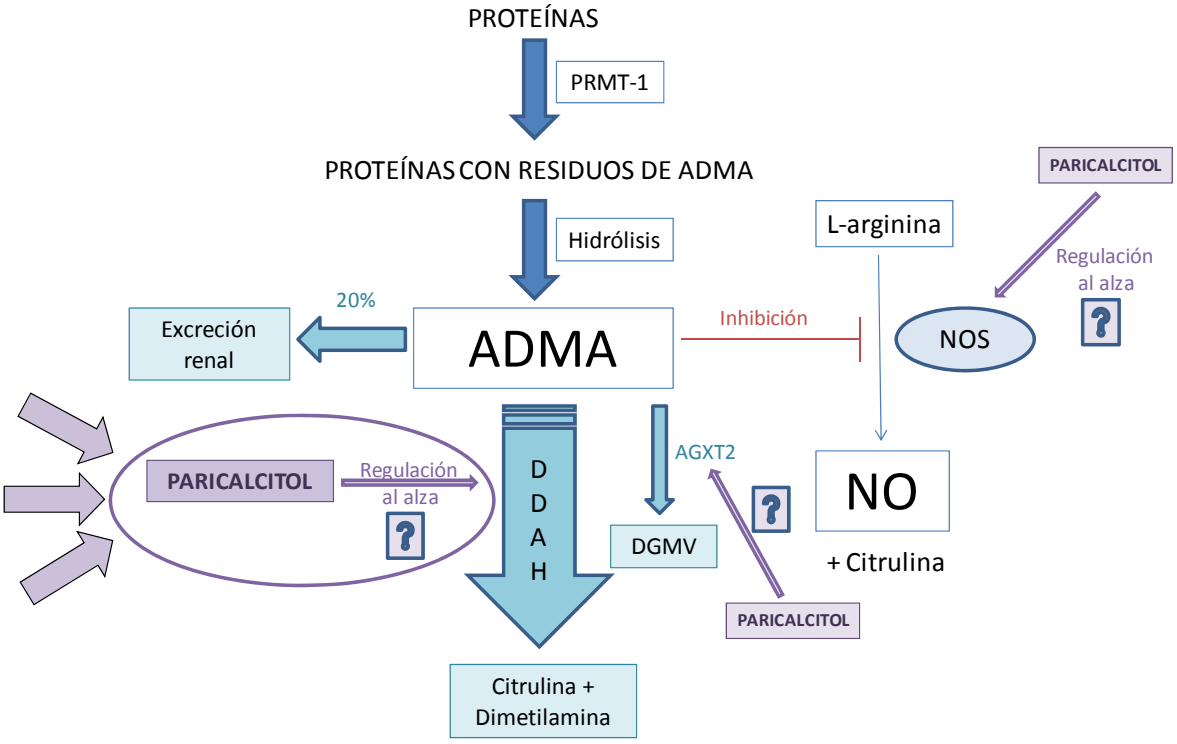
hiperglucemia per se podría tener un efecto inhibitorio en la síntesis y secreción de PTH, como se ha observado en estudios experimentales (Inaba et al., 2002). Por otro lado, y aunque la diferencia no alcanzó la significación estadística, se observó que el grupo no tratado con paricalcitol presentaba niveles más elevados de 25OH vitamina D que el grupo tratado con paricalcitol, por lo que no podemos descartar que los niveles de ADMA más bajos en el grupo con paricalcitol, pueda en parte ser debido a que presentaban niveles de 25OH vitamina D más altos. Para analizar esta diferencia llevamos a cabo un análisis de la varianza (ANOVA), y se confirmó que los pacientes diabéticos en tratamiento con paricalcitol presentaban también niveles más bajos de ADMA que los que no recibieron paricalcitol (**p=0,034**). Asimismo, se observó un resultado similar en los pacientes que no eran diabéticos, de manera que en este grupo, los que recibieron paricalcitol presentaron nuevamente niveles inferiores de ADMA que los que no recibieron paricalcitol (**p=0,016**). Analizamos también la relación existente entre ADMA y vitamina D, observando que existía una correlación negativa entre niveles de 25OH vitamina D y niveles de ADMA, en el umbral de la significación estadística (p=0,07), mientras que la asociación entre ADMA y paricalcitol fue más significativa (**p<0,001)**. Por otro lado, al realizar un análisis multivariado de ADMA como variable dependiente y paricalcitol como variable independiente se observa el efecto de paricalcitol es independiente del estatus diabético y de los niveles de 25OH vitamina D, de manera que el efecto principal se mantiene significativo (**p=0,002**).

A modo de conclusión, los resultados de nuestro estudio apoyan la hipótesis de que paricalcitol, reduciendo las concentraciones plasmáticas de ADMA, bien a través de la normalización de parámetros implicados en el metabolismo calcio-fósforo o bien por algún mecanismo independiente, puede restaurar al menos parcialmente la disfunción endotelial en los pacientes con hiperparatiroidismo secundario en diálisis. Nos planteamos como mecanismo subyacente que paricalcitol puede regular al alza la enzima DDAH, encargada de la degradación de ADMA, al igual que se ha demostrado para GW 4064, IL-1β, los estrógenos y PPARγ (Kielstein y Zoccali, 2008), aunque esto, evidentemente, habría que confirmarlo con estudios in vitro e in vivo. De esta manera, sugerimos que al disminuir los niveles de ADMA, se produciría un incremento en la producción de NO endotelial a nivel vascular por aumento de la NO sintasa endotelial y

un aumento de los sistemas antioxidantes como posibles mecanismos subyacentes del efecto vasoprotector de paricalcitol. Existe otra posible vía de eliminación de ADMA descrita recientemente a través de la transaminación de ADMA por la enzima AGXT2 (alanine glyoxylate aminotransferasa 2) para su transformación a DMGV [α-keto-δ-(N,N-dimethylguanidino)valeric acid] (Rodionov et al., 2010), que podría estar también implicada en la asociación entre paricalcitol y niveles más bajos de ADMA en plasma. Otros mecanismos como la inhibición de las PRMT o mediante la reducción del catabolismo proteico, o aumentando los niveles de albúmina plasmática (aumentando por tanto el ADMA libre en plasma) como posible mecanismo para disminuir ADMA parecen menos probables a priori, teniendo en cuenta el mecanismo de acción de paricalcitol. En la figura 44 planteamos los mecanismos de acción que nosotros proponemos a través de los cuales paricalcitol disminuiría los niveles de ADMA. Son necesarios estudios para aclarar si realmente tras instaurar el tratamiento con paricalcitol se demuestra una disminución de los niveles de ADMA, así como estudios para dilucidar cuál sería el mecanismo de acción a través del cual paricalcitol lograría este efecto.

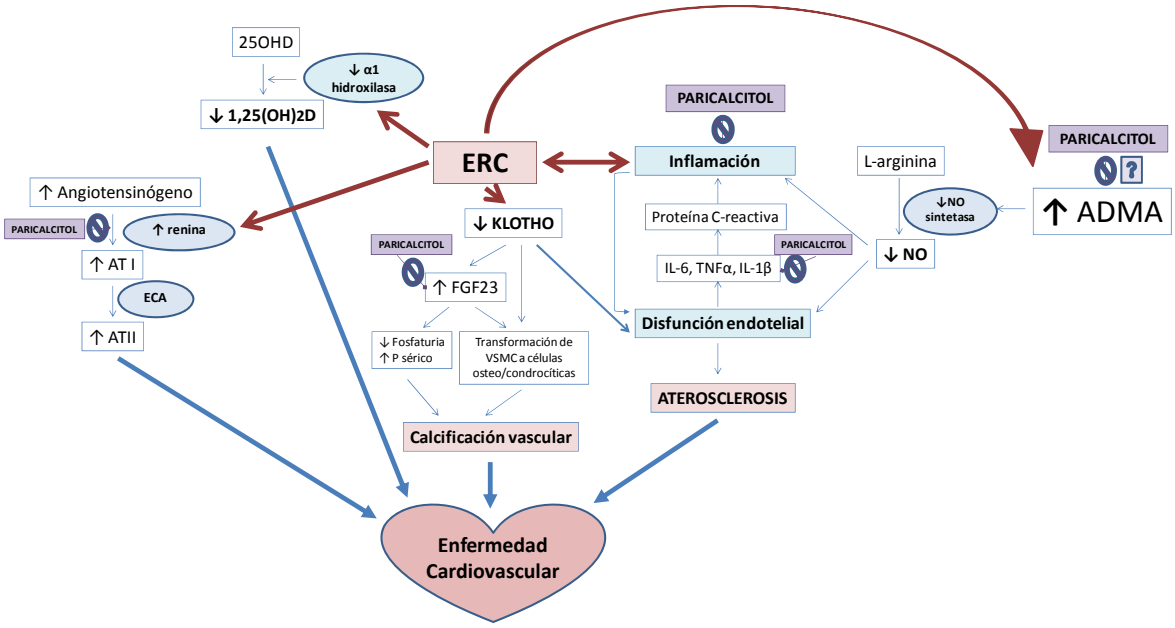
En la figura 45 planteamos diversos mecanismos de acción de paricalcitol mediante los cuales este fármaco disminuye la morbimortalidad cardiovascular, tal y como se ha propuestos en la literatura. Sumamos a estos mecanismos el propuesto por nosotros, mediante el cual paricalcitol disminuiría los niveles de ADMA, y por tanto, aumentaría la disponibilidad de óxido nítrico y la vasodilatación endotelio dependiente, redundando ello en una disminución de la morbimortalidad cardiovascular.

Figura 44. Mecanismo de acción propuesto a través del cual paricalcitol disminuiría los niveles de ADMA en plasma. Adaptado y transformado de Kielstein et al. (2007).



ADMA procede de la metilación de los residuos de arginina de las proteínas. La reacción es catalizada por PRMT (N-metiltransferasas). La hidrólisis de las proteínas metiladas genera ADMA, la cual inhibe competitivamente NOS. La excreción renal representa únicamente el 20% de la eliminación de ADMA. La vía fundamental de eliminación (80%) es el metabolismo de ADMA a través de la enzima DDAH. La enzima DDAH hidroliza ADMA dando lugar a L-citrulina y dimetilamina. Una tercera ruta para disminuir los niveles de ADMA es la transaminación por la enzima AGXT2 a DMGV, una aminotransferasa mitocondrial expresada primariamente en el riñón. La generación de ADMA se ve incrementada por el estrés de cizallamiento, por las LDL oxidadas y por la lisofosfatidilcolina, entre otros. Muchos factores de riesgo cardiovascular como la hipercolesterolemia (LDL oxidadas), la homocisteína, la hiperglucemia, la infección por CMV, el tabaquismo y los inhibidores de la bomba de protones disminuyen la actividad de DDAH y por tanto, incrementan ADMA. GW 4064, IL-1β, los estrógenos y PPARγ incrementan la actividad de DDAH, disminuyendo ADMA. Proponemos que este es uno de los mecanismos mediante el cual puede actuar paricalcitol disminuyendo las concentraciones de ADMA en plasma. Señalamos asimismo, otros mecanismos posibles.

Figura 45. Diversos mecanismos de acción de paricalcitol mediante los cuales paricalcitol disminuye la morbimortalidad cardiovascular propuestos en la literatura. Sumamos a estos mecanismos el propuesto por nosotros, mediante el cual paricalcitol disminuiría los niveles de ADMA, y por tanto, aumentaría la disponibilidad de óxido nítrico y la vasodilatación endotelio dependiente, redundando ello en una disminución de la morbimortalidad cardiovascular.



3. ADMA Y MEDICACIÓN

Hasta la fecha, existe evidencia limitada de que los niveles plasmáticos de ADMA se pueden reducir con medicación (Hand et al., 1998). Teniendo en cuenta el mecanismo por el cual se forma el óxido nítrico, resulta tentador revertir la inhibición competitiva de ADMA mediante la administración de L-arginina. Sin embargo, en pacientes con enfermedad renal, los estudios son escasos y los resultados no han sido concluyentes (Cross et al., 2001b). Mientras que un estudio mostró un efecto positivo sobre la función endotelial, otro no logró demostrar este efecto (Cross et al., 2001b; Hand et al., 1998). Un ensayo clínico en el que se añadió L-arginina, al tratamiento estándar postinfarto de miocardio, no sólo no mostró ningún beneficio, sino una tendencia hacia una mayor mortalidad (Schulman et al., 2006). Un resultado similar se observó en un estudio en pacientes con enfermedad arterial periférica donde la L-arginina mostró un detrimento

en la función vascular en estos pacientes, por lo que esta estrategia se ha dejado de lado (Wilson et al., 2007).

En un estudio en humanos, el inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (IECA) perindopril redujo los niveles plasmáticos de ADMA en 11 pacientes con diabetes mellitus no insulinodependiente (Ito et al., 2001). Tanto el enalapril (también un IECA) como eprosartán (ARAII) redujeron los niveles de ADMA en 20 pacientes con hipertensión arterial esencial (Delles et al., 2002). Esto se confirmó con los IECA zofenoprilo y enalapril en un estudio más amplio que involucraba a 96 pacientes con hipertensión aterial esencial (Napoli et al., 2004). Sin embargo, en un estudio controlado aleatorio de Fliser et al, no se pudo demostrar un efecto sobre los niveles de ADMA plasmáticos tras 4 semanas de tratamiento con el ARAII olmesartán a dosis de 40 mg/día, en 35 pacientes con diabetes mellitus no insulinodependiente (Fliser et al., 2005). Si los IECAs y/o ARAII tienen un efecto directo sobre el metabolismo de ADMA o si el cambio en los niveles de ADMA es resultado de los cambios en la presión arterial aún no está claro. En nuestro estudio, analizamos si los pacientes estaban en tratamiento con IECA y/o ARAII, pero no evaluamos exactamente qué fármaco estaban recibiendo, porque, por un lado, no era el objetivo del estudio, y por otro lado, porque la muestra resultaba muy pequeña para hacer este tipo de análisis. Observamos una tendencia a que los pacientes que recibían IECA y/o ARAII presentaban niveles más bajos de ADMA, pero sin que la diferencia fuera estadísticamente significativa (p=0,577).

En contraste con los datos contradictorios sobre el efecto de los IECA y los ARAII, los antidiabéticos orales muestran ser más eficaces a la hora de reducir los niveles de ADMA. La mejora en el control glucémico con metformina redujo los niveles plasmáticos de ADMA en pacientes con diabetes (Asagami et al., 2002). Rosiglitazona mejoró la resistencia a la insulina y ADMA en plasma disminuyendo los niveles en siete pacientes resistentes a la insulina con hipertensión arterial (Stuhlinger et al., 2002). Este efecto probablemente es consecuencia de la regulación al alza de DDAH. De hecho, en la rata, la rosiglitazona (ligando de PPARγ) aumenta la producción de óxido nítrico en parte por la regulación positiva de la expresión de DDAH II tisular y por la disminución de los niveles sistémicos de ADMA (Wakino et al., 2005). Probablemente esto se deba a una acción específica del ligando de PPARγ sobre la DDAH, más que el efecto del mejor control

glucémico, ya que en estudios en humanos con acarbosa, se logró un mejor control glucémico, pero no se observaron modificaciones en los niveles de ADMA (Wascher et al., 2005).

Por otro lado, la terapia con estrógenos en las mujeres posmenopáusicas, ya sea sola o en combinación con progestágenos, redujo modestamente los niveles de ADMA (Post et al., 2003; Teerlink et al., 2003), probablemente debido a un aumento de la actividad DDAH inducida por estrógenos (Holden et al., 2003). Sobre la base de nuestro conocimiento actual, el tratamiento dirigido a reducir el estrés oxidativo debe reducir los niveles de ADMA (Sydow y Munzel, 2003). Dos estudios preliminares sobre el efecto del ácido fólico y vitamina E mostró un pequeño efecto beneficioso de estos tratamientos (Holven et al., 2003; Saran et al., 2003), pero la reducción de homocisteína no tenía efecto sobre los niveles de ADMA en plasma, ni en monos ni en los seres humanos (Sydow et al., 2003; Ziegler et al., 2005).

Con respecto a la relación existente entre estatinas y ADMA, existen varios estudios acerca del efecto de las estatinas sobre los niveles de ADMA. Ni la atorvastatina, ni la pravastatina ni la simvastatina reducen los niveles plasmáticos de ADMA (Eid et al., 2003; Paiva et al., 2003; Pereira et al., 2003). Sin embargo en un estudio llevado a cabo por Lu et al. (2004), rosuvastatina sí que logró demostrar una reducción en ADMA en plasma (Lu et al., 2004). Se cree que posiblemente, las estatinas provoquen un incremento la producción de NO endotelial a nivel vascular, aumento de la NO sintasa endotelial y un aumento de los sistemas antioxidantes como posibles mecanismos subyacentes (Jones et al., 2002; Laufs et al., 1998; Shishehbor et al., 2003).

En un estudio publicado recientemente se observó que los inhibidores de la bomba de protones (IBP) producían aumentos en los niveles plasmáticos de ADMA, y reducían los niveles de óxido nítrico y la vasodilatación endotelio-dependiente en un modelo murino y en tejidos humanos exvivo, a través de la unión a DDAH y la inhibición de esta enzima, siendo esto una posible explicación de porqué los IBP se asocian a un mayor riesgo cardiovascular en pacientes con enfermedad coronaria (Ghebremariam et al., 2013).

Actualmente no existe una evidencia clara de que se puedan disminuir los niveles de ADMA con medicación, al igual que tampoco está claro que la reducción de los niveles

de ADMA pueda tener alguna relevancia clínica. Se está investigando el papel de un fármaco específico, el agonista del receptor X farnesoide GW 4064, capaz de aumentar la expresión de DDAH y disminuir los niveles de ADMA, aunque aún no existen resultados definitivos (Hu et al., 2006).

En el presente estudio evaluamos, al margen del tratamiento con paricalcitol, IECAs y/o ARAII ya comentados, el efecto de las estatinas, nuevamente como clase, sin tener en cuenta cada fármaco en particular, sin observar diferencias significativas entre ambos grupos (p=0,795). Con el ácido acetilsalicílico, tampoco encontramos diferencias significativas entre ambos grupos (p=1).

4. ADMA, HIPERTENSIÓN ARTERIAL Y MORBIMORTALIDAD CARDIOVASCULAR

La relación entre la hipertensión arterial y la mortalidad cardiovascular en pacientes con enfermedad renal terminal es compleja debido a la alta prevalencia de trastornos comórbidos y patología vascular subyacente. En los pacientes en tratamiento con hemodiálisis crónica no es fácil definir los criterios que permiten el diagnóstico de hipertensión, ya que en una pauta intermitente de hemodiálisis, con una frecuencia de tres veces por semana, existe una acumulación progresiva de líquido a lo largo de 48 o 72 horas que alcanza su máximo prediálisis y su mínimo después de perder cerca del 5% del peso corporal durante la sesión de diálisis, en un periodo variable de tiempo, que suele oscilar entre tres y cinco horas por sesión (Lopez-Gomez et al., 2005). Por ello, la presión sistólica prediálisis en franca sobrecarga de volumen no refleja exactamente la situación media de la presión arterial y puede estar sobrestimada al menos en 10 mmHg (Goicoechea et al., 2006). Por otra parte, la presión sistólica postdiálisis tampoco es adecuada, ya que puede estar infravalorada en unos 7 mmHg (Coomer et al., 1997), y existen muchos pacientes con mala tolerancia a la extracción de volumen que suelen presentar con frecuencia episodios de mala tolerancia hemodinámica, con la consiguiente hipotensión intra y/o postdiálisis. En pacientes en hemodiálisis, la presión arterial refleja en gran medida, el estado de hidratación y el volumen intravascular de cada paciente, dependiendo esto, entre otros factores, de la ingesta hídrica, así como de la prescripción de la diálisis y fijación del peso seco. La evidencia de que es posible controlar la presión

arterial con una adecuada pérdida de volumen en diálisis en la mayor parte de estos pacientes la encontramos en parte de los trabajos del grupo de Tassin et al. (Charra et al., 1992) que logra un adecuado control tensional sin necesidad de medicación antihipertensiva en más del 95% de sus pacientes utilizando una pauta de hemodiálisis larga de ocho horas por sesión, que permite una elevada eficacia y buena tolerancia a una lenta extracción de volumen (Charra et al., 1992).

En los pacientes con ERCA la presencia de HTA es significativamente más alta que en la población general, alcanzando cifras del 70-80% cuando llegan a situación de ERC terminal y manteniendo una prevalencia en diálisis alrededor del 60% (Kooman et al., 1992). De acuerdo con el criterio habitual para las personas sin ERC, la HTA puede ser definida como la presión arterial sistólica mayor o igual a 140 mmHg o la presión arterial diastólica mayor o igual a 90 mmHg tomada en la arteria braquial, en posición sentado, en el brazo contralateral al del acceso vascular.

En nuestro estudio para evaluar la relación entre ADMA e HTA recogimos la presión arterial sistólica (PAS) prediálisis, la presión arterial diastólica (PAD) prediálisis y si los pacientes tomaban o no medicación antihipertensiva (IECA y/o ARAII y/o calcioantagonistas y/o alfabloqueantes y/o betabloqueantes). Establecimos el parámetro de PA elevada en aquellos pacientes que presentaban una PAS prediálisis mayor o igual a 140 mmHg y/o una PAD prediálisis mayor o igual a 90 mmHg, representando este grupo el 39,1% de la población analizada. Asimismo, evaluamos la relación entre ADMA y la presión del pulso (PAS menos PAD).

Analizamos la relación existente entre ADMA y pacientes que recibían medicación antihipertensiva sin observar diferencias significativas entre ambos grupos (p=0,462). Por otro lado, al analizar la variable PA elevada (PAS≥140 mmHg y/o PAD≥90 mmHg), observamos una diferencia marginalmente significativa en ADMA entre ambos grupos (p=0,053), llamando la atención que los niveles de ADMA estaban más elevados en aquellos pacientes con la PA prediálisis menor o igual a 140/90 mmHg en comparación con el grupo de pacientes con la PA prediálisis elevada, alcanzando la significación estadística (**p=0,001**).

El papel de la HTA sobre la mortalidad cardiovascular está bien definido en la población general. Sin embargo, no está aún claramente establecido que aumente el

riesgo de mortalidad en los pacientes en diálisis, de forma que algunos estudios no han encontrado asociación (Churchill et al., 1992) y en otros, paradójicamente, se ha descrito un efecto protector (Goodkin et al., 2003). Algunos autores refieren que la PA baja conlleva paradójicamente un mayor riesgo de mortalidad en pacientes en HD (Lopez-Gomez et al., 2005; Port et al., 1999; Salem y Bower, 1996; Shoji et al., 2004). Otros autores han descrito que es la hipertensión arterial postdiálisis, más que la prediálisis, la que constituye un factor pronóstico para la mortalidad. Además, esta relación no es lineal, sino en forma de U, ya que tanto los valores altos de presión como los bajos influyen negativamente sobre la supervivencia (Zager et al., 1998). Por otro lado, la presión del pulso parece ser un indicador pronóstico de mortalidad en diálisis más fiable, con un valor predictivo mayor que las cifras de presión arterial (Tozawa et al., 2002). Existen además una serie de factores adicionales que pueden afectar la correlación general entre PA elevada y menor supervivencia entre los pacientes de diálisis, y que explicarían esta paradoja:

1.- La mayor mortalidad entre pacientes con PA más baja puede ser el resultado de la disfunción miocárdica, otras comorbilidades asociadas y/o la malnutrición. Esto se demostró en un estudio retrospectivo de 2770 pacientes en diálisis peritoneal, que encontró que los pacientes con cifras de PA más elevadas, presentaban una menor mortalidad al año que el resto de los pacientes (Udayaraj et al., 2009).

2.- La relación entre la HTA y la enfermedad cardiovascular puede disociarse, ya que, debido a los cambios en el estado del volumen y los efectos de la hemodiálisis, se observa una amplia gama de PA en los individuos en diálisis.

3.- La PA elevada por sí sola no tiene en cuenta el posible efecto perjudicial de un aumento de la presión de pulso (Klassen et al., 2002; Tozawa et al., 2002). Un estudio retrospectivo de más de 44.000 pacientes en diálisis encontró que un incremento de la presión del pulso aumenta directamente el riesgo de mortalidad a un año de seguimiento, incluso después del ajuste por la PA sistólica (Klassen et al., 2002).

Por otro lado, en cuanto a la relación entre ADMA e HTA, cada vez existe mayor evidencia que muestra que el NO desempeña un papel importante en la regulación del tono vascular y la PA (Arnal et al., 1995; Dominiczak y Bohr, 1995). Hay dos posibles mecanismos por los cuales ADMA está involucrado en la patogenia de la hipertensión. Por

un lado, ADMA a través de la inhibición de la actividad de la NOS endotelial, puede ejercer un efecto vasoconstrictor a nivel vascular (Achan et al., 2003; MacAllister y Vallance, 1994), y por otro lado, ADMA puede inhibir la excreción renal de sodio mediante la reducción de la síntesis de NO en el riñón (Bech et al., 1996; Kielstein et al., 2004b; Ruilope et al., 1994). En ratas sometidas a nefrectomía de 5/6, los niveles de ADMA se relacionan de manera clara con los niveles de PA (Matsuguma et al., 2006). En humanos, en sujetos japoneses sin enfermedad coronaria o arterial periférica se ha observado que los niveles plasmáticos de ADMA están asociados con niveles medios de PA más elevados (Miyazaki et al., 1999). Esta relación, parece ser más evidente en pacientes con HTA esencial (Goonasekera et al., 1997; Paiva et al., 2002; Perticone et al., 2005; Surdacki et al., 1999), especialmente en aquellos individuos que son sal sensibles (Fujiwara et al., 2000). ADMA es probablemente el más importante regulador de NO a nivel renal (Zoccali, 2006). Una ingesta elevada de sal incrementa la excreción urinaria de ADMA (Matsuoka et al., 1997) e incrementa también la expresión de todas las isoformas de NOS en la médula renal (Mattson y Higgins, 1996). Por otro lado, la PA en sí puede elevar los niveles de ADMA en plasma a través de la regulación positiva de PRMT por un aumento del estrés de cizalla a través de la vía de NF-κB (Osanai et al., 2003). Los niveles plasmáticos de ADMA se elevan en respuesta a una expansión del volumen extracelular, de manera que en pacientes hipertensos, ante una sobrecarga de sal se puede observar un aumento en los niveles de ADMA y un descenso en los niveles de NO (Fujiwara et al., 2000). Asimismo, la angiotensina II y las generación de ROS pueden también estar implicadas en la elevación de los niveles de ADMA en la hipertensión (Ueda et al., 2007). Esta correlación entre HTA y niveles de ADMA queda bastante patente en sujetos con hipertensión arterial esencial o con algún grado de ERC, donde la regulación de la PA a través del riñón aún está preservada. Sin embargo, en pacientes en hemodiálisis, donde prácticamente no existe regulación renal al no tener función renal residual, no disponemos de datos fehacientes acerca de la relación entre ADMA e HTA. Nosotros, dado la dificultad de un diagnóstico veraz de hipertensión arterial en pacientes en hemodiálisis por los mecanismos patogénicos implicados, así como la complejidad de la relación entre la hipertensión y la mortalidad cardiovascular en pacientes con enfermedad renal terminal en hemodiálisis debido a la alta prevalencia de patología

vascular subyacente y comorbilidades asociadas, no podemos señalar una justificación evidente a los resultados obtenidos en nuestra cohorte. Creemos necesario realizar más estudios en esta población para poder encontrar una relación causal clara entre PA y niveles de ADMA, y su relación con la morbimortalidad cardiovascular en esta situación concreta, en la que se dan numerosos factores de confusión.

5. ADMA E HIPERTROFIA DEL VENTRÍCULO IZQUIERDO

La hipertrofia del ventrículo izquierdo es un factor independiente de morbilidad y mortalidad, ya descrito en la población general. Diferentes series han mostrado una alta prevalencia de HVI en los enfermos con ERCA en hemodiálisis crónica, presentándose entre un 40-70% de los casos (Foley et al., 1998b). Se ha observado también que la HVI progresa hasta un año después de comenzar el tratamiento con hemodiálisis, manteniéndose estable posteriormente (Foley et al., 1998a; Parfrey et al., 1996).

Varios factores parecen contribuir al desarrollo de HVI en este grupo de pacientes como son la uremia per se, el acúmulo de aluminio, la anemia, la hipertensión arterial, la sobrecarga de volumen, el tabaquismo, el sexo masculino, la edad, el hiperparatiroidismo y la presencia de una fístula arteriovenosa de alto flujo (Parfrey y Harnett, 1994; Sarnak et al., 2003).

La presencia de HVI aumenta el riesgo relativo de mortalidad de cualquier causa a 2,9 y de origen cardiovascular a 2,7 (Silberberg et al., 1989). Disminuye la supervivencia en un 44% a los 2 años cuando la HVI es severa, y en un 12% cuando es leve (Silberberg et al., 1989). Es además un factor de riesgo independiente para el desarrollo de cardiopatía isquémica e insuficiencia cardiaca congestiva (Parfrey et al., 1996). Algunos autores han descrito regresión parcial, y menos frecuentemente total, de la HVI tras el control mantenido de la PA y tras la corrección de la anemia con eritropoyetina (Foley et al., 1998a; Tagawa et al., 1991). Además, dicha regresión conlleva un efecto claramente beneficioso sobre la supervivencia (London et al., 2001). Los IECA parecen jugar un papel adicional al del control de la PA sobre la regresión de la HVI (Cannella et al., 1998; London et al., 2001). Dado que en pacientes en hemodiálisis, los niveles de ADMA son también capaces de predecir la progresión de engrosamiento en la íntima carotídea (Nanayakkara

et al., 2005; Zoccali et al., 2002a), observándose además una asociación con la hipertrofia del ventrículo izquierdo y con la disfunción del ventrículo izquierdo (VI) (Zoccali et al., 2002b), decidimos analizar en nuestra población si existía relación entre HVI y niveles de ADMA, así como con la disfunción VI o la fracción de eyección, aunque no detectamos diferencias estadísticamente significativas con las variables analizadas.

6. ADMA E INFLAMACIÓN. PAPEL DEL ACCESO VASCULAR PARA HEMODIÁLISIS

La disfunción endotelial medida por la ADMA y la inflamación se ha relacionado de manera consistente con la aterosclerosis, eventos cardiovasculares y la muerte en pacientes con ERCA (Tripepi et al., 2011). La inflamación amplifica el efecto de ADMA sobre la gravedad de la aterosclerosis en pacientes con ERCA, pero aún se desconoce si la inflamación y ADMA interactúan elevando el riesgo de eventos cardiovasculares y de muerte en esta población. En un estudio de Tripepi et al. (Tripepi et al., 2011) en una cohorte de 225 pacientes en hemodiálisis, se observó que existía una interacción entre biomarcadores de inflamación y ADMA, de manera que la mortalidad era mayor en el grupo que presentaba tanto ADMA como PCR elevada, en comparación con los grupos que sólo presentaban uno de los marcadores elevados. Concluyen por tanto que la inflamación amplifica el riesgo de muerte y eventos cardiovasculares en pacientes con ADMA elevado en sujetos en hemodiálisis (Tripepi et al., 2011). Varias líneas de evidencia indican que la disfunción endotelial está íntimamente asociada con la inflamación crónica (Stenvinkel et al., 2005; Zoccali et al., 2003). En un estudio de cohortes prospectivo en pacientes con diabetes mellitus tipo 2, se observó una interacción entre PCR y ADMA, que se relacionaba además con eventos cardiovasculares (Krzyzanowska et al., 2007). Sin embargo, la relación entre ADMA y PCR depende del contexto, ya que en la sepsis aguda, existe una disminución en los niveles de ADMA (Zoccali et al., 2007). La inflamación en los pacientes con ERC es un problema multifactorial (Zoccali et al., 2007), ya que tanto factores relacionados con la diálisis como factores independientes de la misma pueden favorecer la inflamación estimulando la síntesis o liberación de citoquinas proinflamatorias como PCR, IL-1, IL-6, TNF-α e IFN-γ (Stenvinkel et al., 2005).

Cada vez existe mayor evidencia de que el tipo de acceso vascular para la hemodiálisis, en concreto los catéteres venosos centrales (CVCs), se asocian con el estado de inflamación de los pacientes en programa de depuración extrarrenal (Wystrychowski et al., 2009). En un estudio reciente, se constató que los CVCs, en comparación con las fístulas arteriovenosas, presentaban un estado inflamatorio mayor, con una PCR y una IL-6 significativamente más elevada (Banerjee et al., 2014). En nuestro trabajo observamos que el grupo de pacientes que portaba un CVC en el momento de la determinación de ADMA presentaba unos niveles más elevados que el grupo con fístula arteriovenosa o prótesis de PTFE, siendo la diferencia estadísticamente significativa (**p=0,034**). Nos planteamos que los pacientes que portaban CVC fueran pacientes más añosos o con más comorbilidades, que condicionara que el paciente no pudiera tener un acceso vascular definitivo para hemodiálisis. Al hacer un análisis estadístico ajustando este resultado por la edad, la relación existente entre la presencia de un CVC y ADMA, pierde la significación estadística (p=0,26), tomando protagonismo la variable edad (**p=0,014**).

7. ADMA Y EDAD

El envejecimiento de la población es un hecho innegable en la población actual en los países desarrollados. Se estima que en 2050, el número de personas mayores de 60 años será mayor que el de personas jóvenes (2001). La edad avanzada es en sí misma un factor de riesgo cardiovascular firme e independiente, y muchos de los procesos involucrados en el envejecimiento se ven modulados por el NO por un aumento de estrés oxidativo, como la rigidez arterial, el tono vascular, la función plaquetaria, la hipertrofia del miocardio y la disfunción ventricular (Sverdlov et al., 2014). Pero además, a medida que envejecemos, aumenta el número de factores de riesgo cardiovascular asociados con la disfunción endotelial y el estrés oxidativo, como la hipertensión, la dislipemia, la diabetes mellitus y la enfermedad renal crónica, que como ya hemos visto en varias ocasiones, se asocia de forma clara con niveles aumentados de ADMA en sangre. En varios estudios, se ha constatado que los niveles de ADMA en plasma aumentan con la edad (Kielstein et al., 2003; Miyazaki et al., 1999; Sverdlov et al., 2014), reduciendo por lo tanto la disponibilidad de NO y contribuyendo a la disfunción endotelial y la

arteriosclerosis. Algunos autores apuntan a la posibilidad de que ADMA aumenta con la edad debido en parte al descenso del FG asociado con la edad (Kielstein et al., 2003; Zoccali, 2006). Sin embargo, en nuestro estudio en pacientes en hemodiálisis (prácticamente sin función renal residual) ADMA aumenta también con la edad de manera significativa (**p=0,008**), lo cual apunta a que aunque este mecanismo es plausible, no debe ser el único implicado en la correlación existente entre ADMA y la edad. En este sentido, resulta interesante un estudio in vitro, donde se demostró que ADMA aumenta la tasa de senescencia endotelial y acorta la longitud de los telómeros mediante una reducción significativa en la actividad telomerasa en células endoteliales tratadas con ADMA, en comparación con el grupo control (Scalera et al., 2004). Concluyen por tanto que ADMA acelera el envejecimiento y aumenta el estrés oxidativo en células endoteliales.

8. ADMA Y HEMODIÁLISIS

Debido a que ADMA, como la urea, tiene un peso molecular bajo, la diálisis parece ser la opción de elección para la eliminación de ADMA en pacientes con ERCA. Sin embargo, los estudios que han evaluado el impacto de la hemodiálisis en los niveles de ADMA en plasma indican que este punto de vista es demasiado simplista, ya que la reducción de ADMA no necesariamente traduce una significación clínica posterior. En los estudios con una disminución significativa de los niveles de ADMA en plasma por HD, la reducción osciló entre 23% (Anderstam et al., 1997) y 65% (Schmidt et al., 1999a). Sin embargo, varios estudios no identificaron una disminución significativa en ADMA, comparando los niveles de ADMA pre y postdiálisis (Kielstein et al., 2004a; Kielstein et al., 1999; MacAllister et al., 1996). Los datos sugieren que la dialisancia, y por tanto la eliminación de ADMA mediante la diálisis se ve obstaculizada por el hecho de que ADMA se encuentra unida a proteínas plasmáticas (Kielstein et al., 2004a). Sólo alrededor de 37 µmol es decir, el 12% de la cantidad de ADMA producido al día, se detectó en el dializado después de una HD estándar (Kielstein et al., 2004a). Aunque existen pequeños estudios que sugieren que las membranas de alto flujo (Kielstein et al., 2004a) y hemodiafiltración (Schroder et al., 2001) podrían ser más eficientes para eliminar ADMA, esto no se ha

confirmado ni a corto (Kalousova et al., 2006) ni a largo plazo (Beerenhout et al., 2005). Teniendo en cuenta estos hechos, analizamos si la calidad de diálisis medida por diversos parámetros (Kt/V simple o diálisis adecuada, entendida como Kt/V≥1.2 o PRU≥65%) se relacionaba de alguna manera con los niveles de ADMA, sin observar asociación estadísticamente significativa con ninguna de las variables analizadas.

9. ADMA E ÍNDICE DE CHARLSON

El Índice de comorbilidad de Charlson, es un sistema de evaluación de la esperanza de vida a los diez años, dependiendo de la edad y de las comorbilidades del sujeto que se evalúa. Consta de 20 ítems, que si están presentes, se ha comprobado que influyen de una forma concreta en la esperanza de vida del paciente (Charlson et al., 2008; Charlson et al., 1987). Encontramos una correlación estadísticamente significativa (p=0,044) entre el índice de Charlson y niveles de ADMA. En la literatura, no hemos encontrado alusión a la asociación entre este índice los niveles de ADMA, pero no obstante, consideramos que es una correlación lógica, al estar los niveles de ADMA asociados, tanto en nuestro trabajo como en numerosos estudios publicados, por un lado a la mortalidad global y por otro lado a la edad.

10. ADMA, DIABETES MELLITUS Y OBESIDAD

A pesar de que se cree que existe una relación causal entre la disfunción endotelial y la progresión de la DM y sus complicaciones (Quyyumi, 1998), los mecanismos subyacentes de la patogenia de la micro y macroangiopatía asociada a esta enfermedad no se conocen con certeza. Existen estudios que indican una disminución en la producción de NO en pacientes diabéticos (Fayh et al., 2013), pero existe más evidencia del papel del estrés oxidativo en la patogenia de la DM y sus complicaciones (Stojanovic et al., 2013). Por otro lado, los niveles de ADMA se encuentran aumentados en aquellas condiciones que se asocian con un aumento del estrés oxidativo (Busch et al., 2006), pero curiosamente, no existe gran evidencia de la asociación entre ADMA y la DM o sus complicaciones (Cighetti et al., 2009). Sin embargo, con la obesidad y la resistencia a la

insulina relacionada con la obesidad sí que se ha observado una relación, de manera que los niveles plasmáticos de ADMA se encuentran más elevados en mujeres obesas con resistencia a la insulina, volviendo los valores de ADMA a la normalidad tras la pérdida de peso (McLaughlin et al., 2006; Stuhlinger et al., 2002). Así, en los ratones transgénicos que sobreexpresan DDAH, los niveles de ADMA se encuentran disminuidos y presentan también una mayor sensibilidad insulínica (Sydow et al., 2008). En el presente estudio, tampoco se observó asociación significativa entre niveles de ADMA y la presencia o no de DM, de obesidad, o correlación con el IMC.

11. ADMA, ANEMIA Y ERITROPOYETINA

En nuestro estudio, observamos una correlación significativa entre niveles de ADMA y hemoglobina (**p=0,016**) y entre niveles de ADMA y la presencia de anemia (Hemoglobina < 11 g/dL), con una **p=0,03**. Sin embargo, en la literatura no encontramos datos claros acerca de la asociación entre niveles de ADMA y anemia. Si existen estudios, sin embargo, en referencia a la asociación entre tratamiento con eritropoyetina (EPO) y niveles de ADMA (Scalera et al., 2005). Aunque la EPO tiene importantes efectos beneficiosos, sobre todo en cuanto a la corrección de la anemia, también se ha observado que puede tener efectos secundarios, como el aumento de la PA y alteración en la producción de óxido nítrico a nivel endotelial, aumentando por tanto el estrés oxidativo (Wang y Vaziri, 1999). Scalera et al. (2005) observaron in vitro que las células endoteliales respondían a la EPO incrementando la producción de ADMA de manera dosis dependiente (Scalera et al., 2005). Este mismo grupo observó en pacientes con ERC que recibieron tratamiento con EPO por vez primera, que se producía un incremento en los niveles plasmáticos de ADMA (Scalera et al., 2005). Nosotros no podemos extraer conclusiones de los resultados observados, ya que no se evaluó si estos pacientes estaban o no en tratamiento con EPO, lo cual muy probablemente haya influido en los resultados obtenidos. Se ampliará el estudio recogiendo este y otros datos, para evaluar con detenimiento estos resultados.

12. ADMA E HIPERHOMOCISTEINEMIA

La hiperhomocisteinemia es un factor de riesgo para la enfermedad cardiovascular y para el accidente cerebrovascular (Dayal y Lentz, 2005). Los mecanismos por los que la homocisteína afecta la función vascular incluyen la disminución de la biodisponibilidad de óxido nítrico, aumento del estrés oxidativo, aumento de la proliferación de la fibra muscular lisa vascular o la alteración de las propiedades elásticas de la pared vascular, así como la disminución de la S-adenosil metionina que se asocia con hipometilación global (Van y Stehouwer, 2000). La homocisteína se produce durante la síntesis de ADMA y puede alterar el metabolismo ADMA mediante la inhibición de DDAH (Dayal y Lentz, 2005). Se ha observado el efecto inhibidor de la homocisteína (Boger et al., 2001), de manera que la incubación de células endoteliales con elevadas concentraciones de metionina u homocisteína (>100 µM) aumenta considerablemente la concentración de ADMA en el sobrenadante (Sydow y Munzel, 2003). Este efecto es comparable al observado en pacientes con hiperhomocisteinemia (Boger et al., 2000a) y en animales de experimentación sometidos a dietas con un contenido elevado de homocisteína o colesterol (Boger et al., 2000b), condiciones en las que se ha descrito una elevación plasmática de los niveles de ADMA.

Ante estos hechos, analizamos también la asociación existente entre niveles de homocisteína y niveles de ADMA en nuestra población, observando una tendencia a que los pacientes con niveles más elevados de homocisteína presentasen también niveles más elevados de ADMA, aunque sin llegar al umbral de la significación estadística. El 94% de nuestra población presentaba hiperhomocisteinemia moderada, con niveles de homocisteína ≥ 15 µmol/L, con sólo 5 pacientes con niveles por debajo de este rango, lo cual probablemente haya condicionado nuestros resultados.

Limitaciones del estudio

CAPÍTULO VII. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Consideramos que la principal limitación de nuestro estudio es su carácter observacional, lo que excluye la posibilidad de sacar conclusiones definitivas acerca de la naturaleza causal o no de las relaciones que encontramos. Por otro lado, aunque la morbimortalidad cardiovascular asociada a ADMA se evaluó prospectivamente, el resto de las asociaciones con ADMA se evaluaron de forma transversal, por lo que hay que interpretar los resultados con precaución. Por otro lado, aunque el tamaño de la muestra estudiado resulta adecuado para demostrar determinados efectos, probablemente con un tamaño muestral mayor hubiera sido posible encontrar otras asociaciones o correlaciones con ADMA.

Los puntos fuertes de nuestro estudio son la solidez del enfoque estadístico, la coherencia interna y plausibilidad biológica de los resultados.

Conclusiones

CONCLUSIONES

1. En nuestra población, constituida por pacientes con ERCA en tratamiento renal sustitutivo mediante hemodiálisis, comprobamos que a mayores concentraciones plasmáticas de ADMA, existe mayor riesgo de mortalidad. Nuestro estudio por tanto, confirma que ADMA pudiera constituirse en un predictor fuerte e independiente de la mortalidad global en estos pacientes.

2. En el presente estudio no observamos correlación entre concentraciones plasmáticas incrementadas de ADMA con la enfermedad cardiovascular. No obstante observamos una tendencia a que aquellos pacientes con niveles más altos de ADMA presentasen un mayor riesgo de desarrollar eventos cardiovasculares.

3. En nuestro estudio encontramos una asociación significativa entre niveles de ADMA y paricalcitol, de manera que los pacientes en tratamiento con paricalcitol presentaron unos niveles de ADMA inferiores respecto a los que no recibieron este tratamiento. Hasta la fecha, no tenemos conocimiento de que estos datos hayan sido descritos. Por lo tanto, consideramos que nuestro resultado, podría contribuir a entender el beneficio añadido en términos de morbimortalidad que ha demostrado el tratamiento con paricalcitol.

4. Los efectos beneficiosos demostrados por paricalcitol, podrían explicarse, al menos en parte, a través de la disminución de los niveles de ADMA implicando probablemente una reversión de la disfunción endotelial. Serán necesarios más estudios para confirmar este efecto, y el mecanismo fisiopatológico subyacente.

Conclusions

CONCLUSIONS

1. In our population of patients with CKD in hemodialysis, we observe that higher plasma concentrations of ADMA are associated with an increased risk of mortality. Our study therefore confirms that ADMA could become a strong and independent predictor of overall mortality in these patients.

2. In the present study we observed no correlation between increased plasma concentrations of ADMA with cardiovascular disease. However we note a tendency for patients with higher ADMA levels to have an increased risk of cardiovascular events.

3. In our study we found a significant association between ADMA concentrations and paricalcitol, so that patients treated with paricalcitol had lower levels of ADMA compared to those who did not receive this treatment. To date we have no knowledge that these data have been described. Therefore, we believe that our results could help to understand the added benefit in terms of mortality that paricalcitol has shown.

4. The beneficial effects demonstrated by paricalcitol, could be explained at least in part by decreasing ADMA levels probably involving a reversal of endothelial dysfunction. Further studies are needed to confirm this effect, and the underlying pathophysiological mechanism.

Bibliografía

BIBLIOGRAFÍA

World Population Ageing. 1950-2050. (2001). Department of Economic and Social Affairs. Population Division. United Nations. Online Source.

Documento de consenso sobre la Enfermedad Renal Crónica. (2012a). Recuperado de. https://www.fesemi.org/sites/default/files/documentos/publicaciones/consenso-enfermedad-renal-cronica.pdf. Online Source.

KDIGO: Kidney Disease: improving global outcomes. (2012b). KDIGO. Kidney Disease. improving global outcomes. Recuperado de: http://www.kdigo.org/clinical_practice_guidelines/pdf/CKD/KDIGO_2012_CKD_GL.pdf en http://www.kdigo.org/. Online Source.

Informe de Diálisis y Trasplante 2013. (2013). Registros autonómicos de diálisis y trasplante 2013. Registros de Enfermos Renales. Online Source.

Overview of the management of chronic kidney disease in adults. (8-7-2015). UpToDate . Online Source.

Abassi, Z. A., Winaver, J., y Skorecki, K. L. (2005). Control del volumen de líquido extracelular y fisiopatología de la formación de los edemas. En B.M. Brenner y S. A. Levine (Eds.), *El Riñón. Tratado de Nefrología.* (7ª ed., pp. 777-856). Madrid: Elsevier.

Achan, V., Broadhead, M., Malaki, M., Whitley, G., Leiper, J., MacAllister, R. et al. (2003). Asymmetric dimethylarginine causes hypertension and cardiac dysfunction in humans and is actively metabolized by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol., 23,* 1455-1459.

Achinger, S. G. y Ayus, J. C. (2005). The role of vitamin D in left ventricular hypertrophy and cardiac function. *Kidney Int.Suppl,* S37-S42.

Adam, A. y Raij, L. (2000). Nitric oxide--angiotensin II axis in renal and cardiovascular injury. *J.Nephrol., 13,* 211-220.

Aguilera, A., Selgas, R., Ruiz-Caravaca, M. L., Bajo, M. A., Cuesta, M. V., Plaza, M. A. et al. (1999). Effects of recombinant human erythropoietin on functional and injury endothelial markers in peritoneal dialysis patients. *Perit.Dial Int., 19 Suppl 2,* S161-S166.

Alcazar, R. y de Francisco, A. L. M. (2006). Acción estratégica de la SEN frente a la enfermedad renal. *Nefrologia., 26,* 4.

Alexander, R. W. (1995). Theodore Cooper Memorial Lecture. Hypertension and the pathogenesis of atherosclerosis. Oxidative stress and the mediation of arterial inflammatory response: a new perspective. *Hypertension, 25,* 155-161.

Álvarez de Lara Sánchez, M. A. y Aljama García, P. (2009). Complicaciones de la hemodiálisis crónica. En L. Hernando Avendaño, P. Aljama García, M. Arias Rodríguez, C. Caramelo Díaz, J. Egido de los Ríos, y S. Lamas Peláez (Eds.), *Nefrología Clínica* (3ª ed., pp. 922-929). Madrid: Editorial Médica Panamericana.

Amann, K., Tornig, J., Kugel, B., Gross, M. L., Tyralla, K., El-Shakmak, A. et al. (2003). Hyperphosphatemia aggravates cardiac fibrosis and microvascular disease in experimental uremia. *Kidney Int., 63,* 1296-1301.

Anderson, S., Komers, R., y Brenner, B. M. (2005). Manifestaciones renales y sistémicas de las glomerulopatías. En B.M. Brenner y S. A. Levine (Eds.), *El Riñón. Tratado de Nefrología.* (7ª ed., pp. 1927-1954). Madrid: Elsevier.

Anderstam, B., Katzarski, K., y Bergstrom, J. (1997). Serum levels of NG, NG-dimethyl-L-arginine, a potential endogenous nitric oxide inhibitor in dialysis patients. *J Am.Soc.Nephrol., 8,* 1437-1442.

Anggard, E. (1994). Nitric oxide: mediator, murderer, and medicine. *Lancet, 343,* 1199-1206.

Arnal, J. F., Michel, J. B., y Harrison, D. G. (1995). Nitric oxide in the pathogenesis of hypertension. *Curr.Opin.Nephrol.Hypertens., 4,* 182-188.

Asagami, T., Abbasi, F., Stuelinger, M., Lamendola, C., McLaughlin, T., Cooke, J. P. et al. (2002). Metformin treatment lowers asymmetric dimethylarginine concentrations in patients with type 2 diabetes. *Metabolism, 51,* 843-846.

Atkins, R. C. (2005). The epidemiology of chronic kidney disease. *Kidney Int.Suppl,* S14-S18.

Aucella, F., Maas, R., Vigilante, M., Tripepi, G., Schwedhelm, E., Margaglione, M. et al. (2009). Methylarginines and mortality in patients with end stage renal disease: a prospective cohort study. *Atherosclerosis, 207,* 541-545.

Avogaro, A., Piarulli, F., Valerio, A., Miola, M., Calveri, M., Pavan, P. et al. (1997). Forearm nitric oxide balance, vascular relaxation, and glucose metabolism in NIDDM patients. *Diabetes, 46,* 1040-1046.

Banerjee, T., Kim, S. J., Astor, B., Shafi, T., Coresh, J., y Powe, N. R. (2014). Vascular access type, inflammatory markers, and mortality in incident hemodialysis patients: the Choices for Healthy Outcomes in Caring for End-Stage Renal Disease (CHOICE) Study. *Am.J Kidney Dis., 64,* 954-961.

Baylis, C. (2006). Arginine, arginine analogs and nitric oxide production in chronic kidney disease. *Nat.Clin.Pract.Nephrol., 2,* 209-220.

Bech, J. N., Nielsen, C. B., y Pedersen, E. B. (1996). Effects of systemic NO synthesis inhibition on RPF, GFR, UNa, and vasoactive hormones in healthy humans. *Am.J Physiol, 270,* F845-F851.

Beckman, J. S., Beckman, T. W., Chen, J., Marshall, P. A., y Freeman, B. A. (1990). Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A, 87,* 1620-1624.

Beerenhout, C. H., Luik, A. J., Jeuken-Mertens, S. G., Bekers, O., Menheere, P., Hover, L. et al. (2005). Pre-dilution on-line haemofiltration vs low-flux haemodialysis: a randomized prospective study. *Nephrol.Dial Transplant., 20,* 1155-1163.

Ben-Dov, I. Z., Galitzer, H., Lavi-Moshayoff, V., Goetz, R., Kuro-o M, Mohammadi, M. et al. (2007). The parathyroid is a target organ for FGF23 in rats. *J Clin.Invest, 117,* 4003-4008.

Berl, T. y Verbalis, J. (2005). Fisiopatología del metabolismo del agua. En B.M. Brenner y S. A. Levine (Eds.), *El Riñón. Tratado de Nefrología.* (7ª ed., pp. 857-920). Madrid: Elsevier.

Betteridge, D. J. (2000). What is oxidative stress? *Metabolism, 49,* 3-8.

Block, G. A., Klassen, P. S., Lazarus, J. M., Ofsthun, N., Lowrie, E. G., y Chertow, G. M. (2004). Mineral metabolism, mortality, and morbidity in maintenance hemodialysis. *J.Am.Soc.Nephrol., 15,* 2208-2218.

Bode-Boger, S. M., Boger, R. H., Alfke, H., Heinzel, D., Tsikas, D., Creutzig, A. et al. (1996). L-arginine induces nitric oxide-dependent vasodilation in patients with critical limb ischemia. A randomized, controlled study. *Circulation, 93,* 85-90.

Bode-Boger, S. M., Scalera, F., y Ignarro, L. J. (2007). The L-arginine paradox: Importance of the L-arginine/asymmetrical dimethylarginine ratio. *Pharmacol.Ther., 114,* 295-306.

Boger, R. H., Bode-Boger, S. M., y Frolich, J. C. (1996). The L-arginine-nitric oxide pathway: role in atherosclerosis and therapeutic implications. *Atherosclerosis, 127,* 1-11.

Boger, R. H., Bode-Boger, S. M., Sydow, K., Heistad, D. D., y Lentz, S. R. (2000). Plasma concentration of asymmetric dimethylarginine, an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase, is elevated in monkeys with hyperhomocyst(e)inemia or hypercholesterolemia. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol., 20,* 1557-1564.

Boger, R. H., Bode-Boger, S. M., Szuba, A., Tsao, P. S., Chan, J. R., Tangphao, O. et al. (1998). Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a novel risk factor for endothelial dysfunction: its role in hypercholesterolemia. *Circulation, 98,* 1842-1847.

Boger, R. H., Lentz, S. R., Bode-Boger, S. M., Knapp, H. R., y Haynes, W. G. (2001). Elevation of asymmetrical dimethylarginine may mediate endothelial dysfunction during experimental hyperhomocyst(e)inaemia in humans. *Clin.Sci.(Lond), 100,* 161-167.

Boger, R. H., Sydow, K., Borlak, J., Thum, T., Lenzen, H., Schubert, B. et al. (2000). LDL cholesterol upregulates synthesis of asymmetrical dimethylarginine in human endothelial cells: involvement of S-adenosylmethionine-dependent methyltransferases. *Circ.Res., 87,* 99-105.

Bolton, C. H., Downs, L. G., Victory, J. G., Dwight, J. F., Tomson, C. R., Mackness, M. I. et al. (2001). Endothelial dysfunction in chronic renal failure: roles of lipoprotein oxidation and pro-inflammatory cytokines. *Nephrol.Dial Transplant., 16,* 1189-1197.

Bongartz, L. G., Cramer, M. J., Doevendans, P. A., Joles, J. A., y Braam, B. (2005). The severe cardiorenal syndrome: 'Guyton revisited'. *Eur.Heart J., 26,* 11-17.

Borawski, J., Naumnik, B., Pawlak, K., y Mysliwiec, M. (2001a). Endothelial dysfunction marker von Willebrand factor antigen in haemodialysis patients: associations with pre-dialysis blood pressure and the acute phase response. *Nephrol.Dial Transplant., 16,* 1442-1447.

Borawski, J., Naumnik, B., Pawlak, K., y Mysliwiec, M. (2001b). Soluble thrombomodulin is associated with viral hepatitis, blood pressure, and medications in haemodialysis patients. *Nephrol.Dial Transplant., 16,* 787-792.

Brown, A. J. (2001). Therapeutic uses of vitamin D analogues. *Am.J Kidney Dis., 38,* S3-S19.

Brown, A. J. y Coyne, D. W. (2002). Vitamin D analogs: new therapeutic agents for secondary hyperparathyroidism. *Treat.Endocrinol., 1,* 313-327.

Burkart, J. M., Daeihagh, P., y Rocco, M. V. (2005). Diálisis peritoneal. En B.M. Brenner y S. A. Levine (Eds.), *El Riñón. Tratado de Nefrología.* (7ª ed., pp. 2625-2696). Madrid: Elsevier.

Busch, M., Fleck, C., Wolf, G., y Stein, G. (2006). Asymmetrical (ADMA) and symmetrical dimethylarginine (SDMA) as potential risk factors for cardiovascular and renal outcome in chronic kidney disease - possible candidates for paradoxical epidemiology? *Amino.Acids, 30,* 225-232.

Cachofeiro Ramos, V., Sanz-Rosa, D., de las Heras Jiménez, N., Cediel Gil, E., Miana Ortega, M., y Lahera, v. (2004). Inflamación, disfunción endotelial e hipertenaión arterial. *Hipertensión, 21,* 347-354.

Calver, A., Collier, J., Moncada, S., y Vallance, P. (1992). Effect of local intra-arterial NG-monomethyl-L-arginine in patients with hypertension: the nitric oxide dilator mechanism appears abnormal. *J.Hypertens., 10,* 1025-1031.

Canalejo, R., Canalejo, A., Martinez-Moreno, J. M., Rodriguez-Ortiz, M. E., Estepa, J. C., Mendoza, F. J. et al. (2010). FGF23 fails to inhibit uremic parathyroid glands. *J Am.Soc.Nephrol., 21,* 1125-1135.

Candido, R., Burrell, L. M., Jandeleit-Dahm, K. A., y Cooper, M. E. (2005). Péptidos vasoactivos y riñón. En B.M. Brenner y S. A. Levine (Eds.), *El Riñón. Tratado de Nefrología.* (7ª ed., pp. 663-726). Madrid: Elsevier.

Cannata Andia, J. B. (2000). Adynamic bone and chronic renal failure: an overview. *Am.J Med Sci, 320,* 81-84.

Cannata Andía, J. y Rodríguez Portillo, M. (2009). Manifestaciones clínicas y bioquímicas de la IRC. Alteraciones del metabolismo mineral y osteodistrofia renal. En L. Hernando Avendaño, P. Aljama García, M. Arias Rodríguez, C. Caramelo Díaz, J. Egido de los Ríos, y S. Lamas Peláez (Eds.), *Nefrología Clínica* (3ª ed., pp. 849-856). Madrid: Editorial Médica Panamericana.

Cannella, G., Paoletti, E., Barocci, S., Massarino, F., Delfino, R., Ravera, G. et al. (1998). Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and reversibility of uremic left ventricular hypertrophy following long-term antihypertensive therapy. *Kidney Int., 54,* 618-626.

Cannon, R. O., III (1998). Role of nitric oxide in cardiovascular disease: focus on the endothelium. *Clin.Chem., 44,* 1809-1819.

Caramelo Díaz, C. y García Pérez, A. (2009). Manifestaciones clínicas y bioquímicas de la IRC. Alteraciones cardiovasculares en la enferemdad renal crónica. En L. Hernando Avendaño, P. Aljama García, M. Arias Guillén, C. Caramelo Díaz, J. Egido de los Ríos, y S. Lamas Peláez (Eds.), *Nefrología Clínica* (3ª ed., pp. 826-832). Madrid: Editorial Médica Panamericana.

Cases, A., Vera, M., J.M. López Gómez. (2002). Riesgo cardiovascular en pacientes con insuficiencia renal crónica. Pacientes en tratamiento sustitutivo renal. Nefrologia, 22 Suppl 1, 68-74.

Cases, A. (2009). Manifestaciones clínicas y bioquímicas de la IRC. Anemia y alteraciones de la coagulación en la insuficiencia renal. En L. Hernando Avendaño, P. Aljama García, M. Arias Guillén, C. Caramelo Díaz, J. Egido de los Ríos, y S. Lamas Peláez (Eds.), *Nefrología Clínica* (3ª ed., pp. 833-843). Madrid: Editorial Médica Panamericana.

Cases, A. (2012). Tratamiento sustitutivo de la función renal. Hemodiálisis y diálisis peritoneal. En P. Farreras y C. Rozman (Eds.), *Medicina Interna* (17 ed., pp. 824-828). Barcelona: Elsevier España, S.L.

Cases, A. y Mora-Maciá, J. (2001). Adrenomedulina un nuevo péptido vasoactivo. *Nefrologia., 21,* 16-25.

Cases, A., Vera, M., y Lopez Gomez, J. M. (2002). Riesgo cardiovascular en pacientes con insuficiencia renal crónica. Pacientes en tratamiento sustitutivo renal. *Nefrologia., 22 Suppl 1,* 68-74.

Charlson, M. E., Charlson, R. E., Peterson, J. C., Marinopoulos, S. S., Briggs, W. M., y Hollenberg, J. P. (2008). The Charlson comorbidity index is adapted to predict costs of chronic disease in primary care patients. *J Clin.Epidemiol., 61,* 1234-1240.

Charlson, M. E., Pompei, P., Ales, K. L., y MacKenzie, C. R. (1987). A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic.Dis., 40,* 373-383.

Charra, B., Calemard, E., Ruffet, M., Chazot, C., Terrat, J. C., Vanel, T. et al. (1992). Survival as an index of adequacy of dialysis. *Kidney Int., 41,* 1286-1291.

Chen, H. H. y Burnett, J. C., Jr. (1998). C-type natriuretic peptide: the endothelial component of the natriuretic peptide system. *J.Cardiovasc.Pharmacol., 32 Suppl 3,* S22-S28.

Chen, H. H., Tarng, D. C., Lee, K. F., Wu, C. Y., y Chen, Y. C. (2008). Epoetin alfa and darbepoetin alfa: effects on ventricular hypertrophy in patients with chronic kidney disease. *J.Nephrol., 21,* 543-549.

Chobanian, A. V., Bakris, G. L., Black, H. R., Cushman, W. C., Green, L. A., Izzo, J. L., Jr. et al. (2003). The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *JAMA, 289,* 2560-2572.

Chonchol, M., Cigolini, M., y Targher, G. (2008). Association between 25-hydroxyvitamin D deficiency and cardiovascular disease in type 2 diabetic patients with mild kidney dysfunction. *Nephrol.Dial Transplant., 23,* 269-274.

Churchill, D. N., Taylor, D. W., Cook, R. J., LaPlante, P., Barre, P., Cartier, P. et al. (1992). Canadian Hemodialysis Morbidity Study. *Am.J Kidney Dis., 19,* 214-234.

Cighetti, G., Fermo, I., Aman, C. S., Ferraroni, M., Secchi, A., Fiorina, P. et al. (2009). Dimethylarginines in complicated type 1 diabetes: roles of insulin, glucose, and oxidative stress. *Free Radic.Biol.Med, 47,* 307-311.

Cines, D. B., Pollak, E. S., Buck, C. A., Loscalzo, J., Zimmerman, G. A., McEver, R. P. et al. (1998). Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders. *Blood, 91,* 3527-3561.

Cooke, J. P. (2000). Does ADMA cause endothelial dysfunction? *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol., 20,* 2032-2037.

Cooke, J. P. (2004). Asymmetrical dimethylarginine: the Uber marker? *Circulation, 109,* 1813-1818.

Coomer, R. W., Schulman, G., Breyer, J. A., y Shyr, Y. (1997). Ambulatory blood pressure monitoring in dialysis patients and estimation of mean interdialytic blood pressure. *Am.J Kidney Dis., 29,* 678-684.

Cosentino, F. y Luscher, T. F. (1998). Tetrahydrobiopterin and endothelial function. *Eur.Heart J, 19 Suppl G,* G3-G8.

Costa, F., Christensen, N. J., Farley, G., y Biaggioni, I. (2001). NO modulates norepinephrine release in human skeletal muscle: implications for neural preconditioning. *Am.J Physiol Regul.Integr.Comp Physiol, 280,* R1494-R1498.

Cross, J. M., Donald, A., Vallance, P. J., Deanfield, J. E., Woolfson, R. G., y MacAllister, R. J. (2001a). Dialysis improves endothelial function in humans. *Nephrol.Dial Transplant., 16,* 1823-1829.

Cross, J. M., Donald, A. E., Kharbanda, R., Deanfield, J. E., Woolfson, R. G., y MacAllister, R. J. (2001b). Acute administration of L-arginine does not improve arterial endothelial function in chronic renal failure. *Kidney Int., 60,* 2318-2323.

Cunningham, J., Locatelli, F., y Rodriguez, M. (2011). Secondary hyperparathyroidism: pathogenesis, disease progression, and therapeutic options. *Clin.J Am.Soc.Nephrol., 6,* 913-921.

Davies, M. G., Fulton, G. J., y Hagen, P. O. (1995). Clinical biology of nitric oxide. *Br.J Surg., 82,* 1598-1610.

Davies, P. F. (1995). Flow-mediated endothelial mechanotransduction. *Physiol Rev., 75,* 519-560.

Dayal, S. y Lentz, S. R. (2005). ADMA and hyperhomocysteinemia. *Vascular Medicine, 10,* S27-S33.

Dayoub, H., Achan, V., Adimoolam, S., Jacobi, J., Stuehlinger, M. C., Wang, B. Y. et al. (2003). Dimethylarginine dimethylaminohydrolase regulates nitric oxide synthesis: genetic and physiological evidence. *Circulation, 108,* 3042-3047.

de Borst, M. H., Hajhosseiny, R., Tamez, H., Wenger, J., Thadhani, R., y Goldsmith, D. J. (2013). Active vitamin D treatment for reduction of residual proteinuria: a systematic review. *J Am.Soc.Nephrol., 24,* 1863-1871.

De, C. R. (2000). Endothelial dysfunctions: common denominators in vascular disease. *Curr.Opin.Lipidol., 11,* 9-23.

De, Z. D., Agarwal, R., Amdahl, M., Audhya, P., Coyne, D., Garimella, T. et al. (2010). Selective vitamin D receptor activation with paricalcitol for reduction of albuminuria in patients with type 2 diabetes (VITAL study): a randomised controlled trial. *Lancet, 376,* 1543-1551.

Delles, C., Schneider, M. P., John, S., Gekle, M., y Schmieder, R. E. (2002). Angiotensin converting enzyme inhibition and angiotensin II AT1-receptor blockade reduce the levels of asymmetrical N(G), N(G)-dimethylarginine in human essential hypertension. *Am.J Hypertens., 15,* 590-593.

Descamps-Latscha, B., Drueke, T., y Witko-Sarsat, V. (2001). Dialysis-induced oxidative stress: biological aspects, clinical consequences, and therapy. *Semin.Dial, 14,* 193-199.

Descamps-Latscha, B. y Witko-Sarsat, V. (2001). Importance of oxidatively modified proteins in chronic renal failure. *Kidney Int.Suppl, 78,* S108-S113.

Dominiczak, A. F. y Bohr, D. F. (1995). Nitric oxide and its putative role in hypertension. *Hypertension, 25,* 1202-1211.

Drexler, H. (1998). Factors involved in the maintenance of endothelial function. *Am.J.Cardiol., 82,* 3S-4S.

DuBose, T. D. (2005). Trastornos acidobásicos. En B.M. Brenner y S. A. Levine (Eds.), *El Riñón. Tratado de Nefrología.* (7ª ed., pp. 921-996). Madrid: Elsevier.

Duplancic, D., Cesarik, M., Poljak, N. K., Radman, M., Kovacic, V., Radic, J. et al. (2013). The influence of selective vitamin D receptor activator paricalcitol on cardiovascular system and cardiorenal protection. *Clin.Interv.Aging, 8,* 149-156.

Eid, H. M., Eritsland, J., Larsen, J., Arnesen, H., y Seljeflot, I. (2003). Increased levels of asymmetric dimethylarginine in populations at risk for atherosclerotic disease. Effects of pravastatin. *Atherosclerosis, 166,* 279-284.

Fayh, A. P., Krause, M., Rodrigues-Krause, J., Ribeiro, J. L., Ribeiro, J. P., Friedman, R. et al. (2013). Effects of L-arginine supplementation on blood flow, oxidative stress status and exercise responses in young adults with uncomplicated type I diabetes. *Eur.J Nutr., 52,* 975-983.

Fleck, C., Janz, A., Schweitzer, F., Karge, E., Schwertfeger, M., y Stein, G. (2001). Serum concentrations of asymmetric (ADMA) and symmetric (SDMA) dimethylarginine in renal failure patients. *Kidney Int.Suppl, 78,* S14-S18.

Fliser, D., Wagner, K. K., Loos, A., Tsikas, D., y Haller, H. (2005). Chronic angiotensin II receptor blockade reduces (intra)renal vascular resistance in patients with type 2 diabetes. *J Am.Soc.Nephrol., 16,* 1135-1140.

Foley, R. N., Murray, A. M., Li, S., Herzog, C. A., McBean, A. M., Eggers, P. W. et al. (2005). Chronic kidney disease and the risk for cardiovascular disease, renal replacement, and death in the United States Medicare population, 1998 to 1999. *J Am.Soc.Nephrol., 16,* 489-495.

Foley, R. N., Parfrey, P. S., Harnett, J. D., Kent, G. M., Martin, C. J., Murray, D. C. et al. (1995). Clinical and echocardiographic disease in patients starting end-stage renal disease therapy. *Kidney Int., 47,* 186-192.

Foley, R. N., Parfrey, P. S., Kent, G. M., Harnett, J. D., Murray, D. C., y Barre, P. E. (1998). Long-term evolution of cardiomyopathy in dialysis patients. *Kidney Int., 54,* 1720-1725.

Foley, R. N., Parfrey, P. S., y Sarnak, M. J. (1998). Epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *J.Am.Soc.Nephrol., 9,* S16-S23.

Fossum, E., Hoieggen, A., Moan, A., Rostrup, M., Nordby, G., y Kjeldsen, S. E. (1998). Relationship between insulin sensitivity and maximal forearm blood flow in young men. *Hypertension, 32,* 838-843.

Frei, B. (1999). On the role of vitamin C and other antioxidants in atherogenesis and vascular dysfunction. *Proc.Soc.Exp.Biol.Med., 222,* 196-204.

Freundlich, M., Quiroz, Y., Zhang, Z., Zhang, Y., Bravo, Y., Weisinger, J. R. et al. (2008). Suppression of renin-angiotensin gene expression in the kidney by paricalcitol. *Kidney Int., 74,* 1394-1402.

Fujiwara, N., Osanai, T., Kamada, T., Katoh, T., Takahashi, K., y Okumura, K. (2000). Study on the relationship between plasma nitrite and nitrate level and salt sensitivity in human hypertension : modulation of nitric oxide synthesis by salt intake. *Circulation, 101,* 856-861.

Fukui, T., Lassegue, B., Kai, H., Alexander, R. W., y Griendling, K. K. (1995). Cytochrome b-558 alpha-subunit cloning and expression in rat aortic smooth muscle cells. *Biochim.Biophys.Acta, 1231,* 215-219.

Furchgott, R. F. y Zawadzki, J. V. (1980). The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature, 288,* 373-376.

Ghebremariam, Y. T., LePendu, P., Lee, J. C., Erlanson, D. A., Slaviero, A., Shah, N. H. et al. (2013). Unexpected effect of proton pump inhibitors: elevation of the cardiovascular risk factor asymmetric dimethylarginine. *Circulation, 128,* 845-853.

Giovannucci, E., Liu, Y., Hollis, B. W., y Rimm, E. B. (2008). 25-hydroxyvitamin D and risk of myocardial infarction in men: a prospective study. *Arch.Intern.Med, 168,* 1174-1180.

Go, A. S., Chertow, G. M., Fan, D., McCulloch, C. E., y Hsu, C. Y. (2004). Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N.Engl.J.Med., 351,* 1296-1305.

Goicoechea, M., García de Vinuesa, S., Gómez Campderá, F., y Luño, J. (2006). Tratamiento de la hipertensión arterial en los enfermos con insuficiencia renal terminal en hemodiálisis. En R. Jofré, J. M. López Gómez, R. Pérez García, y P. Rodríguez Benítez (Eds.), *Tratado de Hemodiálisis* (2ª ed., pp. 451-466). Barcelona: Editorial Médica Jims.

Gonzalez, I. (1997). Hipertensión arterial, diabetes y arterioesclerosis. La encrucijada del endotelio (I). *Hipertensión, 14,* 163-172.

Gonzalez-Parra, E., Rojas-Rivera, J., Tunon, J., Praga, M., Ortiz, A., y Egido, J. (2012). Vitamin D receptor activation and cardiovascular disease. *Nephrol.Dial Transplant., 27 Suppl 4,* iv17-iv21.

Goodkin, D. A., Bragg-Gresham, J. L., Koenig, K. G., Wolfe, R. A., Akiba, T., Andreucci, V. E. et al. (2003). Association of comorbid conditions and mortality in hemodialysis patients in Europe, Japan, and the United States: the Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study (DOPPS). *J Am.Soc.Nephrol., 14,* 3270-3277.

Goonasekera, C. D., Rees, D. D., Woolard, P., Frend, A., Shah, V., y Dillon, M. J. (1997). Nitric oxide synthase inhibitors and hypertension in children and adolescents. *J Hypertens., 15,* 901-909.

Gracia, S., Montanes, R., Bover, J., Cases, A., Deulofeu, R., Martin de Francisco, A. L. et al. (2006). Recomendaciones sobre la utilización de ecuaciones para la estimación del filtrado glomerular en adultos. *Nefrologia., 26,* 658-665.

Grassi, G., Seravalle, G., Trevano, F. Q., Spaziani, D., Scalise, F., Auguadro, C. et al. (2015). Asymmetric and Symmetric Dimethylarginine and Sympathetic Nerve Traffic after Renal Denervation in Patients with Resistant Hypertension. *Clin.J Am.Soc.Nephrol., 10,* 1560-1567.

Griffith, O. W. y Kilbourn, R. G. (1996). Nitric oxide synthase inhibitors: amino acids. *Methods Enzymol., 268,* 375-392.

Gutierrez, O., Isakova, T., Rhee, E., Shah, A., Holmes, J., Collerone, G. et al. (2005). Fibroblast growth factor-23 mitigates hyperphosphatemia but accentuates calcitriol deficiency in chronic kidney disease. *J Am.Soc.Nephrol., 16,* 2205-2215.

Hager, S. R. (1989). Insulin resistance of uremia. *Am.J.Kidney Dis., 14,* 272-276.

Haller, H. (1997). Endothelial function. General considerations. *Drugs, 53 Suppl 1,* 1-10.

Hand, M. F., Haynes, W. G., y Webb, D. J. (1998). Hemodialysis and L-arginine, but not D-arginine, correct renal failure-associated endothelial dysfunction. *Kidney Int., 53,* 1068-1077.

Harris, R. C. (2012). Podocyte ACE2 protects against diabetic nephropathy. *Kidney Int., 82,* 255-256.

Harrison, D. G. (1997). Cellular and molecular mechanisms of endothelial cell dysfunction. *J.Clin.Invest, 100,* 2153-2157.

Haydar, A. A., Covic, A., Colhoun, H., Rubens, M., y Goldsmith, D. J. (2004). Coronary artery calcification and aortic pulse wave velocity in chronic kidney disease patients. *Kidney Int., 65,* 1790-1794.

Heitzer, T., Krohn, K., Albers, S., y Meinertz, T. (2000). Tetrahydrobiopterin improves endothelium-dependent vasodilation by increasing nitric oxide activity in patients with Type II diabetes mellitus. *Diabetologia, 43,* 1435-1438.

Hijmering, M. L., Stroes, E. S., Olijhoek, J., Hutten, B. A., Blankestijn, P. J., y Rabelink, T. J. (2002). Sympathetic activation markedly reduces endothelium-dependent, flow-mediated vasodilation. *J Am.Coll.Cardiol., 39,* 683-688.

Holden, D. P., Cartwright, J. E., Nussey, S. S., y Whitley, G. S. (2003). Estrogen stimulates dimethylarginine dimethylaminohydrolase activity and the metabolism of asymmetric dimethylarginine. *Circulation, 108,* 1575-1580.

Holven, K. B., Haugstad, T. S., Holm, T., Aukrust, P., Ose, L., y Nenseter, M. S. (2003). Folic acid treatment reduces elevated plasma levels of asymmetric dimethylarginine in hyperhomocysteinaemic subjects. *Br.J Nutr., 89,* 359-363.

Hu, R. M., Levin, E. R., Pedram, A., y Frank, H. J. (1993). Insulin stimulates production and secretion of endothelin from bovine endothelial cells. *Diabetes, 42,* 351-358.

Hu, T., Chouinard, M., Cox, A. L., Sipes, P., Marcelo, M., Ficorilli, J. et al. (2006). Farnesoid X receptor agonist reduces serum asymmetric dimethylarginine levels through hepatic dimethylarginine dimethylaminohydrolase-1 gene regulation. *J Biol.Chem., 281,* 39831-39838.

Imanishi, Y., Inaba, M., Nakatsuka, K., Nagasue, K., Okuno, S., Yoshihara, A. et al. (2004). FGF-23 in patients with end-stage renal disease on hemodialysis. *Kidney Int., 65,* 1943-1946.

Inaba, M., Nagasue, K., Okuno, S., Ueda, M., Kumeda, Y., Imanishi, Y. et al. (2002). Impaired secretion of parathyroid hormone, but not refractoriness of osteoblast, is a major mechanism of low bone turnover in hemodialyzed patients with diabetes mellitus. *Am.J Kidney Dis., 39,* 1261-1269.

Isakova, T., Xie, H., Yang, W., Xie, D., Anderson, A. H., Scialla, J. et al. (2011). Fibroblast growth factor 23 and risks of mortality and end-stage renal disease in patients with chronic kidney disease. *JAMA, 305,* 2432-2439.

Ishimura, E., Shoji, T., Emoto, M., Motoyama, K., Shinohara, K., Matsumoto, N. et al. (2001). Renal insufficiency accelerates atherosclerosis in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am.J.Kidney Dis., 38,* S186-S190.

Ito, A., Egashira, K., Narishige, T., Muramatsu, K., y Takeshita, A. (2001). Renin-angiotensin system is involved in the mechanism of increased serum asymmetric dimethylarginine in essential hypertension. *Jpn.Circ.J, 65,* 775-778.

Jablonski, K. L., Chonchol, M., Pierce, G. L., Walker, A. E., y Seals, D. R. (2011). 25-Hydroxyvitamin D deficiency is associated with inflammation-linked vascular endothelial dysfunction in middle-aged and older adults. *Hypertension, 57,* 63-69.

Jaffe, E. A. (1985). Physiologic functions of normal endothelial cells. *Ann.N.Y.Acad.Sci., 454,* 279-291.

Jaipersad, A. S., Lip, G. Y., Silverman, S., y Shantsila, E. (2014). The role of monocytes in angiogenesis and atherosclerosis. *J Am.Coll.Cardiol., 63,* 1-11.

Joannides, R., Bakkali, E. H., Le, R. F., Rivault, O., Godin, M., Moore, N. et al. (1997). Altered flow-dependent vasodilatation of conduit arteries in maintenance haemodialysis. *Nephrol.Dial Transplant., 12,* 2623-2628.

Jones, S. P., Gibson, M. F., Rimmer, D. M., III, Gibson, T. M., Sharp, B. R., y Lefer, D. J. (2002). Direct vascular and cardioprotective effects of rosuvastatin, a new HMG-CoA reductase inhibitor. *J Am.Coll.Cardiol., 40,* 1172-1178.

Kakimoto, Y. y Akazawa, S. (1970). Isolation and identification of N-G,N-G- and N-G,N'-G-dimethyl-arginine, N-epsilon-mono-, di-, and trimethyllysine, and glucosylgalactosyl- and galactosyl-delta-hydroxylysine from human urine. *J.Biol.Chem., 245,* 5751-5758.

Kalantar-Zadeh, K., Ikizler, T. A., Block, G., Avram, M. M., y Kopple, J. D. (2003). Malnutrition-inflammation complex syndrome in dialysis patients: causes and consequences. *Am.J.Kidney Dis., 42,* 864-881.

Kalousova, M., Kielstein, J. T., Hodkova, M., Zima, T., Dusilova-Sulkova, S., Martens-Lobenhoffer, J. et al. (2006). No benefit of hemodiafiltration over hemodialysis in lowering elevated levels of asymmetric dimethylarginine in ESRD patients. *Blood Purif., 24,* 439-444.

Kari, J. A., Donald, A. E., Vallance, D. T., Bruckdorfer, K. R., Leone, A., Mullen, M. J. et al. (1997). Physiology and biochemistry of endothelial function in children with chronic renal failure. *Kidney Int., 52,* 468-472.

Kawano, H., Motoyama, T., Hirai, N., Kugiyama, K., Yasue, H., y Ogawa, H. (2002). Endothelial dysfunction in hypercholesterolemia is improved by L-arginine administration: possible role of oxidative stress. *Atherosclerosis, 161,* 375-380.

Keith, D. S., Nichols, G. A., Gullion, C. M., Brown, J. B., y Smith, D. H. (2004). Longitudinal follow-up and outcomes among a population with chronic kidney disease in a large managed care organization. *Arch.Intern.Med., 164,* 659-663.

Kennedy, R., Case, C., Fathi, R., Johnson, D., Isbel, N., y Marwick, T. H. (2001). Does renal failure cause an atherosclerotic milieu in patients with end-stage renal disease? *Am.J.Med., 110,* 198-204.

Kestenbaum, B., Sampson, J. N., Rudser, K. D., Patterson, D. J., Seliger, S. L., Young, B. et al. (2005). Serum phosphate levels and mortality risk among people with chronic kidney disease. *J.Am.Soc.Nephrol., 16,* 520-528.

Kielstein, J. T., Bode-Boger, S. M., Frolich, J. C., Haller, H., y Boger, R. H. (2001). Relationship of asymmetric dimethylarginine to dialysis treatment and atherosclerotic disease. *Kidney Int.Suppl, 78,* S9-13.

Kielstein, J. T., Bode-Boger, S. M., Frolich, J. C., Ritz, E., Haller, H., y Fliser, D. (2003). Asymmetric dimethylarginine, blood pressure, and renal perfusion in elderly subjects. *Circulation, 107,* 1891-1895.

Kielstein, J. T., Boger, R. H., Bode-Boger, S. M., Martens-Lobenhoffer, J., Lonnemann, G., Frolich, J. C. et al. (2004a). Low dialysance of asymmetric dimethylarginine (ADMA)--in vivo and in vitro evidence of significant protein binding. *Clin.Nephrol., 62,* 295-300.

Kielstein, J. T., Boger, R. H., Bode-Boger, S. M., Schaffer, J., Barbey, M., Koch, K. M. et al. (1999). Asymmetric dimethylarginine plasma concentrations differ in patients with end-stage renal disease: relationship to treatment method and atherosclerotic disease. *J Am.Soc.Nephrol., 10,* 594-600.

Kielstein, J. T. y Fliser, D. (2007). The past, presence and future of ADMA in nephrology. *Nephrol.Ther., 3,* 47-54.

Kielstein, J. T., Simmel, S., Bode-Boger, S. M., Roth, H. J., Schmidt-Gayk, H., Haller, H. et al. (2004b). Subpressor dose asymmetric dimethylarginine modulates renal function in humans through nitric oxide synthase inhibition. *Kidney Blood Press Res., 27,* 143-147.

Kielstein, J. T. y Zoccali, C. (2005). Asymmetric dimethylarginine: a cardiovascular risk factor and a uremic toxin coming of age? *Am.J.Kidney Dis., 46,* 186-202.

Kielstein, J. T. y Zoccali, C. (2008). Asymmetric dimethylarginine: a novel marker of risk and a potential target for therapy in chronic kidney disease. *Curr.Opin.Nephrol.Hypertens., 17,* 609-615.

Kirpichnikov, D. y Sowers, J. R. (2001). Diabetes mellitus and diabetes-associated vascular disease. *Trends Endocrinol.Metab, 12,* 225-230.

Klassen, P. S., Lowrie, E. G., Reddan, D. N., DeLong, E. R., Coladonato, J. A., Szczech, L. A. et al. (2002). Association between pulse pressure and mortality in patients undergoing maintenance hemodialysis. *JAMA, 287,* 1548-1555.

Komaba, H., Goto, S., Fujii, H., Hamada, Y., Kobayashi, A., Shibuya, K. et al. (2010). Depressed expression of Klotho and FGF receptor 1 in hyperplastic parathyroid glands from uremic patients. *Kidney Int., 77,* 232-238.

Kooman, J. P., Gladziwa, U., Bocker, G., Wijnen, J. A., Bortel, L., Luik, A. J. et al. (1992). Blood pressure during the interdialytic period in haemodialysis patients: estimation of representative blood pressure values. *Nephrol.Dial Transplant., 7,* 917-923.

Kovesdy, C. P., Trivedi, B. K., Kalantar-Zadeh, K., y Anderson, J. E. (2006). Association of anemia with outcomes in men with moderate and severe chronic kidney disease. *Kidney Int., 69,* 560-564.

Krzyzanowska, K., Mittermayer, F., Wolzt, M., y Schernthaner, G. (2007). Asymmetric dimethylarginine predicts cardiovascular events in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care, 30,* 1834-1839.

Kuro-o M (2013). Klotho, phosphate and FGF-23 in ageing and disturbed mineral metabolism. *Nat.Rev.Nephrol., 9,* 650-660.

Kuro-o M, Matsumura, Y., Aizawa, H., Kawaguchi, H., Suga, T., Utsugi, T. et al. (1997). Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling ageing. *Nature, 390,* 45-51.

Kurosu, H., Yamamoto, M., Clark, J. D., Pastor, J. V., Nandi, A., Gurnani, P. et al. (2005). Suppression of aging in mice by the hormone Klotho. *Science, 309,* 1829-1833.

Kwack, C. y Balakrishnan, V. S. (2006). Managing erythropoietin hyporesponsiveness. *Semin.Dial, 19,* 146-151.

Lahera, V., Cediel, E., de las Heras, N., Vázquez-Pérez, S., Sanz-Rosa, D., Vázquez-Cruz, B. et al. (2003). Alteraciones del endotelio en la hipertensión. *Nefrologia., XXIII,* 3-12.

Lameire, N. (2000). Cardiovascular problems in ESRD patients. *Nefrologia., 20 Suppl 3,* 33-40.

Larsson, T., Nisbeth, U., Ljunggren, O., Juppner, H., y Jonsson, K. B. (2003). Circulating concentration of FGF-23 increases as renal function declines in patients with chronic kidney disease, but does not change in response to variation in phosphate intake in healthy volunteers. *Kidney Int., 64,* 2272-2279.

Laufs, U., La, F., V, Plutzky, J., y Liao, J. K. (1998). Upregulation of endothelial nitric oxide synthase by HMG CoA reductase inhibitors. *Circulation, 97,* 1129-1135.

Leiper, J. y Nandi, M. (2011). The therapeutic potential of targeting endogenous inhibitors of nitric oxide synthesis. *Nat.Rev.Drug Discov., 10,* 277-291.

Leiper, J., Nandi, M., Torondel, B., Murray-Rust, J., Malaki, M., O'Hara, B. et al. (2007). Disruption of methylarginine metabolism impairs vascular homeostasis. *Nat.Med, 13,* 198-203.

Levey, A. S. y Coresh, J. (2012). Chronic kidney disease. *Lancet, 379,* 165-180.

Levey, A. S., Coresh, J., Greene, T., Stevens, L. A., Zhang, Y. L., Hendriksen, S. et al. (2006). Using standardized serum creatinine values in the modification of diet in renal disease study equation for estimating glomerular filtration rate. *Ann.Intern.Med., 145,* 247-254.

Levin, A., Thompson, C. R., Ethier, J., Carlisle, E. J., Tobe, S., Mendelssohn, D. et al. (1999). Left ventricular mass index increase in early renal disease: impact of decline in hemoglobin. *Am.J.Kidney Dis., 34,* 125-134.

Lewin, E. y Olgaard, K. (2015). The vascular secret of Klotho. *Kidney Int., 87,* 1089-1091.

Li, Y. C., Kong, J., Wei, M., Chen, Z. F., Liu, S. Q., y Cao, L. P. (2002). 1,25-Dihydroxyvitamin D(3) is a negative endocrine regulator of the renin-angiotensin system. *J Clin.Invest, 110,* 229-238.

Liao, J. K. (1998). Endothelium and acute coronary syndromes. *Clin.Chem., 44,* 1799-1808.

Lindberg, K., Amin, R., Moe, O. W., Hu, M. C., Erben, R. G., Ostman, W. A. et al. (2014). The kidney is the principal organ mediating klotho effects. *J Am.Soc.Nephrol., 25,* 2169-2175.

Lindner, A., Charra, B., Sherrard, D. J., y Scribner, B. H. (1974). Accelerated atherosclerosis in prolonged maintenance hemodialysis. *N.Engl.J Med, 290,* 697-701.

Liu, S., Gupta, A., y Quarles, L. D. (2007). Emerging role of fibroblast growth factor 23 in a bone-kidney axis regulating systemic phosphate homeostasis and extracellular matrix mineralization. *Curr.Opin.Nephrol.Hypertens., 16,* 329-335.

Liu, S. y Quarles, L. D. (2007). How fibroblast growth factor 23 works. *J Am.Soc.Nephrol., 18,* 1637-1647.

London, G. M., Pannier, B., Guerin, A. P., Blacher, J., Marchais, S. J., Darne, B. et al. (2001). Alterations of left ventricular hypertrophy in and survival of patients receiving hemodialysis: follow-up of an interventional study. *J Am.Soc.Nephrol., 12,* 2759-2767.

Lopez-Gomez, J. M., Villaverde, M., Jofre, R., Rodriguez-Benitez, P., y Perez-Garcia, R. (2005). Interdialytic weight gain as a marker of blood pressure, nutrition, and survival in hemodialysis patients. *Kidney Int.Suppl,* S63-S68.

Lorenzo, V. (2009). Manifestaciones clínicas y bioquímicas de la IRC. Trastornos de la nutrición en la insuficiencia renal crónica. En L. Hernando Avendaño, P. Aljama García, M. Arias Rodríguez, C. Caramelo Díaz, J. Egido de los Ríos, y S. Lamas Peláez (Eds.), *Nefrología Clínica* (3ª ed., pp. 816-823). Madrid: Editorial Médica Panamericana.

Lowenstein, C. J., Dinerman, J. L., y Snyder, S. H. (1994). Nitric oxide: a physiologic messenger. *Ann.Intern.Med., 120,* 227-237.

Lu, T. M., Ding, Y. A., Leu, H. B., Yin, W. H., Sheu, W. H., y Chu, K. M. (2004). Effect of rosuvastatin on plasma levels of asymmetric dimethylarginine in patients with hypercholesterolemia. *Am.J Cardiol., 94,* 157-161.

Lyons, D., Webster, J., y Benjamin, N. (1994). The effect of antihypertensive therapy on responsiveness to local intra-arterial NG-monomethyl-L-arginine in patients with essential hypertension. *J.Hypertens., 12,* 1047-1052.

MacAllister, R. y Vallance, P. (1994). Nitric oxide in essential and renal hypertension. *J Am.Soc.Nephrol., 5,* 1057-1065.

MacAllister, R. J., Rambausek, M. H., Vallance, P., Williams, D., Hoffmann, K. H., y Ritz, E. (1996). Concentration of dimethyl-L-arginine in the plasma of patients with end-stage renal failure. *Nephrol.Dial.Transplant., 11,* 2449-2452.

Macia, M. (2005). Concepto de diálisis peritoneal, fisiología y anatomía. In F.Coronel (Ed.), *Manual práctico de diálisis peritoneal.* (Atrium SL ed., pp. 27-32). Badalona.

Maduell Canals, F. y Arias Guillén, M. (2009). Concepto de diálisis adecuada y métodos para medirla. En L. Hernando Avendaño, P. Aljama García, M. Arias Rodríguez, C. Caramelo Díaz, J. Egido de los Ríos, y S. Lamas Peláez (Eds.), *Nefrología Clínica* (3ª ed., pp. 915-921). Madrid: Editorial Médica Panamericana.

Magee, C. C. y Milford, E. L. (2005). Aspectos clínicos del trasplante renal. En B.M. Brenner y S. A. Levine (Eds.), *El Riñón. Tratado de Nefrología.* (7ª ed., pp. 2805-2848). Madrid: Elsevier.

Mallamaci, F., Tripepi, G., Maas, R., Malatino, L., Boger, R., y Zoccali, C. (2004). Analysis of the relationship between norepinephrine and asymmetric dimethyl arginine levels among patients with end-stage renal disease. *J.Am.Soc.Nephrol., 15,* 435-441.

Malyszko, J., Malyszko, J. S., Hryszko, T., Pawlak, K., y Mysliwiec, M. (2005). Is hepcidin a link between anemia, inflammation and liver function in hemodialyzed patients? *Am.J.Nephrol., 25,* 586-590.

Mann, J. F., Gerstein, H. C., Pogue, J., Bosch, J., y Yusuf, S. (2001). Renal insufficiency as a predictor of cardiovascular outcomes and the impact of ramipril: the HOPE randomized trial. *Ann.Intern.Med., 134,* 629-636.

Marco, M. P., Craver, L., Betriu, A., Belart, M., Fibla, J., y Fernandez, E. (2003). Higher impact of mineral metabolism on cardiovascular mortality in a European hemodialysis population. *Kidney Int.Suppl,* S111-S114.

Martin, K. J., González, E. A., y Slatopolsky, E. (2005). Osteodistrofia renal. En B.M. Brenner y S. A. Levine (Eds.), *El Riñón. Tratado de Nefrología.* (7ª ed., pp. 2255-2304). Madrid: Elsevier.

Matsuguma, K., Ueda, S., Yamagishi, S., Matsumoto, Y., Kaneyuki, U., Shibata, R. et al. (2006). Molecular mechanism for elevation of asymmetric dimethylarginine and its role for hypertension in chronic kidney disease. *J Am.Soc.Nephrol., 17,* 2176-2183.

Matsuoka, H., Itoh, S., Kimoto, M., Kohno, K., Tamai, O., Wada, Y. et al. (1997). Asymmetrical dimethylarginine, an endogenous nitric oxide synthase inhibitor, in experimental hypertension. *Hypertension, 29,* 242-247.

Mattson, D. L. y Higgins, D. J. (1996). Influence of dietary sodium intake on renal medullary nitric oxide synthase. *Hypertension, 27,* 688-692.

McGreevy, C. y Williams, D. (2011). New insights about vitamin D and cardiovascular disease: a narrative review. *Ann.Intern.Med, 155,* 820-826.

McIntyre, M., Bohr, D. F., y Dominiczak, A. F. (1999). Endothelial function in hypertension: the role of superoxide anion. *Hypertension, 34,* 539-545.

McLaughlin, T., Stuhlinger, M., Lamendola, C., Abbasi, F., Bialek, J., Reaven, G. M. et al. (2006). Plasma asymmetric dimethylarginine concentrations are elevated in obese insulin-resistant women and fall with weight loss. *J Clin.Endocrinol.Metab, 91,* 1896-1900.

McMahon, L. P. y Parfrey, P. S. (2005). Aspectos cardiovasculares de los trastornos renales crónicos. En B.M. Brenner y S. A. Levine (Eds.), *El Riñón. Tratado de Nefrología.* (7ª ed., pp. 2189-2226). Madrid: Elsevier.

Meigs, J. B., Hu, F. B., Rifai, N., y Manson, J. E. (2004). Biomarkers of endothelial dysfunction and risk of type 2 diabetes mellitus. *JAMA, 291,* 1978-1986.

Miyamoto, K., Ito, M., Tatsumi, S., Kuwahata, M., y Segawa, H. (2007). New aspect of renal phosphate reabsorption: the type IIc sodium-dependent phosphate transporter. *Am.J Nephrol., 27,* 503-515.

Miyazaki, H., Matsuoka, H., Cooke, J. P., Usui, M., Ueda, S., Okuda, S. et al. (1999). Endogenous nitric oxide synthase inhibitor: a novel marker of atherosclerosis. *Circulation, 99,* 1141-1146.

Miyazaki, H., Matsuoka, H., Itabe, H., Usui, M., Ueda, S., Okuda, S. et al. (2000). Hemodialysis impairs endothelial function via oxidative stress: effects of vitamin E-coated dialyzer. *Circulation, 101,* 1002-1006.

Mizobuchi, M., Morrissey, J., Finch, J. L., Martin, D. R., Liapis, H., Akizawa, T. et al. (2007). Combination therapy with an angiotensin-converting enzyme inhibitor and a vitamin D analog suppresses the progression of renal insufficiency in uremic rats. *J Am.Soc.Nephrol., 18,* 1796-1806.

Moe, S. M. (2012). Klotho: a master regulator of cardiovascular disease? *Circulation, 125,* 2181-2183.

Mok, M. Y. y Lau, C. S. (2010). The burden and measurement of cardiovascular disease in SSc. *Nat.Rev.Rheumatol., 6,* 430-434.

Molinari, C., Uberti, F., Grossini, E., Vacca, G., Carda, S., Invernizzi, M. et al. (2011). 1alpha,25-dihydroxycholecalciferol induces nitric oxide production in cultured endothelial cells. *Cell Physiol Biochem., 27,* 661-668.

Mombouli, J. V. y Vanhoutte, P. M. (1999). Endothelial dysfunction: from physiology to therapy. *J.Mol.Cell Cardiol., 31,* 61-74.

Moncada, S. y Higgs, A. (1993). The L-arginine-nitric oxide pathway. *N.Engl.J.Med., 329,* 2002-2012.

Moncada, S., Palmer, R. M., y Higgs, E. A. (1988). The discovery of nitric oxide as the endogenous nitrovasodilator. *Hypertension, 12,* 365-372.

Moncada, S., Radomski, M. W., y Palmer, R. M. (1988). Endothelium-derived relaxing factor. Identification as nitric oxide and role in the control of vascular tone and platelet function. *Biochem.Pharmacol., 37,* 2495-2501.

Moncada, S. y Vane, J. R. (1978). Pharmacology and endogenous roles of prostaglandin endoperoxides, thromboxane A2, and prostacyclin. *Pharmacol.Rev., 30,* 293-331.

Morris, S. T., McMurray, J. J., Spiers, A., y Jardine, A. G. (2001). Impaired endothelial function in isolated human uremic resistance arteries. *Kidney Int., 60,* 1077-1082.

Mount, D. y Zandi-Nejad, K. (2005). Trastornos del equilibrio del potasio. En B.M. Brenner y S. A. Levine (Eds.), *El Riñón. Tratado de Nefrología.* (7ª ed., pp. 997-1040). Madrid: Elsevier.

Mulsch, A., Bauersachs, J., Schafer, A., Stasch, J. P., Kast, R., y Busse, R. (1997). Effect of YC-1, an NO-independent, superoxide-sensitive stimulator of soluble guanylyl cyclase, on smooth muscle responsiveness to nitrovasodilators. *Br.J.Pharmacol., 120,* 681-689.

Muntner, P., He, J., Hamm, L., Loria, C., y Whelton, P. K. (2002). Renal insufficiency and subsequent death resulting from cardiovascular disease in the United States. *J.Am.Soc.Nephrol., 13,* 745-753.

Munzel, T., Heitzer, T., y Harrison, D. G. (1997). The physiology and pathophysiology of the nitric oxide/superoxide system. *Herz, 22,* 158-172.

Nakazono, K., Watanabe, N., Matsuno, K., Sasaki, J., Sato, T., y Inoue, M. (1991). Does superoxide underlie the pathogenesis of hypertension? *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A, 88,* 10045-10048.

Nanayakkara, P. W., Teerlink, T., Stehouwer, C. D., Allajar, D., Spijkerman, A., Schalkwijk, C. et al. (2005). Plasma asymmetric dimethylarginine (ADMA) concentration is independently associated with carotid intima-media thickness and plasma soluble vascular cell adhesion molecule-1 (sVCAM-1) concentration in patients with mild-to-moderate renal failure. *Kidney Int., 68,* 2230-2236.

Napoli, C., Sica, V., de, N. F., Pignalosa, O., Condorelli, M., Ignarro, L. J. et al. (2004). Sulfhydryl angiotensin-converting enzyme inhibition induces sustained reduction of systemic oxidative stress and improves the nitric oxide pathway in patients with essential hypertension. *Am.Heart J, 148,* e5.

Navarro-Gonzalez, J. F., Donate-Correa, J., Mendez, M. L., de Fuentes, M. M., Garcia-Perez, J., y Mora-Fernandez, C. (2013). Anti-inflammatory profile of paricalcitol in hemodialysis patients: a prospective, open-label, pilot study. *J Clin.Pharmacol., 53,* 421-426.

Ngo, D. T., Sverdlov, A. L., McNeil, J. J., y Horowitz, J. D. (2010). Does vitamin D modulate asymmetric dimethylarginine and C-reactive protein concentrations? *Am.J Med, 123,* 335-341.

Noguchi, K., Yamashiro, S., Matsuzaki, T., Sakanashi, M., Nakasone, J., Miyagi, K. et al. (2001). Effect of 1-week treatment with erythropoietin on the vascular endothelial function in anaesthetized rabbits. *Br.J.Pharmacol., 133,* 395-405.

Nolan, C. R. (2005). Phosphate binder therapy for attainment of K/DOQI bone metabolism guidelines. *Kidney Int.Suppl,* S7-14.

Ojeda López, R. y Martín Malo, A. (2009). Aspectos técnicos de la hemodiálisis, hemodiafiltración y hemofiltración. En L. Hernando Avendaño, P. Aljama García, M. Arias Rodríguez, C. Caramelo Díaz, J. Egido de los Ríos, y S. Lamas Peláez (Eds.), *Nefrología Clínica* (3ª ed., pp. 904-911). Madrid: Editorial Médica Panamericana.

Onozato, M. L., Tojo, A., Kobayashi, N., Goto, A., Matsuoka, H., y Fujita, T. (2007). Dual blockade of aldosterone and angiotensin II additively suppresses TGF-beta and NADPH oxidase in the hypertensive kidney. *Nephrol.Dial Transplant., 22,* 1314-1322.

Ortiz, A., Sanchez Nino, M. D., Rojas, J., y Egido, J. (2011). Paricalcitol for reduction of albuminuria in diabetes. *Lancet, 377,* 635-6, author.

Osanai, T., Saitoh, M., Sasaki, S., Tomita, H., Matsunaga, T., y Okumura, K. (2003). Effect of shear stress on asymmetric dimethylarginine release from vascular endothelial cells. *Hypertension, 42,* 985-990.

Otero, A., De, F. A., Gayoso, P., y Garcia, F. (2010). Prevalence of chronic renal disease in Spain: results of the EPIRCE study. *Nefrologia., 30,* 78-86.

Owlya, R., Vollenweider, L., Trueb, L., Sartori, C., Lepori, M., Nicod, P. et al. (1997). Cardiovascular and sympathetic effects of nitric oxide inhibition at rest and during static exercise in humans. *Circulation, 96,* 3897-3903.

Paiva, H., Laakso, J., Laine, H., Laaksonen, R., Knuuti, J., y Raitakari, O. T. (2002). Plasma asymmetric dimethylarginine and hyperemic myocardial blood flow in young subjects with borderline hypertension or familial hypercholesterolemia. *J Am.Coll.Cardiol., 40,* 1241-1247.

Paiva, H., Laakso, J., Lehtimaki, T., Isomustajarvi, M., Ruokonen, I., y Laaksonen, R. (2003). Effect of high-dose statin treatment on plasma concentrations of endogenous nitric oxide synthase inhibitors. *J Cardiovasc.Pharmacol., 41,* 219-222.

Pannier, B., Guerin, A. P., Marchais, S. J., Metivier, F., Safar, M. E., y London, G. M. (2000). Postischemic vasodilation, endothelial activation, and cardiovascular remodeling in end-stage renal disease. *Kidney Int., 57,* 1091-1099.

Parfrey, P. S., Foley, R. N., Harnett, J. D., Kent, G. M., Murray, D., y Barre, P. E. (1996). Outcome and risk factors of ischemic heart disease in chronic uremia. *Kidney Int., 49,* 1428-1434.

Parfrey, P. S. y Harnett, J. D. (1994). Long-term cardiac morbidity and mortality during dialysis therapy. *Adv.Nephrol.Necker Hosp., 23,* 311-330.

Patrakka, J. y Tryggvason, K. (2009). New insights into the role of podocytes in proteinuria. *Nat.Rev.Nephrol., 5,* 463-468.

Pearson, J. D. (1993). The control of production and release of haemostatic factors in the endothelial cell. *Baillieres Clin.Haematol., 6,* 629-651.

Pereira, E. C., Bertolami, M. C., Faludi, A. A., Salem, M., Bersch, D., y Abdalla, D. S. (2003). Effects of simvastatin and L-arginine on vasodilation, nitric oxide metabolites and endogenous NOS inhibitors in hypercholesterolemic subjects. *Free Radic.Res., 37,* 529-536.

Perticone, F., Sciacqua, A., Maio, R., Perticone, M., Maas, R., Boger, R. H. et al. (2005). Asymmetric dimethylarginine, L-arginine, and endothelial dysfunction in essential hypertension. *J.Am.Coll.Cardiol., 46,* 518-523.

Pilmore, H., Dent, H., Chang, S., McDonald, S. P., y Chadban, S. J. (2010). Reduction in cardiovascular death after kidney transplantation. *Transplantation, 89,* 851-857.

Pittas, A. G., Dawson-Hughes, B., Li, T., Van Dam, R. M., Willett, W. C., Manson, J. E. et al. (2006). Vitamin D and calcium intake in relation to type 2 diabetes in women. *Diabetes Care, 29,* 650-656.

Pollock, J. S., Forstermann, U., Mitchell, J. A., Warner, T. D., Schmidt, H. H., Nakane, M. et al. (1991). Purification and characterization of particulate endothelium-derived relaxing factor synthase from cultured and native bovine aortic endothelial cells. *Proc.Natl.Acad.Sci U.S.A, 88,* 10480-10484.

Port, F. K., Hulbert-Shearon, T. E., Wolfe, R. A., Bloembergen, W. E., Golper, T. A., Agodoa, L. Y. et al. (1999). Predialysis blood pressure and mortality risk in a national sample of maintenance hemodialysis patients. *Am.J Kidney Dis., 33,* 507-517.

Post, M. S., Verhoeven, M. O., van der Mooren, M. J., Kenemans, P., Stehouwer, C. D., y Teerlink, T. (2003). Effect of hormone replacement therapy on plasma levels of the cardiovascular risk factor asymmetric dimethylarginine: a randomized, placebo-controlled 12-week study in healthy early postmenopausal women. *J Clin.Endocrinol.Metab, 88,* 4221-4226.

Praga, M. (2009a). Causas de insuficiencia renal crónica y sus mecanismos de progresión. En L. Hernando Avendaño, P. Aljama García, M. Arias Rodríguez, C. Caramelo Díaz, J. Egido de los Ríos, y S. Lamas Peláez (Eds.), *Nefrología Clínica* (3ª ed., pp. 805-815). Madrid: Editorial Médica Panamericana.

Praga, M. (2009b). Tratamiento conservador de la insuficiencia renal crónica. Medidas generales y manejo dietético. En L. Hernando Avendaño, P. Aljama García, M. Arias Rodríguez, C. Caramelo Díaz, J. Egido de los Ríos, y S. Lamas Peláez (Eds.), *Nefrología Clínica* (3ª ed., pp. 863-869). Madrid: Editorial Médica Panamericana.

Prewitt, R. L. (1999). Teaching vascular adaptations to mechanical stress. *Am.J.Physiol, 277,* S211-S213.

Quyyumi, A. A. (1998). Endothelial function in health and disease: new insights into the genesis of cardiovascular disease. *Am.J Med, 105,* 32S-39S.

Rajagopalan, S., Kurz, S., Munzel, T., Tarpey, M., Freeman, B. A., Griendling, K. K. et al. (1996). 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, 97,* 1916-1923.

Rea, M. E. y Dunlap, M. E. (2008). Renal hemodynamics in heart failure: implications for treatment. *Curr.Opin.Nephrol.Hypertens., 17,* 87-92.

Reinhart, G. A. (2004). Vitamin D analogs: novel therapeutic agents for cardiovascular disease? *Curr.Opin.Investig.Drugs, 5,* 947-951.

Remuzzi, G., Schieppati, A., y Minetti, L. (2005). Consecuencias hematológicas de la insuficiencia renal. En B.M. Brenner y S. A. Levine (Eds.), *El Riñón. Tratado de Nefrología.* (7ª ed., pp. 2165-2188). Madrid: Elsevier.

Ribes, E. A. (2004). Fisiopatología de la insuficiencia renal crónica. *Anales de Cirugía Cardíaca y Vascular, 10,* 8-15.

Rodionov, R. N., Murry, D. J., Vaulman, S. F., Stevens, J. W., y Lentz, S. R. (2010). Human alanine-glyoxylate aminotransferase 2 lowers asymmetric dimethylarginine and protects from inhibition of nitric oxide production. *J Biol.Chem., 285,* 5385-5391.

Ronco, C. y Ghezzi, P. M. (2006). Principios biofísicos de la diálisis. En R. Jofré, J. M. López Gómez, J. Luño, R. Pérez García, y P. Rodríguez Benítez (Eds.), *Tratado de Hemodiálisis.* (pp. 55-97). Ed Médica Jims SL.

Ronco, C., Haapio, M., House, A. A., Anavekar, N., y Bellomo, R. (2008). Cardiorenal syndrome. *J.Am.Coll.Cardiol., 52,* 1527-1539.

Ruggenenti, P., Schieppati, A., y Remuzzi, G. (2001). Progression, remission, regression of chronic renal diseases. *Lancet, 357,* 1601-1608.

Ruilope, L. M., Lahera, V., Rodicio, J. L., y Romero, J. C. (1994). Participation of nitric oxide in the regulation of renal function: possible role in the genesis of arterial hypertension. *J Hypertens., 12,* 625-631.

Ruiz-Ortega, M., Gomez-Garre, D., Alcazar, R., Palacios, I., Bustos, C., Gonzalez, S. et al. (1994). Involvement of angiotensin II and endothelin in matrix protein production and renal sclerosis. *J Hypertens.Suppl, 12,* S51-S58.

Saito, H., Kusano, K., Kinosaki, M., Ito, H., Hirata, M., Segawa, H. et al. (2003). Human fibroblast growth factor-23 mutants suppress Na+-dependent phosphate co-transport activity and 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 production. *J Biol.Chem., 278,* 2206-2211.

Saito, Y., Nakamura, T., Ohyama, Y., Suzuki, T., Iida, A., Shiraki-Iida, T. et al. (2000). In vivo klotho gene delivery protects against endothelial dysfunction in multiple risk factor syndrome. *Biochem.Biophys.Res.Commun., 276,* 767-772.

Salem, M. M. y Bower, J. (1996). Hypertension in the hemodialysis population: any relation to one-year survival? *Am.J Kidney Dis., 28,* 737-740.

San Miguel-Hernández, A., San Miguel, R., Iglesias-García, R., Alonso, N., *y* Martín-Gil, F.J. (2008). Utilidad clínica de la dimetilarginina asimétrica (ADMA), en diferentes patologías. aterosclerosis, hipertensión y enfermedad renal. *Dial Traspl., 29,* 29-41.

Sanchez-Nino, M. D., Bozic, M., Cordoba-Lanus, E., Valcheva, P., Gracia, O., Ibarz, M. et al. (2012). Beyond proteinuria: VDR activation reduces renal inflammation in experimental diabetic nephropathy. *Am.J Physiol Renal Physiol, 302,* F647-F657.

Saran, R., Li, Y., Robinson, B., Ayanian, J., Balkrishnan, R., Bragg-Gresham, J. et al. (2015). US Renal Data System 2014 Annual Data Report: Epidemiology of Kidney Disease in the United States. *Am.J.Kidney Dis., 65,* A7.

Saran, R., Novak, J. E., Desai, A., Abdulhayoglu, E., Warren, J. S., Bustami, R. et al. (2003). Impact of vitamin E on plasma asymmetric dimethylarginine (ADMA) in chronic kidney disease (CKD): a pilot study. *Nephrol.Dial Transplant., 18,* 2415-2420.

Sarnak, M. J., Levey, A. S., Schoolwerth, A. C., Coresh, J., Culleton, B., Hamm, L. L. et al. (2003). 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, 108,* 2154-2169.

Scalera, F., Borlak, J., Beckmann, B., Martens-Lobenhoffer, J., Thum, T., Tager, M. et al. (2004). Endogenous nitric oxide synthesis inhibitor asymmetric dimethyl L-arginine accelerates endothelial cell senescence. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol., 24,* 1816-1822.

Scalera, F., Kielstein, J. T., Martens-Lobenhoffer, J., Postel, S. C., Tager, M., y Bode-Boger, S. M. (2005). Erythropoietin increases asymmetric dimethylarginine in endothelial cells: role of dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *J Am.Soc.Nephrol., 16,* 892-898.

Schachinger, V., Britten, M. B., y Zeiher, A. M. (2000). Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction on adverse long-term outcome of coronary heart disease. *Circulation, 101,* 1899-1906.

Schepers, E., Speer, T., Bode-Boger, S. M., Fliser, D., y Kielstein, J. T. (2014). Dimethylarginines ADMA and SDMA: the real water-soluble small toxins? *Semin.Nephrol., 34,* 97-105.

Schiffrin, E. L. (2002). Beyond blood pressure: the endothelium and atherosclerosis progression. *Am.J.Hypertens., 15,* 115S-122S.

Schiffrin, E. L. y Deng, L. Y. (1995). Comparison of effects of angiotensin I-converting enzyme inhibition and beta-blockade for 2 years on function of small arteries from hypertensive patients. *Hypertension, 25,* 699-703.

Schiffrin, E. L. y Deng, L. Y. (1996). Structure and function of resistance arteries of hypertensive patients treated with a beta-blocker or a calcium channel antagonist. *J.Hypertens., 14,* 1247-1255.

Schmidt, A. M. y Stern, D. M. (2000). Hyperinsulinemia and vascular dysfunction: the role of nuclear factor-kappaB, yet again. *Circ.Res., 87,* 722-724.

Schmidt, R. J., Domico, J., Samsell, L. S., Yokota, S., Tracy, T. S., Sorkin, M. I. et al. (1999). Indices of activity of the nitric oxide system in hemodialysis patients. *Am.J Kidney Dis., 34,* 228-234.

Schmidt, R. J., Yokota, S., Tracy, T. S., Sorkin, M. I., y Baylis, C. (1999). Nitric oxide production is low in end-stage renal disease patients on peritoneal dialysis. *Am.J Physiol, 276,* F794-F797.

Schnabel, R., Blankenberg, S., Lubos, E., Lackner, K. J., Rupprecht, H. J., Espinola-Klein, C. et al. (2005). Asymmetric dimethylarginine and the risk of cardiovascular events and death in patients with coronary artery disease: results from the AtheroGene Study. *Circ.Res., 97,* e53-e59.

Schomig, M., Eisenhardt, A., y Ritz, E. (2000). The microinflammatory state of uremia. *Blood Purif., 18,* 327-332.

Schroder, M., Riedel, E., Beck, W., Deppisch, R. M., y Pommer, W. (2001). Increased reduction of dimethylarginines and lowered interdialytic blood pressure by the use of biocompatible membranes. *Kidney Int.Suppl, 78,* S19-S24.

Schulman, G. y Himmelfarb, J. (2005). Hemodiálisis. En B.M. Brenner y S. A. Levine (Eds.), *El Riñón. Tratado de Nefrología.* (7ª ed., pp. 2563-2624). Madrid: Elsevier.

Schulman, S. P., Becker, L. C., Kass, D. A., Champion, H. C., Terrin, M. L., Forman, S. et al. (2006). L-arginine therapy in acute myocardial infarction: the Vascular Interaction With Age in Myocardial Infarction (VINTAGE MI) randomized clinical trial. *JAMA, 295,* 58-64.

Schwarz, P., Diem, R., Dun, N. J., y Forstermann, U. (1995). Endogenous and exogenous nitric oxide inhibits norepinephrine release from rat heart sympathetic nerves. *Circ.Res., 77,* 841-848.

Schwarz, U., Amann, K., Orth, S. R., Simonaviciene, A., Wessels, S., y Ritz, E. (1998). Effect of 1,25 (OH)2 vitamin D3 on glomerulosclerosis in subtotally nephrectomized rats. *Kidney Int., 53,* 1696-1705.

Shankland, S. J. (2006). The podocyte's response to injury: role in proteinuria and glomerulosclerosis. *Kidney Int., 69,* 2131-2147.

Shimada, T., Kakitani, M., Yamazaki, Y., Hasegawa, H., Takeuchi, Y., Fujita, T. et al. (2004). Targeted ablation of Fgf23 demonstrates an essential physiological role of FGF23 in phosphate and vitamin D metabolism. *J Clin.Invest, 113,* 561-568.

Shishehbor, M. H., Brennan, M. L., Aviles, R. J., Fu, X., Penn, M. S., Sprecher, D. L. et al. (2003). Statins promote potent systemic antioxidant effects through specific inflammatory pathways. *Circulation, 108,* 426-431.

Shoji, T., Tsubakihara, Y., Fujii, M., y Imai, E. (2004). Hemodialysis-associated hypotension as an independent risk factor for two-year mortality in hemodialysis patients. *Kidney Int., 66,* 1212-1220.

Silberberg, J. S., Barre, P. E., Prichard, S. S., y Sniderman, A. D. (1989). Impact of left ventricular hypertrophy on survival in end-stage renal disease. *Kidney Int., 36,* 286-290.

Sinclair, D. G., Braude, S., Haslam, P. L., y Evans, T. W. (1994). Pulmonary endothelial permeability in patients with severe lung injury. Clinical correlates and natural history. *Chest, 106,* 535-539.

Singh, S. y Evans, T. W. (1997). Nitric oxide, the biological mediator of the decade: fact or fiction? *Eur.Respir.J., 10,* 699-707.

Six, I., Okazaki, H., Gross, P., Cagnard, J., Boudot, C., Maizel, J. et al. (2014). Direct, acute effects of Klotho and FGF23 on vascular smooth muscle and endothelium. *PLoS.One., 9,* e93423.

Soriano Cabrera, S. y Martín Malo, A. (2009). Aplicación clínica y variedades estratégicas de la hemodiálisis. En L. Hernando Avendaño, P. Aljama García, M. Arias Rodríguez, C. Caramelo Díaz, J. Egido de los Ríos, y S. Lamas Peláez (Eds.), *Nefrología Clínica* (3ª ed., pp. 911-915). Madrid: Editorial Médica Panamericana.

Sorrentino, R., Sorrentino, L., y Pinto, A. (1993). Effect of some products of protein catabolism on the endothelium-dependent and -independent relaxation of rabbit thoracic aorta rings. *J.Pharmacol.Exp.Ther., 266,* 626-633.

Stamler, J. S. y Hausladen, A. (1998). Oxidative modifications in nitrosative stress. *Nat.Struct.Biol., 5,* 247-249.

Stenvinkel, P., Barany, P., Heimburger, O., Pecoits-Filho, R., y Lindholm, B. (2002). Mortality, malnutrition, and atherosclerosis in ESRD: what is the role of interleukin-6? *Kidney Int.Suppl,* 103-108.

Stenvinkel, P., Ketteler, M., Johnson, R. J., Lindholm, B., Pecoits-Filho, R., Riella, M. et al. (2005). IL-10, IL-6, and TNF-alpha: central factors in the altered cytokine network of uremia--the good, the bad, and the ugly. *Kidney Int., 67,* 1216-1233.

Stojanovic, I., Djordjevic, G., Pavlovic, R., Djordjevic, V., Pavlovic, D., Cvetkovic, T. et al. (2013). The importance of L-arginine metabolism modulation in diabetic patients with distal symmetric polyneuropathy. *J Neurol.Sci, 324,* 40-44.

Stroes, E., Kastelein, J., Cosentino, F., Erkelens, W., Wever, R., Koomans, H. et al. (1997). Tetrahydrobiopterin restores endothelial function in hypercholesterolemia. *J Clin.Invest, 99,* 41-46.

Struthers, A. D. y MacDonald, T. M. (2004). Review of aldosterone- and angiotensin II-induced target organ damage and prevention. *Cardiovasc.Res., 61,* 663-670.

Stuhlinger, M. C., Abbasi, F., Chu, J. W., Lamendola, C., McLaughlin, T. L., Cooke, J. P. et al. (2002). Relationship between insulin resistance and an endogenous nitric oxide synthase inhibitor. *JAMA, 287,* 1420-1426.

Stuhlinger, M. C., Tsao, P. S., Her, J. H., Kimoto, M., Balint, R. F., y Cooke, J. P. (2001). Homocysteine impairs the nitric oxide synthase pathway: role of asymmetric dimethylarginine. *Circulation, 104,* 2569-2575.

Sugden, J. A., Davies, J. I., Witham, M. D., Morris, A. D., y Struthers, A. D. (2008). Vitamin D improves endothelial function in patients with Type 2 diabetes mellitus and low vitamin D levels. *Diabet.Med, 25,* 320-325.

Surdacki, A., Nowicki, M., Sandmann, J., Tsikas, D., Boeger, R. H., Bode-Boeger, S. M. et al. (1999). Reduced urinary excretion of nitric oxide metabolites and increased plasma levels of asymmetric dimethylarginine in men with essential hypertension. *J Cardiovasc.Pharmacol., 33,* 652-658.

Suwaidi, J. A., Hamasaki, S., Higano, S. T., Nishimura, R. A., Holmes, D. R., Jr., y Lerman, A. (2000). Long-term follow-up of patients with mild coronary artery disease and endothelial dysfunction. *Circulation, 101,* 948-954.

Sverdlov, A. L., Ngo, D. T., Chan, W. P., Chirkov, Y. Y., y Horowitz, J. D. (2014). Aging of the nitric oxide system: are we as old as our NO? *J Am.Heart Assoc., 3*.

Sydow, K., Mondon, C. E., Schrader, J., Konishi, H., y Cooke, J. P. (2008). Dimethylarginine dimethylaminohydrolase overexpression enhances insulin sensitivity. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol., 28,* 692-697.

Sydow, K. y Munzel, T. (2003). ADMA and oxidative stress. *Atheroscler.Suppl, 4,* 41-51.

Sydow, K., Schwedhelm, E., Arakawa, N., Bode-Boger, S. M., Tsikas, D., Hornig, B. et al. (2003). ADMA and oxidative stress are responsible for endothelial dysfunction in hyperhomocyst(e)inemia: effects of L-arginine and B vitamins. *Cardiovasc.Res., 57,* 244-252.

Taal, M. W. y Luyckx, V. A. (2005). Adaptación a la pérdida de nefronas. En B.M. Brenner y S. A. Levine (Eds.), *El Riñón. Tratado de Nefrología.* (7ª ed., pp. 1955-1998). Madrid: Elsevier.

Taddei, S., Virdis, A., Ghiadoni, L., Magagna, A., y Salvetti, A. (1998). Vitamin C improves endothelium-dependent vasodilation by restoring nitric oxide activity in essential hypertension. *Circulation, 97,* 2222-2229.

Taddei, S., Virdis, A., Mattei, P., Ghiadoni, L., Sudano, I., y Salvetti, A. (1996). Defective L-arginine-nitric oxide pathway in offspring of essential hypertensive patients. *Circulation, 94,* 1298-1303.

Taddei, S., Virdis, A., Mattei, P., y Salvetti, A. (1993). Vasodilation to acetylcholine in primary and secondary forms of human hypertension. *Hypertension, 21,* 929-933.

Tagawa, H., Nagano, M., Saito, H., Umezu, M., y Yamakado, M. (1991). Echocardiographic findings in hemodialysis patients treated with recombinant human erythropoietin: proposal for a hematocrit most beneficial to hemodynamics. *Clin.Nephrol., 35,* 35-38.

Tan, X., Li, Y., y Liu, Y. (2006). Paricalcitol attenuates renal interstitial fibrosis in obstructive nephropathy. *J Am.Soc.Nephrol., 17,* 3382-3393.

Tan, X., Wen, X., y Liu, Y. (2008). Paricalcitol inhibits renal inflammation by promoting vitamin D receptor-mediated sequestration of NF-kappaB signaling. *J Am.Soc.Nephrol., 19,* 1741-1752.

Tarcin, O., Yavuz, D. G., Ozben, B., Telli, A., Ogunc, A. V., Yuksel, M. et al. (2009). Effect of vitamin D deficiency and replacement on endothelial function in asymptomatic subjects. *J Clin.Endocrinol.Metab, 94,* 4023-4030.

Tattersall, J., Martín Malo, A., Pedrini, L., Basci, A., Canaud, B., Fouque, D. et al. (2007). European best practice guidelines on haemodialysis. EBPG guideline on dialysis strategies. *Nephrol.Dial.Transplant., 22,* ii5-ii21.

Teerlink, T., Neele, S. J., de, J. S., Netelenbos, J. C., y Stehouwer, C. D. (2003). Oestrogen replacement therapy lowers plasma levels of asymmetrical dimethylarginine in healthy postmenopausal women. *Clin.Sci (Lond), 105,* 67-71.

Teixido, J., Borras, M., y Martínez, J. C. (1999). Fundamentos teóricos de la diálisis peritoneal. En J. Montenegro y J. Olivares (Eds.), *La diálisis peritoneal* (DIBE SL ed., pp. 57-115). Madrid.

Teixido, J., Ortiz, A., y Selgas, R. (2009). Diálisis peritoneal. En L. Hernando Avendaño, P. Aljama García, M. Arias Rodríguez, C. Caramelo Díaz, J. Egido de los Ríos, y S. Lamas Peláez (Eds.), *Nefrología Clínica* (3ª ed., pp. 935-961). Madrid: Editorial Médica Panamericana.

Teng, M., Wolf, M., Lowrie, E., Ofsthun, N., Lazarus, J. M., y Thadhani, R. (2003). Survival of patients undergoing hemodialysis with paricalcitol or calcitriol therapy. *N.Engl.J Med, 349,* 446-456.

Thadhani, R., Appelbaum, E., Pritchett, Y., Chang, Y., Wenger, J., Tamez, H. et al. (2012). Vitamin D therapy and cardiac structure and function in patients with chronic kidney disease: the PRIMO randomized controlled trial. *JAMA, 307,* 674-684.

Thambyrajah, J., Landray, M. J., McGlynn, F. J., Jones, H. J., Wheeler, D. C., y Townend, J. N. (2000). Does folic acid decrease plasma homocysteine and improve endothelial function in patients with predialysis renal failure? *Circulation, 102,* 871-875.

Thum, T., Tsikas, D., Stein, S., Schultheiss, M., Eigenthaler, M., Anker, S. D. et al. (2005). Suppression of endothelial progenitor cells in human coronary artery disease by the endogenous nitric oxide synthase inhibitor asymmetric dimethylarginine. *J.Am.Coll.Cardiol., 46,* 1693-1701.

Topper, J. N. y Gimbrone, M. A., Jr. (1999). Blood flow and vascular gene expression: fluid shear stress as a modulator of endothelial phenotype. *Mol.Med.Today, 5,* 40-46.

Tozawa, M., Iseki, K., Iseki, C., y Takishita, S. (2002). Pulse pressure and risk of total mortality and cardiovascular events in patients on chronic hemodialysis. *Kidney Int., 61,* 717-726.

Tripepi, G., Mattace, R. F., Sijbrands, E., Seck, M. S., Maas, R., Boger, R. et al. (2011). Inflammation and asymmetric dimethylarginine for predicting death and cardiovascular events in ESRD patients. *Clin.J.Am.Soc.Nephrol., 6,* 1714-1721.

Tsikas, D., Boger, R. H., Sandmann, J., Bode-Boger, S. M., y Frolich, J. C. (2000). Endogenous nitric oxide synthase inhibitors are responsible for the L-arginine paradox. *FEBS Lett., 478,* 1-3.

Udayaraj, U. P., Steenkamp, R., Caskey, F. J., Rogers, C., Nitsch, D., Ansell, D. et al. (2009). Blood pressure and mortality risk on peritoneal dialysis. *Am.J Kidney Dis., 53,* 70-78.

Ueda, S., Yamagishi, S., Kaida, Y., y Okuda, S. (2007). Asymmetric dimethylarginine may be a missing link between cardiovascular disease and chronic kidney disease. *Nephrology.(Carlton.), 12,* 582-590.

Urbich, C. y Dimmeler, S. (2005). Risk factors for coronary artery disease, circulating endothelial progenitor cells, and the role of HMG-CoA reductase inhibitors. *Kidney Int., 67,* 1672-1676.

Valkonen, V. P., Paiva, H., Salonen, J. T., Lakka, T. A., Lehtimaki, T., Laakso, J. et al. (2001). Risk of acute coronary events and serum concentration of asymmetrical dimethylarginine. *Lancet, 358,* 2127-2128.

Vallance, P. y Leiper, J. (2004). Cardiovascular biology of the asymmetric dimethylarginine:dimethylarginine dimethylaminohydrolase pathway. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol., 24,* 1023-1030.

Vallance, P., Leone, A., Calver, A., Collier, J., y Moncada, S. (1992a). Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet, 339,* 572-575.

Vallance, P., Leone, A., Calver, A., Collier, J., y Moncada, S. (1992b). Endogenous dimethylarginine as an inhibitor of nitric oxide synthesis. *J.Cardiovasc.Pharmacol., 20 Suppl 12,* S60-S62.

Van, G. C., Janssen, M. J., Lambert, J., ter Wee, P. M., Donker, A. J., y Stehouwer, C. D. (1998a). Folic acid treatment of hyperhomocysteinemia in peritoneal dialysis patients: no change in endothelial function after long-term therapy. *Perit.Dial Int., 18,* 282-289.

Van, G. C., Janssen, M. J., Lambert, J., ter Wee, P. M., Jakobs, C., Donker, A. J. et al. (1998b). No change in impaired endothelial function after long-term folic acid therapy of hyperhomocysteinaemia in haemodialysis patients. *Nephrol.Dial Transplant., 13,* 106-112.

Van, G. C. y Stehouwer, C. D. (2000). Hyperhomocysteinemia, vascular pathology, and endothelial dysfunction. *Semin.Thromb.Hemost., 26,* 281-289.

Vanholder, R., Meert, N., Schepers, E., Glorieux, G., Argiles, A., Brunet, P. et al. (2007). Review on uraemic solutes II--variability in reported concentrations: causes and consequences. *Nephrol.Dial Transplant., 22,* 3115-3121.

Verma, S., Li, S. H., Badiwala, M. V., Weisel, R. D., Fedak, P. W., Li, R. K. et al. (2002). Endothelin antagonism and interleukin-6 inhibition attenuate the proatherogenic effects of C-reactive protein. *Circulation, 105,* 1890-1896.

Vervloet, M. G., Adema, A. Y., Larsson, T. E., y Massy, Z. A. (2014). The role of klotho on vascular calcification and endothelial function in chronic kidney disease. *Semin.Nephrol., 34,* 578-585.

Vidt, D. G. (2006). Inflammation in renal disease. *Am.J.Cardiol., 97,* 20A-27A.

Wakino, S., Hayashi, K., Tatematsu, S., Hasegawa, K., Takamatsu, I., Kanda, T. et al. (2005). Pioglitazone lowers systemic asymmetric dimethylarginine by inducing dimethylarginine dimethylaminohydrolase in rats. *Hypertens.Res., 28,* 255-262.

Wang, X. Q. y Vaziri, N. D. (1999). Erythropoietin depresses nitric oxide synthase expression by human endothelial cells. *Hypertension, 33,* 894-899.

Wanner, C. y Quaschning, T. (2001). Dyslipidemia and renal disease: pathogenesis and clinical consequences. *Curr.Opin.Nephrol.Hypertens., 10,* 195-201.

Wascher, T. C., Schmoelzer, I., Wiegratz, A., Stuehlinger, M., Mueller-Wieland, D., Kotzka, J. et al. (2005). Reduction of postchallenge hyperglycaemia prevents acute endothelial dysfunction in subjects with impaired glucose tolerance. *Eur.J Clin.Invest, 35,* 551-557.

Wautier, M. P., Chappey, O., Corda, S., Stern, D. M., Schmidt, A. M., y Wautier, J. L. (2001). Activation of NADPH oxidase by AGE links oxidant stress to altered gene expression via RAGE. *Am.J.Physiol Endocrinol.Metab, 280,* E685-E694.

Wilson, A. M., Harada, R., Nair, N., Balasubramanian, N., y Cooke, J. P. (2007). L-arginine supplementation in peripheral arterial disease: no benefit and possible harm. *Circulation, 116,* 188-195.

Wu-Wong, J. R., Nakane, M., Traylor, L., Ruan, X., Kroeger, P. E., y Tian, J. (2005). Cardiovascular disease in chronic kidney failure: is there a role for vitamin D analogs? *Curr.Opin.Investig.Drugs, 6,* 245-254.

Wystrychowski, G., Kitzler, T. M., Thijssen, S., Usvyat, L., Kotanko, P., y Levin, N. W. (2009). Impact of switch of vascular access type on key clinical and laboratory parameters in chronic haemodialysis patients. *Nephrol.Dial Transplant., 24,* 2194-2200.

Xia, Y., Tsai, A. L., Berka, V., y Zweier, J. L. (1998). Superoxide generation from endothelial nitric-oxide synthase. A Ca2+/calmodulin-dependent and tetrahydrobiopterin regulatory process. *J.Biol.Chem., 273,* 25804-25808.

Yanagisawa, M., Kurihara, H., Kimura, S., Tomobe, Y., Kobayashi, M., Mitsui, Y. et al. (1988). A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature, 332,* 411-415.

Yla-Herttuala, S., Bentzon, J. F., Daemen, M., Falk, E., Garcia-Garcia, H. M., Herrmann, J. et al. (2013). Stabilization of atherosclerotic plaques: an update. *Eur.Heart J., 34,* 3251-3258.

Zager, P. G., Nikolic, J., Brown, R. H., Campbell, M. A., Hunt, W. C., Peterson, D. et al. (1998). "U" curve association of blood pressure and mortality in hemodialysis patients. Medical Directors of Dialysis Clinic, Inc. *Kidney Int., 54,* 561-569.

Zalba, G., Beaumont, F. J., San, J. G., Fortuno, A., Fortuno, M. A., Etayo, J. C. et al. (2000). Vascular NADH/NADPH oxidase is involved in enhanced superoxide production in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension, 35,* 1055-1061.

Zhang, Z., Zhang, Y., Ning, G., Deb, D. K., Kong, J., y Li, Y. C. (2008). Combination therapy with AT1 blocker and vitamin D analog markedly ameliorates diabetic nephropathy: blockade of compensatory renin increase. *Proc.Natl.Acad.Sci U.S.A, 105,* 15896-15901.

Ziegler, S., Mittermayer, F., Plank, C., Minar, E., Wolzt, M., y Schernthaner, G. H. (2005). Homocyst(e)ine-lowering therapy does not affect plasma asymmetrical dimethylarginine concentrations in patients with peripheral artery disease. *J Clin.Endocrinol.Metab, 90,* 2175-2178.

Zoccali, C. (2006). Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a cardiovascular and renal risk factor on the move. *J.Hypertens., 24,* 611-619.

Zoccali, C., Benedetto, F. A., Maas, R., Mallamaci, F., Tripepi, G., Malatino, L. S. et al. (2002a). Asymmetric dimethylarginine, C-reactive protein, and carotid intima-media thickness in end-stage renal disease. *J.Am.Soc.Nephrol., 13,* 490-496.

Zoccali, C., Bode-Boger, S., Mallamaci, F., Benedetto, F., Tripepi, G., Malatino, L. et al. (2001). Plasma concentration of asymmetrical dimethylarginine and mortality in patients with end-stage renal disease: a prospective study. *Lancet, 358,* 2113-2117.

Zoccali, C., Curatola, G., Panuccio, V., Tripepi, R., Pizzini, P., Versace, M. et al. (2014). Paricalcitol and endothelial function in chronic kidney disease trial. *Hypertension, 64,* 1005-1011.

Zoccali, C., Maas, R., Cutrupi, S., Pizzini, P., Finocchiaro, P., Cambareri, F. et al. (2007). Asymmetric dimethyl-arginine (ADMA) response to inflammation in acute infections. *Nephrol.Dial.Transplant., 22,* 801-806.

Zoccali, C., Mallamaci, F., Maas, R., Benedetto, F. A., Tripepi, G., Malatino, L. S. et al. (2002b). Left ventricular hypertrophy, cardiac remodeling and asymmetric dimethylarginine (ADMA) in hemodialysis patients. *Kidney Int., 62,* 339-345.

Zoccali, C., Mallamaci, F., y Tripepi, G. (2003). Inflammation and atherosclerosis in end-stage renal disease. *Blood Purif., 21,* 29-36.

Zoccali, C., Yilmaz, M. I., y Mallamaci, F. (2013). FGF23: a mature renal and cardiovascular risk factor? *Blood Purif., 36,* 52-57.

Anexos

INFORME DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA/COMITÉ DE LA ÉTICA EN LA INVESTIGACIÓN

D. PEDRO C. LARA JIMÉNEZ, Presidente del Comité Ético de Investigación Clínica-Comité de Ética en la Investigación del Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín.

C E R T I F I C A:

Que este Comité, según consta en el **Acta 10/2015** de fecha 28 de Octubre, ha evaluado, según la Orden SAS/3470/2009, la propuesta del promotor para que se realice el **Proyecto de Investigación** titulado:

TÍTULO: "Estudio prospectivo de morbimortalidad en pacientes en hemodiálisis crónica. Papel de la dimetilarginia asimétrica (ADMA)." **TESIS**
Promotor: Elena Oliva Dámaso. Investigación Independiente
Código de la AEMPS: es un proyecto de investigación Biomédica (Ley 14/2007)
Código CEIC Negrín: 150100
Protocolo: Versión inicial de fecha 08 de Octubre/2015
Hoja de Información al Paciente y Documento de Consentimiento Informado: Versión inicial de fecha 08 de Octubre/2015
Comité de Referencia: Hospital U. de Gran Canaria Dr. Negrín
Investigador Principal: Elena Oliva Dámaso. S. de Nefrología

Y considera que:

Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
La capacidad del investigador y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.
Es adecuado el procedimiento para obtener el consentimiento informado y el modo de reclutamiento previsto para el estudio.
El investigador y su equipo se comprometen a cumplir las recomendaciones y directrices de Buena Práctica Clínica aplicables a este tipo de estudios y la Declaración de Helsinki actualizada.
El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto a los postulados éticos.

Asimismo, este Comité **ACEPTA** que dicho **Proyecto de Investigación** sea realizado en en el Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín por la **Dra. Elena Oliva Dámaso** del **Servicio** de **Nefrología** como investigadora principal.

Que este Comité, tanto en su composición como en los PNTs, cumple con las normas de BPC (CPMP/ICH/135/95) y con el R.D. 223/2004.

Que su composición actual es la siguiente:

PRESIDENTE: Dº Pedro Lara Jiménez (F.E.A. Oncología Radioterápica)

VOCALES:

Dº. Javier Díaz Moreno (Licenciado en Derecho, F.E.A. Admisión)
Dª. Trinidad Revilla Villegas (Enfermera Docencia)
Dº. Jorge Solé Violán (F.E.A. Medicina Intensiva)
Dª. Silvia De La Iglesia Iñigo (F.E.A. Hematología)
Dº. Jaime Vilar Alejo (F.E.A. Dermatología)
Dº. Antonio García Quintana (F.E.A. Cardiología)
Dª. Elísabet Guerra Hernández (F.E.A. Anestesiología y Reanimación)
Dº. Jorge Arencibia Borrego (F.E.A. Medicina Interna)
Dº. Félix Isidro López Blanco (Farmacólogo Clínico Facultad de Medicina)
Dº. Miguel Ángel García Bello (No sanitario. Estadístico U. de Investigación)
Dº. José Carlos Rodríguez Pérez (F.E.A. Nefrología)
Dº. Gregorio Carretero Hernández (F.E.A. Dermatología)

Que en dicha reunión se cumplió el quórum preceptivo legalmente.

Que, en el caso de que se evalúe algún proyecto del que un miembro sea investigador/colaborador, dicho miembro no participa en la evaluación ni el dictamen del propio protocolo.

Con la elevación de este Dictamen a la Dirección Gerencia de este Centro para valoración de su conformidad, terminan las acciones competencia de este CEIC/CEI sobre su estudio.

Lo que firmo en Las Palmas de Gran Canaria, a 29 de Octubre de 2015

El Secretario

SERVICIO CANARIO DE SALUD HOSPITAL DE GRAN CANARIA DR. NEGRÍN C.E.I.C. LAS PALMAS

Fdo.: Jaime Vilar Alejo

Servicio
Canario de la Salud

HOSPITAL UNIVERSITARIO DE
GRAN CANARIA DOCTOR NEGRÍN

Gobierno de Canarias

CONFORMIDAD DE LA DIRECCIÓN DEL CENTRO

Don **JOSE MIGUEL SANCHEZ HERNANDEZ** Director Gerente del **HOSPITAL UNIVERSITARIO DE GRAN CANARIA DOCTOR NEGRIN**,al amparo de la Orden SAS/3470/2009 y vista la autorización del Comité Ético de Investigación Clínica-Comité de Ética en la Investigación de este Hospital **(Acta 10/2015).**

C E R T I F I C A:

Que conoce la propuesta realizada por el promotor **Elena Oliva Dámaso (Investigación Independiente),** para que sea realizado en este Centro el **Proyecto de Investigación.**

"Estudio prospectivo de morbimortalidad en pacientes en hemodiálisis crónica. Papel de la dimetilarginia asimétrica (ADMA)." TESIS
Promotor: Elena Oliva Dámaso. Investigación Independiente
Código de la AEMPS: es un proyecto de investigación Biomédica (Ley 14/2007)
Código CEIC Negrín: 150100

Y que será realizado por la **Dra. Elena Oliva Dámaso** del **Servicio de Nefrología,** como investigadora principal.

Que acepta la realización de dicho **Proyecto de Investigación** en este Centro.

Lo que firma en Las Palmas de Gran Canaria, a 29 de Octubre de 2015.

El Director Gerente

Fdo: D. José Miguel Sánchez Hernández.

Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín
Comité Ético de Investigación Clínica CEIC/CEI
ceichugcdn.scs@gobiernodecanarias.org
Barranco de la Ballena S/N
35010 Las Palmas
Tel: 928 44 90 71 FAX 928 44 98 05

EXCELENCIA EUROPEA 400+ EFQM

ANEXO IV

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN EL ESTUDIO

ESTUDIO PROSPECTIVO DE MORBIMORTALIDAD EN PACIENTES EN HEMODIÁLISIS CRÓNICA. PAPEL DE LA DIMETILARGINIA ASIMÉTRICA (ADMA).

Su médico le ha solicitado, participar en este estudio, ahora y en cumplimiento de la Ley 41/2002 de 14 de Noviembre "Básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica" reiteramos la explicación dada verbalmente, ahora, por escrito con objeto de que nos autorice a incluirlo en el mismo.. Es importante que usted conozca y entienda la finalidad y los procedimientos llevados a cabo en este estudio, lea atentamente esta información y no dude en preguntar toda aquellas cuestiones que no le queden claras .

ANTECEDENTES

Durante el curso de la enfermedad renal crónica se alteran una serie de marcadores de riesgo cardiovascular que es importante conocer y estudiar para poder hacer un tratamiento más estricto de los factores de riesgo cardiovascular. En aquéllos pacientes con más probabilidad de desarrollar eventos de este tipo, es fundamental poder conocer estos marcadores, que aún no se conocen del todo bien y que se están estudiando en el momento actual, para poder prevenir eventos cardiovasculares y disminuir la morbimortalidad en pacientes en hemodiálisis.

OBJETIVO DEL ESTUDIO

Por lo anterior hemos decidido realizar este estudio en pacientes con Enfermedad Renal Crónica Terminal en Hemodiálisis, entre los cuales se encuentra Ud. con el objetivo de conocer cuales son sus niveles sanguíneos de diversos marcadores de riesgo cardiovascular.

DESCRIPCION DEL ESTUDIO

Para realizar el estudio no se le realizarán pruebas adicionales. Únicamente se harán determinaciones de diversos factores de riesgo cardiovascular en las muestras de las analíticas de las cuales disponemos, y en las muestras que se soliciten habitualmente en sus sesiones habituales de diálisis según protocolo.

RIESGOS DEL ESTUDIO

No se prevé que su participación en el estudio pueda resultar perjudicial para su salud.

BENEFICIOS DE PARTICIPAR EN EL ESTUDIO

Su médico controlará su enfermedad y su evolución estrechamente durante todo el estudio.

OBLIGACIONES

Su participación en el estudio es completamente voluntaria. Usted puede negarse a participar. Así mismo podrá retirarse del estudio en cualquier momento sin que de ello, se derive ningún perjuicio ni pérdida de los beneficios sanitarios a los que Usted tiene derecho.

AVANCES EN EL CONOCIMIENTO

Usted será informado de todos los avances o nuevos descubrimientos que se realicen durante el curso de esta investigación que puedan influir en su salud.

CONFIDENCIALIDAD

Siguiendo la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de Diciembre, Protección de datos de carácter personal y el RD 1720/2007 de 21 de diciembre y el resto de legislación aplicable, todos los datos recogidos en el transcurso del estudio serán tratados de forma estrictamente confidencial y serán utilizados únicamente para la valoración del estudio sin desvelar en ningún momento los datos de su identificación. Todas las personas que forman parte del equipo investigador están obligadas a mantener el secreto profesional.

.

COMITES ETICOS

Del presente protocolo de estudio ha tenido conocimiento el Comité de Ética e Investigación Clínica de ese hospital.

DECLARACION

D/DÑA:.....con D.N.I. .....

Mediante el presente documento **DOY MI AUTORIZACION** para participar en este estudio

- He leído la información y he podido hacer preguntas sobre la misma, entendiendo la finalidad y los procedimientos que se llevaran a cabo en el estudio.
- Considero que la información recibida es suficiente y la comprendo.
- He hablado con el Dra. ELENA OLIVA DÁMASO (investigador)
- Comprendo que mi participación es voluntaria y que puedo retirarme del estudio cuando quiera sin tener que dar explicaciones y sin que repercuta en mis cuidados médicos

Y para que así conste, firmo el presente documento, después de haberlo leído y comprendido, y por mi propia voluntad.

En Las Palmas de Gran Canaria ,a....de.....de.....

Firma del Participante

D/Dº……., con DNI …....……, soy

testigo de que: D/DÑA…… con DNI…….

Ha leído la información y ha podido hacer preguntas sobre la misma, entendiendo la finalidad y los procedimientos que se llevaran a cabo en el estudio.

En Las Palmas de Gran Canaria, a….de……..de…….

Firma del Testigo.

Tesis Doctoral

Elena Oliva Dámaso