

**TESI DOCTORAL**

**ESTRÈS OXIDATIU I  
PEROXIDACIÓ LIPÍDICA EN  
EL PACIENT NEFRÒPATA**

**Rosa Ramos Sànchez**

**Director de tesi:  
Alberto M. Castelao**



## DEDICATÒRIES

*Al meu pare, al que malgrat no el puc abraçar, sé que sempre és amb mi*

*A la meva mare, el meu referent de força de voluntat i per la seva confiança en mi*

*Al Jaume, el meu marit, company de camins de roses i corones d'espines*

*A ma germana, per la seva generositat i pel pròleg d'aquesta tesi*

*A la resta de família pel seu recolzament incondicional*



## AGRAÏMENTS

*Al Dr. Alberto M. Castelao,  
ànima d'aquesta tesi i per ser com un curconet, gràcies al  
qual, aquest projecte té un final*

*A Neus, qui em va ensenyar a utilitzar les  
pipetes i els eppendorf de forma altruïsta*

*A la resta del personal del laboratori de lípidologia i en  
memòria a la Dra. Fiol per compartir els seus coneixements  
amb mi*



## PRÒLEG

*Quan un s'enfronta a la tasca d'escriure un pròleg per algú a qui coneix tant, cau en el risc de no trobar les paraules que puguin contenir tot allò que se sent.*

*Així que, tot i sabent que Tot el que pugui dir d'ella sempre serà bo perquè Ella és la meva germana, podria descriure-la en dos versos d'algú qui en aquests temes sabia molt més que jo i per aquest motiu ha estat considerat un dels més grans de la nostra literatura:*

**"Caminante no hay Camino, se hace Camino al andar..."**

*Serrat diria, cantant amb aquella magistral forma i veu, amb el seu art: "golpe a golpe", i és que Ella és una persona que no entén de dificultats. És el que anomenaríem sens dubte una persona metòdica, i si fem referència i al·lusió a l'etimologia de la paraula, doncs Mètode, prové del grec Methodos, que equival a Camí. Un Camí ple d'obstacles que Ella enderroca amb la tenacitat, la perseverància, la responsabilitat i per damunt de tot, l'Amor que sent per la seva professió.*

*Ella exerceix el total control de la seva vida trobant la solució final a base del seu propi mètode, del seu propi camí.*

*Durant molts anys, en aquella infantesa que vàrem compartir, vaig veure com dia darrera dia confirmava fermament la seva voluntat de ser Metge. Mai li vaig escoltar una altra professió, mai cap queixa per la dificultat dels estudis i les renúncies que suposava, per les circumstàncies, pels esforços i sacrificis. Sempre aquella tènue llum de l'habitació, encesa fins altes hores de la matinada, perduda entre llibres i apunts del que era i és la seva vida.*

*Llavors jo reia i Ella estudiava. Avui, transcorregut el temps i amb la vista posada al present me la torno a mirar amb la perspectiva que el coneixement i l'edat ens atorguen i és Ella qui riu i jo me'n sento orgullosa.*

*Rosa, germana, no hi ha Camí, tu fas Camí al caminar.*

**Anna Ramos  
Setembre 2008**





**TESI DOCTORAL**

---

**ESTRÈS OXIDATIU I PEROXIDACIÓ LIPÍDICA EN  
EL PACIENT AMB MALALTIA RENAL CRÒNICA**

**ROSA RAMOS SÁNCHEZ**



**Director de tesi:**

**Alberto Martínez-Castelao**





	<u>Pàgina</u>
<b>1. ABREVIATURES.....</b>	<b>4</b>
<b>2. TAULES I FIGURES.....</b>	<b>6</b>
<b>3. INTRODUCCIÓ.....</b>	<b>7</b>
<b>a. RISC CARDIOVASCULAR EN EL PACIENT NEFRÒPATA:</b>	
i. Factors implicats en el desenvolupament de l'aterosclerosi als pacients amb insuficiència renal crònica .....	7
ii. Dislipèmia en el pacient nefròpata.....	8
<b>b. ESTRÈS OXIDATIU: Peroxidació lipídica .....</b>	<b>10</b>
<b>c. EFECTE DE L'ESTRÈS OXIDATIU EN EL PACIENT NEFRÒPATA.....</b>	<b>16</b>
i. Insuficiència renal crònica.....	17
ii. Trasplantament renal.....	21
<b>d. ANTIOXIDANTS.....</b>	<b>22</b>
i. Vitamina C.....	25
ii. Vitamina E.....	27
<b>e. VITAMINA C I HEMODIÀLISI.....</b>	<b>29</b>

	<u>Pàgina</u>
<b>4. HIPÒTESI DE TREBALL.....</b>	<b>31</b>
<b>5. OBJECTIUS</b>	
a. Objectius per articles.....	<b>33</b>
<b>6. ARTICLES</b>	
i. <i>Dislipemia y riesgo cardiovascular en el paciente diabético</i> <i>tipo 2 con nefropatía diabética asociada.....</i>	<b>35</b>
ii. <i>Lipoperoxidation and hemodialysis.....</i>	<b>44</b>
iii. <i>Efecto de ciclosporina y tacrólimus sobre la oxidación</i> <i>de las lipoproteínas después del trasplante renal .....</i>	<b>51</b>
<b>7. DISCUSSIÓ.....</b>	<b>58</b>
i. Estadi pre-diàlisi.....	<b>58</b>
ii. Estadi V. Tractament renal substitutiu mitjançant hemodiàlisi .....	<b>62</b>
iii. Trasplantament renal.....	<b>73</b>
<b>8. CONCLUSIONS.....</b>	<b>76</b>
<b>9. BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>78</b>

**ABREVIATURES** (per ordre d'aparició en el text)

- **HTA:** Hipertensió arterial
- **MRC:** Malaltia renal crònica
- **IDL:** Lipoproteïnes de densitat intermitja
- **LDL:** Lipoproteïnes de baixa densitat
- **VLDL:** Lipoproteïnes de molt baixa densitat
- **HDL:** Lipoproteïnes d'alta densitat
- **ROS:** Espècies reactives a l'oxigen
- **DNA:** Àcid desoxirribonucleic
- **CD:** Conjugats o cossos diènics
- **MDA:** Malondialdehid
- **TBARs:** Substàncies reactives a l'àcid tiobarbitúric
- **OxLDL:** LDL oxidades
- **IRC:** Insuficiència renal crònica
- **AGEs:** Productes finals de glicació avançada
- **Apo B:** Apolipoproteïna B
- **EPO:** Eritropoetina
- **IRCT:** Insuficiència renal crònica terminal
- **RMRC:** Registre de Malalts renal des Catalunya
- **c-LDL:** Colesterol de les lipoproteïnes de baixa densitat
- **FG:** Filtrat glomerular

- **Lp(a)**: Lipoproteïna A
- **c-TOTAL**: Colesterol total
- **c-HDL**: Colesterol de les lipoproteïnes d'alta densitat
- **TG**: Triglicèrids
- **NCEP-III**: National Cholesterol Education Program Adult Education Panel III

**TAULES**

- **Taula 1.** Factors implicats en el desenvolupament de l'aterosclerosi en els pacients amb insuficiència renal crònica .....8
- **Taula 2.** Antioxidants.....24
- **Taula 3.** Perfil lipídic segons estadiatge de nefropatia crònica..44

**FIGURES**

- **Figura 1.** Estrès oxidatiu.....11
- **Figura 2.** Perfil d'absorció típica a 234 nm (formació de CD) produïts durant l'oxidació de LDL aïllada per coure in vivo.....13
- **Figura 3.** Seqüència de lipoperoxidació.....14
- **Figura 4.** L'home cec i l'elefant.....16
- **Figura 5.** Vitamina C.....25
- **Figura 6.** Reciclatge de la vitamina E mitjançant la vitamina C....26
- **Figura 7.** Vitamina E.....28
- **Figura 8.** Lipoproteïnes segons tècnica de diàlisi.....46

### **3. INTRODUCCIÓ**

#### **a. RISC CARDIOVASCULAR EN EL PACIENT NEFRÒPATA**

##### **ai. Factors implicats en el desenvolupament de l'aterosclerosi als pacients amb IRC**

Els pacients amb insuficiència renal crònica i els sotmesos a diàlisi tenen un augment de l'estrès oxidatiu i una alta incidència d'aterosclerosi prematura [1] [2]. Els factors de risc cardiovascular són més prevalents en aquesta població i la principal causa de mort d'aquests pacients és d'origen cardiovascular [3] [4]. Existeixen estudis que han reportat que el risc relatiu de mort per infart és com a mínim 5 vegades superior als pacients que reben algun tipus de teràpia renal substitutiva que a la població general [5]. Aquestes complicacions cardiovasculars persisteixen malgrat el pacient sigui trasplantat i de fet, continuen sent la primera causa de mortalitat tardana en aquesta modalitat de tractament [6] [7].

La urèmia associada a dislipèmia, hipertensió o a la pròpia causa de la malaltia renal, com per exemple, la diabetis han estat implicades com a mecanismes subjacents [8].



Els mecanismes pels quals es desenvolupa aterosclerosi en el pacient nefròpata son varis [9] [10] [11] [12] i es poden observar en la taula adjacent.

<b>Factors lligats a la demografia dels pacients</b>
Major prevalença d'HTA
Major prevalença de dislipèmia
Major prevalença de diabetis mellitus
<b>Factors lligats a les alteracions relacionades amb la malaltia renal crònica</b>
Hiperhomocistinèmia
Alteracions lipídiques (augment de la lipoproteïna-A, disminució de l'apo A1)
Generació d'un estat pro-inflamatori, pro-oxidant i pro-coagulant
Retenció de substàncies nocives pels vasos
Anèmia
Hiperparatiroidisme
Proteinúria
<b>Factors lligats al tractament substitutiu renal</b>
Membranes de diàlisi bioincompatibles
Fàrmacs immunosupressors amb efectes secundaris

**Taula 1.**  
**Factors implicats en el desenvolupament de l'aterosclerosi en els pacients amb malaltia renal crònica.**

*(Modificat de J.Díez. Nefrología.2004; 24,supl 6: 23)*

#### **aii. Dislipèmia al pacient nefròpata**

És freqüent observar hiperlipidèmia en el pacient urèmic, tant durant l'etapa prediàlisi com durant el tractament substitutiu renal mitjançant

diàlisi i/o trasplantament, i tant en forma de hipercolesterolèmia aïllada, hipertrigliceridèmia o com una associació d'ambdues. Habitualment el colesterol es manté dins dels límits normals i tendeix a elevar-se si existeix marcada hipertrigliceridèmia [13]. Al mateix temps s'han detectat increments de les lipoproteïnes de densitat intermitja (IDL), baixa densitat (LDL) o molt baixa densitat (VLDL), amb disminució de les lipoproteïnes d'elevada densitat (HDL) [7]. S'han descrit augments en les apolipoproteïnes A, apolipoproteïnes B i lipoproteïnes (a) [14]. El colesterol total i els triglicèrids estan més elevats en els pacients en diàlisi peritoneal que en hemodiàlisi[15]. Aquests nivells normalment s'acompanyen d'un increment significatiu de les concentracions de VLDL i apolipoproteïnes B [16].

Estudis clínics i epidemiològics han demostrat que el dany macrovascular és el factor que més contribueix en l'alta mortalitat en aquests pacients, principalment en forma de malaltia isquèmica coronària [17] [18].

Malgrat que la majoria d'aquests events cardiovasculars estan associats a lesions ateroscleròtiques obstructives, en un 25-30 % d'aquests pacients l'origen no és ateroscleròtic i es deu a malaltia microvascular o a estretament de la fibroelàstica de l'aorta i reducció de la "compliance" arterial [19] associat a remodelat arterial no arterioscleròtic [20] [21]. Les anormalitats cardíques i vasculars en aquests pacients tenen diferents

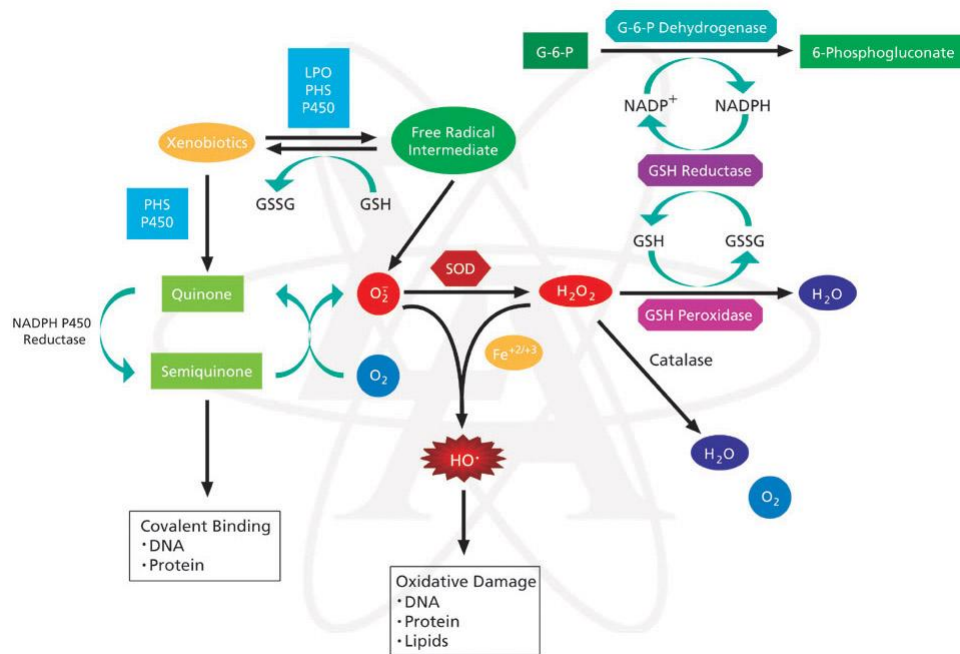
mecanismes fisiopatològics que freqüentment es troben interrelacionats [22].

#### **b. ESTRÈS OXIDATIU: PEROXIDACIÓ LIPÍDICA**

L'estrès oxidatiu defineix un desequilibri entre la formació d'espècies reactives de l'oxigen (ROS) o radicals lliures d'oxigen i els mecanismes de defensa antioxidant [23].

- Els radicals lliures d'oxigen es defineixen com una molècula o fragment de molècula que conté un o més electrons no aparellats en la seva òrbita externa.
- Els antioxidants són aquelles substàncies que quan són presents a baixes concentracions, comparades amb les del substrat oxidable, disminueixen o prevenen de l'oxidació d'aquest.

L'estrès oxidatiu condueix a un estat potencial de lesió molecular (lesió oxidativa). Aquest estat pro-inflamatori crònic per activació dels monòcits pot provocar un augment de la producció de citoquines [24, 25] afectant tot tipus de molècules: DNA, proteïnes, lípids i carbohidrats.



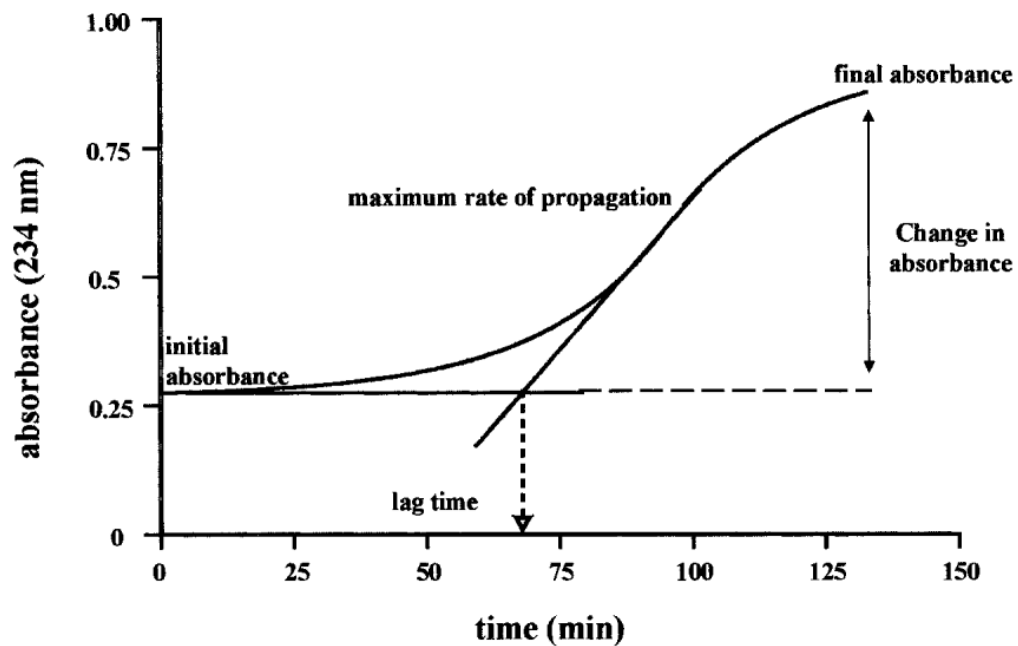
**Figura 1. Estrès oxidatiu.** Copyright © 2002–2006 Sigma-Aldrich, Inc

La peroxidació lipídica és el procés induït pels ROS més estudiat [26, 27]. Es defineix com el deteriorament oxidatiu dels lípids poliinsaturats, de manera que la taxa de reacció dels radicals amb els lípids de membrana ve condicionada per la quantitat de lípids poliinsaturats i el seu grau d'insaturació. El resultat de tot aquest procés, serà la disminució en la fluïdesa de les membranes cel·lulars, fet que impedirà les seves funcions normals.

En la lipoperoxidació es distingeixen tres etapes [28]:

- **Fase d' iniciació, fase lag ó fase de latència:** s'inicia l'oxidació de forma lenta consumint les substàncies antioxidants de les lipoproteïnes i començant a produir conjugats diènics (CD, dobles enllaços alternant amb enllaços simples). Aquesta estructura pot ser detectada a una absorbància de 234nm.
- **Fase de propagació o exponencial,** ja s'han consumit els antioxidants i es continuen produint hidroperòxids de forma ràpida.
- **Fase de descomposició,** és el resultat final que culmina en la fragmentació dels dobles enllaços donant lloc a peròxids, hidròxids, aldehïds i cetones.

La forma gràfica de llegir-ho és mitjançant la corba de la cinètica d'oxidació lipídica.



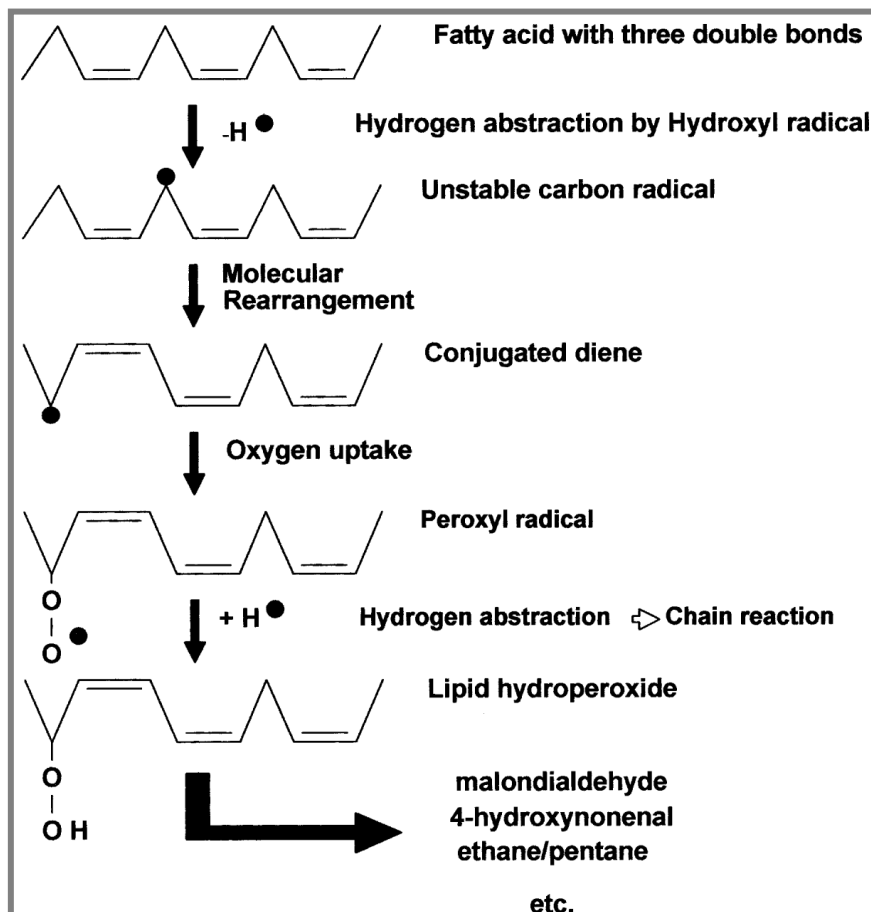
**Figura 2.**

**Perfil d'absorció típica a 234 nm (formació de conjugats diènics) produïts durant l'oxidació de LDL aïllada per cuire in vivo**

*Young IS. Lipoprotein oxidation and atherosclerosis. Biochem. Soc. Trans. 2001*

La **fase Lag** s'obté de la intersecció de les línies dibuixades entre els valors d'absorbància d'un producte de la lipoperoxidació, en aquest cas els conjugats diènics, abans de l'inici de l'oxidació i durant la posterior oxidació ràpida de les LDL i es mesura en minuts tal i com proposa Esterbauer[28].

Altres paràmetres utilitzats com a indicadors d'oxidació són la taxa de formació de conjugats diènics i el nivell màxim de d conjugats diènics [29]. La determinació dels nivells d'oxidació ha motivat el desenvolupament de diferents tècniques analítiques que permetin monitoritzar el procés d'oxidació des de les fases inicials. Entre les tècniques més utilitzades estan els nivells del peròxid, els conjugats diènics (CD) i la prova del malondialdehíd-àcid tiobarbitúric (MDA-TBARs).



**Figura 3. Seqüència de lipoperoxidació.**

*Young IS. Lipoprotein oxidation and atherosclerosis. Biochem. Soc. Trans. 2001*

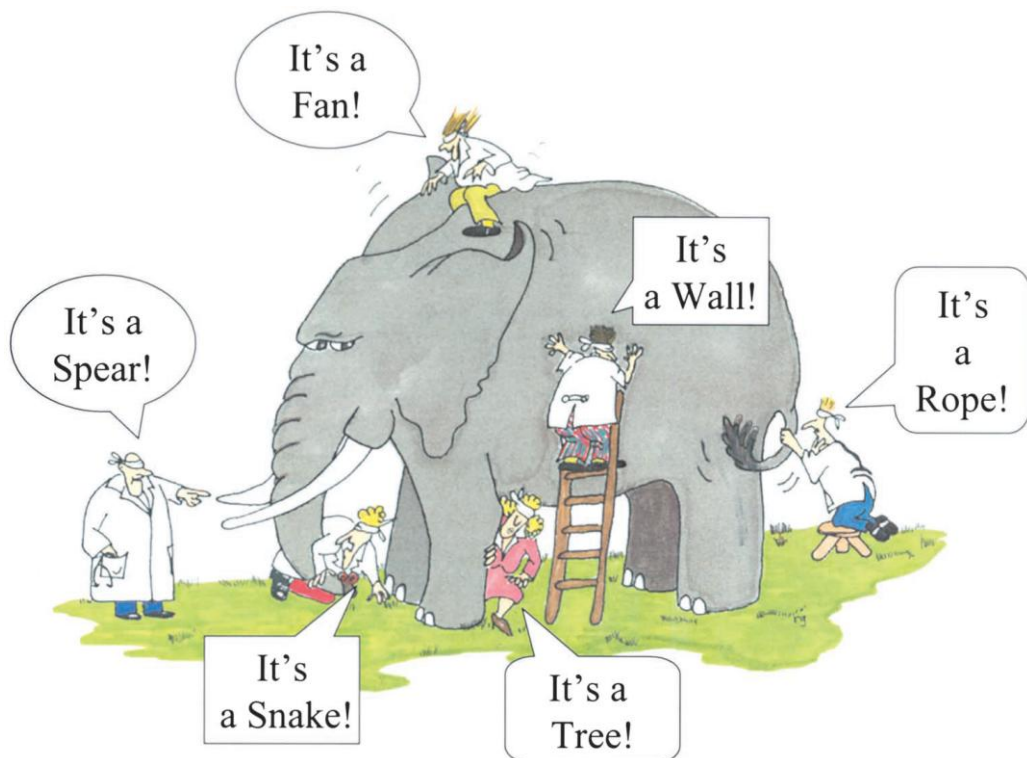
L'augment de les LDL oxidades (OxLDL) són un altre indicador d'estrès oxidatiu i un factor de risc cardiovascular. L'oxidació de les LDL juga un paper important en el desenvolupament de l'aterogènesi. Aquestes OxLDL estan implicades en un gran nombre d'accions biològiques, expressant molècules d'adhesió, reclutant i retenint leucòcits i formant cèl·lules espumoses [30]. A més a més, les OxLDL poden jugar un rol en la transició d'una placa estable en vulnerable o inestable [31, 32]. Múltiples estudis han investigat la implicació de l'oxidació de les LDL en pacients amb evidència clínica de malaltia coronària i han demostrat que la concentració d'OxLDL va ser significativament superior en aquells pacients amb infart agut de miocardi o angina estable o inestable que en pacients control [33-35]. Més recentment ha estat demostrat com les OxLDL poden tenir un alt valor predictiu d'events coronaris quan es comparen amb el perfil lipídic tradicional o altres factors de risc cardiovascular [36].

Per una altra banda, s'ha hipotetitzat que els antioxidants poden retardar el creixement de les plaques d'ateroma mitjançant la inhibició de la peroxidació lipídica o de l'oxidació de les LDL [37]. Per tant, una deficiència d'aquestes substàncies antioxidants suggereix que pot influir en l'aparició i la progressió de malaltia cardiovascular [38].



**c. EFECTE DE L'ESTRÈS OXIDATIU EN EL PACIENT NEFRÒPATA**

Himmelfarb [39] compara l'estrès oxidatiu en la urèmia amb un elefant que és palpat per diferents persones cegues, com a peces diferents d'un mateix puzzle sense una hipòtesi comú, sense un concepte unificat de la malaltia cardiovascular en la urèmia.



**Figura 4. L'home cec i l'elefant**  
Cartoon originally copyrighted. G.Renee Guzlas

L'interès de l'anàlisi d'aquest estrès oxidatiu s'ha incrementat notablement en els darrers anys. Diferents estudis han valorat l'efecte de tractaments antioxidants per a prevenir les malalties cardiovasculars amb resultats variats i controvertits.

### **c. i EFECTE DE L'ESTRÈS OXIDATIU EN EL PACIENT NEFRÒPATA: MRC**

L'estrès oxidatiu junt amb les alteracions en el metabolisme lipídic són els factors de risc més importants de malaltia cardiovascular en els pacients amb IRC i és considerat com una potencial causa de morbi-mortalitat [40]. El pacient urèmic presenta un estat inflamatori crònic [41] que associat a una producció massiva d'espècies reactives d'oxigen (ROS) i proteïnes aterogèniques es relaciona amb un augment de morbi-mortalitat [41-43]. També l'estrès oxidatiu indueix la formació de productes finals de glicació avançada (AGEs) [44]. Als pacients urèmics, l'estrès oxidatiu no només contribueixi a la glicoxidació sinó que també a la peroxidació lipídica ocasionant nivells elevats de peròxids lipídics [45].

S'han identificat varis marcadors de l'estrès oxidatiu en la urèmia: els compostos de la lipoperoxidació, com per exemple el MDA

(malondialdehid, producte final de la lipoperoxidació) [46], els productes avançats de l'oxidació proteica [47] , els AGEs [48 , 49] i una susceptibilitat augmentada de les LDL-colesterol a l'oxidació [50, 51]. Les ROS, in vitro, estan relacionades amb dany proteic ocasionant oxidació de residus d'aminoàcids, agregació de proteïnes, enllaços creuats i fragmentació. Aquestes proteïnes danyades oxidativament han estat trobades en el plasma de pacients que rebien tractament dialític [52].

Meng i col·laboradors, varen demostrar que els MDA augmentaven en els pacients sotmesos a hemodiàlisi comparats amb els pacients en època predialítica o pacients sans, quan es determinaven en fraccions col·làgenes dèrmiques [45]. Aquest MDA no és només propi de la malaltia renal crònica, sinó que també s'ha vist implicat en altres patologies vasculars com pot ser l'infart agut de miocardi [53].

Boaz i cols. [54] varen mesurar els nivells sèrics de MDA i els factors tradicionals de risc cardiovascular en pacients sotmesos a hemodiàlisi. Aquests autors varen demostrar que aquells pacients en hemodiàlisi amb malaltia cardiovascular prevalent, tenien uns nivells de MDA sèric significativament més alts que els pacients sense patologia cardiovascular. Quan feien una regressió logística, el MDA sèric va resultar ser el factor de risc més segur per a predir la malaltia cardiovascular, més inclòs que els factors de risc cardiovascular clàssics,

com podien ser colesterol, LDL, triglicèrids o fibrinògen. Aquestes dades suggerien que l'estrès oxidatiu, mesurat pels nivells sèrics de MDA, és un factor de risc cardíac en els pacients en hemodiàlisi. Bayés et al. també varen demostrar un alt estat inflamatori i estrès oxidatiu com a predictors de la mortalitat global en pacients en hemodiàlisi [55].

La biocompatibilitat juga un paper crític en la contribució a un estrès oxidatiu durant la hemodiàlisi. El contacte continu de la sang amb tot el sistema de diàlisi de forma repetida contribueix a la hemobioincompatibilitat i a un augment en la producció de ROS [56, 57]. Cristol va demostrar com una membrana del dialitzador derivada de la cel·lulosa (cuprophan) activava de forma molt significativa els monòcits i polimorfonuclears quan es comparava aquesta amb una membrana sintètica de polisulfona [56]. Partint de la premissa que utilitzant filtres més biocompatibles s'obté resposta més beneficiosa respecte a l'estrès oxidatiu, s'ha volgut anar més lluny estudiant l'efecte de la protecció i prevenció de les malalties cardiovasculars afegint substàncies antioxidants a aquests filtres [58, 59], al mateix temps que s'ha pogut demostrar que la reducció d'aquest estat pro-inflamatori pot disminuir significativament els requeriments d'eritropoetina en aquests pacients [60].

També les defenses antioxidants es veuen alterades en pacients sotmesos a hemodiàlisi. S'ha observat com l'activitat dels antioxidants interns com la superòxid dismutassa o la glutation oxidassa es troba disminuïda en pacients dialitzats [46, 61]. A més, els antioxidants externs, tant els hidrofílics (vitamina C) com els liposolubles (vitamina E) s'han trobat disminuïts en la urèmia [62-66].

Malgrat barallem la hipòtesi de que el pacient amb insuficiència renal i en hemodiàlisi és un pacient amb tendència pro-oxidativa, altres autors mostren resultats contradictoris. Shutherland et al. [29] varen trobar que l'oxidació de la LDL era significativament més baixa en pacients en hemodiàlisi (fase lag de 91 minuts) que en el grup control de pacients sans (fase lag de 83 minuts). Schulz et al. [67] varen veure com la fase lag no només no s'escurçava als pacients en hemodiàlisi comparat amb pacients sans, sinó que s'allargava al final de la sessió de diàlisi quan s'utilitzaven membranes de cuprophan o cel·lulosa.

### **c.ii EFECTE DE L'ESTRÈS OXIDATIU EN EL PACIENT NEFRÒPATA: TRASPLANTAMENT RENAL**

Les complicacions vasculars en el malalt trasplantat continuen essent la primera causa de mortalitat. La dislipèmia contribueix com a factor principal en aquests pacients [7, 68]. Altres factors de risc addicionals a la dislipèmia poden ser els immunosupressors, les transgressions dietètiques i/o l'augment de pes acompanyat de resistència a la insulina [69, 70].

L'oxidació de les lipoproteïnes junt amb una disminució en la capacitat antioxidant en pacients trasplantats semblen jugar un paper clau en la inducció de l'aterogènesi en el pacient trasplantat [71]. S'ha demostrat que alguns immunosupressors com la ciclosporina tenen un paper pro-oxidatiu escurçant la fase lag de l'oxidació lipídica quan es comparava amb controls sans [72]. La ciclosporina augmenta la LDL colesterol en plasma mitjançant la inhibició de la síntesi de receptors de LDL pel fetge així com interferint en el catabolisme d'aquests receptors en el fetge [73].

L'aterogenicitat de les LDL no depèn exclusivament de la concentració en sèrum d'aquestes sinó també de la susceptibilitat d'aquestes partícules a l'oxidació [74]. Tant l'increment de la fase Lag abans de la iniciació de l'oxidació de les LDL com una baixa taxa d'oxidació, reflecteixen

l'augment de resistència de les LDL a l'oxidació. Quan es comparaven els dos tractaments anticalcineurínics actuals (ciclosporina vs tacrólimus), s'observava que quan els pacients trasplantats que prenién ciclosporina eren convertits a tacrólimus, no tant sols milloraven el seu perfil lipídic (disminuïa el colesterol total, el colesterol LDL i l'apoproteïna B) sinó que s'incrementava la seva resistència a l'oxidació, atribuint-li així un menor perfil aterogènic a tacrólimus comparat amb ciclosporina [6]. En canvi, Varghese et al. [75] demostraren que quan se li sumava un antioxidant (tocoferol) a l'anticalcineurínic (ciclosporina neoral®) els pacients trasplantats tractats presentaven "fases lag" similars als controls sans comparats amb aquells tractats amb anticalcineurínic sense antioxidant (tacrólimus). Quan aquests pacients eren tractats amb hipolipemians presentaven un augment de la resistència a l'oxidació amb un allargament de la fase lag [76]

#### **d) ANTIOXIDANTS**

Els antioxidants poden actuar a diferents nivells de la seqüència oxidativa de la lipoperoxidació:

- i. Disminuint la concentració local d'oxigen

- ii. Prevenint el procés d'iniciació de la lipoperoxidació per la captació de radicals lliures
- iii. Fixant el ferro o coure, així com les molècules amb capacitat per mantenir el ferro en un estat redox en el qual no sigui capaç de catalitzar algunes reaccions
- iv. Descomponent els hidroperòxids implicats en els processos d'estimulació de la lipoperoxidació, convertint-los en alcohols que són molècules molt menys reactives
- v. Bloquejant la cadena de lipoperoxidació. Són capaços de reduir el radical peroxilo i el radical alkoxilo evitant, d'aquesta forma, la cadena de la lipoeroxidació.

Per regla general, els antioxidants del grup 1, 2, 3 i 4 poden ser anomenats antioxidants preventius, i els del grup 5 es denominen *chain breaking*. (TAULA ANTIOXIDANTS):



<b>ANTIOXIDANTS PREVENTIUS</b>	
<b>Capten els ROS</b>	
<b>ENZIMÀTICS</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Superòxid dismutassa</li> <li>○ Catalassa</li> <li>○ Glutation peroxidassa</li> <li>○ Bilirrubina</li> <li>○ Cafeïna</li> <li>○ Flavonoïds</li> </ul>	<b>NO ENZIMÀTICS</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Grups SH de proteïnes i glutatión</li> <li>○ Vitamina C</li> <li>○ Àcid úric</li> </ul>
<b>Fixen metalls</b>	
<b>FERRO</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Transferrina</li> <li>○ Lactoferrina</li> <li>○ Ferritina</li> </ul>	<b>COURE</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Albúmina</li> <li>○ Ceruloplasmina</li> </ul>
<b>ANTIOXIDANTS QUE TRENQUEN LA CADENA</b>	
<b>Descomponen hidroperòxids</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Glutation peroxidassa</li> </ul>	
<b>Bloquegen la cadena de lipoperoxidació</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Vitamina E</li> <li>○ <math>\beta</math>-caroté</li> <li>○ Ubiquinol</li> <li>○ Dihidrolipoat</li> </ul>	

Taula 2. Antioxidants

## d. i VITAMINA C

La vitamina C està considerada com la primera defensa antioxidant en sang [77]. És essencial per l'acció de diferents enzims d'hidroxil·lació, com la lisina, prolina, dopamina o la  $\beta$ -hidroxilassa. [78]. A més se sap que potencialment protegeix tant el citosol com els components de membrana enfront del dany oxidatiu. Al citosol actua com "scavenger" dels radicals lliures produïts pel metabolisme cel·lular. A les membranes cel·lulars pot jugar un paper antioxidant indirecte reduint el radical  $\alpha$ -tocoferoxil a  $\alpha$ -tocoferol, i aquest efecte s'ha vist tant als eritròcits com a cèl·lules nucleades [79-82].

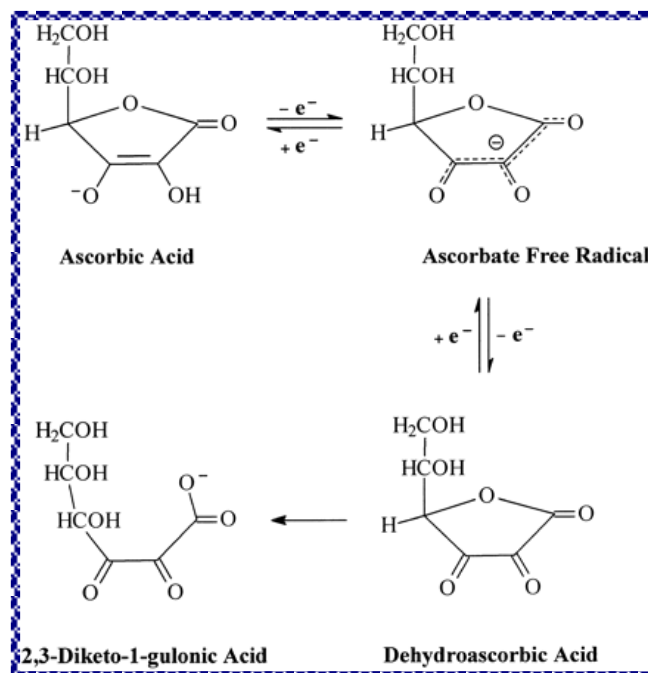
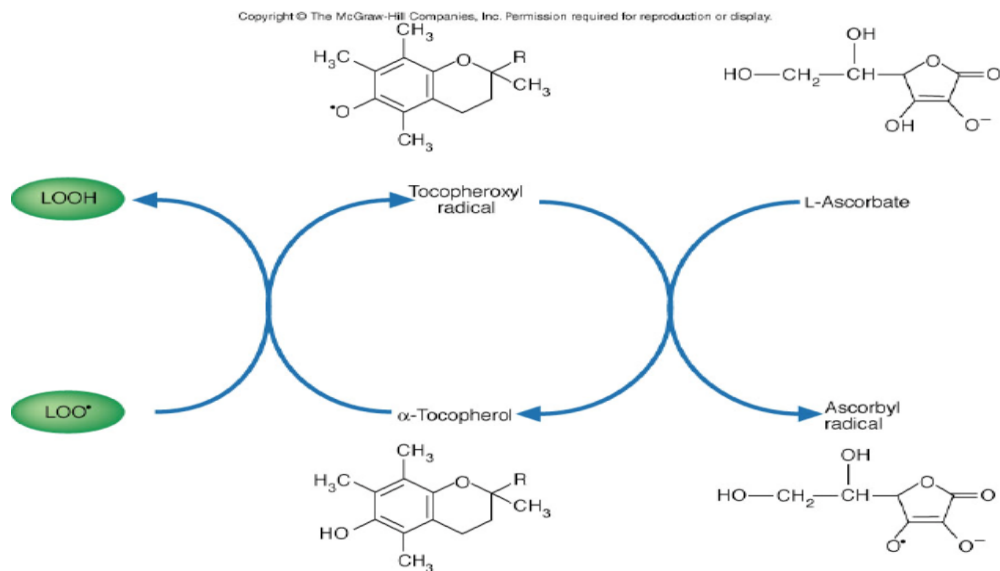


Figura 5. Vitamina C

L'ascorbat és conegut com un potent inhibidor de l'oxidació de la LDL i és ben conegut que pot reciclar la forma oxidada de l'alfa-tocoferol a la seva forma nativa [83].



**Figura 6. Reciclatge de la vitamina E mitjançant la vitamina C**

També s'ha demostrat que prevé la fragmentació de l'apo B i inhibeix la formació de conjugats diènics que s'alliberen durant l'oxidació de les LDL [84]. Aquests fets estarien en consonància amb la hipòtesi de que l'àcid ascòrbic pot disminuir el risc de malaltia coronària i per tant, el risc de mortalitat cardiovascular [85]. En pacients amb arteriosclerosi coronària

es va veure com l'administració de suplementos tant de vitamina C com E retardava l'evolució cap al trasplantament cardíac [86].

Però, en canvi, també s'ha qüestionat si la vitamina C "in vivo" pot tenir efectes contradictoris o sigui pro-oxidants" similars als que se li han demostrat "in vitro" [87]. Àdhuc, no s'ha comprovat que la vitamina C comporti cap efecte en pacients sans, fet que suggereix que la vitamina C només pot millorar la disfunció endotelial i vascular en aquells pacients amb deficiències d'antioxidants conegudes.

Existeixen varis treballs que demostren que l'administració de vitamina C en pacients amb una sobrecàrrega de ferro als que no se'ls hi administra cap captador del ferro, pot tenir efectes deleteris importants [88-90] però fora d'aquest supòsit no existeixen prou evidències "in vivo" per atribuir-li aquest estat pro-oxidant.

#### **d.ii VITAMINA E**

La vitamina E és una vitamina liposoluble existent en 8 formes diferents de les quals la més activa en humans és l'alpha-tocoferol. Té també un alt potencial antioxidant, motiu pel qual, s'ha proposat per prevenir

nombroses condicions relacionades amb la salut, particularment amb càncer o malalties cardíaques. Els efectes de la vitamina E en els nivells de colesterol i l'aterosclerosi ha estat estudiada àmpliament en nombrosos assatjos clínics tant in vitro com en població humana [91] [92] [93], però clínicament no està del tot clar que pugui suposar un benefici. Existeixen també algunes investigacions sobre l'ús d'altres dosis de vitamina E en pacients en hemodiàlisi per a prevenir malalties cardíaques (> 800 UI/dia) [94, 95], encara que els beneficis o riscos es mantenen sense aclarir en aquesta població.

Recentment s'ha vist com l'administració de dosis elevades de vitamina E (400UI/dia ó més) de forma crònica (la sobredosificació de forma aguda és infreqüent) , pot tenir conseqüències deletèries incloent un risc elevat de sagnat o àdhuc un risc elevat de mort [96]. Evidentment, aquestes conclusions han estat àmpliament criticades pels experts ja que es tracta d'una meta-anàlisi basada en re-càlculs d'altres petits estudis previs [94, 97, 98], però sens dubte, és l'estudi científic disponible fins el moment i es considera que s'ha de ser prudent a l'hora d'administrar suplementes de vitamina E.

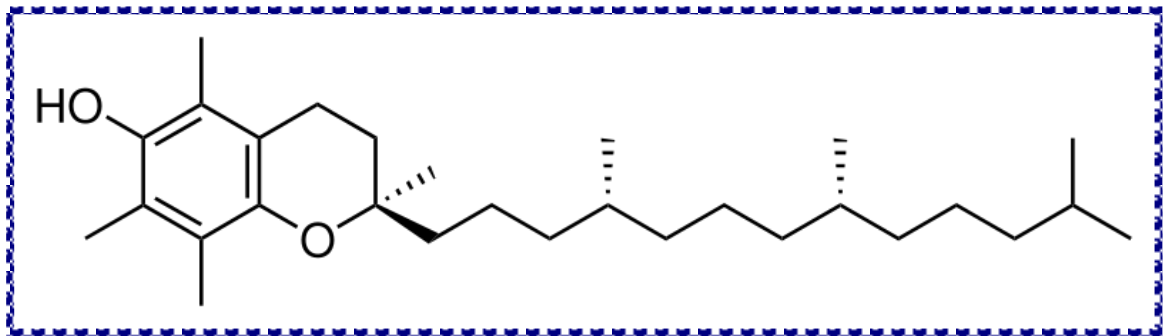


Figura 7. Vitamina E

#### e. VITAMINA C I HEMODIÀLISI

Generalment els pacients amb insuficiència renal crònica en hemodiàlisi tenen uns nivells més baixos de vitamina C que la població general [65, 99]. Probablement causat per una pèrdua de vitamina C durant la diàlisi, un excés de consum o una ingesta restrictiva de fruites i vegetals per a prevenir la hiperpotassèmia [66, 99-101]. Aquest fet, probablement és el que contribueix a inclinar la balança a favor d'un estat més pro-oxidatiu en aquesta població.

Deicher i els seus col·laboradors varen demostrar que concentracions baixes de vitamina C en plasma en els pacients en hemodiàlisi es relacionaven amb un risc augmentat de patir un episodi cardiovascular i podien ser-ne un predictor [102]. Per una altra banda, s'ha demostrat

que els pacients en hemodiàlisi que no prenen suplementes presenten un alt risc per presentar deficiència de vitamina C [103]. S'havia hipotetitzat que entre 1000 i 1500 mg/setmana o 100-200 mg/dia de suplement de vitamina C oral eren suficients per a normalitzar els nivells de vitamina C en aquests tipus de pacients però existeixen poques evidències sobre aquesta recomanació[99]. El risc que pot comportar l'administració de suplementes de vitamina C és l'oxalosi secundària, però recentment s'ha reportat que 60 mg/dia via oral de vitamina C podria prevenir la deficiència d'aquesta vitamina en els pacients hemodialitzats sense provocar un risc d'augmentar els nivells d'oxalat en plasma en els mateixos [104].

Existeix un ampli rang de distribució dels nivells de vitamina C entre els pacients en hemodiàlisi. Gairebé la meitat dels pacients presenten uns nivells dins de la normalitat (30-60  $\mu$ M) sense correlacionar-se significativament amb la ingesta de vitamina C provinent de la dieta o dels suplementes de vitamina C [105].

Malgrat s'ha hipotetitzat que la vitamina C pot contribuir a l'alliberament de sulfat ferrós i afavorir la toxicitat de ferro [106], s'ha demostrat que en pacients hemodialitzats amb anèmia refractària al tractament amb eritropoetina (EPO) i hiperferritinèmia d'origen incert milloren la resposta a l'EPO quan se'ls administra vitamina C endovenosa, ja sigui mobilitzant el ferro dels dipòsits com pel seu efecte antioxidant [107].

#### **4. HIPÒTESI DE TREBALL**

Els pacients nefròpates presenten un alt risc cardiovascular degut, entre d'altres múltiples factors a la dislipèmia i a una disminució de la resistència a l'oxidació de la LDL. El tractament amb substàncies hipolipemiantes i antioxidants pot millorar el perfil aterogènic i per tant, el risc cardiovascular d'aquests pacients mitjançant un augment de la resistència a la oxidació.

Per aquest motiu, s'analitzaran de forma extensa l'estrès oxidatiu al que estan sotmesos els nostres pacients i les circumstàncies que podrien contribuir a beneficiar l'anomenat estrès oxidatiu, aportant els treballs del nostre equip en relació al tema.



**5. OBJECTIUS GENERALS**

- 1- Analitzar la dislipèmia com a factor de risc cardiovascular als pacients urèmics.
  
- 2- Estudiar la lipoperoxidació lipídica en pacients urèmics.
  
- 3- Analitzar el possible benefici de fàrmacs hipolipemians o antioxidants.
  
- 4- Analitzar l'efecte dels fàrmacs immunosupressors en la dislipèmia dels nostres pacients.

**5a. OBJECTIUS PER ARTICLES****5-a.i. 1er ARTICLE: “*Dislipemia y riesgo cardiovascular en el paciente diabético tipo 2 con nefropatía diabética asociada*”**

- Avaluar el patró de dislipèmia del pacient diabètic tipus 2 amb nefropatia associada.
- Relacionar el patró de dislipèmia d'aquests pacients amb la funció renal i el desenvolupament de complicacions cardiovasculars.

**5-a. ii. 2on ARTICLE *Lipoperoxidation and hemodialysis*”**

- Conèixer l'estat lipídic i els paràmetres d'estrès oxidatiu de les lipoproteïnes en els pacients amb insuficiència renal crònica terminal, estadiatge V (IRCT).

- Determinar la possible variació de l'estat lipídic i el grau d'estrès oxidatiu d'aquests pacients, mitjançant l'estudi de la resistència a l'oxidació al cap d'un any d'haver iniciat hemodiàlisi.
- Estudiar la possible repercussió sobre l'oxidació del colesterol LDL amb el tractament perllongat amb un antioxidant : Vitamina C.

**5-a.iii. 3er ARTICLE : “*Efecto de ciclosporina y tacrólimus sobre la oxidación de las lipoproteínas después del trasplante renal*”**

- Analitzar el perfil lipídic dels pacients trasplantats i estudiar si aquest perfil variava al substituir ciclosporina per tacrólimus.
- Avaluar si aquesta conversió influeix en la susceptibilitat a l'oxidació de les lipoproteïnes LDL.

**6...1. *Dislipemia y riesgo cardiovascular en el paciente diabético tipo 2 con nefropatía diabética asociada***



# Dislipemia y riesgo cardiovascular en el paciente diabético tipo 2 con nefropatía diabética asociada

A. Martínez-Castelao, R. Ramos, M.<sup>a</sup> T. González y M.<sup>a</sup> J. Castiñeiras\*

Servicio de Nefrología. \*Servicio de Bioquímica. Hospital Bellvitge Príncipes de España. CSUB. Hospitalet de Llobregat. Universitat de Barcelona.

## RESUMEN

Los pacientes diabéticos con nefropatía diabética asociada presentan un elevado riesgo cardiovascular, debido al desarrollo de proteinuria, potente inductor de dislipemia. **Pacientes y Método.** Hemos realizado un estudio observacional en 98 diabéticos tipo 2, 61 hombres y 37 mujeres, con edad media de  $63 \pm 13$  años, y todos ellos con proteinuria superior a 500 mg/día, divididos en 4 grupos: G-I (n = 13): pacientes con colesterol total  $> 6,25$  mmol/l tratados con derivados del ácido fibríco; G-II (n = 52): pacientes hipercolesterolémicos tratados con estatinas; G-III (n = 20), pacientes hipercolesterolémicos no tratados farmacológicamente por su dislipemia; G-IV (n = 13): pacientes normocolesterolémicos (grupo control). Se han comparado función renal, proteinuria y perfil lipídico 1, 3 y 5 años después del inicio de la observación. **Resultados.** Las características basales de los pacientes son similares en cuanto a edad, sexo, inicio de la diabetes e inicio de la nefropatía diabética. La proteinuria al inicio era más elevada en el grupo tratado con estatinas ( $p < 0,05$ ). Los fibratos se mostraron más eficaces para reducir la hipertrigliceridemia, mientras que las estatinas fueron más efectivas en la reducción de colesterol total y lipoproteínas de baja densidad.

Un paciente tratado con gemfibrocilo presentó un episodio de rabiomiolisis. Las estatinas fueron muy bien toleradas. Nueve pacientes (19%) en G-II, 2 pacientes (10%) en G-III y 1 paciente (7%) en G-IV progresaron hacia la insuficiencia renal terminal durante el período del estudio. La mortalidad de causa cardiovascular y la mortalidad por todas las causas fueron 23%/23% en G-I, 13%/19% en G-II, 20%/25% en G-III y 31%/31% en G-IV, siendo la diferencia estadísticamente significativa cuando se comparó la mortalidad de causa cardiovascular entre el grupo normocolesterolémico y el grupo tratado con estatinas ( $p < 0,05$ ). **Conclusiones.** La intervención farmacológica hipolipemiente contribuye a disminuir la mortalidad cardiovascular en el diabético tipo 2 con nefropatía diabética asociada. Por ello creemos necesario instaurar tratamiento hipolipemiente agresivo precoz, antes de que las complicaciones micro y macroangiopáticas hagan hecho su aparición en el paciente diabético, independientemente del posible efecto para frenar la evolución de la nefropatía, que aún no ha sido suficientemente probado.

Palabras clave: **Mortalidad cardiovascular. Riesgo cardiovascular. Nefropatía diabética. Dislipemia. Tratamiento hipolipemiente. Diabetes mellitus tipo 2.**

**Correspondencia:** Dr. Alberto Martínez-Castelao  
Servicio de Nefrología  
Hospital de Bellvitge Príncipes de España. CSUB  
C/ Feixa Llarga, s/n.  
08907 Hospitalet de Llobregat. Universitat de Barcelona  
E-mail: 9349amc@comb.es

## SUMMARY

### DYSLIPIDAEMIA AND CARDIOVASCULAR RISK IN TYPE 2 DIABETES MELLITUS PATIENTS WITH ASSOCIATED DIABETIC NEPHROPATHY

**Background:** Diabetes patients with concomitant diabetic nephropathy are especially destined to cardiovascular complications due to the presence of microalbuminuria or proteinuria, that are potent inductors of dyslipidaemia.

**Methods:** We have studied 98 type 2 diabetes mellitus patients, 61 male and 37 female, mean age  $63 \pm 13$  year old, all of them with overt proteinuria (above 500 mg/day), divided into 4 groups: G-I (n = 13): patients with t. cholesterol > 6,25 mmol/l treated with fibric-acid derivatives; G-II (n = 52): hypercholesterolemic patients treated with statins; G-III (n = 20): hypercholesterolemic patients with no lipid-lowering intervention; G-IV (n = 13): normocholesterolemic patients (control group). Lipidic profile, proteinuria and renal function have being compared after 1, 3 and 5 years.

**Results:** Base-line characteristics of the patients were similar when regarding age, onset of diabetes or nephropathy. Only proteinuria was higher in statins-treated group ( $p < 0.05$ ). Fibric-acid derivatives were more effective on hypertriglyceridaemia while statins were more effective lowering LDL cholesterol. A gemfibrocyl-treated patient presented a rhabdomyolysis episode. Statins were safe and well tolerated. Nine patients (19%) in G-II, 2 patients (10%) in G-III and 1 patient (7%) in G-IV achieved end-stage renal failure. Five-year cardiovascular mortality and all-cause mortality rate were 23%/23% in G-I, 13%/19% in G-II, 20%/25% in G-III and 31%/31% in G-IV. The difference was statistically significant when comparing normocholesterolemic versus statin-treated patients ( $p < 0,05$ ).

**Conclusion:** Lipid-lowering therapy could probably delay but not avoid the progression of diabetic nephropathy. Since dyslipidaemia is closely related to the progression of cardiovascular disease and mortality, an aggressive lipid-lowering therapy is recommended, irrespectively of its potential effect on diabetic nephropathy.

Key words: **Cardiovascular mortality. Cardiovascular risk. Diabetic nephropathy. Dyslipidaemia. Lipid-lowering therapy. Type 2 diabetes mellitus.**

## INTRODUCCIÓN

La nefropatía diabética (ND) es una grave complicación de la diabetes mellitus (DM)<sup>1</sup> siendo, juntamente con la hipertensión arterial (HTA), la primera causa de insuficiencia renal crónica terminal (IRCT) en la actualidad<sup>2</sup>.

Sumándose a otros factores, tales como la HTA, control de la glucemia e influencia genética, la dislipemia parece jugar un papel preponderante en la progresión de la enfermedad vascular del diabético, estando en discusión si es también un posible factor implicado en la progresión de la ND<sup>3</sup>.

Del 30 al 40% de los pacientes diabéticos desarrollarán nefropatía, hecho que condicionará un mayor deterioro del metabolismo lipídico en estos pacientes<sup>4</sup>. La dislipemia está presente a veces incluso desde las fases iniciales de la DM<sup>5</sup>. El inicio

del tratamiento sustitutivo renal, lejos de mejorar el metabolismo lipídico, puede contribuir a una mayor alteración del mismo<sup>6</sup>.

Es bien conocido que el riesgo de muerte por cardiopatía isquémica es muy superior en los pacientes diabéticos que en la población no diabética, estando incrementado más aún en los que padecen ND<sup>7</sup>. En el diabético se detectan niveles elevados de lipoproteínas ricas en triglicéridos, que tienen un perfil altamente aterogénico, lo que se hace más acusado cuando la ND está presente<sup>8</sup>.

La aterosclerosis es la principal causa de muerte en el paciente diabético<sup>9</sup>, por lo que una mejor clarificación de las anomalías lipídicas son una premisa fundamental para prevenir con éxito la cardiopatía isquémica y otras complicaciones cardiovasculares.

El perfil dislipémico del diabético tipo 1 habitualmente es diferente del que presenta el diabético tipo

2. El primero puede presentar concentraciones de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y muy baja densidad (VLDL), en rangos normales o incluso descendidas, mientras que las de alta densidad (HDL) pueden estar normales o elevadas. Sin embargo este patrón no es menos aterogénico, ya que dichas lipoproteínas pueden presentar alteraciones en su composición estructural que las hace más aterogénicas<sup>10</sup>. El diabético tipo 1 presenta un cociente colesterol libre/lecitina elevado, tanto en el plasma como en la composición de las LDL/VLDL. Las concentraciones de fosfolípidos en las HDL son elevadas y ese cociente colesterol libre/lecitina elevado puede empeorar la capacidad de las HDL para actuar como receptores para el colesterol libre en el proceso del transporte reverso o inverso del colesterol. Por otra parte, están frecuentemente presentes anomalías en las diferentes subclases de LDL, alteraciones que se asocian con cardiopatía isquémica. Igualmente se han detectado incrementos de triglicéridos, pero con disminución de colesterol-ésteres y reducciones del cociente apolipoproteína B/apo E + apo E, indicando un exceso de apo C y apo E sobre la apo B. Asimismo existe un acúmulo de lipoproteínas de densidad intermedia (IDL) en los macrófagos<sup>11</sup>. Además, en el diabético tipo 1 se han descrito elevaciones del nivel de lipoproteína a {lp (a)}<sup>12</sup>.

En el diabético tipo 2, es frecuente observar niveles descendidos de HDL<sup>13</sup> con hipertrigliceridemia moderada<sup>14</sup>. En la obesidad se encuentra correlación entre hipertrigliceridemia y mal control glucémico. Existe incremento en la síntesis hepática de VLDL así como disminución del aclaramiento de quilomicrones y VLDL<sup>15</sup>. Ese aumento de lipoproteínas ricas en triglicéridos induce elevaciones del colesterol total. En los pacientes con deficiente control glucémico, el colesterol total está incrementado debido al acúmulo de LDL<sup>16</sup>.

Nuestro estudio ha intentado correlacionar el patrón de dislipemia del diabético tipo 2 con nefropatía diabética asociada, con la evolución de la función renal y el desarrollo de complicaciones cardiovasculares durante un período de cinco años de seguimiento.

## PACIENTES Y MÉTODOS

En un estudio observacional, abierto, no randomizado, hemos analizado la evolución de 98 pacientes diabéticos tipo 2, 61 hombres y 37 mujeres, con edad media de  $63 \pm 16$  años, controlados en nuestro hospital entre enero de 1990 y diciembre de 1998. El diagnóstico de ND se estableció en base a la presencia de proteinuria igual o superior a 500

mg/día en presencia de retinopatía diabética, o de biopsia renal compatible con el diagnóstico de ND.

Los pacientes fueron divididos en cuatro grupos: *Grupo I* ( $n = 13$ ): pacientes hipercolesterolémicos (colesterol total = o  $> 6,25$  mmol/l en dos observaciones consecutivas), tratados con derivados del ácido fíbrico *Grupo II* ( $n = 52$ ): pacientes hipercolesterolémicos tratados con estatinas. *Grupo III* ( $n = 20$ ): pacientes hipercolesterolémicos, tratados con medidas higiénico dietéticas (dieta estadio I de la American Heart Association (AHA)). *Grupo IV* ( $n = 13$ ): pacientes cuyo colesterol total se ha mantenido dentro de límites considerados normales ( $< 5,2$  mmol/l) a lo largo del período de seguimiento, independientemente de la evolución de col-HDL o LDL (grupo control).

Las características de los pacientes se muestran en la tabla I. Los parámetros bioquímicos y datos hematológicos se obtuvieron basalmente y posteriormente con intervalos de tres meses. Los parámetros lipídicos elementales se determinaron cada seis meses y las apolipoproteínas A y B se determinaron anualmente.

Al inicio del estudio se instauró la dieta estadio I de la AHA, aconsejando ejercicio moderado —caminar una hora diaria. Al cabo de tres meses, en los casos de colesterol por encima de  $6,25$  mmol/l se inició tratamiento con fibratos —cuando los triglicéridos eran superiores a  $4$  mmol/l— o estatinas —cuando el colesterol LDL era superior a  $3,8$  mmol/l.

*Determinación del perfil lipídico.* VLDL y LDL se separaron mediante precipitación secuencial por ultracentrifugación. Colesterol total y triglicéridos se determinaron por método enzimático. Colesterol HDL se midió por inmunoprecipitación selectiva. Las apolipoproteínas A y B se determinaron mediante test de turbidimetría.

*Tratamiento farmacológico.* Los pacientes tratados con fibratos recibieron gemfibrozil o fibratos a dosis de  $600$  a  $900$  mg/d. Los pacientes tratados con estatinas recibieron lovastatina ( $n = 11$ ,  $20$ - $40$  mg/día), sinvastatina ( $n = 14$ ,  $10$ - $20$  mg/d), pravastatina ( $n =$

**Tabla I.** Características basales de los pacientes

	G-I (n = 13)	G-II (n = 52)	G-III (n = 20)	G-IV (n = 13)
Edad	$63 \pm 7$	$62 \pm 9$	$66 \pm 8$	$61 \pm 16$
Sexo H/M	7/6	32/20	12/8	10/3
Fumadores	7 (54%)	22 (42%)	9 (45%)	4 (31%)
Edad diag DM	$50 \pm 11$	$50 \pm 10$	$50 \pm 8$	$54 \pm 15$
Edad diag ND	$58 \pm 8$	$58 \pm 10$	$61 \pm 9$	$61 \pm 17$
Insulina	8 (62%)	35 (67%)	10 (50%)	8 (62%)

DM = diabetes mellitus. ND = nefropatía diabética.

10, 20-40 mg/d), fluvastatina (n = 10, 20-40 mg/d) o atorvastatina (n = 7, 10-20 mg/d). Todos los pacientes recibían tratamiento concomitante con inhibidores del enzima conversor de la angiotensina (IECA) o antagonistas del receptor de la angiotensina (ARA II).

**Estudio estadístico.** Las características basales de los grupos fueron comparadas mediante análisis de la varianza. Para comparar la respuesta al tratamiento entre grupos se utilizó igualmente el análisis de la varianza. Las comparaciones intragrupo se analizaron mediante test de Wilcoxon.

**RESULTADOS**

Se recogen en las tablas II a VI. Las características basales de los pacientes son comparables en

**Tabla II.** Perfil bioquímico y lipídico basales

	G-I	G-II	G-III	G-IV
Creatinina (µmol/l)	153 ± 68	161 ± 61	164 ± 128	141 ± 58
Proteinuria (g/d)	1,25 ± 1,1	2,5 ± 2,3	1,96 ± 1,97	0,8 ± 0,03 b,c
Glucosa (mmol/l)	9,2 ± 2,8	9,8 ± 3,5	9,3 ± 2,8	6 ± 2,5
HbA1c %	7,3 ± 2,4	7,7 ± 2,1	8,1 ± 2,9	6,2 ± 2
Colest. Total (mmol/l)	7,4 ± 2,4	7,7 ± 2,1	6,6 ± 1,3	4,1 ± 0,8a,b,c
Triglicéridos (mmol/l)	3,03 ± 1,2	2,8 ± 1,4	1,8 ± 0,8 a	1,5 ± 0,8 a
Col-HDL »	1,2 ± 1,02	1,2 ± 0,5	1,1 ± 0,3	1,07 ± 0,3
Col-LDL »	3,2 ± 2,8	4,8 ± 1,7	4 ± 0,4	2,6 ± 1b,c
Apo A	1,7 ± 0,2	1,4 ± 0,4	1,5 ± 0,3	1,1 ± 0,7 a
Apo B »	1,3 ± 0,4	1,4 ± 0,4	1,2 ± 0,1	0,7 ± 0,2 b

HbA1c = Hb glicada. HDL = lipoproteínas alta densidad. LDL = lipoproteínas baja densidad. Apo A = apolipoproteína A. Apo B = apolipoproteína B. a, b, c = p < 0,05 comparación entre grupos.

**Tabla III.** Evolución de la función renal, proteinuria, glucemia y perfil lipídico un año después del tratamiento

	G-I	G-II	G-III	G-IV
Creatinina (µmol/l)	164 ± 72	176 ± 86	171 ± 131	209 ± 101
Proteinuria (g/d)	0,9 ± 0,9	2,4 ± 2,5	1,8 ± 1,9	1,3 ± 0,6
Glucosa (mmol/l)	10,2 ± 4,9	8,9 ± 3,4	8,8 ± 3,9	9,7 ± 3,4
HbA1c %	6,8 ± 2,4	7,6 ± 2,1	8 ± 0,2	6,9 ± 1,9
Colest t. (mmol/l)	6,3 ± 1,3*	6,2 ± 1,4*	6,4 ± 1,6	4,6 ± 0,7 a,b,c
Triglicéridos »	1,4 ± 0,6*	2,6 ± 1,8	2,7 ± 1,5	1,3 ± 0,5 c
Col-HDL »	1,3 ± 0,7	1,2 ± 0,5	0,9 ± 0,2	0,9 ± 0,2
Col-LDL »	4,1 ± 1,01	3,8 ± 0,9*	3,8 ± 0,8	3,3 ± 0,2
Apo A mg/dl	1,4 ± 0,4	1,3 ± 0,3	1,3 ± 0,2	1,1 ± 0,2
Apo B »	1,2 ± 0,4	1,3 ± 0,3	1,3 ± 0,2	1,03 ± 0,2

• p = < 0,05 respecto de valores basales.  
 • a,b,c = p < 0,05 comparación entre grupos.  
 • HbA1c = hemoglobina glicada. LDL = lipoproteínas baja densidad. Apo A = apolipoproteína A. Apo B = apolipoproteína B.

**Tabla IV.** Evolución de la función renal, proteinuria, glucemia y perfil lipídico tres años después del tratamiento

	G-I (n = 11)	G-II (n = 46)	G-III (n = 17)	G-IV (n = 13)
Creatinina (µmol/l)	190 ± 78	192 ± 86	176 ± 98	164 ± 56
Proteinuria (g/l)	1,1 ± 0,7	2,1 ± 1,9	1,6 ± 1,4	1,2 ± 0,5
Glucosa (mmol/l)	9,8 ± 4	8,6 ± 3,8	8,7 ± 3,5	7,2 ± 3
HbA1c %	6,8 ± 2,5	7,3 ± 3,2	7,9 ± 2,3	6,9 ± 2
Colest t. (mmol/l)	6 ± 1	5,8 ± 1,4	6,1 ± 1,7	4,5 ± 1,1
Triglicéridos »	1,9 ± 1	2,1 ± 0,8	2,2 ± 0,6	1,4 ± 0,6
Col HDL »	1,1 ± 0,8	1,1 ± 0,4	0,9 ± 0,6	1,1 ± 0,7
Col LDL »	3,7 ± 0,6	3,5 ± 0,6	3,8 ± 0,3	3,3 ± 0,2
Apo A (mg%)	1,4 ± 0,3	1,4 ± 0,2	1,5 ± 0,4	1,1 ± 0,2
Apo B »	1,2 ± 0,2	1,2 ± 0,2	1,1 ± 0,3	1,1 ± 0,2

**Tabla V.** Evolución de la función renal, proteinuria, glucemia y perfil lipídico cinco años después del tratamiento

	G-I (n = 8)	G-II (n = 38)	G-III (n = 15)	G-IV (n = 8)
Creatinina (umol/l)	238 ± 112	238 ± 192	180 ± 186	225 ± 224
Proteinuria (g/d)	0,7 ± 0,7	1,8 ± 3,7	0,9 ± 0,7	1,4 ± 1,3
Glucosa (mmol/l)	5,3 ± 4,4	7,6 ± 4,5	8,6 ± 2,9 a	9,3 ± 5,9 a
HbA1c %	6,7 ± 0,8	7,6 ± 1,1	7,9 ± 0,8	6,7 ± 1,6
Colest t. (mmol/l)	4,9 ± 0,4*	4,8 ± 0,7*	5,9 ± 1	5 ± 0,9
Triglicéridos »	2,6 ± 1,1	1,9 ± 0,7	1,8 ± 0,4	1,2 ± 0,2
Col HDL »	0,8 ± 0,7	1,1 ± 0,3	1,2 ± 0,1	1,2 ± 0,1
Col LDL »	3,1 ± 0,6	3 ± 0,8*	4,1 ± 0,8	2,9 ± 0,9 c
Apo A mg%	1,4 ± 0,2	1,4 ± 0,2	1,5 ± 0,2	1,4 ± 0,2
APO b »	1,2 ± 0,2	1,2 ± 0,2	1,2 ± 0,3	1,2 ± 0,2

\*p = 0,01 intra grupo.  
 a, b, c 0 p < 0,05 entre grupos.

**Tabla VI.** Eventos cardiovasculares y mortalidad

	G-I (n = 13)	G-II (n = 52)	G-III (n = 20)	G-IV (n = 13)
Isqu. coronaria	3 (23 %)	7 (13,5%)	2 (10%)	1 (7,7%)
Insuf. cardíaca	2 (15%)	4 (8%)	3 (10%)	1 (8%)
Acc. Vascular Cerebral	—	2 (4%)	2 (10%)	2 (15%)
Vascul. Perif.	1 (8%)	4 (8%)	3 (10%)	1 (8%)
Total even. CV	6 (46%)	17 (33%)	8 (40%)	4 (31%)
IRCT	—	9 (17%)	2 (10%)	1 (8%)
Muerte CV	3 (23%)	7 (14%)	4 (20%)	4 (31%) b
Muerte todas c	3 (23%)	10 (19%)	5 (25%)	4 (31%)

IRCT = insuficiencia renal crónica terminal.  
 b = p < 0,05 G-IV respecto a G-II.

cuanto a edad, sexo, edad al diagnóstico de la diabetes y de la nefropatía diabética (tabla I) y creatinina plasmática (tabla II). Proteinuria y colesterol



LDL estaban basalmente más elevados en el grupo tratado con estatinas. Los triglicéridos estaban más elevados en los pacientes que recibieron tratamiento con fibratos. Proteinuria, triglicéridos, col-LDL y apo B eran menores en el grupo de pacientes normocolesterolémicos. La glucemia y HbA1c eran más bajas en el grupo normocolesterolémico (tabla II).

Ambos tratamientos farmacológicos descendieron significativamente el colesterol total y LDL, si bien los fibratos fueron más eficaces para reducir la hipertrigliceridemia y las estatinas para disminuir el colesterol LDL (tablas III-IV).

Un paciente tratado con gemfibrocilo y con creatinina previa de 300  $\mu\text{mol/l}$ , presentó un episodio de rhabdomiolisis con fracaso renal agudo no oligúrico. La creatinina ascendió hasta 560  $\mu\text{mol/l}$ , alaninamino-transferasa a 230  $\mu\text{kat/l}$ , la aspartato-amino-transferasa a 280  $\mu\text{kat/l}$  y la creatinfosfoquinasa (CPK) a 300  $\mu\text{kat/l}$ . La situación revirtió al suspender el fármaco. Tanto los fibratos como las estatinas fueron bien tolerados en los 65 pacientes restantes.

Cuatro pacientes en el grupo I (31%), 31 (60%) en el grupo II y 3 (15%) en el grupo III tenían colesterol total basal  $> 7 \text{ mmol/l}$ . Comparando la creatinina plasmática a los 5 años de los pacientes con colesterol total basal  $> 7 \text{ mmol/l}$  ( $230 \pm 208 \mu\text{mol/l}$ ) con la creatinina a 5 años de aquéllos pacientes con colesterol total basal  $< 7 \text{ mmol/l}$  ( $239 \pm 173 \mu\text{mol/l}$  vs) no existieron diferencias estadísticamente significativas.

La diferencia en la incidencia de eventos cardiovascular no fue estadísticamente significativa entre los grupos (tabla VI). El número de pacientes en los que la nefropatía progresó hasta la IRCT queda reflejado en la tabla VI.

En el grupo II existían más pacientes con hipercolesterolemia severa (colesterol t.  $> 7 \text{ mmol/l}$ ) en el momento basal (61%) que en los otros dos grupos de pacientes hipercolesterolémicos. No obstante, si comparamos la creatinina plasmática a los 5 años de tratamiento, no encontramos diferencias significativas (tabla IV).

La mortalidad de causa cardiovascular fue superior en el grupo de pacientes normocolesterolémicos comparada con el grupo tratado con estatinas ( $p < 0,05$ ), no existiendo diferencia significativa al compararla con los otros dos grupos (tabla VI).

## DISCUSIÓN

En nuestro estudio hemos comprobado que los derivados del ácido fíbrico son bien tolerados por los pacientes diabéticos dislipémicos, siendo más eficaces sobre la hipertrigliceridemia que las estatinas, como ya es bien conocido. Pero existe riesgo

de rhabdomiolisis cuando la función renal está disminuida.

Por el contrario las estatinas son seguras y efectivas para reducir colesterol total y colesterol LDL, siendo menos eficaces en los casos de hipertrigliceridemia acentuada.

Cuando examinamos el número total de eventos cardiovasculares, los pacientes con hipertrigliceridemia más severa fueron los que sufrieron mayor número de episodios CV, aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa en comparación con los pacientes normocolesterolémicos. Sin embargo, cuando analizamos la mortalidad a cinco años, ésta fue significativamente mayor en el grupo de pacientes normocolesterolémicos, en comparación con el grupo de pacientes tratados con estatinas. Este hecho podría en parte ser debido a que las lipoproteínas son altamente aterogénicas en los pacientes diabéticos incluso con niveles normales de las mismas<sup>8</sup>.

La mortalidad cardiovascular es dos a tres veces más frecuente en los pacientes diabéticos que en la población no diabética<sup>9</sup>. El riesgo de enfermedad coronaria se multiplica por dos a cuatro veces en el diabético tipo 2<sup>17</sup>. El desarrollo de nefropatía diabética acelera el daño vascular, induciendo mayor morbilidad y mortalidad, tanto en el diabético tipo 1 como en el tipo 2<sup>8</sup>.

En el estudio MRFIT (Multiple Risk Factor Intervention Trial)<sup>18</sup> se comprobó un riesgo de eventos cardiovasculares multiplicado por dos a cuatro en los pacientes diabéticos.

Muchos autores han descrito que la hipertrigliceridemia es un factor independiente de riesgo de enfermedad coronaria. Uusutipa y cols.<sup>19</sup> demostraron que, además de la hipertrigliceridemia, la composición anómala de las lipoproteínas está relacionada con la mortalidad cardiovascular.

Laakso y cols.<sup>20</sup> han hallado correlación entre bajos niveles de HDL y mortalidad cardiovascular en 313 diabéticos tipo 2 seguidos durante un período de siete años. Lehto y cols.<sup>21</sup> han descrito que el descenso de colesterol HDL, juntamente con hipertrigliceridemia y mal control glucémico son factores de predicción de enfermedad coronaria en 1.059 diabéticos tipo 2.

El estudio 4 S, analizando 202 pacientes diabéticos ha revelado que el beneficio absoluto obtenido al descender farmacológicamente el colesterol total es mayor en los pacientes diabéticos que en los no diabéticos con enfermedad coronaria preexistente<sup>22</sup>.

En el estudio CARE (Cholesterol and Recurrent Events Study), el tratamiento con pravastatina redujo significativamente el riesgo de eventos vasculares recidivantes, siendo la reducción del riesgo similar

entre el subgrupo de pacientes diabéticos (n = 586) y no diabéticos<sup>23</sup>.

Por otra parte la dislipemia está directamente implicada en el desarrollo de lesiones renales en el animal experimental. Las lipoproteínas séricas alteradas estructuralmente, pueden lesionar el glomérulo. El daño renal se ha atribuido a la glucooxidación de las LDL modificadas, que incrementan el depósito de glucosaminoglicanos en las membranas basales glomerulares, incrementando la permeabilidad de dichas membranas.

El depósito de partículas LDL modificadas y oxidadas en el mesangio induce señales quemoatócticas para los macrófagos y estimula la proliferación de las células mesangiales. La captación de esas partículas por los receptores «scavengers» en los monocitos y los macrófagos produce depósitos grasos o células espumosas en el mesangio<sup>24</sup>.

Se ha identificado la dislipemia como un potencial factor de riesgo de disminución del filtrado glomerular<sup>25,26</sup> y de incremento de la mortalidad en diabéticos con nefropatía asociada. Hipertrigliceridemia y descenso del colesterol HDL se asocian con progresión más rápida de la microalbuminuria en diabéticos tipo 2 con mal control de la presión arterial. Hipertrigliceridemia e hipertensión arterial (HTA) pueden tener un efecto sinérgico en el declinar del FG. Mulec y cols.<sup>27</sup> encuentran deterioro de la función renal acelerado en diabéticos tipo 1 con colesterol total superior a 7 mmol/l con respecto al de aquéllos con colesterol total inferior a 7 mmol/l.

Algunos autores refieren que el tratamiento con inhibidores de la HMGCoA reductasa ha producido mejoría en el desarrollo de las lesiones renales, frenando el deterioro de la función renal, aunque los resultados son muy controvertidos<sup>28-38</sup>.

Dado el reconocido incremento del riesgo coronario en pacientes diabéticos, las recomendaciones de un tratamiento agresivo para reducir los niveles de colesterol LDL en pacientes con antecedente de cardiopatía isquémica no diabéticos, pueden hacerse extensivas a la población diabética. Por ello, el Programa Nacional de Educación para el Colesterol americano (NCEP)<sup>39</sup> recomienda que los niveles de colesterol LDL deben estar por debajo de 2,6 mmol/l (100 mg/dl) y que se inicie tratamiento farmacológico cuando el colesterol LDL sea superior a 3,4 mmol/l (135 mg/dl). El colesterol no HDL debe ser inferior a 4 mmol/l (160 mg/dl) en los pacientes diabéticos, siendo el colesterol total inferior a 5,5 mmol/l. En los pacientes sin antecedente de enfermedad coronaria, el tratamiento farmacológico se aconseja con cifras de colesterol total superior a 6,5 mmol/l (260 mg/dl)<sup>40</sup>.

En cuanto al beneficio potencial de tratar la hipertrigliceridemia, la Asociación Americana de Diabetes recomienda iniciar tratamiento farmacológico cuando los triglicéridos son superiores a 4,5 mmol/l (400 mg/dl). En presencia de antecedentes de enfermedad coronaria, debe tratarse la hipertrigliceridemia superior a 2,3 mmol/l (200 mg/dl) y también cuando aquélla sea superior a 1,7 mmol/l (150 mg/dl) si existe enfermedad vascular clínicamente evidente.

La presencia de nefropatía diabética conlleva alto riesgo cardiovascular debido a la microalbuminuria y, con mayor justificación aún, cuando la proteinuria está establecida. Por ello estos pacientes deben ser tratados siguiendo las recomendaciones de las guías de prevención secundaria<sup>8,40</sup>. El colesterol LDL superior a 3,4 mmol/l (135 mg/dl) debe reducirse a menos de 2,6 mmol/l (100 mg/dl) y los triglicéridos a menos 1,7 mmol/l (150 mg/dl). Las recomendaciones más recientes para el tratamiento de la dislipemia<sup>41</sup> y de la HTA<sup>42</sup> indican que estos pacientes deben ser tratados todo lo agresivamente que sea necesario, al igual que los pacientes con enfermedad coronaria preexistente<sup>17</sup>.

El manejo de la dislipemia del diabético no puede olvidar otras premisas fundamentales, como mantener un óptimo control de la glucemia, vigilando y procurando obtener una reducción del peso adecuada, juntamente con ejercicio físico moderado, una dieta equilibrada según las normas ya conocidas y añadiendo los fármacos necesarios para alcanzar los objetivos del tratamiento fijados en las guías y documentos de consenso.

Los derivados del ácido fíbrico mejoran la actividad de la lipoproteína lipasa (LPL) e inhiben la síntesis hepática de colesterol VLDL, reduciendo los niveles de triglicéridos y aumentando el colesterol HDL. Los fibratos no tienen efectos adversos sobre la glucemia y pueden contribuir a disminuir los niveles de fibrinógeno<sup>43</sup>. No obstante, dado que se excretan por el riñón, pueden acumularse en presencia de insuficiencia renal, con lo que se incrementa el riesgo de rabdomiolisis<sup>44</sup>, por lo que deben evitarse en presencia de insuficiencia renal moderada a severa.

Las estatinas son seguras y eficaces, incluso en presencia de insuficiencia renal, aunque su efectividad sobre la hipertrigliceridemia es menor<sup>43</sup>. Pueden tener algunos efectos secundarios —náuseas, vómitos, incremento en las transaminasas—, que ceden al suspender el tratamiento.

Deben combinarse las medidas descritas con el tratamiento con aspirina, betabloqueantes, IECA o ARA II<sup>44,45</sup>, tal como recomienda la ADA<sup>45</sup>.

En conclusión, los objetivos señalados en las guías

y documentos de consenso son difíciles de alcanzar y mucho más de mantener durante períodos prolongados de tiempo en el paciente diabético, sobre todo cuando se asocia nefropatía diabética, con proteinuria establecida.

Las conclusiones de la mesa redonda sobre Riesgo Cardiovascular y Nefropatía diabética en la Reunión de La Toja fueron que el tratamiento adecuado e intensivo de la dislipemia, probablemente contribuya a retrasar el desarrollo de la nefropatía en las fases iniciales de la misma, lo que no está suficientemente probado, por lo que serían necesarios estudios randomizados, con amplia muestra de número de pacientes. Pero hoy día no resultaría ético tratar con terapias hipolipemiantes frente a placebo a nuestros pacientes para obtener conclusiones en este sentido.

Por ello, independientemente del posible efecto sobre la evolución de la nefropatía, es necesaria una terapia hipolipemiente intensiva en estos pacientes, especialmente cuando existan antecedentes de cardiopatía isquémica u otros eventos cardiovasculares. Finalmente, es obligado adoptar medidas precoces, combinadas y multidisciplinarias para retrasar el desarrollo de la micro y macroangiopatía diabética y detectar la nefropatía lo más precozmente posible para evitar el desarrollo de aterosclerosis y la progresión de la nefro y vasculopatía o, lo que es lo mismo, reducir el riesgo cardio-vasculo-renal de los pacientes diabéticos.

## BIBLIOGRAFÍA

- Ibrahim HN, Hostetter TH: Diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 8: 487-493, 1997.
- (USRDS) United States Renal data System: Annual data report. *Am J Kidney Dis* 30 (Supl. 1): 10-20, 1997.
- Ritz E, Stefanski A: Diabetic nephropathy in type 2 diabetes. *Am J Kidney Dis* 27: 167-194, 1996.
- Attman PO, Samuelsson O, Alaupovic P: Diagnosis and classification of dyslipidaemia in renal disease. *Blood Purif* 14: 49-57, 1996.
- Attman PQ, Samuelsson O, Alaupovic P: Progression of renal failure: role of apolipoprotein B-containing lipoproteins. *Kidney Int* 63 (Supl.): 98-101, 1997.
- Ollbricht CJ: Pathophysiology and therapy of lipid metabolism disorders in kidney diseases. *Klin Wochenschr* 69: 455-462, 1991.
- Haffner SM, Lehto S, Rönnemaa T, Pyörälä K, Laakso M: Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in non diabetic subjects with and without prior myocardial infarction. *N Engl J Med* 339: 229-234, 1998.
- Zimmermann J, Wanner C, Quaschnig T: Lipid management in type 2 diabetes with nephropathy. En: Ritz E and Rychlík I: *Nephropathy in type 2 Diabetes*. Oxford Clinical Nephrology series. Oxford Univers. Press. Oxford 1999, pp. 137-157, 1993.
- Panzram G: Mortality and survival in type 2 (non-insulin dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 30: 123-131, 1987.
- Taskinen MR: Hormones, diabetes mellitus and lipoproteins. *Current Op in Lipidology* 2: 197-205, 1991.
- Joven J, Vilella E, Costa B, Turner PR, Richart C, Masana L: Concentrations of lipids and apolipoproteins in patients with clinically well-controlled insulin-dependent and non-insulin-dependent diabetes. *Clin Chem* 35: 813-816, 1989.
- Taskinen MR, Lahdenpera S, Syvanne M: New insights into lipid metabolism in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Ann Med* 28: 335-340, 1996.
- Betteridge DJ: Diabetic dyslipidaemia: treatment implications. *J Intern Med* 736 (Supl.): 47-52, 1994.
- Ginsberg H, Grundy SM: Verylow density lipoprotein metabolism in non-ketotic diabetes mellitus: effects of dietary restriction. *Diabetologia* 23: 421-425, 1982.
- Howard B: Diabetes and plasma lipoprotein in Native Americans. studies of the Pima Indians. *Diabetes Care* 16: 284-291, 1993.
- Betteridge D: Cholesterol is the major atherogenic lipid in NIDDM. *Diabetes Metab Rev* 13: 99-104, 1997.
- Haffner SM: Coronary heart disease in patients with diabetes. *N Engl J Med* 342: 1040-1042, 2000.
- Stamler J, Vaccaro O, Neaton J, Wentworth D, for the Multiple Risk Factor intervention Trial Research Group: Diabetes, other risk factors and 12-year cardiovascular mortality for men screened in the multiple risk factor intervention trial. *Diabetes Care* 16: 434-449, 1993.
- Uusutipa M, Niskanen LK, Siitonen O, Voutilainen E, Pyörälä K: Ten-year cardiovascular mortality in relation to risk factors and abnormalities in lipoprotein composition in type 2 (non-insulin-dependent) diabetic and non-diabetic subjects. *Diabetologia* 36: 1175-1184, 1993.
- Laakso M, Lehto S, Penttillä I, Pyörälä K: Lipids and lipoproteins predicting coronary heart disease mortality and morbidity in patients with non-insulin-dependent diabetes. *Circulation* 88: 1421-1430, 1993.
- Lehto S, Ronnemaa T, Haffner SM, Pyörälä K, Kallio V, Laakso M: Dyslipidemia and hyperglycemia predict coronary heart disease events in middle-age patients with NIDDM. *Diabetes* 48: 1354-1359, 1997.
- Pyörälä K, Pedersen TR, Kjekshus J, Faergeman O, Olsson A, Thorgeirsson G: Cholesterol lowering with simvastatin improves prognosis of diabetic patients with coronary heart disease. *Diabetes Care* 20: 614-620, 1997.
- Sacks FM, Pfeffer MA, Moye LA y cols.: The effect of pravastatin on coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. *N Engl J Med* 335: 1001-1009, 1996.
- Baynes JW: Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes* 40: 405-412, 1991.
- Kasiske BL, O'Donnell MP, Schmitz PG, Keane WF: The role of lipid abnormalities in the pathogenesis of chronic, progressive renal disease. *Advances in Nephrology. Nacker Hospital* 20: 109-125, 1991.
- Schmitz PG, Kasiske BL, O'Donnell MP, Keane WF: Lipids and progressive renal injury. *Seminars Nephrol* 9: 354-369, 1989.
- Mulec H, Johnson SA, Björk S: Relation between serum cholesterol and diabetic nephropathy. *Lancet* 335: 1537-1538, 1990.
- Jandeleit-Dahm K, Cao Z, Cox AJ, Kelly DJ, Gilbert RE, Cooper ME: Role of hyperlipidaemia in progressive renal disease: Focus on diabetic nephropathy. *Kidney Int* 56 (Supl. 71): S-31-S-36, 1999.
- Sasaki T, Kurata H, Nomura K, Utsunomiya K, Ikeda I: Amelioration of proteinuria with pravastatin in hypercholesterolemic patients with diabetes mellitus. *Japan J Med* 29: 156-

A. MARTÍNEZ-CASTELAO y cols.

- 163, 1990.
30. Shoji T, Nishizawa Y, Toyokawa A, Kawagishi T, Okuno I, Morii H: Decreased albuminuria by pravastatin in hyperlipidaemic diabetics. *Nephron* 59: 664-665, 1991.
  31. Biesenbach G, Zazgornich J: Lovastatin in the treatment of hypercholesterolemia in nephrotic syndrome due to diabetic nephropathy stage IV-V. *Clin Nephrol* 37: 274-279, 1992.
  32. Hommel E, Andersen P, Gall MA y cols.: Plasma lipoproteins and renal function during simvastatin treatment in diabetic nephropathy. *Diabetología* 35: 447-451, 1992.
  33. Nielsen S, Schmitz O, Moller N y cols.: Renal function and insulin sensitivity during simvastatin treatment in type 2 (non-insulin dependent) diabetic patients with microalbuminuria. *Diabetología* 36: 1079-1086, 1993.
  34. Castela AM, González MT, Castiñeiras MJ, Roca M, Alsina J: Inhibidores de la HMGCoA reductasa en la hiperlipidemia de la diabetes mellitus del adulto (DMNID) con nefropatía diabética asociada. *Nefrología* 13 (Supl. 5): 99-102, 1993.
  35. Lam KS, Cheng IK, Janus ED, Pang RW: Cholesterol lowering therapy may retard the progression of diabetic nephropathy. *Diabetología* 38: 604-609, 1995.
  36. Zhang A, Vertommen J, van Gaal L, De Leeuw I: effects of pravastatin on lipid levels, *in vitro* oxidizability of non-HDL lipoproteins and microalbuminuria in IDDM patients. *Diabetes Res Clin Pract* 29: 189-194, 1992.
  37. Tonolo G, Ciccarese M, Brizzi P y cols.: Reduction of albumin excretion in normotensive microalbuminuric type 2 diabetic patients during long-term simvastatin treatment. *Diabetes Care* 20: 1891-1895, 1997.
  38. Barnes DJ, Stephens EG, Mattock MB y cols.: The effect of simvastatin on the progression of renal disease in IDMM patients with elevated urinary albumin excretion. Proceedings of the European Diabetic Nephropathy Study group 11<sup>th</sup> Meeting, 1998.
  39. NCEP. Summary of the Second Report of the National Cholesterol Educational Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult treatment panel II). *JAMA* 269: 3015-3023, 1993.
  40. Consensus Statement. Detection and management of lipid disorders in diabetes. *Diabetes Care* 16: 106-112, 1993.
  41. American Diabetes Association: Management of dyslipidaemia in adults with diabetes. *Diabetes Care* 23 (Supl. 1): 57-60, 2000.
  42. The Sixth report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure. *Arch Intern ed* 2413-2446, 1997.
  43. Durrington P: Statins and fibrates in the management of diabetic dyslipidaemia. *Diabet Med* 14: 513-516, 1997.
  44. De Álava E, Sola JJ, Lozano MD, Pardo-Mindán FJ: Rhabdomyolysis and acute renal failure in heart transplant recipient treated with hypolipemians. *Nephron* 66: 242-243, 1994.
  45. American Diabetes Association: Standards of medical care for patients with diabetes mellitus. *Diabetes Care* 23 (Supl. 1): 32-42, 2000.

**6...2. *Lipoperoxidation and hemodialysis***



## Lipoperoxidation and hemodialysis

Rosa Ramos\*, Alberto Martínez-Castelao

*Nephrology Department, Ciutat Sanitària i Universitària de Bellvitge, C/Feixa Llarga s/n, L'Hospitalet del Llobregat, 08907 Barcelona, Spain*

Received 19 June 2007; accepted 16 May 2008

### Abstract

It has been suggested that hemodialysis patients may be under increased oxidative stress and may therefore benefit from the long-term use of antioxidants (particularly for the reduction of the risk of heart disease). The aim of this study was, first, to evaluate the effect of hemodialysis by itself on lipid and lipoprotein oxidation profiles and, second, to analyze the effect of vitamin C supplementation in patients with end-stage renal disease starting hemodialysis. Forty-one patients with end-stage renal disease were enrolled and randomized to receive 1000 mg/d vitamin C or matching placebo before starting hemodialysis. We measured lipid profile and the susceptibility of low-density lipoprotein (LDL) and high-density lipoprotein (HDL) to oxidation using copper ions at the moment of inclusion and after 1 year. All lipoperoxidation parameters were included. Hemodialysis by itself improved the lipid profile, lowering total cholesterol ( $176.4 \pm 48.4$  to  $154.2 \pm 28.8$  mg/dL,  $P < .01$ ), LDL cholesterol ( $94.1 \pm 39.6$  to  $76.1 \pm 26.6$  mg/dL LDL,  $P < .03$ ), and phospholipids levels ( $196.5 \pm 36.7$  to  $182.9 \pm 36.1$  mg/dL,  $P < .05$ ) in all patients on maintenance hemodialysis. The HDL cholesterol was also decreased ( $49.4 \pm 19.8$  to  $43.4 \pm 24.1$  mg/dL HDL,  $P < .03$ ). No significant differences were detected between patients receiving vitamin C and those receiving placebo. Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) and lipoperoxides increased in patients after a year of hemodialysis, but the difference was lower in those administered vitamin C for a year—TBARS LDL (in nanograms per gram LDL):  $0.25 \pm 0.20$  to  $0.38 \pm 0.2$  in vitamin C-treated subjects and  $0.28 \pm 0.17$  to  $0.46 \pm 0.21$  in those treated with placebo ( $P < .007$ ); TBARS HDL (in nanograms per gram HDL):  $0.22 \pm 0.12$  to  $0.34 \pm 0.30$  in patients receiving vitamin C and  $0.20 \pm 0.18$  to  $0.28 \pm 0.19$  in those receiving placebo ( $P = .071$ ). Hemodialysis by itself seems to improve the lipid profile in patients with a previous prooxidative state such as uremia. Although our results failed to demonstrate significant differences between vitamin C-treated and untreated patients, and despite the small number of patients, the trend toward a decrease in oxidation products due to vitamin C supplementation may be beneficial for oxidation parameters. This area remains controversial and under active investigation. Further research is necessary before a firm conclusion can be reached.

© 2008 Elsevier Inc. All rights reserved.

### 1. Introduction

*Oxidative stress* defines an imbalance between the formation of reactive oxygen species and antioxidative defense mechanisms. There is mounting evidence indicating that uremia in general is associated with enhanced oxidative stress and a high incidence of premature atherosclerosis [1]. Uremia-associated dyslipidemia, hypertension, and the cause of renal disease, for example, diabetes, have also been implicated as underlying mechanisms. The relative risk of death from myocardial infarction has been reported to be at least 5 times greater in patients receiving some form of renal replacement therapy than in the general population [2]. It has

been suggested that renal replacement therapy in uremic patients on hemodialysis or peritoneal dialysis may contribute to oxidative stress and reduce antioxidant levels in these patients [3–5]. Loss or deficiency of antioxidant activity (eg, vitamin E deficiency) may also contribute to enhanced oxidative stress in uremia. Boaz et al [6] reported reduced cardiovascular end points and myocardial infarction in hemodialysis patients with prevalent cardiovascular disease supplemented with 800 IU/d vitamin E. In hemodialysis patients, reduced plasma total vitamin C concentration has been demonstrated [4,7]. This deficiency is probably due to a dietary restriction of fresh fruit and vegetables to avoid hyperkalemia, and the loss of the vitamin during dialysis sessions [7–10]. Some authors have identified vitamin C as a predictor of cardiovascular event rate in dialysis patients [11]. However, the results of studies on the use of antioxidant supplements are inconsistent.

\* Corresponding author.

E-mail address: [30965rrs@comb.es](mailto:30965rrs@comb.es) (R. Ramos).

Schulz et al [11] failed to detect any acute reduction in lipoprotein antioxidative defense by activated cells during hemodialysis in a study of 12 patients. These authors did not find a link between cuprophane membranes and a mechanism that might contribute to accelerated atherosclerosis in hemodialysis. However, the significance of enhanced oxidative stress in renal patients has been further elucidated in clinical end point studies. Unfortunately, only a few antioxidant intervention studies with clinical end points have been published.

The aim of our study was to evaluate the effect of hemodialysis by itself on lipid and lipoprotein oxidation profiles and, secondly, to assess whether the antioxidative effect of vitamin C may help prevent atherosclerosis in hemodialysis patients.

## 2. Methods

### 2.1. Patients

We studied several parameters of lipid antioxidative protection in patients with end-stage renal disease at baseline (before starting chronic hemodialysis) and 1 year after, comparing the results of oral daily treatment with 1 g of vitamin C vs placebo. Some nutritional (serum albumin) and inflammatory (C-reactive protein [CRP]) parameters were recorded.

Forty-one consecutive patients who started hemodialysis in our hospital, in the same year, were enrolled in the study after giving informed consent. Only 34 patients ended the study (11 women and 23 men; mean age,  $57 \pm 17$  years). Fourteen were smoker patients (41%), and 20 were nonsmoker patients (59%). The mean body mass index was  $24.5 \pm 4$ . Two patients died as a result of cardiovascular complications, 3 received a renal transplantation, and 2 patients were transferred to another hospital and were lost to follow-up.

Twenty-eight patients (82%) were on antihypertensive drug treatment ( $\beta$ -blockers,  $n = 6$ ; calcium channel blockers,  $n = 10$ ; angiotensin-converting enzyme inhibitors,  $n = 5$ ; others,  $n = 7$ ).

Diabetic subjects, patients with malignant tumors or acute infection illnesses, and those receiving immunosuppressive therapy or hypolipidemic treatment were excluded from the study.

### 2.2. Methods

Venous blood samples were obtained from 34 patients during the last outpatient-clinic visit before the first hemodialysis session. Patients were randomized to receive 1 g/d of vitamin C or matching placebo. Patients were followed for a median of 365 days; during this time, hemodialysis was performed 3 times weekly with hemophan or cellulose-acetate membranes. New venous blood samples were obtained at the end of this period before the middle-week dialysis session.

Whole blood (10 mL) was collected in standard agar tubes without anticoagulant (Vacutainer; Becton Dickinson, Grenoble, France) and centrifuged (3000g, 4°C, 10 minutes). After centrifugation, the plasma was stored for biochemistry, hematology, and hemostasis analysis using a HITACHI 747 and Boehringer Mannheim reagents (Mannheim, Germany). Plasma apolipoprotein (apo) A and B were determined by immunoturbidimetry (TinaQuant, Boehringer Mannheim). Lipoprotein (a), using immunoprecipitation (SPQ TM Test System, Minnesota, USA), and lipoperoxides (LPO) were measured by spectrophotometric technique at 365 nm of absorbance. C-reactive protein concentrations were measured with a high-sensitivity assay (Denka Seiken, Tokyo, Japan, high-sensitivity CRP assay). Albumin was determined by the bromocresol purple dye-binding method.

Plasma thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) were also measured. We used the fluorometric TBARS method by absorption of 548 nm emission. This widely used parameter of lipid peroxidation is operationally defined as the amount of chromogenic condensation products formed in plasma after the addition of thiobarbituric acid against a titration curve constructed with malondialdehyde standard.

### 2.3. Low- and high-density lipoprotein and isolation

Low- and high-density lipoproteins (HDL and LDL) were obtained through preparative lipoprotein ultracentrifugation in a Beckman SW 41 rotor at 40 000 rpm and 10°C for 24 hours (Lipid Research Clinics–Quantitop, Immuno, Vienna, Austria).

### 2.4. Lipoprotein composition

Protein, total cholesterol, free cholesterol, triglyceride, and phospholipid contents of crude LDL and HDL were measured in the samples by HITACHI 747 and Boehringer Mannheim reagents. The TBARS and LPO were also determined for each lipoprotein fraction.

### 2.5. Lipoprotein oxidation

Isolated LDL and HDL were diluted with phosphate-buffered saline to a concentration of 50  $\mu$ g of protein per milliliter. Copper (II) chloride was added to give a final concentration of 2  $\mu$ mol/L  $\text{Cu}^{2+}$  ions and incubated at 37°C. Conjugated diene (CD) production was monitored by continually recording absorbance at 234 nm in a spectrophotometer. The output from the spectrophotometer was used to compute the lag time to the onset of oxidation.

### 2.6. LDL and HDL vitamin E content

The LDL and HDL samples were analyzed for vitamin E content following the Tsen methodology using  $\alpha$ -tocopherol as standard and at 534nm of absorbance.

## 3. Statistics

Results are expressed as means  $\pm$  standard deviation (SD). A paired Student-Fisher *t* test was used to estimate

Table 1  
Lipidic profile at baseline and 1 year after dialysis

	Group A (vitamin C)		Group B (placebo)		<i>P</i> (differences <i>a</i> – <i>b</i> )
	Before HD <sup>a</sup>	After 1 y HD <sup>b</sup>	Before HD <sup>a</sup>	After 1 y HD <sup>b</sup>	
Total cholesterol (mg/dL)	183.3 ± 57.3	164.8 ± 30.6	170.2 ± 39.1	144.8 ± 24.2	.70
Triglycerides (mg/dL)	132.6 ± 86.5	151.3 ± 171	144.7 ± 60.8	114.7 ± 46	.21
Phospholipids (mg/dL)	198.3 ± 44.7	188.3 ± 44.5	195 ± 29.2	178.1 ± 27	.61
LDL cholesterol (mg/dL)	100.3 ± 50.5	79.4 ± 30.9	88.6 ± 27	73.1 ± 22.6	.75
HDL cholesterol (mg/dL)	50.2 ± 23.1	47.2 ± 31.3	48.7 ± 16.8	40 ± 15.6	.62
LPO (mg/dL)	20.9 ± 15.7	85.8 ± 96.1	26.6 ± 30.9	47.3 ± 26.7	.071
Lp (a) (mg/dL)	48.4 ± 49.2	52.9 ± 62.5	38.3 ± 52	31.4 ± 45.6	.38

HD indicates hemodialysis; Lp (a), lipoprotein (a).

differences between the 2 groups (group A = treated with vitamin C, group B = not treated with vitamin C) before starting hemodialysis therapy and 1 year later. *P* values < .05 were considered as significant. A descriptive analysis was performed with the SPSS program (SPSS, Chicago, IL).

#### 4. Results

Lipid profiles improved after a year of hemodialysis therapy (1 year after inclusion) in both groups (vitamin C–treated and nontreated patients)—total cholesterol: 176.4 ± 48.4 to 154.2 ± 28.8 mg/dL (*P* < .01); LDL cholesterol: 94.1 ± 39.6 to 76.1 ± 26.6 mg/dL (*P* < .03); and phospholipids levels: 196.5 ± 36.7 to 182.9 ± 36.1 mg/dL (*P* < .05). The HDL cholesterol was also decreased—49.4 ± 19.8 to 43.4 ± 24.1 mg/dL (*P* < .03). Serum lipoprotein profiles of both groups are shown in Table 1. There were no differences in lipid profile between the groups after a year of starting hemodialysis.

No differences in baseline lipoprotein (a) were found between groups A and B, but a nonsignificant decrease was observed in both groups 1 year after starting hemodialysis.

The LDL and HDL lag phases, initial absorbances, and CDs were quite similar in treated and untreated patients (Table 2).

The TBARS levels were high 1 year after hemodialysis treatment in both groups, but the increase was smaller in the vitamin C group—TBARS LDL (in nanograms per gram

LDL): 0.25 ± 0.20 to 0.38 ± 0.2 in vitamin C group and 0.28 ± 0.17 to 0.46 ± 0.21 in the placebo group (*P* < .007); TBARS HDL (in nanograms per gram HDL): 0.22 ± 0.12 to 0.34 ± 0.30 in the vitamin C group and 0.20 ± 0.18 to 0.28 ± 0.19 in the placebo group (*P* = .071) (Table 3).

A year after starting hemodialysis, the levels of vitamin E had fallen considerably in patients treated with the antioxidant (Table 4).

As regards albumin and CRP levels, there were no differences between the groups either at baseline or after 1 year of hemodialysis treatment (Table 5).

No differences in baseline hemoglobin, hematocrit, ferritin, and erythropoietin dose were found between groups A and B; but a nonsignificant increase was observed in both groups 1 year after starting hemodialysis in hemoglobin (from 9.3 ± 0.5 to 10.2 ± 0.3g/dL, *P* = .09), hematocrit (29.8% ± 1.2% to 33% ± 0.9%, *P* = .07), and ferritin levels (278 ± 68 to 350 ± 29, *P* = .08). We also observed a nonsignificant decrease in erythropoietin dose (277 ± 61 to 229 ± 76 U/[kg wk], *P* = .09).

#### 5. Discussion

Considering the description of the “elephant in uremia,” Himmelfarb et al [12] propose oxidative stress as a unifying concept of cardiovascular disease in this condition.

Table 2  
Lag phase and CD evolution

	Group A (vitamin C)		Group B (placebo)		<i>P</i> (differences <i>a</i> – <i>b</i> )
	Before HD <sup>a</sup>	After 1 y HD <sup>b</sup>	Before HD <sup>a</sup>	After 1 y HD <sup>b</sup>	
Lag time/LDL	42 ± 23	46 ± 17	37 ± 20	41 ± 14	.79
Lag time/HDL	27 ± 35	17 ± 7	20 ± 14	18 ± 13	.51
Tmax/LDL	86 ± 29	93 ± 27	82 ± 29	86 ± 24	.88
Tmax/HDL	63 ± 45	59 ± 12	68 ± 21	66 ± 24	.98
CD initial/LDL	49 ± 18	48 ± 16	46 ± 22	49 ± 15	.70
CD initial/HDL	64 ± 42	52 ± 37	46 ± 39	51 ± 24	.27
CD final/LDL	108 ± 25	107 ± 16	115 ± 41	114 ± 15	.92
CD final/HDL	110 ± 43	97 ± 13	124 ± 46	105 ± 13	.83
Rate propagation/LDL	2.07 ± 0.7	1.75 ± 0.5	2.2 ± 1.1	1.87 ± 0.6	.80
Rate propagation/HDL	1.4 ± 0.7	1.35 ± 0.5	1.8 ± 0.96	1.46 ± 0.7	.042

Conjugated dienes in micromoles per gram protein; lag time and Tmax (time needed to reach maximal absorbance) in minutes; rate propagation in micromoles per CD per minute.



Table 3  
The TBARS and fluorescent compounds levels

	n	Group A (vitamin C)		Group B (placebo)		P (differences a – b)
		Before HD <sup>a</sup>	After 1 y HD <sup>b</sup>	Before HD <sup>a</sup>	After 1 y HD <sup>b</sup>	
TBARS LDL (ng/g LDL)	32	0.25 ± 0.20	0.38 ± 0.2	0.28 ± 0.17	0.46 ± 0.21	.007
TBARS HDL (ng/g HDL)	30	0.22 ± 0.12	0.34 ± 0.30	0.20 ± 0.18	0.28 ± 0.19	.071
CF LDL (ng/g LDL)	34	8 ± 4.5	22.3 ± 14.6	11.7 ± 10	18 ± 9.9	.001
CF HDL (ng/g HDL)	30	5.1 ± 3.4	13.2 ± 7.4	6.6 ± 6	11.3 ± 9.5	.001

CF indicates fluorescent compounds.

Oxidative stress is frequently considered in terms of “total quantity of oxidized products” compared with “total quantity of antioxidants.” As Wratten et al [13] report, this commonly leads to either an underestimation or an overestimation of its physiologic importance.

Several authors [14,15] have reported an intensification of lipid peroxidation in patients with chronic renal failure treated with maintenance hemodialysis and suggest that hemodialysis by itself can accelerate atherosclerosis by increasing lipid peroxidation. In contrast, our findings showed a significant decrease in total cholesterol, LDL cholesterol, and phospholipids in patients on maintenance hemodialysis, despite the absence of malnutrition or inflammation shown by the lack of any modification of albumin or CRP (Table 5). This suggests that the lipoprotein profile is not substantially modified by hemodialysis treatment and in fact may even improve. Similar results have been proposed in other clinical trials [16,17] that conclude that dialysis may improve the proatherogenic milieu of uremia. As Okubo et al [18] reported, we have found HDL cholesterol level to be decreased. However, non-HDL cholesterol serum was the marker considered as a significant and independent predictor of cardiovascular mortality in hemodialysis patients [19]. Because of it, we should bear in mind the existence of other processes related to dialysis therapy, such as the prolonged use of catheters for vascular access and the use of bioincompatible membranes that may contribute to a proinflammatory and prooxidative state [20].

Several studies have suggested that the oxidative modification of LDL might explain the accelerated atherosclerosis in hemodialysis patients in the absence of major increases in native LDL. One might therefore expect lag times to be shorter in these patients [21]. In our patients, we did not observe a reduction in LDL or HDL lag time after 12 months on maintenance dialysis. Nor did we see differences in any parameters of copper-induced lipoprotein

oxidation between patients treated with the antioxidant and those who received placebo.

As regards total TBARS, markers of oxidative stress, some authors have found high levels of lipoperoxidation product in dialyzed patients and have therefore assumed that an increase in LPO also occurred [22-25]. In agreement with these reports, we found an increase in TBARS and LPO 12 months after hemodialysis therapy in all of our patients, although the differences were not significant.

During hemodialysis session, the concentration of water-soluble antioxidants like vitamin C is very low [26]. Ascorbate is not present in lipoproteins; therefore, the major antioxidants protecting LDL against oxidation are lipid soluble, such as  $\alpha$ -tocopherol [27]. Ascorbic acid can recycle  $\alpha$ -tocopherol from the tocopheroxyl free radical, thereby permitting vitamin E to function again as a free radical chain-breaking antioxidant. These 2 antioxidants work together to scavenge antioxidants. Hemodialysis patients, in addition, have a net decrease of water-soluble antioxidants during the dialysis session because of diffuse loss during hemodialysis. Therefore, it might be expected that a supplementation of this water-soluble vitamin would improve lipoperoxidation parameters. Although vitamin C might be carefully evaluated [28], some reports have detected a decrease in plasma TBARS levels using vitamin C supplementation on diet compared with baseline controls [26,29]. Interestingly, in our study, TBARS levels were not higher 1 year after hemodialysis in our vitamin C-treated patients compared with the patients of placebo group; but these results did not achieve statistical significance. This finding could be probably related to the vitamin C supplementation, although it is difficult to know because of the lack of vitamin C levels in our study.

Table 4  
Vitamin E levels

	Before HD		After 1 y HD	
	Group A	Group B	Group A	Group B
Vitamin E ( $\mu$ mol/g LDL)	1.82	0.98	1.05	2.96
Vitamin E ( $\mu$ mol/g HDL)	1.10	1.59	0.43	1.60

Table 5  
Nutritional and inflammation parameters

	Group A (vitamin C)		Group B (placebo)		P (diff a – b)
	Before HD <sup>a</sup>	1 y after HD <sup>b</sup>	Before HD <sup>a</sup>	1 y after HD <sup>b</sup>	
Serum albumin (g/L)	39 ± 4	40 ± 4	38 ± 3	40 ± 3	.81
CRP (mg/L)	9.1 ± 11	10.2 ± 12	8.9 ± 10	9 ± 11	.85

diff = differences.

It is well known that vitamin E is the main lipid phase antioxidant [30]. This suggests that a high LDL vitamin E content could result in increased resistance to oxidation. Our results showed that the lipoprotein–vitamin E content was higher 12 months after hemodialysis only in the patients who were not treated with vitamin C, although the differences between lipoperoxidation parameters were not significant. This finding contrasts with other studies in which vitamin C supplementation resulted in a significant increase in  $\alpha$ -tocopherol [26].

The poor results for LDL oxidation might indicate that during the aqueous-removal process of hemodialysis, the supplementation with a hydrophilic substance like vitamin C does not confer benefit probably because of losses. In this case, the addition of liposoluble antioxidants like vitamin E could probably increase the level of antioxidant to raise lipoprotein resistance to oxidation [6].

Some reports have demonstrated a beneficial effect of vitamin C on indices of anemia [31]. Our results did not show any differences between groups, probably because of the small number of patients. The nonsignificant improvement in the anemia parameters after a year of starting hemodialysis may be attributed to a better management of anemia compared with predialysis time.

Despite the most current data supporting the conclusion that long-term, high-dose use of vitamin C therapy is safe for dialysis patients, controlled studies of the impact of vitamin C supplements on the occurrence of possible adverse effects, especially the risk of oxalosis, are needed.

In conclusion, hemodialysis by itself seems to improve lipid profile in patients with a previous prooxidative state such as uremia. Although our results failed to demonstrate significant differences in the oxidative state, the tendency to decrease oxidation products (like TBARS) by supplementation of vitamin C may have a small beneficial effect in relation to oxidation parameters. When patients are on maintenance hemodialysis, the administration of lipophilic antioxidant substances is probably advisable. “In vivo,” many unresolved questions remain concerning the efficacy of antioxidant vitamin supplementation in the prevention of oxidative damage. This area remains controversial, and additional research is necessary in this area before a firm conclusion can be reached.

## References

- [1] Loughrey CM, Young I, McEneny J, McDowell FW, McMaster C, McNamee P, et al. Oxidation of low-density lipoprotein in patients on regular haemodialysis. *Atherosclerosis* 1994;110:185-93.
- [2] Raine AEG, MacMahon S, Selwood NH, Wing AJ, Brunner FP. Mortality from myocardial infarction in patients on renal replacement therapy. *Nephrol Dial Transplant* 1991;6:902.
- [3] Galli F, Canestrari F, Bellomo G. Pathophysiology of the oxidative stress and its implication in uremia and dialysis. *Contrib Nephrol* 1999;127:1-31.
- [4] Descombes E, Hanck A, Fellay G. Water soluble vitamins in chronic hemodialysis patients and need for supplementation. *Kidney Int* 1993;43:1319-28.
- [5] Cristol JP, Bosc J, Badiou S, Leblanc M, Lorrho R, Descomps B, et al. Erythropoietin and oxidative stress in haemodialysis: beneficial effects of vitamin E supplementation. *Nephrol Dial Transplant* 1997;12:2312-7.
- [6] Boaz M, Smetana S, Weinstein T, et al. Secondary prevention with antioxidants of cardiovascular disease in endstage renal disease (SPACE): randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2000;356:1213-8.
- [7] Deicher R, Hörl W. Vitamin C in chronic kidney disease and hemodialysis patients. *Kidney Blood Press Res* 2003;26:100-6.
- [8] Sullivan JF, Eisenstein A. Ascorbic acid depletion in patients undergoing chronic hemodialysis. *Am J Clin Nutr* 1970;23:1339-46.
- [9] Pönka A, Kuhlback B. Serum ascorbic acid in patients undergoing chronic hemodialysis. *Acta Med Scand* 1983;213:305-7.
- [10] Fumeron C, Nguyen-Khoa T, Satiel C, Kebede M, Buisson C, Drüeke TB, et al. Effects of oral vitamin C supplementation on oxidative stress and inflammation status in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2005;20:1874-9.
- [11] Shulz TH, Schiff H, Scheithe R, Hrboticky N, Lorenz R. Preserved antioxidative defence of lipoproteins in renal failure and during hemodialysis. *Am J Kidney Dis* 1995;XXV:564-71.
- [12] Himmelfarb J, Stenvinkel P, Alp Ikizler T, Hakim RM. The elephant in uremia: oxidant stress as a unifying concept of cardiovascular disease in uremia. *Kidney Int* 2002;62:1524-38.
- [13] Wratten ML, Tetta C, Ursini F, Sevanian A. Oxidant stress in hemodialysis: prevention and treatment strategies. *Kidney Int* 2000;58:s126-32.
- [14] Toborek M, Wasik T, Drózd M, Klin M, Magner-Wróbel K, Kopieczna-Grzebieinak E. Effect of hemodialysis on lipid peroxidation and antioxidant system in patients with chronic renal failure. *Metabolism* 1992;41:1229-32.
- [15] Hugue V, Kandoussi M, Parra HJ, Dracon M, Fruchart JC, Tacquet A, Cachera C. Alteration of the lipid and apolipoprotein contents of lipoprotein (a) in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1996;11:825-9.
- [16] Attman PO, Samuelsson O, Alaupovic P. Lipoprotein metabolism and renal failure. *Am J Kidney Dis* 1993;21:573-91.
- [17] Ramos R, Gómez-Gerique N, Martínez-Castelao A. Lipoprotein oxidation profile in end stage renal disease patients. Role of vitamin C supplementation. *Nefrologia* 2005;XXV:178-84.
- [18] Okubo K, Ikewaki K, Sakai S, et al. Abnormal HDL apolipoprotein A-I and A-II kinetics in hemodialysis patients: a stable isotope study. *J Am Soc Nephrol* 2004;15:1008-15.
- [19] Nishizawa Y, Shoji T, Kakiya R, Tsujimoto Y, Tabata T, Ishimura E, et al. Non-high-density lipoprotein cholesterol (non-HDL-C) as a predictor of cardiovascular mortality in patients with end-stage renal disease. *Kidney Int Suppl* 2003;63:2345-6.
- [20] Cristol JP, Canaud B, Rabesandratana H, Gaillard I, Serre A, Mion C. Enhancement of reactive oxygen species production and cell surface markers expression during hemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 1994;9:389-94.
- [21] Peuchant E, Carbonneau M, Dubourg L, Thomas MJ, Perromat A, Vallot C, et al. Lipoperoxidation in plasma and red blood cells of patients undergoing haemodialysis: vitamin A, E, and iron status. *Free Rad Biol Med* 1994;16:339.
- [22] Maher ER, Wickens D, Griffin JF, Kyle P, Curtis JR. Increased free-radical activity during haemodialysis? *Nephrol Dial Transplant* 1987;2:169-71.
- [23] Fillit H, Elion E, Sullivan J, Sherman R, Zabriskie JB. Thiobarbituric acid reactive material in uremic blood. *Nephron* 1981;29:40-3.
- [24] Dasgupta A, Hussain S, Ahmad S. Increased lipid peroxidation in patients on maintenance hemodialysis. *Nephron* 1992;60:56-9.
- [25] Richard M, Arnaud J, Jurkovicz C, et al. Trace elements and lipid peroxidation abnormalities in patients with chronic renal failure. *Nephron* 1991;57:10-5.
- [26] Wen Y, Cooke T, Feely J. The effect of pharmacological supplementation with vitamin C on low-density lipoprotein oxidation. *Br J Clin Pharmacol* 1997;44:94-7.

- [27] Esterbauer H, Gebicki J, Puhl H, Jurgens G. The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification. *Free Rad Biol Med* 1992;13:341-90.
- [28] Halliwell B. Vitamin C: antioxidant or pro-oxidant in vivo? *Free Rad Res* 1996;25:439-54.
- [29] Naidoo D, Lux O. The effect of vitamin C and E supplementation on lipid and urate oxidation products in plasma. *Nutr Res* 1998;18:953-61.
- [30] Hodis HN, Mack W, LaBree L, et al. Alpha-tocopherol supplementation in healthy individuals reduces low-density lipoprotein oxidation but not atherosclerosis: the Vitamin E Atherosclerosis Prevention Study (VEAPS). *Circulation* 2002;106:1453-9.
- [31] Keven K, Kutlay S, Nergizoglu G, Erturk S. Randomized, crossover study of the effect of vitamin C on EPO response in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2003;41:1233-9.

**6...3. Efecto de ciclosporina y tacrólimus sobre la oxidación de las lipoproteínas después del trasplante renal**



# Efecto de ciclosporina y tacrólimus sobre la oxidación de las lipoproteínas después del trasplante renal

A. Martínez Castelao, R. Ramos, D. Serón, S. Gil-Vernet, C. Fiol\*, N. Gómez-Gerique\*, M. T. Yzaguirre, I. Hurtado\*, I. Sabeté\*\*, J. Alsina y J. M. Grinyó

\*Servicio de Nefrología. Unitat Recerca Experimental. \*\*Servicio de Bioquímica. Hospital Príncipes de España, CSUB. \*\*\*Hospitalet de Llobregat. Departament de Medicina. Universitat de Barcelona.

## RESUMEN

La ciclosporina es un inmunosupresor capaz de inducir dislipemia después del trasplante renal. La oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) constituye un factor aterogénico importante que puede estar presente en los trasplantados renales. Tacrólimus parece mostrar un perfil aparentemente menos aterogénico que la ciclosporina.

Hemos estudiado el perfil lipídico y la oxidación de las LDL en 20 trasplantados renales, 12 hombres y 8 mujeres, con edad media de  $45 \pm 10$  años, que fueron convertidos de CsA a tacrólimus por diversos efectos adversos de CsA. Se estudió la oxidación de las LDL antes y seis meses después de la conversión, mediante adición de sulfato de cobre. Después de la conversión, la PA sistólica descendió de  $154 \pm 21$  a  $133 \pm 21$  mmHg ( $p = 0,008$ ), la PA diastólica de  $97 \pm 13$  a  $77 \pm 15$  mmHg ( $p = 0,016$ ), el colesterol total de  $6,08 \pm 0,9$  a  $5,68 \pm 1,1$  ( $p = 0,02$ ), el col-LDL de  $3,29 \pm 1,10$  a  $2,96 \pm 0,3$  ( $p = 0,04$ ) y las apolipoproteínas B de  $1,42 \pm 0,28$  a  $1,15 \pm 0,34$  ( $p = 0,003$ ). La oxidación de las LDL mejoró, disminuyendo la generación de compuestos diénicos iniciales de  $95 \pm 20$  a  $63 \pm 12$   $\mu\text{mol/g}$  y los CD finales de  $207 \pm 56$  a  $107 \pm 35$   $\mu\text{mol/g}$ . La fase lag aumentó de  $33 \pm 21$  a  $45 \pm 17$  minutos ( $p < 0,05$ ).

En conclusión, Tacrólimus mejoró la dislipemia de nuestros pacientes trasplantados renales previamente inmunosuprimidos con ciclosporina, incrementando la resistencia a la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad.

**Palabras clave:** *Ciclosporina. Dislipemia. Oxidación lipoproteínas. Tacrólimus. Trasplante renal.*

Recibido: 11-XII-2001.  
En versión definitiva: 1-IV-2002.  
Aceptado: 2-IV-2002.

**Correspondencia:** Alberto Martínez Castelao  
Servicio de Nefrología  
Hospital Bellvitge  
CSUB Barcelona  
Feixa Llarga, s/n.  
08907 Hospitalet de Llobregat  
E-mail: amcastel@terra.es

## EFFECT OF CYCLOSPORIN AND TACROLIMUS ON THE OXIDATION OF LIPOPROTEINS AFTER KIDNEY TRANSPLANTATION

## SUMMARY

**Background:** Cyclosporin A is a lipogenic immunosuppressor that can induce posttransplant hyperlipidaemia. Oxidation of low-density lipoprotein (LDL) has been recognized as a major atherogenic factor. Tacrolimus seems to be less lipogenic with an apparently better cardiovascular profile than CsA.

**Methods:** We have studied the lipidic profile and the oxidation of HDL and LDL in 20 renal transplant patients, 12 male and 8 female, mean age  $45 \pm 10$  year, who were switched from CsA to tacrolimus due to CsA adverse effects. LDL were determined by ultracentrifugation. Oxidation study before and 6 months after conversion to tacrolimus was performed by adding  $\text{CuSO}_4$ .

**Results:** After conversion, systolic blood pressure (BP) decreased from  $154 \pm 21$  to  $133 \pm 21$  mm Hg ( $p = 0.008$ ), diastolic BP from  $97 \pm 13$  to  $77 \pm 15$  mm Hg ( $p = 0.016$ ), total cholesterol from  $6.08 \pm 0.9$  to  $5.68 \pm 1.1$  mmol/l ( $p = 0.02$ ), LDL-cholesterol from  $3.29 \pm 1.01$  to  $2.96 \pm 0.3$  mmol/l ( $p = 0.04$ ) and apo-B lipoprotein from  $1.42 \pm 0.28$  to  $1.15 \pm 0.34$  mg/dl ( $p = 0.003$ ). The oxidation of LDL improved after conversion: the initial dienic compounds decreased from  $95 \pm 20$  to  $63 \pm 12$   $\mu\text{mol/g}$  and the final DC from  $207 \pm 56$  to  $107 \pm 35$   $\mu\text{mol/g}$ . Lag-phase increased from  $33 \pm 21$  to  $45 \pm 17$  min ( $p < 0.05$ ).

**Conclusion:** Tacrolimus has improved hyperlipidaemia in our cyclosporin previously treated patients and increased the resistance to oxidation of high and low-density lipoproteins.

Key words: **Cyclosporin. Dyslipidaemia. Lipoprotein oxidation. Renal transplant. Tacrolimus.**

## INTRODUCCIÓN

La aterosclerosis es una causa frecuente de morbilidad y mortalidad en pacientes con insuficiencia renal crónica, especialmente cuando llegan al estadio de IRC terminal (IRCT). Lejos de disminuir con el Trasplante Renal (TR), las complicaciones cardiovasculares continúan después del mismo, siendo la causa más importante de mortalidad tardía en esta situación. La dislipemia contribuye a la enfermedad cardiovascular en dichos pacientes como un factor de riesgo importante<sup>1,2</sup>.

Las transgresiones en la dieta y la inmunosupresión con azatioprina, esteroides, ciclosporina (CsA) o los inmunosupresores de más reciente generación, como rapamicina, juntamente con el incremento de peso, la aparición de hiperglucemia o incremento de la resistencia a la insulina, la proteinuria y el tratamiento concomitante con otros fármacos tales como betabloqueantes o diuréticos constituyen factores adicionales de riesgo de dislipemia post-trasplante<sup>3-6</sup>.

La introducción de tacrolimus ha conllevado la disminución de la incidencia de rechazo agudo. Sus efectos potenciales sobre la prevención de la nefro-

patía crónica del injerto están actualmente en discusión<sup>7</sup> y los datos disponibles parecen demostrar que tacrolimus induce menos frecuentemente dislipemia que otros inmunosupresores, como ciclosporina<sup>8</sup>.

La oxidación de las lipoproteínas parece ser un fenómeno clave para la inducción de aterogénesis en el paciente trasplantado. Varghese y cols.<sup>9</sup> han estudiado trasplantados renales inmunosuprimidos con CsA y tacrolimus, observando un acortamiento de la fase lag, que mide la susceptibilidad de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) a la oxidación, en pacientes tratados con CsA Neoral®. Este efecto de empeoramiento de la oxidación se atribuyó a la presencia de tocoferol-DL en la formulación de Neoral®.

El objetivo de nuestro estudio ha sido analizar el perfil lipídico en pacientes trasplantados renales en los que se sustituyó CsA por tacrolimus y determinar si este cambio modificaba la composición de las lipoproteínas plasmáticas en estos pacientes después del cambio, estudiando la susceptibilidad de la oxidación de las lipoproteínas LDL antes del cambio y seis meses después del mismo.

## PACIENTES Y MÉTODOS

Los pacientes incluidos en el estudio recibieron un TR en nuestro hospital entre enero de 1995 y diciembre de 1996, administrándoseles inmunosupresión de mantenimiento con CsA y prednisona, asociada o no a azatioprina. A lo largo de su evolución post-TR presentaron diversos efectos adversos de CsA.

Veinte pacientes, 12 hombres y 8 mujeres, de edad media  $45 \pm 10$  años, que habían recibido un TR  $62 \pm 20$  meses antes y en los que CsA fue sustituida por CsA Neoral® después de 1995, presentaban efectos adversos relacionados con CsA. Las razones de la conversión a tacrólimus fueron hipertrofia gingival severa ( $n = 5$ ), dificultad para un adecuado control de la PA ( $n = 3$ ) o deterioro de la función del injerto renal ( $n = 8$ ). Cinco pacientes recibían tratamiento con alfabloqueantes, 4 con calcioantagonistas, 3 con betabloqueantes, 3 con antagonistas del enzima convertidor de la angiotensina (IECA) y 3 con furosemida, siendo estos tratamientos solos o combinados. Ninguno recibía tratamiento concomitante con fármacos hipolipemiantes, ni tampoco se les administraron después de la conversión a tacrólimus.

Las dosis de CsA habían sido previamente reducidas hasta los límites clínicamente aconsejables, siendo en el momento de la conversión de  $3,1 \pm 1,1$  mg/kg/día, y los niveles de  $180 \pm 55$  ng/ml (RIA monoclonal específico) (tabla I). Los niveles deseados de CsA para estos pacientes de larga evolución se situaron entre 100-200 ng/ml.

Previamente a la conversión se practicó analítica completa incluyendo bioquímica en sangre y orina y hematología, así como niveles valle de CsA (pre) y tacrólimus (post-conversión). La dosis inicial de tacrólimus administrada fue de 0,2 mg/kg/día.

**Perfil Lipídico:** El colesterol y los triglicéridos se determinaron por métodos enzimáticos. Las lipopro-

teínas de densidad intermedia (IDL), muy baja (VLDL) o baja (LDL) se determinaron mediante ultracentrifugación secuencial. El colesterol-HDL se determinó mediante inmunoprecipitación selectiva. Las apolipoproteínas A1 y B se midieron por test de turbidimetría. La lipoproteína (a), [Lp(a)], se cuantificó en suero mediante ensayo de inmunosorción enzimática (ELISA). La vitamina E en suero y en LDL se determinó por el método de Tysen<sup>10</sup>.

**Susceptibilidad del col-LDL a la oxidación:** La resistencia del col-LDL a la oxidación *in vitro* se estudió mediante el método descrito previamente por Hurtado y cols.<sup>11</sup> Antes de la oxidación, las LDL se dializaron en una columna de tampón salino fosfato desgasificado, P-10 (Pharmacia, Uppsala, Sweden). Se provocó la oxidación a 37° C añadiendo CuSO<sub>4</sub> en fresco. El grado de oxidación de las LDL se determinó mediante monitorización continua de formación de Compuestos Diénicos (CD) a 234 nmL. Se calcularon los índices de oxidación, CD iniciales (CDi) y finales (CDf), así como la tasa máxima de generación de CD (CD max) y la generación de T-BARS (especies reactivas al ácido tiobarbitúrico) y lipoperóxidos (Lpo). Se calculó la fase de latencia o fase lag, es decir, el intervalo en minutos en el cual la curva de oxidación interfiere con el eje de absorbancia inicial y que representa la resistencia de las LDL a la oxidación, así como la concentración de vitamina E en suero y en las LDL.

La susceptibilidad a la oxidación (fase lag) se estudió previamente en 18 sujetos voluntarios sanos, siendo el promedio en éstos  $50 \pm 8$  minutos, sirviendo como control.

Las determinaciones analíticas se repitieron a los 6 meses, siendo practicadas analíticas intermedias a 1 y 3 meses. La medida de la PA en consulta, se calculó obteniendo el promedio de 3 valores, con el paciente en posición sentado después de 5 minutos de reposo.

**Tabla I.** Evolución de la presión arterial, glucosa, creatinina y proteinuria, así como de los niveles de ciclosporina A y tacrólimus

	CsA	Tacrólimus	p
PA sistólica (mmHg)	154 ± 21	133 ± 21	0,008
PA diastólica (")	97 ± 13	77 ± 15	0,016
Creatinina (umol/l)	212 ± 73	203 ± 110	ns
Proteinuria (g/d)	1,64 ± 0,68	1,31 ± 1,3	ns
Glucosa (mmol/l)	5,4 ± 1,2	5,5 ± 1,2	ns
Nivel valle CsA/Tacrólimus (ng/ml)	180 ± 55	7,8 ± 1,2	-

PA = Presión Arterial. CsA = ciclosporina A.

*Análisis estadístico:* Se presentan los valores como media  $\pm$  desviación estándar (SD). Se utilizó el test de la *t* de Student para la comparación de datos pareados entre grupos, pre y post-conversión.

**RESULTADOS**

Todos los pacientes completaron seis meses de seguimiento. La dosis de tacrólimus a los seis meses fue de  $3,4 \pm 1,6$  mg/día, logrando mantener niveles de  $7,4 \pm 1,8$  ng/ml (RIA monoclonal específico,  $n = 5$  a  $15$  ng/ml). La evolución de la PA, glucosa, creatinina y proteinuria se muestran en la tabla I. Los niveles valle de CsA y tacrólimus se expresan también en dicha tabla.

Tanto la PA sistólica como la PA diastólica disminuyeron significativamente después de la conversión, sin existir modificación del tratamiento hipotensor (PAS  $154 \pm 21$  vs  $133 \pm 21$  mmHg,  $p = 0,008$ ; PAD  $97 \pm 13$  vs  $77 \pm 13$  mmHg,  $p = 0,016$ ).

Se observó un descenso de la creatinina y proteinuria, que no alcanzó significación estadística. La glucemia permaneció estable, sin observar incremento en la glucemia basal ni en la Hb A1c 6 meses

después de iniciado tacrólimus (Hb A1c  $6,7 \pm 1,2$  vs  $6,8 \pm 1,2$ ,  $p = ns$ ).

Tras la conversión a Tacrólimus se observó un descenso significativo de colesterol total ( $6,08 \pm 0,9$  vs  $5,68 \pm 1,1$ ,  $p = 0,02$ ) y colesterol LDL ( $3,29 \pm 1,01$  vs  $2,96 \pm 0,3$ ,  $p = 0,04$ ) (ver tabla II). Igualmente observamos un descenso significativo de la apolipoproteína B ( $1,42 \pm 0,28$  vs  $1,15 \pm 0,34$ ,  $p = 0,003$ ). Los niveles de Lp(a) también disminuyeron ( $22,5 \pm 23,1$  vs  $20,8 \pm 18,9$ , pero sin que esa disminución alcanzara significación estadística. Las dosis de prednisona se mantuvieron estables, de promedio  $6 \pm 1,5$  mg/día. La susceptibilidad a la oxidación de las LDL mejoró tras la conversión, disminuyendo la generación de compuestos diénicos iniciales ( $95 \pm 20$  vs  $63 \pm 12$ ,  $p = 0,03$ ) y finales ( $207 \pm 56$  vs  $107 \pm 35$ ,  $p = 0,05$ ), alargándose la resistencia a la oxidación medida por la fase lag, de  $33 \pm 21$  minutos a  $45 \pm 17$  minutos ( $p = 0,05$ ) (tabla III)

**DISCUSIÓN**

Nuestro estudio ha puesto de manifiesto que la conversión de CsA a tacrólimus en nuestros pacientes trasplantados renales disminuyó los niveles de colesterol total, colesterol LDL y apolipoproteínas B,

**Tabla II.** Evolución del perfil lipídico

	CsA treatment	Tacrólimus tr.	p
Colesterol total (mmol/l)	$6,08 \pm 0,9$	$5,68 \pm 1,1$	0,02
Triglicéridos "	$1,89 \pm 0,23$	$1,79 \pm 0,79$	ns
Col-HDL "	$1,33 \pm 0,41$	$1,42 \pm 0,94$	ns
Col-LDL "	$3,29 \pm 1,01$	$2,96 \pm 0,3$	0,04
Chol-VLDL+IDL	$1,18 \pm 0,38$	$1,06 \pm 0,53$	ns
Apo A1 (mg/dl)	$1,28 \pm 0,3$	$1,22 \pm 0,53$	ns
Apo B "	$1,42 \pm 0,28$	$1,15 \pm 0,34$	0,003
Lp (a)	$22,5 \pm 23,1$	$20,8 \pm 18,9$	ns

HDL = lipoproteínas alta densidad. IDL = lipoproteínas densidad Intermedia. LDL = lipoproteínas baja densidad. VLDL = lipoproteínas muy baja densidad. Apo A1 = apolipoproteína A1. Apo B = apolipoproteína B. Lp (a) = lipoproteína (a).

**Tabla III.** Susceptibilidad de las LDL a la oxidación

	CsA	Tacrólimus	p
<b>Oxidación LDL</b>			
CD Iniciales (umol/g)	$95 \pm 20$	$63 \pm 12$	0,03
CD Finales "	$207 \pm 56$	$107 \pm 35$	0,05
Lipoperóxidos "	$6,3 \pm 3$	$4 \pm 2,3$	ns
T-bars "	$1,7 \pm 0,23$	$1,28 \pm 1,4$	ns
Fase lag (min)	$33 \pm 21$	$45 \pm 17$	0,05
Vitamin E en LDL (ug/g LDL)	$2,2 \pm 1,2$	$1,86 \pm 1,2$	ns

CsA = ciclosporina A. CD = Compuestos Diénicos. T-bars = especies reactivas al ácido tiobarbitúrico. Fase lag controles ( $n = 18$ ):  $50 \pm 8$  min.



mejorando la resistencia a la oxidación de las LDL después de 6 meses de tratamiento con tacrólimus. Asimismo constatamos un descenso significativo de la PA sistólica y diastólica, sin que existiera modificación en el tratamiento hipotensor de dichos pacientes durante el período de seguimiento.

La CsA es un inmunosupresor que puede inducir dislipemia. El mecanismo de dicha dislipemia podría estar en relación con el bloqueo de la 25-hidroxilasa en la síntesis de los ácidos biliares. La inhibición de dicha enzima produce un aumento de los niveles de colesterol LDL<sup>12</sup>. La CsA se ha asociado igualmente con elevación de los triglicéridos a través de la inhibición de la lipoproteín-lipasa<sup>13</sup>. En conjunto se cree que CsA ejerce un efecto dislipemiantes, induciendo elevación de colesterol total, colesterol LDL e hipertrigliceridemia.

Los efectos beneficiosos de tacrólimus sobre la dislipemia post-TR podrían ser parcialmente explicados por la disminución de efectos adversos de la CsA sobre el perfil lipídico, al ser suspendida su administración.

La división de Trasplante Hepático del Mount Sinai Medical Center en Nueva York ha encontrado descenso significativo de los niveles de colesterol total y triglicéridos en trasplantados hepáticos inmunosuprimidos con tacrólimus, en comparación con un grupo tratado con CsA<sup>14</sup>.

McCune y cols.<sup>8</sup> estudiaron el patrón dislipémico de 65 trasplantados renales inmunosuprimidos con CsA. La conversión a tacrólimus produjo en 27 pacientes descenso significativo del colesterol total, colesterol LDL y apolipoproteína B, sin encontrar diferencias en la glucemia plasmática después de la conversión.

Cristol y cols. han descrito que la capacidad antioxidante se encuentra reducida en los receptores de un trasplante renal<sup>15</sup>. Se ha sugerido que la modificación de las lipoproteínas por la oxidación es un fenómeno clave en la inducción precoz de aterosclerosis post-trasplante. Dicha aterosclerosis se acelera por la formación de LDL oxidadas en las células de la pared arterial<sup>16</sup>. Se ha encontrado asociación entre la susceptibilidad de las LDL a la oxidación y la extensión de la aterosclerosis a las arterias coronarias<sup>17</sup>. Concentraciones pequeñas, incluso mínimas de LDL oxidadas son capaces de activar los linfocitos T<sup>18</sup>, induciendo también activación de las células musculares estriadas e incrementando la expresión de factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF)<sup>19</sup>.

Para completar este fenómeno, las LDL medianamente oxidadas inducen la expresión de genes ligados a moléculas de adhesión celular<sup>20</sup> y de la proteína-1-atrayente de monocitos<sup>21</sup> en las células

endoteliales<sup>20</sup>. Los monocitos se activan y se transforman en macrófagos que captan las LDL oxidadas, convirtiéndose en células espumosas. Las LDL oxidadas pueden provocar disminución de la generación de óxido nítrico por las células endoteliales y los macrófagos de la pared arterial. El óxido nítrico reacciona con radicales superóxido formando perinitritos que, a su vez, son estimuladores potentes de la peroxidación de las LDL<sup>22</sup>.

Los pacientes trasplantados renales presentan concentraciones elevadas de LDL pequeñas y densas, que son fácilmente susceptibles a la oxidación. Algunos trabajos muestran que la inmunosupresión con CsA puede acortar la fase lag, en comparación con controles sanos<sup>23</sup>.

Varghese y cols.<sup>24</sup> han estudiado la capacidad de CsA y tacrólimus para oxidar las LDL en comparación con sujetos normales. En dicho estudio se ha establecido que la fase lag de pacientes tratados con CsA Neoral<sup>®</sup> era comparable a la de sujetos normales y que la diferencia de este estudio con otros publicados estriba probablemente en la fortificación de la formulación de Neoral<sup>®</sup> con tocoferol-DL. Estos autores argumentan que el aumento inicial en la susceptibilidad a la oxidación en pacientes tratados con tacrólimus puede disminuir a lo largo del tiempo, por el aumento de la actividad antioxidante, lo que haría disminuir la susceptibilidad a la oxidación.

En nuestro estudio comprobamos que, efectivamente, la capacidad antioxidante en nuestros pacientes aumenta a los 6 meses de tratamiento con tacrólimus. Sin embargo nuestro planteamiento se ha hecho con un período de observación breve, seis meses, por lo que no hemos valorado si esta mejora de la susceptibilidad a la oxidación proporcionada por tacrólimus disminuye al cabo de un tiempo más prolongado de tratamiento.

Otra posible explicación a la disminución de la susceptibilidad de las LDL a la oxidación en nuestros pacientes podría estar en el descenso significativo de los niveles de colesterol LDL. A menor concentración de partículas LDL, menor susceptibilidad a que estas partículas, probablemente densas y pequeñas, se oxiden.

Algunos estudios han mostrado que el tratamiento hipolipemiantes farmacológico puede incrementar la resistencia de las LDL a la oxidación<sup>25-27</sup>. En un estudio previo nosotros encontramos que algunos trasplantados renales bajo inmunosupresión con CsA tratados con fluvastatina por hipercolesterolemia, mostraban un incremento de la resistencia a la oxidación, con alargamiento de la fase lag<sup>27</sup>. Este efecto podría ser atribuible al hecho de que algunos hipolipemiantes aumentan la síntesis de receptores

celulares para las LDL, con lo que disminuiría la susceptibilidad a la peroxidación lipídica<sup>28</sup>.

En resumen, nuestro trabajo muestra que tacrólimus, tras un período de 6 meses de tratamiento, mejora la dislipemia observada en pacientes trasplantados renales bajo inmunosupresión de mantenimiento con CsA, disminuyendo los niveles de colesterol total, colesterol LDL y apolipoproteínas B, así como incrementando la resistencia a la oxidación de las LDL. De estos datos podría deducirse que tacrólimus muestra un perfil aterogénico menor que ciclosporina.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido parcialmente financiado con una beca de Fujisawa España.

## BIBLIOGRAFÍA

- Appel G: Lipid abnormalities in renal diseases. *Kidney Int* 39: 169-183, 1991.
- Arnadottir M, Berg AL: Treatment of hyperlipidemia in renal transplant recipients. *Transplantation* 63: 339-345, 1997.
- Castelao AM, Barberá MJ, Blanco A y cols.: Lipid metabolic abnormalities after renal transplantation under cyclosporin and prednisone immunosuppression. *Transplant Proc* 24: 96-98, 1992.
- Castelao AM, Grinyó JM, Gil Vernet S y cols.: HMGCoA reductase inhibitors lovastatin and simvastatin in the treatment of hyperlipidemia after renal transplantation. *Transplant Proc* 25: 1043-1046, 1993.
- Kasiske BL, Ulme AJ: Persistent hyperlipidemia in renal transplant patients. *Medicine* 66: 309-312, 1987.
- Kobashigawa JA, Kasiske B: Hyperlipidemia in solid organ transplantation. *Transplantation* 63: 331-338, 1997.
- Vanrentenghem YFCh: Which calcineurin inhibitor is preferred in renal transplantation: tacrolimus or cyclosporin? *Curr Opin Nephrol & Hypert* 8 (6): 669-674, 1999.
- McCune TH, Thacker LR, Peters TG y cols.: Effects of tacrolimus on hyperlipidaemia after successful renal transplantation. A southeastern Organ Procurement Foundation Multi-center Clinical Study. *Transplantation* 65 (1): 87-92, 1998.
- Varghese Z, Fernando R, Turakhia G, y cols.: The oxidizability of low density lipoprotein (LDL) from neoral and tacrolimus treated patients. *J Am Soc Nephrol* 8: 722A, 1997.
- Tysen CC: An improved spectrophotometric method for determination of tocopherol using 4,7, dephenyl 1,10-phenatrolone. *Anal Biochem* 33: 849-851, 1961.
- Hurtado I, Caldú P, Gonzalo A, Ramón JM, Mínguez S, Fiol C: Antioxidative capacity of wine on human LDL oxidation *in vitro*: effect of skin contactin wine making of white wine. *J Agric Food Chem* 45: 1287-1289, 1997.
- De Groen PC: Cyclosporin, low-density lipoprotein and cholesterol. *Mayo Clin Proc* 63: 1012-1013, 1988.
- Chan MK, Persaud JW, Varghese Z, Fernando ON, Moorehead JF: Fat clearances and hyperlipidaemia in renal allograft recipients: the role of insulin resistance. *Clin Chem Acta* 114: 61-64, 1981.
- Jindal RM, Popescu I, Emre S: Serum lipid changes in liver transplant recipients in a prospective trial of cyclosporin versus FK506. *Transplantation* 57: 1395-1397, 1994.
- Cristol JP, Vela C, Maggi MF, Descomps B, Mourad G: Oxidative stress and lipid abnormalities in renal transplant recipients with or without chronic rejection. *Transplantation* 65: 1322-1328, 1998.
- Aviram M: Oxidized LDL interaction with macrophages and the atherogenicity of antioxidants. *Eur J Biochem* 34: 599-608, 1996.
- Regnstrom J, Nilsson J, Tornwall P, Landou C, Hamsten A: Susceptibility of low density lipoprotein oxidation and coronary atherosclerosis in man. *Lancet* 339: 1183-1186, 1992.
- Frostergard J, Wu R, Giscombe R, Holm G, Lefvert AK, Nilsson J: Induction of T-cell activation of oxidised low-density of oxidised low-density lipoprotein. *Arterioscl Thromb* 12: 461-467, 1992.
- Zwijnsen RM, Japenga SC, Heijen AM, Van den Bos RC, Koman JH: induction of platelet-derived growth factor cahn A gene expression in human smooth muscle cells by oxidised low density lipoproteins. *Biochem Biophys Res Commun* 186: 1410-1416, 1992.
- Berliner JA, Territo MC, Sevanian A, Ramin S, Kim JA, Bamschad B, Esterson M, Fogleman AM: Minimally oxidised low density lipoprotein stimulates monocyte endothelial interactions. *J Clin Invest* 85: 1260-1266, 1990.
- Cushing SD, Berliner JA, Valente AJ, Territo MC, Navab M, Parhami F, Gerrity R, Schwartz CJ, Fogleman AM: Minimally modified low density lipoprotein induces monocyte chemotactic protein-1 in human endothelial cells and smooth muscle cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 5134-5138, 1990.
- Leeuwenburgh C, Hardy MM, Hazen SL, Wagner P, Oh-Ishi S, Steinbrecher UP, Heinecke JW: Reactive nitrogen intermediates promote low density lipoprotein oxidation in human atherosclerotic intima. *J Biol Chem* 272: 1433-1436, 1997.
- Apanay DC, Neylan JF, Ragab NS, Sgoutas DS: Cyclosporin increases the oxidizability of low-density lipoproteins in renal transplant recipients. *Transplantation* 58: 663-669, 1994.
- Varghese Z, Fernando RL, Turakhia G, Psimenou E, Fernando ON, Sweny P, Powis SH, Moorehead JF: Calcineurin inhibitors enhance low-density lipoprotein oxidation in transplant patients. *Kidney Int* 56 (Supl. 71): S-137-S-140, 1999.
- Ghanem H, Van den Dorpel MA, Weimar W, Man in't Veld AJ, El-Kannishy MH, Jansen H: Increased low-density lipoprotein oxidation in stable kidney transplant recipients. *Kidney Int* 49: 488-493, 1996.
- Hoffman R, Brook J, Aviram M: Hypolipidemic therapy reduces lipoprotein susceptibility to undergo lipid peroxidation: *in vivo* and *ex vivo* studies. *Atherosclerosis* 41: 335-338, 1997.
- Martínez-Castelao A, Grinyó JM, Fiol C y cols.: Fluvastatin and low-density lipoprotein oxidation in hypercholesterolemic renal transplant patients. *Kidney Int* 56 (Supl. 71): S-231-234, 1999.
- Hussein O, Schelizger S, Rosenblat M, Keidar S, Aviram M: Reduced susceptibility of low density lipoprotein (LDL) to lipid peroxidation after fluvastatin therapy is associated with the hypocholesterolemic effect of the drug and its binding to the LDL. *Atherosclerosis* 128: 11-18, 1997.

## 7. DISCUSSIÓ

### 7.i ESTADI PRE-DIÀLISI

La nefropatia diabètica s'ha convertit actualment en la primera causa d'insuficiència renal crònica terminal amb requeriment substitutiu renal. La Societat espanyola de Nefrologia va referir una incidència global d'Espanya al 2006 del 24%, gairebé una quarta part del total i amb una tendència ascendent [108]. A Catalunya la tasa d'incidència es situa al voltant del 22%, segons el Registre de Malalts renal des Catalunya (RMRC, 2004) [109]

La dislipèmia està habitualment present en pacients diabètics i/o amb hipertensió arterial (HTA) essencial, que són els processos etiològics més freqüents de la IRC. Si a aquest fet, se li afegeix que en els pacients diabètics, les lipoproteïnes tenen un alt poder aterogènic malgrat estiguin normocolesterolèmics, el risc es multiplica [110].

Per una altra banda, s'ha dit que la hipertrigliceridèmia és un factor de risc independent de risc de malaltia coronària [111]. Quan nosaltres vàrem examinar el número total d'events cardiovasculars als pacients diabètics tipus 2 amb nefropatia diabètica associada, els pacients amb hipertrigliceridèmia més severa (Triglicèrids >3 mmol/L) varen

ser els que varen patir major número d' episodis cardiovasculars [112] encara que l'anàlisi estadístic no va trobar diferències significatives respecte el grup normocolesterolèmic. Uusutipa et al. varen demostrar que a més de la hipertrigliceridèmia, la composició anòmala de les lipoproteïnes és la que està relacionada amb la mortalitat cardiovascular [113].

Letho et al. [114] varen associar un descens de colesterol HDL, la hipertrigliceridèmia i un mal control glucèmic amb la predicció de malaltia coronària en 1.059 diabètics tipus II. També Laakso et al. varen trobar correlació entre baixos nivells d'HDL i mortalitat d'origen cardiovascular en 313 diabètics tipus 2 [115]. En canvi, nosaltres no vàrem observar diferències al llarg dels 5 anys de seguiment respecte les HDL colesterol en cap dels grups de tractament però sí que vàrem trobar que la mortalitat als 5 anys era superior en els pacients normocolesterolèmics quan es comparaven amb pacients tractats amb estatines, fet que fa suposar que aquestes lipoproteïnes, malgrat tenir valors en rang dins de la normalitat, eren més aterogèniques [112]. Aquest fet ja havia estat suggerit per Deighan i cols [116], autors que varen demostrar que no és el nivell total de LDL el factor de risc aterogènic sinó l'heterogeneïtat d'aquestes i en particular les LDL denses, petites i més oxidades. És de suposar que és per tot

això que la mortalitat cardiovascular és de dos a tres vegades més freqüent en els pacients diabètics que en la població no diabètica [117] i el risc de patir una malaltia coronària es multiplica de dos a quatre vegades en el pacient diabètic tipus 2 [118].

La dislipèmia està directament implicada en el desenvolupament de lesions renals en animals d'experimentació [119]. Les lipoproteïnes sèriques alterades estructuralment, poden lesionar el glomèrul. Aquest dany s'ha atribuït a la glucooxidació de les LDL modificades que ataquen les membranes basals glomerulars incrementant la seva permeabilitat. Estudis han demostrat com la progressió de la malaltia renal és directament proporcional als nivells basals de lípids plasmàtics [120] [121].

Alhora s'ha identificat la dislipèmia com potencial factor de risc de la disminució del filtrat glomerular [122] [123] i d'increment de la mortalitat en diabètics amb nefropatia associada.

És de suposar, doncs, que una disminució dels lípids pot enlentir la progressió de la malaltia renal. Existeixen diferents estudis que evidencien que els agents hipolipemians poden preservar la funció renal [124-126]. Les estatines redueixen els nivells de c-LDL, un dels

factors de risc cardiovascular més important tant millorant el perfil lipídic com afectant les senyals cel·lulars que activen les vies de migració cel·lular vascular, proliferació i diferenciació. En canvi, aquests beneficis de les estatines, s'han vist parcialment minvats quan es va observar que rosuvastatina podia augmentar la proteïnúria [127], fet que continua essent motiu d'estudis prospectius actuals. Nosaltres no vàrem observar diferències respecte la microalbuminúria ni el FG en aquells pacients tractats amb estatines respecte al pacients control normocolesterolèmics.

Per una altra banda, quan es desenvolupa la nefropatia diabètica s'accelera el dany vascular, induint més morbiditat i mortalitat en el pacient diabètic [110]. La presència de nefropatia diabètica comporta un alt risc cardiovascular degut a la microalbuminúria i, encara amb més justificació, quan la proteïnúria està establerta. En aquest sentit, Tonolo et al. [128] van veure com l'excreció d'albuminúria de 24 hores es veia reduïda en aquells pacients hipertensos diabètics tipus 2 tractats amb 20 mg de simvastatina quan aquesta era comparada amb colestiramina, independentment de la reducció dels nivells de colesterol.

Les recomanacions més recents pel tractament de la dislipèmia [129] i de la HTA [130] en els pacients diabètics indiquen que aquests pacients han de ser tractats agressivament i de forma similar que els pacients amb malaltia coronària preexistent.

Per tots aquest motius, s'ha de concloure que en pacients diabètics es fa necessari una intervenció precoç combinada i multidisciplinària per tal de reduir el risc cardio-vasculo-renal.

#### **7.ii ESTADI V. TRACTAMENT RENAL SUBSTITUTIU MITJANÇANT HEMODIÀLISI**

L'estrès oxidatiu junt amb les alteracions en el metabolisme lipídic són els factors de risc més importants de malaltia cardiovascular en els pacients amb IRC i és considerat com una potencial causa de morbi-mortalitat [40].

El perfil lipídic aterogènic típic dels pacients nefròpates en fase d'insuficiència renal crònica es caracteritza per hipertrigliceridèmia amb elevació dels triglicèrids a les lipoproteïnes de molt baixa densitat (VLDL) i a les lipoproteïnes de baixa densitat (LDL), baixos

nivells de lipoproteïnes d'alta densitat (HDL) i nivells normals o lleugerament augmentats de colesterol total [131, 132]. També podem observar un augment en els nivells de LDL oxidades [50] i un augment dels nivells de Lp(a) [133].

El patró de les alteracions lipídiques poden variar entre les diferents situacions d'afectació renal, depenent especialment del grau de la proteinúria i del FG, així com dels tractaments concomitants i de la modalitat de la teràpia renal substitutiva realitzada: ja sigui diàlisi peritoneal, hemodiàlisi o trasplantament renal.

	C-TOTAL > 240 mg/dl %	LDL-C > 130 mg/dl %	HDL-C < 35 mg/dl %	TG > 200 mg/dl %
Població general	20	40	15	15
MRC estadiatge 1-4 <b>amb sd. nefròtica</b>	90	85	50	60
MRC estadiatge 1-4 <b>sense sd. nefròtica</b>	30	10	35	40
MRC estadiatge 1-4 <b>en trasplant. renal</b>	60	60	15	35
MRC estadiatge 5 <b>en hemodiàlisi</b>	20	30	50	45
MRC estadiatge 5 <b>en diàlisi peritoneal</b>	25	45	20	50

### Taula 3. Perfil lipídic segons estadiatge de nefropatia crònica.

Modificada de *Kasiske Am J Kidney Dis* 32 (suppl 3): S142-S156, 1998 [134].

C-total: colesterol total; TG: triglicèrids; MRC =Malaltia renal crònica

Els punts de tall corresponen a les definicions del National Cholesterol Education Program Adult Education Panel III (NCEP-III) sobre els nivells desitjables de lípids.

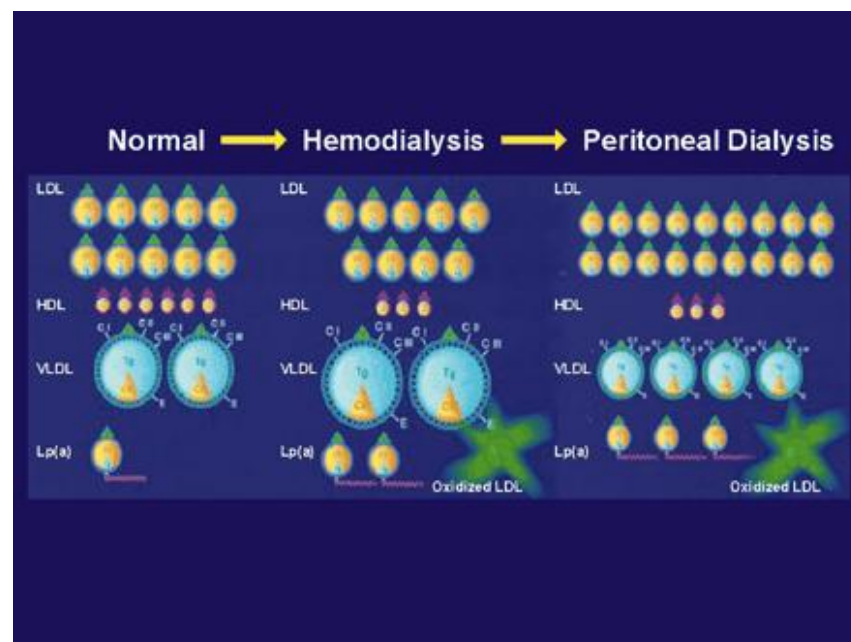


Independentment dels nivells de lípids, sembla ser que la diàlisi peritoneal es veu associada a un perfil lipídic més aterogènic que la hemodiàlisi. Existeix una elevada hipertigliceridèmia parcialment explicada per l'augment de la síntesi hepàtica de VLDL [135]. I tant les colesterol-LDL com les apo B tenen una més alta concentració de partícules denses [133]. En part, aquest perfil és degut a la significativa absorció de glucosa que aporten els bescanvis de diàlisi peritoneal actuant com a substrate que augmenta la síntesi de lipoproteïnes.

En canvi, aquesta dislipidèmia present en la majoria dels pacients amb insuficiència renal crònica i caracteritzada per anormalitats en el perfil d'apolipoproteïnes i composició lipoproteïca no es veu substancialment modificada pel tractament amb teràpia renal substitutiva mitjançant hemodiàlisi [134, 136]. Però, malgrat que els nivells lipídics es veuen poc modificats per la teràpia renal substitutiva amb hemodiàlisi, habitualment existeix, en aquests pacients, una oxidació augmentada i un increment de les subpartícules LDL denses i petites [116, 137-139].

Al nostre treball, el perfil lipídic no només no es veu modificat, sinó que millora significativament amb un descens dels nivells de

colesterol total, LDL colesterol i fosfolípids sense afectar-se el nivell nutricional dels nostres pacients ni augmentant l'estat inflamatori [140, 141]. Aquest fet podria només reflexar una correcció de l'estat prooxidatiu atribuïble a la pròpia urèmia.



**Figura 8. Lipoproteïnes segons tècnica de diàlisi**

Prichard S. J. Am. Soc. Nephrol. 2003; 14: S315 - S320

La troballa més freqüent en els pacients en hemodiàlisi és la hipertrigliceridèmia i és un dels factors de risc implicats en les malalties cardiovasculars en aquests pacients [142]. La Lipoproteïna

a (Lp(a)), una lipoproteïna rica en colesterol i de composició similar a les LDL-colesterol també s'ha vist augmentada en pacients sotmesos a hemodiàlisi [143], representant aquesta un factor de risc independent per patir malaltia coronària [144]. Nosaltres, en canvi, vàrem observar un descens no significatiu de les Lp (a ) al cap d'un any de l'inici d'hemodiàlisi.

L'hemodiàlisi per ella mateixa comporta un risc en l'augment de les LDL oxidades ja sigui pel contacte de la sang amb els diferents tipus de membranes com per una reacció de fase aguda activant el complement per la via alternativa i generant citoquines inflamatòries [145]. És ben conegut que les LDL oxidades i no les natives, són reconegudes per receptors "scavengers" essent fagocitades pels macròfags i induint la formació de cèl·lules espumoses en les plaques d'ateroma [74]. I és en aquestes plaques ateroscleròtiques on s'han trobat productes de la lipoperoxidació [74]. A més a més, aquestes LDL oxidades han estat considerades com un predictor independent de mortalitat i supervivència en pacients sotmesos a hemodiàlisi [146].

Múltiples estudis han volgut avaluar el perquè els biomarcadors de la lipoperoxidació es troben molt més elevats en els pacients urèmics

quan es comparen amb pacients sans. Per tal motiu, una varietat de sistemes altament sensibles i específics han estat desenvolupats, la majoria relacionats amb residus derivats de l'oxidació de les LDLs [147]. Un d'aquests marcadors és el malondialdehid (MDA), un producte hidrosoluble de la lipoperoxidació [148]. Una forma habitual de mesurar els MDAS és mitjançant la determinació de substàncies reactives a l'àcid tiobarbitúric (TBARS). Els TBARS són una mesura inespecífica de diverses substàncies dels quals el MDA és només una d'elles [149]. Ha estat descrit un augment dels TBARS en el plasma de pacients amb insuficiència renal crònica en hemodiàlisi [150, 151].

Nosaltres també vàrem trobar un augment dels TBARS al cap d'un any de l'inici d' hemodiàlisi encara que les diferències no van ser significatives. En canvi, altres autors han demostrat com alguns productes de la lipoperoxidació, com per exemple els hidroperòxids, no es veien modificats per la tècnica de diàlisi [152]. Aquests autors afirmen que l'augment de MDAs no és degut a la tècnica de l'hemodiàlisi per sé, si no que són un efecte característic de la pròpia urèmia [152].

Fóra fàcil d'entendre que si considerem el mitjà urèmic com un mitjà pro-oxidant, millorant aquest estat pro-inflamatori mitjançant

l'hemodiàlisi, aquest estat pro-oxidatiu també hauria de millorar. Diferents treballs s'han realitzat en aquesta línia [39, 153]. Stenvinkel et al. [154] varen demostrar com després de 12 mesos de tractament dialític (període similar al que vàrem estudiar els nostres pacients) milloraven els nivells de plasmalògen, un altre marcador d'estrès oxidatiu. No obstant, existeixen altres estudis contradictoris respecte a la cinètica de lipoperoxidació en pacients en hemodiàlisi. Maggi et al. [50] i per una altra banda Panzetta et al. [51] varen trobar una augment de la susceptibilitat a l'oxidació de les LDL en pacients en hemodiàlisi quan els comparaven amb controls, i això es manifestava en forma d'un descens de la fase lag in vitro. En contra, Shuterland et al. [29] van trobar que la taxa màxima de producció de conjugats diènics era significativament menor en pacients amb insuficiència renal crònica comparada amb controls. Shulz et al. [67] tampoc va trobar escurçament de la fase lag dels pacients en hemodiàlisi comparats amb el grup control. Per tal d'explicar els resultats tant controvertits, Loughrey et al. [1] proposen que els resultats de la cinètica d'oxidació observats en aquest grup de pacients depenen, entre altres factors, del mètode emprat per induir l'oxidació. D'acord amb les troballes de Shulz [67] nosaltres tampoc vàrem trobar escurçament de la fase lag al cap d'un any de que els pacients haguessin iniciat hemodiàlisi.

És per tots aquests motius que hem d'interpretar els resultats de la lipoperoxidació en pacients en hemodiàlisi amb molta precaució.

Fora de la dislipidèmia, múltiples factors s'han vist implicats en l'estrès oxidatiu d'aquests pacients com pot ser l'existència d'una contaminació d'endotoxines al líquid de diàlisi [155], la "urèmia per sé", l'ús d'heparina com anticoagulant o el propi material de les membranes [56, 57, 156]. Autors han demostrat com les membranes d'alt flux tenen un efecte beneficiós en dislipèmia urèmica: la polisulfona va mostrar una superioritat significativa en les LDL oxidades modificades [157]. En canvi, les membranes considerades més bioincompatibles com són les de cel·lulosa, s'han vist capaces d'activar el complement per la via alternativa, permetent així l'activació de monòcits i neutròfils i la conseqüent producció de citoquines i oxidants [145]. Aquestes membranes més bioincompatibles han estat relacionades amb un pitjor estat nutricional [158, 159] i amb un augment de la mortalitat infecciosa i cardiovascular en aquests pacients [160]. Tots els nostres pacients varen ser dialitzats amb membranes de cel·lulosa [140].

Freqüentment l'estrès oxidatiu és considerat com una enfrontament entre el "total de productes oxidats" i la "quantitat d'antioxidants",

però això pot conduir a una interpretació sobrevalorada o infravalorada d'aquest fet fisiològic [161]. La pèrdua o deficiència de l'activitat antioxidant s'ha vist implicada en l'estrès oxidatiu que comporta la urèmia. Boaz et al. [94] van demostrar una reducció dels riscos cardiovasculars i d'infart de miocardi en pacients en hemodiàlisi amb malaltia cardiovascular prevalent suplementats amb 800 IU/d de vitamina E. Però, el fet de que l'administració de vitamina E de forma crònica pot comportar un alt risc de sagnat i un augment de la mortalitat [96] fa que aquests resultats hagin de valorar-se amb molta precaució.

Per una altra banda, també s'ha demostrat un descens de la concentració total de vitamina C en pacients en hemodiàlisi [65, 99]. Aquesta deficiència es pot atribuir tant a la restricció dietètica de fruita fresca o vegetals a la que es sotmeten els nostres pacients per evitar la hiperkalièmia com a la pèrdua de vitamina C durant les sessions d'hemodiàlisi [66, 99-101]. Els pacients en hemodiàlisi tenen un balanç negatiu dels antioxidants hidrosolubles degut a una pèrdua d'aquests durant la difusió de la pròpia tècnica [162]. Per tant, era d'esperar que administrant suplementes d'aquesta vitamina hidrosoluble als pacients en hemodiàlisi, es podien obtenir millores respecte als paràmetres de lipoperoxidació. De forma interessant,

nosaltres [140] vàrem demostrar com els nivells de TBARs que augmentaven en els dos grups, no augmentaven tant en aquells pacients tractats amb vitamina C després d'1 any de l'inici de la tècnica quan aquests es comparaven amb els pacients del grup placebo, encara que aquesta diferència no va ser estadísticament significativa. Això podria atorgar-li un suposat efecte beneficiós a la vitamina C atès que un de les limitacions de la present memòria és que no podem disposar de nivells plasmàtics de vitamina C en cap dels dos grups.

Alguns autors han identificat la vitamina C com un predictor d'aparició d'event cardiovascular en pacients en hemodiàlisi [102]. Aquests autors varen associar nivells plasmàtics baixos i mitjos de vitamina C (<32  $\mu\text{mol/L}$  i entre 32 i 60  $\mu\text{mol/L}$  respectivament) amb un risc més elevat (3.90 (95% CI: 1.42 a 10.67;  $P = 0.008$ ) i 3.03 (95% CI: 1.03 a 8.92;  $P = 0.044$ ) de patir events cardiovasculars fatals i no fatals quan els comparaven amb nivells de vitamina C per sobre de 60  $\mu\text{mol/L}$ . Com hem comentat anteriorment, lamentablement, nosaltres no disposem de nivells de vitamina C dels pacients del nostre estudi.

La vitamina C no està present en les lipoproteïnes, per tant, es pot considerar que la major protecció front l'oxidació de les LDL són les



vitamines liposolubles, com l'  $\alpha$ -tocopherol [163]. L'àcid ascòrbic o vitamina C pot reciclar el radical lliure tocopheroxil en la forma nativa de la vitamina E permetent-li actuar com a antioxidant [83]. D'això podem extreure que aquestes dues vitamines treballen juntes contra els oxidants. Hi ha autors que han demostrat com els pacients als que se'ls administrava vitamina C els hi augmentava significativament la  $\alpha$ -tocopherol en plasma [164]. En canvi nosaltres [140] no vàrem trobar un augment dels nivells de vitamina E en aquells pacients que prenen vitamina C. Això ens fa pensar que aquests pacients que estan exposats a una important fase aquosa (hemodiàlisi), potser es beneficiarien molt més de l'administració de substàncies liposolubles com pot ser la vitamina E.

S'ha observat també un efecte beneficiós en els paràmetres d'anèmia en aquests pacients en hemodiàlisi quan són tractats amb vitamina C [107, 165-167] observant-se una millora de eritropoesi i una disminució dels requeriments d'eritropoetina (EPO). En canvi nosaltres d'acord amb resultats obtinguts per Chan et al. [168] no vàrem observar cap diferència entre el grup tractat amb vitamina C i el tractat amb placebo. En part, això pot estar atribuït a l'escàs número de pacients del nostre treball.

### 7.iii ETAPA TRASPLANTAMENT RENAL

Aquestes complicacions cardiovasculars lligades a l'arterosclerosi i estrès oxidatiu en el pacient nefròpata, lluny de disminuir durant el trasplantament renal segueixen augmentant i són la primera causa de mortalitat tardana en aquesta etapa. La dislipèmia i l'estrès oxidatiu contribueixen de forma important en aquest fet [7, 68]. Les transgressions dietètiques i l'aterogènicitat jeràrquica atribuïda a alguns immunosupressors: corticosteroides > ciclosporina > rapamicina > tacrólimus > azatioprina > micofenolat [169], junt amb altres factors de risc com l'augment de pes, l'aparició d'hiperglicèmia i la resistència a la insulina poden ser factors coadjuvants [70, 170].

L'oxidació de les lipoproteïnes sembla jugar un paper clau en la inducció d'aterogènesi en el pacient trasplantat. Per aquest motiu vàrem estudiar al segon article publicat, la influència dels fàrmacs immunosupressors en el perfil lipídic i la lipoperoxidació en aquest tipus de pacients. L'estudi consistia en estudiar el perfil lipídic i la susceptibilitat de les lipoproteïnes a l'oxidació in vitro en pacients trasplantats després de 6 mesos d'haver substituït la ciclosporina per

tacrólimus. Després del canvi s'observà una disminució significativa dels nivells de colesterol total, colesterol LDL i apolipoproteïna B. La susceptibilitat a l'oxidació també millorà després de la conversió a tacrólimus disminuint de la generació de cossos diènics inicials i finals i amb allargament de la resistència a l'oxidació mesurada com la fase LAG.

Els pacients trasplantats presenten una disminució significativa de totes les defenses antioxidants tant les enzimàtiques com les no enzimàtiques [71]. És ben conegut l'efecte hiperlipemiant de la ciclosporina mitjançant el bloqueig de la 25-hidroxilassa provocant un augment de les LDL colesterol [171] i/o inhibint la lipoprotein-lipassa, produint un augment dels triglicèrids [172]. També alguns treballs van demostrar l'escurçament del la fase LAG, demostrant una més alta susceptibilitat a l'oxidació atribuïble a la ciclosporina [72] quan es comparava a un grup control. En canvi, s'havia observat com el tacrólimus podia disminuir el colesterol total, colesterol LDL i apolipoproteïna B [173] i més quan el pool d'antioxidants ja havia remuntat al cap d'un temps del post-trasplantament immediat. En contrast amb aquesta hipòtesi hi han treballs que mostren que aquesta diferència s'invertia a favor de Ciclosporina quan a aquesta se li afegia alpha-tocoferol en la seva formulació i es comparava amb

tacrólimus [75], produint LDLs més susceptibles de ser oxidades al grup tractat amb tacrólimus. No obstant, en aquest estudi transversal els nivells de ciclosporina eren molt més baixos ( $87 \pm 35$  ng/ml) que els nivells trobats als altres estudis on s'accelerava l'oxidació de les LDL quan aquestes eren aïllades (Ciclosporina a prop dels 120 ng/ml) [72].

El nostre treball confirma els resultats i aporta un allargament de la resistència a l'oxidació de les LDL als 6 mesos d'haver instaurat el tractament amb tacrólimus, insinuant que tacrólimus mostra un millor perfil aterogènic que la ciclosporina.

## 8. CONCLUSIONS

- 8.1 El tractament adequat i intensiu de la dislipèmia, contribueix a minvar les complicacions vasculars i possiblement pugui contribuir a retardar el desenvolupament de la nefropatia, com pot ser el cas de la nefropatia diabètica en fases inicials de la mateixa.
- 8.2 És obligat adoptar mesures precoces, combinades i multidisciplinàries per retardar el desenvolupament de la micro i macroangiopatia diabètica, reduint el risc cardio-vasculo-renal dels pacients diabètics, així com la intervenció precoç sobre la dislipèmia en la MRC.
- 8.3 La hemodiàlisi “per sé” sembla millorar el perfil lipídic en pacients amb un estat pro-oxidatiu previ mitjançant la millora de l'estat urèmic.
- 8.4 L'administració de suplementes de vitamina C en pacients en hemodiàlisi no sembla exercir un clar efecte beneficiós respecte a l'oxidació lipídica.

8.5 Tacrólimus presenta un millor perfil aterogènic, millorant tant el perfil lipídic com la resistència a la lipoperoxidació en pacients trasplantats renals tractats prèviament amb ciclosporina.

1. Loughrey CM, Y.I., McEneny J, McDowell FW, McMaster C, McNamee P, Trimble ER, *Oxidation of low-density lipoprotein in patients on regular haemodialysis*. *Atherosclerosis*, 1994. **110**: p. 185-193.
2. Galli F, C.F., Bellomo G., *Pathophysiology of the oxidative stress and its implication in uremia and dialysis*. *Contrib Nephrol*, 1999. **127**: p. 1-31.
3. Longenecker JC, C.J., Powe NR, et al., *Traditional cardiovascular disease risk factors in dialysis patients compared with the general population: the CHOICE Study*. *J Am Soc Nephrol*, 2002. **13**: p. 1918-1927.
4. Luke RG, *Chronic renal failure-a vasculopathic state*. *N Engl J Med*, 1998. **339**: p. 841-843.
5. Raine AE, M.S., Selwood NH, Wing AJ, Brunner FP, *Mortality from myocardical infarction in patients on renal replacement therapy*. *Nephrol Dial Transplant*, 1991. **6**: p. 902.
6. Martínez-Castelao A, R.R., Serón D, Gil-Vernet S, Fiol C, Gómez-Geriqué N, Yzaguirre MT, Hurtado I, Sabaté I, Alsina J, Grinyó JM, *Effect of cyclosporin and tacrolimus on the oxidation of lipoproteins after kidney transplantation*. *Nefrologia*, 2002. **XXII**(4): p. 364-369.
7. Appel G, *Lipid abnormalities in renal disease*. *Kidney Int*, 1991. **39**: p. 169.
8. Ritz E, -s.A., *Diabetic Nephropathy in type II Diabetes*. *Am J Kidney Dis*, 1996. **27**: p. 167-194.

- 
9. Locatelli F, B.J., London GM, Martín-Malo A, Wanner and Y.M. C, Zoccali C, *Cardiovascular disease determinant in chronic renal failure: clinical approach and treatment*. Nephrol Dial Transplant, 2001. **16**: p. 459-451.
  10. Prichard S, *Risk factors for coronary artery disease in patients with renal failure*. Am J Med Sci, 2003. **325**: p. 209-213.
  11. Zoccali C, M.F., Tripepi G, *Traditional and emerging cardiovascular risk factors in end-stage renal disease*. Kiney Int., 2003. **63**(Suppl 85): p. S105-S110.
  12. Muntner P, H.L., Kusek JW, Chen J, Whelton PK, He J, *The prevalence of non-traditional risk factors for coronary heart disease in patients with chronic kidney disease*. Annals of Internal medicine, 2004. **140**: p. 9-17.
  13. Attman PO, A.P., *Lipid abnormalities in chronic renal insufficiency*. Kidney Int, 1991. **39**(Suppl 31): p. 516-523.
  14. Kimak E, S.J., Janicka L, DumaD, Zagojska M, *Plasma lipoproteins in patients with chronic renal failure*. Int Urol Nephrol, 1997. **29**(5): p. 597-601.
  15. Ozdemir FN, G.G., Sezer S, Arat Z, Turan M, Haberal M., *Atherosclerosis risk is higher in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients than in hemodialysis patients*. Artif Organs, 2001. **25**(6): p. 448-452.



16. Ong-Ajyooth L, S.K., Shayakul C et al, *Comparison of lipid abnormalities in continuous ambulatory peritoneal dialysis and hemodialysis patients*. *Transplant Proceed*, 1994. **26**: p. 2077-2079.
17. The National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, *U.S. Renal Data System: USRDA 1991 Annual Report*. 1991.
18. Raine AE, M.R., Brunner FP, Ehrich JH, Geerlings W, Landais P, Loirat C, Mallick NP, Selwood NH, Tufveson G, Valderrábano F., *Report on management of renal failure in Europe, 1991*. *Nephrol Dial Transplant*, 1992. **7**(Supl.2): p. S7-S35.
19. London GM, G.A., Marchais SJ, Pannier B, Safar ME, Day M, Metivier F, *Cardiac and arterial interactions in end-stage renal disease*. 1996. **50**(2): p. 600-608.
20. Kawagishi T, N.Y., Konishi T, Kawasaki K, Emoto M, Shoji T, Tabata T, Inoue T, Morii H, *High-resolution B-mode ultrasonography in evaluation of atherosclerosis in uremia*. 1995. **48**(3): p. 820-826.
21. Barenbrock M, S.C., Laske V, Heidenreich S, Hohage H, Bachmann J, Hoeks APG, Rahn K-H, *Studies of the vessel wall properties in hemodialysis patients*. 1994. **45**(5): p. 1397-1400.
22. Meeus F, K.O., Guerin AP, Gaudry C, Marchais SJ, London GM, *Pathophysiology of cardiovascular disease in hemodialysis patients*. *Kiney Int.*, 2000. **58**(S76): p. S140-S147.

- 
23. Halliwell B, *Antioxidant defence mechanisms: from the beginning to the end (of the beginning)*. Free Rad Res, 1999. **31**: p. 261-272.
24. Harrison D, G.K., Landmesser U, Hornig B, Drexler H, *Role of oxidative stress in atherosclerosis*. The American Journal of Cardiology, 2003. **91**(3): p. 7-11.
25. Touyz, R.M., *Reactive Oxygen Species, Vascular Oxidative Stress, and Redox Signaling in Hypertension: What Is the Clinical Significance?* Hypertension, 2004. **44**(3): p. 248-252.
26. Dursun E, O.T., Süleymanlar G, Dursun B, Yakupoglu G, *Effect of Hemodialysis on the Oxidative Stress and Antioxidants*. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 2002. **40**(10): p. 1009 LP - 1013.
27. Daschner M, L.H., Botticher D, Schaefer F, Wollschlager M, Mehls O, Leichsenring M, *Influence of dialysis on plasma lipid peroxidation products and antioxidant levels*. Kidney Int, 1996. **50**(4): p. 1268-1272.
28. Esterbauer H, S.G., Puhl H, Rotheneder M, *Continuous monitoring of in vitro oxidation of human low density lipoprotein*. Free Radic Res Commun, 1989. **6**: p. 67-75.
29. Sutherland WH, W.R., Ball MJ, Stapley SA, Robertson MC., *Oxidation of low density proteins from patients with renal failure or renal transplant*. Kidney Int, 1995. **48**: p. 227-236.

30. Jessup W, K.L., Stocker R, *Lipid oxidation in atherogenesis: an overview*. Biochem Soc Trans., 2004. **32**: p. 134-138.
31. Huang Y, M.M., Lopes-Virella MF., *Oxidized LDL stimulates matrix metalloproteinase-1 expression in human vascular endothelial cells*. Arterioscler Thromb Vasc Biol., 1999. **19**: p. 2640-2647.
32. Xu XP, M.S., Ong JM, Kaul S, Cercek B, Rajavashisth TB, Sharifi B, Shah PK, *Oxidized low-density lipoprotein regulates matrix metalloproteinase-9 and its tissue inhibitor in human monocyte-derived macrophages*. Circulation, 1999. **99**: p. 993-998.
33. Holvoet P, V.J., Janssens S, Van de Werf F, Collen D, *Oxidized LDL and malondialdehyde-modified LDL in patients with acute coronary syndromes and stable coronary artery disease*. Circulation, 1998. **98**: p. 1487-1494.
34. Toshima S, H.A., Kurabayashi M, Itabe H, Takano T, Sugano J, Shimamura K, Kimura J, Michishita I, Suzuki T, Nagai R, *Circulating oxidized low density lipoprotein levels. A biochemical risk marker for coronary heart disease*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2000. **20**: p. 2243-2247.
35. Ehara S, U.M., Naruko T, Haze K, Itoh A, Otsuka M, Komatsu R, Matsuo T, Itabe H, Takano T, Tsukamoto Y, Yoshiyama M, Takeuchi K, Yoshikawa J, Becker AE, *Elevated levels of oxidized low density lipoprotein show a positive relationship with the severity of acute coronary syndromes*. Circulation, 2001. **103**: p. 1955-1960.

36. Meisinger C, B.J., Khuseyinova N, Loewel H, Koenig W, *Plasma oxidized low-density lipoprotein, a strong predictor for acute coronary heart disease events in apparently healthy, middleaged men from the general population*. Circulation, 2005. **112**: p. 651-657.
37. Diaz MN, F.B., Vita JA, Keaney JF Jr., *Antioxidants and atherosclerotic heart disease*. N Engl J Med, 1997. **337**: p. 408-416.
38. Ross R, *The pathogenesis of atherosclerosis: A perspective fort he 1990s*. Nature, 1993. **362**: p. 801-809.
39. Himmelfarb J, S.P., Alp Ikizler T, HakimRM., *The elephant in uremia: Oxidant stress as a unifying concept of cardiovascular disease in uremia*. Kidney Int, 2002. **62**: p. 1524-1538.
40. Locatelli F, C.B., Eckardt KU, Stenvinkel P, Wanner C, Zocalli C., *Oxidative stress in end stage renal disease: An emerging threat to patient outcome*. Nephrol Dial Transplant, 2003. **18**: p. 1272-1280.
41. Kaysen GA, *The microinflammatory state in uremia: causes and potential consequences*. J Am Soc Nephrol, 2001. **12**: p. 1549-1557.
42. Wanner C, Z.J., Schwedler S, Metzger T., *Inflammation and cardiovascular risk in dialysis patients*. Kidney Int Suppl, 2002. **80**: p. 99-102.
43. Wanner C, M.T., *C-reactive protein a marker for all-cause and cardiovascular mortality in haemodialysis patients*. Nephrol Dial Transplant, 2002. **17**: p. 29-32.

- 
44. Witko-Sarsat V, F.M., Nguyen-Khoa T, Capeillere- Blandin C, Nguyen AT, Canteloup S, Dayer JM, Jungers P, Drueke T, Descamps-Latscha B, *Advanced oxidation protein products as novel mediators of inflammation and monocyte activation in chronic renal failure.* J Immunol, 1998. **161**(5): p. 2524-2532.
45. Meng J, S.N., Imanaga Y, Tachikawa Y, Chihara J, Takebayashi S, *Evidence for a link between glycooxidation and lipoperoxidation in patines with chronic renal failure.* Clin Nephrol, 1999. **51**(5): p. 280-289.
46. Paul JL, S.N., Soni T et al., *Lipid peroxidation abnormalities in hemodialyzed patients.* Nephron, 1993. **64**: p. 106-109.
47. Witko-Sarsat V, F.M., Capeillere-Blandin C et al., *Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia.* Kidney Int, 1996. **49**: p. 1304-1313.
48. Vlassara H, *Serum advanced glycosylation end products: a new class of uremic toxins?* Blood Purif, 1994. **12**: p. 54-59.
49. Makita Z, *Toxicity of glucose: is AGE the answer?* Nephrol Dial Transplant, 1995. **10**(Suppl 7): p. 33-37.
50. Maggi E, B.R., Falaschi F et al., *Enhanced LDL oxidation in uremic patients: an additional mechanism for accelerated atherosclerosis?* Kidney Int, 1994. **45**: p. 876-873.
51. Panzetta O, C.L., Garbin U et al, *Increased susceptibility of LDL to in vitro oxidation in patients on maintenance hemodialysis: effects*

- of fish oil and vitamin E administration.* Clin Nephrol, 1995. **44**: p. 303-309.
52. Odetti P, G.S., Gurreri G, Aragno I, Dapino D, Pronzato MA, Marinari UM., *Protein oxidation in hemodialysis and kidney transplantation.* Metabolism, 1996. **45**(11): p. 1319-1322.
53. Walter MF, J.R., Jeffers B, et al., *Serum levels of thiobarbituric acid reactive substances predict cardiovascular events in patients with stable coronary disease: a longitudinal analysis of PREVENT study.* J Am Coll Cardiol, 2004. **44**(10): p. 1996-2002.
54. Boaz M, M.Z., Biro A, Katzir Z, Green M, Fainaru M, Smetana S., *Serum malondialdehyde and prevalent cardiovascular disease in hemodialysis.* Kidney Int, 1999. **56**(3): p. 1078-1083.
55. Bayés B, P.M., Bonal J, Juncà J, Hernández JM, Riutort N, Foraster A, Romero R., *Homocysteine, C-reactive protein, lipid peroxidation and mortality in haemodialysis patients.* Nephrol Dial Transplant, 2003. **18**: p. 106-112.
56. Cristol JP, C.B., Rabesandratana H, Gaillard I, Serre A, Mion C, *Enhancement of reactive oxygen species production and cell surface markers expression during hemodialysis.* Nephrol Dial Transplant, 1994. **9**: p. 389-394.
57. Himmelfarb J, L.M., Hakim R, *Reactive oxygen species production by monocytes and polymorphonuclear leukocytes during dialysis.* Am J Kidney Dis, 1991. **17**: p. 271-276.

58. Odetti P, T.N., Monacelli F, Menini S, Vazzana J, Tasso B, Pronzato MA, Robaudo C, Deferrari G, *Vitamin E-coated filter decreases levels of free 4-hydroxyl-2-nonenal during haemodialysis sessions*. Free Rad Res, 2006. **40**(2): p. 207-212.
59. Yang C-C, H.S.-P., Wu M-S, Hsu S-M, Chien C-T, *Effects of vitamin C infusion and vitamin E-coated membrane on hemodialysis-induced oxidative stress*. Kidney Int, 2006. **69**: p. 706-714.
60. Ocampo C, C.D., Corradi V, de Cal M, Polanco N, Kuang D, Nalesso F, Ronco C, *Effect of Vitamine E Coated Filter on Anemia in HD Patients (poster)*. J Am Soc Nephrol, 2006. **17**(581A).
61. Richard M, A.J., Jurkovitz C et al, *Trace elements and lipid peroxidation abnormalities in patients with chronic renal failure*. Nephron, 1991. **57**: p. 10-15.
62. Cristol JP, B.J., Badiou S, Leblanc M, Lorrho R, Descomps B, Canaud B, *Erythropoietin and oxidative stress in haemodialysis: beneficial effects of vitamin E supplementation*. Nephrol Dial Transplant, 1997. **12**: p. 2312-2317.
63. Pastor M, S.C., Bonal J, Teixido J., *Serum and erythrocyte tocopherol in uremic patients: effect of hemodialysis versus peritoneal dialysis*. Am J Nephrol, 1993. **13**: p. 238-43.
64. Taccone-Gallucci M, G.O., Ausiello C et al., *Vitamin E supplementation in hemodialysis patients: effects on peripheral blood*

- mononuclear cells lipid peroxidation and immune response. Clin Nephrol, 1986. 25: p. 81-86.*
65. Descombes E, H.A., Fellay G, *Water soluble vitamins in chronic hemodialysis patients and need for supplementation. Kidney Int, 1993. 43: p. 1319-1328.*
66. Sullivan JF, E.A., *Ascorbic acid depletion in patients undergoing chronic hemodialysis. Am J Clin Nutr, 1970. 23: p. 1339-1346.*
67. Shulz TH, S.H., Scheithe R, Hrboticky N, Lorenz R., *Preserved antioxidative defence of lipoproteins in renal failure and during hemodialysis. Am J Kidney Dis, 1995. XXV(4): p. 564-571.*
68. Arnadottir M, B.A., *Treatment of hyperlipidemia in renal transplant recipients. Transplantation, 1997. 63: p. 339-345.*
69. Martínez-Castelao A, B.M., Blanco A, Fiol C, Griñó JM, Bover J, Gil-Vernet S, Andrés E, Serón D, Castiñeiras MJ, Alsina J, *Lipid metabolic abnormalities after renal transplantation under cyclosporine and prednisone. Transplantation proceedings, 1992. 24: p. 96-98.*
70. Kobashigawa JA, K.B., *Hyperlipidemia in solid organ transplantation. Transplantation, 1997. 63: p. 331-338.*
71. Cristol JP, V.C., Maggi MF, Descomps B, Mourad G, *Oxidative stress and lipid abnormalities in renal transplant recipients with or without chronic rejection. Transplantation, 1998. 65: p. 1322-1328.*



72. Apanay DC, N.J., Ragab NS, Sgoutas DS, *Cyclosporin increases the oxidizability of low-density lipoproteins in renal transplant recipients*. *Transplantation*, 1994. **58**: p. 663-669.
73. Rayyes OA, W.A., Floren CH, *Cyclosporine inhibits catabolism of low-density lipoproteins in HepG2 cells by about 25%*. *Hepatology*, 1996. **24**: p. 613-619.
74. Steinberg D, P.S., Carew TE, Khoo JC, Witztum JL, *Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity*. *N Engl J Med*, 1989. **320**: p. 915-924.
75. Varghese Z, F.R., Turakhia G, Psimenou E, Fernando ON, Sweny P, Powis SH, Moorehead JF, *Calcineurin inhibitors enhance low-density lipoprotein oxidation in transplant patients*. *Kidney International*, 1999. **56**(supp 71): p. 137-140.
76. Martinez -Castelao A, G.J., Fiol C, Castineiras MJ, Hurtado I, Gil Vernet S, Seron D, Porta I, Minarro A, Villarroya A, Alsina, J, *Fluvastatin and low-density lipoprotein oxidation in hypercholesterolemic renal transplant patients*. *Kidney Int*, 1999. **56**(71): p. 231-234.
77. Gey KF, *Vitamins E plus C and interacting conutrients required for optimal health . A critical and constructive review of epidemiology and supplementation data regarding cardiovascular disease and cancer*. *Biofactors*, 1998. **7**: p. 113-174.
78. H, S., *Pharmacology of vitamin C*. *Annu Rev Nutr*, 1994. **14**: p. 371-391.

- 
79. May JM, *Is ascorbic acid an antioxidant for the plasma membrane?* The FASEB Journal, 1999. **13**(9): p. 995-1006.
80. Mendiratta S, Q.Z., May JM, *Enzyme-dependent ascorbate recycling in human erythrocytes: role of thioredoxin reductase.* Free Rad Res, 1998. **25**: p. 221-228.
81. Schipfer W, N.B., Trobisch R, Groiss O, Goldenberg H, *Reduction of extracellular potassium ferricyanide by transmembrane NADH: (acceptor) oxidoreductase of human erythrocytes.* Int J Biochem, 1985. **17**: p. 819-823.
82. May JM, Q.Z., Whitesell RR., *Ascorbic acid recycling enhances the antioxidant reserve of human erythrocytes.* Biochemistry, 1995. **34**: p. 12721-12728.
83. Jialal I, G.S., *Preservation of endogenous antioxidants in LDL by ascorbate but not probucol during oxidative modification.* J Clin Invest, 1991. **87**: p. 597-601.
84. Scaccini C, C.G.J.I., *A critical assessment of the effects of aminoguanidine and ascorbate on the oxidative modification of LDL; evidence for interference with some assays of lipoprotein oxidation by aminoguanidine.* J. Lipid Res, 1994. **35**(6): p. 1085-1092.
85. Carr AC, F.B., *Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based in antioxidant and health effects in humans.* Am J Clin Nutr, 1999. **69**: p. 1086-1107.

86. Fong JC, S.K., John B, Hiroyuki-Hikiti M, Wainstein D, Behrendt J, Suh B, Frei M, Selwyn AP, Ganz P., *Effect of vitamin C and E on progression of trasplant associated arteriosclerosis: a randomized trial.* Lancet, 2002. **359**(1108-1113).
87. Halliwell B, *Vitamin C: Antioxidant or pro-oxidant in vivo?* Free Rad Res, 1996. **25**(5): p. 439-454.
88. McLaran CJ, B.J., Nye JA, Halliday JW, *Congestive cardiomyopathy and haemochromatosis-rapid progression possibly accelerated by excessive ingestion of ascorbic acid.* Australian and New Zealand Journal of Medicine., 1982. **12**: p. 187-188.
89. Rowbotham B, R.H., *Iron overload associated with congenital pyruvate kinase deficiency and high dose ascorbic acid ingestion.* Australian and New Zealand Journal of Medicine., 1984. **14**: p. 667-669.
90. Nienhuis AW, *Vitamin C and iron.* N. England J Med, 1981. **304**: p. 170-171.
91. Schneider M, V.B., Klein A, et a, *Alterations in plasma vitamin E distribution in type 2 diabetic patients with elevated plasma phospholipid transfer protein activity.* Diabetes, 2004. **53**(10): p. 2633-2639.
92. Davey PJ, S.M., Gliksman M, et al, *Cost-effectiveness of vitamin E therapy in the treatment of patients with angiographically proven*

- coronary narrowing (CHAOS trial). *Cambridge Heart Antioxidant Study*. Am J Cardiol, 1998. **82**(4): p. 414-417.
93. Hodis HN, M.W., LaBree L et al, *Alpha-tocopherol supplementation in healthy individuals reduces low-density lipoprotein oxidation but not atherosclerosis: the Vitamin E Atherosclerosis Prevention Study (VEAPS)*. Circulation, 2002. **106**(12): p. 1453-1459.
94. Boaz M, S.S., Weinstein T, Matas Z, Gafter U, Iaina A, Knecht A, Weissgarten Y, Brunner D, Fainaru M, Green MS., *Secondary prevention with antioxidants of cardiovascular disease in endstage renal disease (SPACE): randomised placebo-controlled trial*. Lancet, 2000. **356**(9237): p. 1213-1218.
95. Cadenas S, R.C., Mendez J., *Vitamin E decreases urine lipid peroxidation products in young healthy human volunteers under normal conditions*. Pharmacol Toxicol, 1996. **79**(5): p. 247-253.
96. Miller ER, P.-B.R., Dalal D, *Meta-Analysis: High-Dosage Vitamin E Supplementation May Increase All-Cause Mortality*. Annals of Internal medicine, 2004. **142**(1).
97. Yusuf S, D.G., Pogue J, et al, *Vitamin E supplementation and cardiovascular events in high-risk patients. The Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators*. N Engl J Med, 2000. **342**(3): p. 154-160.
98. HOPE study, *The HOPE (Heart Outcomes Prevention Evaluation) Study: the design of a large, simple randomized trial of an*

---

*angiotensin-converting enzyme inhibitor (ramipril) and vitamin E in patients at high risk of cardiovascular events. The HOPE study investigators. Can J Cardiol, 1996. 12(2): p. 127-137.*

99. Deicher R, H.W., *Vitamin C in chronic kidney disease and hemodialysis patients. Kidney blood Press Res, 2003. 26: p. 100-106.*

100. Pönka A, K.B., *Serum ascorbic acid in patients undergoing chronic hemodialysis. Acta Med Scand, 1983. 213: p. 305-307.*

101. Fumeron C, N.-K.T., Saltiel C, Kebede M, Buisson C, Drüeke TB, Lacour B, Massy ZA, *Effects of oral vitamin C supplementation on oxidative stress and inflammation status in haemodialysis patients. Nephrol Dial Transplant, 2005. 20: p. 1874-1879.*

102. Deicher R, Z.F., Bieglmayer C, Schillinger M, Hörl WH, *Low total vitamin C plasma level is a risk factor for cardiovascular morbidity and mortality in hemodialysis patients. J Am Soc Nephrol, 2005. 16: p. 1811-1818.*

103. Nguyen-Khoa T, M.Z., De Bandt JP et al, *Oxidative stress and hemodialysis: role of inflammation and duration of dialysis treatment. Nephrol Dial Transplant, 2001. 16: p. 335-340.*

104. Mydlik M, D.K., Boldizsar J, Hribikova M, Petrovicova J, *Oral use of iron with vitamin C in hemodialyzed patients. J Ren Nutr, 2003. 13: p. 47-51.*

105. Richter A, S.E., Kuhlmann M, Handelman G et al, *Correlation of vitamin C and PTH levels in chronic HD patients*. J Am Soc Nephrol, 2005. **16**: p. 492A.
106. Buettner GR, J.B., *Catalytic metals, ascorbate and free radicals: combinations to avoid*. Radiat Res, 1996. **145**: p. 532-541.
107. Attallah N, O.-M.Y., Frinak S, Besarab A, *Effect of intravenous ascorbic acid in hemodialysis patients with EPO-hyporesponsive anemia and hyperferritinemia*. Am J Kidney Dis, 2006. **47**(4): p. 644-654.
108. Sociedad Española de Nefrología (S.E.N), *Registro de Diálisis y Transplante de la S.E.N*. 2006.
109. Servei Català de la Salut, G.d.C., *Registro de enfermos renales de Catalunya (RMRC)*. 2004.
110. Zimmermann J, W.C., Quaschnig T, *Lipid management in type 2 diabetes with nephropathy.*, in *Diabetes Care*. 1999.
111. Assman G, S.H., Funke H, Von Eckardstein A, *The emergence of triglycerides as a significant independent risk factor in coronary artery disease*. Eur Heart J, 1998. **19 suppl**: p. M8-M14.
112. Martínez-Castelao A, R.R., González MT, Castiñeiras MJ, *Dyslipidaemia and cardiovascular risk in type 2 diabetes mellitus patients with associated diabetic nephropathy*. Nefrologia, 2002. **XXII**(Supp 1): p. 51-58.

- 
113. Uusutipa MIJ, N.L., Siitonen O, Voutilainen E, and P. K, *Ten-year cardiovascular mortality in relation to risk factors and abnormalities in lipoprotein composition in type 2 (non-insulin-dependent) diabetic and non-diabetic subjects*. Diabetologia, 1993. **36**: p. 1175-1184.
114. Lehto S, R.T., Haffner SM, Pyörälä K, Kallio V, Laakso M, *Dyslipidemia and hyperglycemia predict coronary heart disease events in middle-age patients with NIDDM*. Diabetes, 1997. **48**: p. 1354-1359.
115. Laakso M, L.S., Penttillä I, Pyörälä K., *Lipids and lipoproteins predicting coronary heart disease mortality and morbidity in patients with non-insulin-dependent diabetes*. Circulation, 1993. **88**: p. 1421-1430.
116. Deighan CJ, C.M., NcConnell M, Boulton-Jones JM, Packard CJ., *Atherogenic lipoprotein phenotype in end-stage renal failure: origin and extent of small dense low-density lipoprotein formation*. Am J Kidney Dis, 2000. **35**: p. 852-862.
117. Panzram G, *Mortality and survival in type 2 (non-insulin dependent) diabetes mellitus*. Diabetologia, 1987. **30**: p. 123-131.
118. Haffner SM, *Coronary heart disease in patients with diabetes*. N Engl J Med, 2000. **342**: p. 1040-1042.
119. Keane WF, K.B., O'Donnell MP, Kim Y, *The role of altered lipid metabolism in the progression of renal disease: experimental evidence*. Am J Kidney Dis :, 1991. **17**: p. 38-42.

120. Schaeffner ES, K.T., Curhan GC, *Cholesterol and the risk of renal dysfunction in apparently healthy men.* J Am Soc Nephrol, 2003. **14**: p. 2084-2091.
121. Mänttari M, T.E., Alikoski T, Manninen V, *Effects of hypertension and dyslipidemia on the decline in renal function.* Hypertension, 1995. **26**: p. 670-675.
122. Kasiske BL, O.D.M., Schmitz PG, Keane WF., *The role of lipid abnormalities in the pathogenesis of chronic, progressive renal disease.* Advances in Nephrology. Necker Hospital, 1991. **20**: p. 109-125.
123. Schmitz PG, K.B., O'Donnell MP, Keane WF, *Lipids and progressive renal injury.* Seminars Nephrol, 1989. **9**: p. 354-369.
124. Vidt DG, H.S., McTaggart F et al, *Effect of short-term rosuvastatin treatment on estimated glomerular filtration rate.* Am J Cardiol, 2006. **97**: p. 1602-1606.
125. Fried LF, O.T., Kasiske BL, for the lipids and renal disease, *Progression meta-analysis study group. Effect of lipid reduction on the progression of renal disease: a meta-analysis.* Kidney Int, 2001. **59**: p. 260-269.
126. Tonelli M, M.L., Sacks FM et al, for the cholesterol and recurrent events (CARE) trial investigators, *Effect of pravastatin on loss of renal function in people with moderate chronic renal insufficiency and cardiovascular disease.* J Am Soc Nephrol, 2003. **14**: p. 1605-1613.



- 
127. Alsheikh AA, A.M., Kuvin JT, Karas RH., *The safety of rosuvastatin as used in common clinical practice*. *Circulation*, 2005. **111**: p. 3051-3057.
128. Tonolo G, M.M., Formato M, Angius MF, Carboni A, Brizzi P, Ciccarese M, Cherchi GM, Maioli M, *Additive effects of simvastatin beyond its effects on LDL cholesterol in hypertensive type 2 diabetic patients*. *Eur J Clin Invest*, 2000. **30**(11): p. 980-987.
129. Foundation, N.K., *National Kidney Foundation K/DOQI clinical practice guidelines on managing dyslipidemias in chronic kidney disease*. *Am J Kidney Dis*, 2003. **41**(4 Suppl 3): p. s1-s91.
130. Cardiology, E.S.o.H.E.S.o., *Guidelines for the Management of Arterial Hypertension: The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC)*. *Journal of Hypertension*, 2007. **25**(6): p. 1105-1187.
131. Senti M, R.R., Pedro-Botet J, Pelegri A, Nogues X., Rubies-Prat J., *Lipoprotein abnormalities in hyperlipidemic and normolipidemic men on hemodialysis with chronic renal failure*. *Kidney International*, 1992. **41**: p. 1394-1399.
132. Avram MM, G.P., Burrell DE, Antignani A, Fein PA, Mitman N, *The uremic dyslipidemia: A cross-sectional and longitudinal study*. *Am J Kidney Dis*, 1992. **20**: p. 324-335.

133. Kronenberg F, K.P., Neyer U, Auinger M, Prisbasnig A, Lang U, Reitingner J, Pinter G, Utermann G, Dieplinger H, *Multicenter study of lipoprotein (a) and apolipoprotein (a) phenotypes in patients with end-stage renal disease treated by hemodialysis or continuous ambulatory peritoneal dialysis*. J Am Soc Nephrol, 1995. **6**: p. 110-120.
134. Kasiske BL, *Hyperlipidemia in patients with chronic renal disease*. Am J Kidney Dis, 1998. **32**(Supp 3): p. S142-S156.
135. Moberly JB, A.P., Samuelson O, Johansson AC, Knight-Gibson C, Alaupovic P, *Alterations in lipoprotein composition in peritoneal dialysis patients*. Perit Dial Int, 2002. **22**: p. 220-228.
136. Attman PO, S.O., Alaupovic P., *Lipoprotein metabolism and renal failure*. Am J Kidney Dis, 1993. **21**: p. 573-591.
137. Nickolas TL, R.J., Appel GB., *Hyperlipidemia and Thrombotic complications in patients with membranous nephropathy*. Seminars in Nephrology, 2003. **23**: p. 406-411.
138. Covic A, G.-T.P., Goldsmith D, *The challenge of cardiovascular risk factors in end stage renal disease*. J Nephrol, 2003. **16**: p. 476-486.
139. Pedro-Botet J, S.M., Rubies Prat J, Pelegri A, Romero R., *When to treat dyslipidaemia of patients with chronic renal failure on haemodialysis? A need to define specific guidelines*. Nephrol Dial Transplant, 1996. **11**: p. 308-313.

- 
140. Ramos R, M.C.A., *Lipoperoxidation and hemodialysis*. Metabolism, 2008.
141. Ramos R, G.-G.N., M Castelao A, *Lipoprotein oxidation profile in end stage renal disease patients. Role of vitamin C supplementation*. Nefrologia, 2005. **XXV**(2): p. 178-184.
142. Brunzell JD, A.M., *Plasma triglycende levels and coronary disease*. N Engl J Med, 1989. **320**: p. 1273-1275.
143. Webb AT, R.D., O'Donnell M et al, *Lipoprotein (a) in patients on haemodialysis and continuous ambulatory peritoneal dialysis*. Nephrol Dial Transplant, 1993. **8**: p. 609-613.
144. Sigurdson G, B.A., Sigvaldson H et al., *Predictive value of apolipoproteins in a propective survey of coronary artery disease in men*. Am J Cardiol, 1992. **69**: p. 1251-1254.
145. Cheung AK, *Biocompatibility of dialysis membranes*. J Am Soc Nephrol, 1990. **1**: p. 150-161.
146. Bayes B, P.M., Bonal J, Foraster A, Romero R., *Oxidative stress, inflammation and cardiovascular mortality in haemodialysis--role of seniority and intravenous ferrotherapy: analysis at 4 years of follow-up*. Nephrol. Dial. Transplant., 2006. **21**(4): p. 984-990.
147. Sayre LM, S.W., Xu G et al., *Immunochemical evidence supporting 2-pentylpyrrole formation in proteins exposed to 4-hydroxy-2-nonenal*. Chem Res Toxicol, 1996. **9**: p. 1194-1201.

- 
148. Akubue P, B.D., Ihm W, Stohs S, *Excretion of malondialdehyde, formaldehyde, acetaldehyde, acetone and methyl ethyl ketone in the urine of rats given an acute dose of malondialdehyde*. Arch Toxicol, 1994. **68**: p. 338-341.
149. Gutteridge J, H.B., *The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems*. Trend Biochem Sci, 1990. **15**: p. 129-135.
150. Dasgupta A, H.S., Ahmad S, *Increased lipid peroxidation in patients on maintenance hemodialysis*. Nephron, 1992. **60**: p. 56-59.
151. Fillit H, E.E., Sullivan J, Sherman R, Zabriskie JB., *Thiobarbituric acid reactive material in uremic blood*. Nephron, 1981. **29**: p. 40-43.
152. Schettler V, W.E., Verwiebe R, Schuff-Werner P, Scheler F, Oellerich M, *Plasma lipids are not oxidized during hemodialysis*. Nephron, 1994. **67**: p. 42-47.
153. Himmelfarb J, M.E., McMonagle E., *Plasma aminothiols oxidation in chronic renal failure*. kidney Int, 2002. **61**: p. 705-716.
154. Stenvinkel P, H.I., Heimbürger O, Diczfalusy U., *A study of plasmalogen as an index of oxidative stress in patients with chronic renal failure. Evidence of increased oxidative stress in malnourished patients*. Nephrol Dial Transplant, 1998. **13**(10): p. 2594-2600.

- 
155. DeLeo F, R.J., Cormick SM, Nakamura M, Apicella M, Weiss J., *Neutrophils exposed to bacterial lipopolysaccharide upregulate NADPH oxidase assembly.* J Clin Invest, 1998. **101**: p. 455-463.
156. Sakurai T, O.T., Hasegawa H, Igaki N, Miki S, Goto T, *Comparison of lipids, apoproteins and associated enzyme activities between diabetic and nondiabetic end-stage renal disease.* Nephron, 1992. **61**: p. 409-414.
157. Wanner C, B.U., Mattern R, Lang D, Passlick-Deetjen J, *Effect of dialysis flux and membrane material on dyslipidaemia and inflammation in haemodialysis patients.* Nephrol Dial Transplant, 2004. **19**(10): p. 2570-2575.
158. Parker TF, W.R., Husni L, et al., *Effect of the membrane biocompatibility on nutritional parameters in chronic hemodialysis patients.* Kidney Int, 1996. **49**: p. 551-556.
159. Tayeb JS, P.R., El-Ghoroury M, et al, *Effect of biocompatibility of hemodialysis membranes on serum albumin levels.* Am J Kidney Dis, 2000. **35**(606-610).
160. Bloembergen WE, P.F., Hakim RM, Stannard D, Wolfe RA, Agodoa LYC, Held PJ, *The relationship of dialysis membrane and cause-specific mortality in chronic hemodialysis patients.* J Am Soc Nephrol, 1996. **6**: p. 521.

161. Wratten ML, T.C., Ursini F, Sevanian A, *Oxidant stress in hemodialysis: Prevention and treatment strategies*. *Kidney Int*, 2000. **58(s76)**: p. s126-s132.
162. Morena M, C.J., Bosc JY, TettavC, Forret G, Leger CL, Delcourt C, Papoz L, Descomps B, Canaud B, *Convective and diffusive losses of vitamin C during haemodiafiltration session: a contributive factor to oxidative stress in haemodialysis patients*. *Nephrol Dial Transplant*, 2002. **17**: p. 422-427.
163. Esterbauer H, G.J., Puhl H, Jurgens G, *The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification*. *Free Rad Biol Med*, 1992. **13**: p. 341-390.
164. Wen Y, C.T., Feely J, *The effect of pharmacological supplementation with vitamin C on low-density lipoprotein oxidation*. *Br J Clin Pharmacol*, 1997. **44**: p. 94-97.
165. Keven K, K.S., Nergizoglu G, Ertürk S, *Randomized, crossover study of the effect of vitamin C on EPO response in hemodialysis patients*. *Am J Kidney Dis*, 2003. **41**: p. 1239-1239.
166. Gastaldello K, V.A., Nzame Nze T, Vanherweghem L, Tielemans C, *Resistance to erythropoietin in iron overloaded hemodialysis patients can be overcome by ascorbic acid administration*. *Nephrol Dial Transplant*, 1995. **10(6 (suppl))**: p. S44-S47.
167. Tarng DC, W.Y., Huang TP, Kuo BIT, *Intravenous ascorbic acid as an adjuvant therapy for recombinant erythropoietin in*

- hemodialysis patients with hyperferritinemia*. *Kidney Int*, 1999. **55**(2477-2486).
168. Chan D, I.A., Dogra G., *Efficacy and safety of oral versus intravenous ascorbic acid for anaemia in haemodialysis patients*. *Nephrology*, 2005. **10**: p. 336-340.
169. Land W, *Future challenges in immunosuppression*. *Transplant Proceed*, 1998. **30**: p. 1580-1584.
170. Martínez-Castelao A, B.M., Blanco A, Fiol C, Griñó JM, Bover J, Gil-Vernet S, Andrés E, Serón D, Castiñeiras MJ, Alsina J.; *Lipid metabolic abnormalities after renal transplantation under cyclosporin and prednisone immunosuppression*. *Transplant Proceed*, 1992. **24**: p. 96-98.
171. De Groen PC, *Cyclosporin, low-density lipoprotein and cholesterol*. *Mayo Clin Proc*, 1988. **63**(10): p. 1012-1021.
172. Chan MK, P.J., Varghese Z, Fernando ON, Moorehead JF, *Fat clearances and hyperlipidaemia in renal allograft recipients: the role of insulin resistance*. *Clin Chem Acta*, 1981. **114**: p. 61-64.
173. McCune TR, T.L.I., Peters TG, Mulloy L, Rohr MS, Adams PA, Yium J, Light JA, Pruett T, Gaber AO, Selman SH, Jonsson J, Hayes JM, Wright FH Jr, Armata T, Blanton J, Burdick JF., *Effects of tacrolimus on hyperlipidaemia after successful renal transplantation. A southeastern Organ Procurement Foundation Multicenter Clinical Study*. *Transplantation*, 1998. **65**(1): p. 87-92.