

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Facultad de Medicina



Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición
Salvador Zubirán.

**“EFECTO DEL BLOQUEO DE ALDOSTERONA SOBRE EL
FENÓMENO DE ISQUEMIA REPERFUSIÓN EN
TRASPLANTE RENAL”**

Presenta:
Marcos Ojeda Cervantes

T E S I S

Presentada como requisito para obtener el grado de
MAESTRÍA EN CIENCIAS MÉDICAS

Director de Tesis:
Doctor en Ciencias Médicas
Luis Eduardo Morales Buenrostro



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas

Tesis Digitales

Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INTRODUCCION

I. INTRODUCCION

1.1 Función retardada del injerto.

La insuficiencia renal crónica terminal es un problema de salud pública con un crecimiento exponencial que amenaza en convertirse en una pandemia ^(1,2); si bien es cierto que los procedimientos de sustitución de la función renal como diálisis peritoneal o hemodiálisis constituyen una forma de tratamiento, al compararla con el trasplante renal existe una disminución no sólo de los costos económicos generados sino también una mejora en la calidad de vida de los pacientes y la reinserción a la vida productiva ^(3,4); por lo que hoy en día se considera al trasplante renal como la opción terapéutica de elección ⁽⁵⁾. El injerto puede provenir de un donador vivo ya sea emparentado genéticamente o no, o de un donador con muerte cerebral denominados actualmente como donador fallecido. Las ventajas en el trasplante renal procedente de sujetos genéticamente emparentados confieren beneficios al receptor al haber una mayor compatibilidad inmunológica, así como el procedimiento quirúrgico se lleva a cabo en forma casi simultánea, tanto para la obtención del órgano como para su implante reflejado esto en un trasplante con alto nivel de éxito, funcionalidad inmediata del injerto y lo más importante, una mejor supervivencia a largo plazo. El inconveniente de órganos renales procedentes de sujetos con muerte cerebral es el tiempo que transcurre desde la cirugía de procuración hasta el implante del mismo, por lo que el órgano se encuentra sometido a cambios funcionales generados por la “isquemia fría” y el síndrome de reperfusión. Dentro de las medidas para garantizar la viabilidad del injerto extraído de donador fallecido, la preservación desempeña un papel crucial, desde el mantenimiento del órgano, extracción del mismo, lavado y perfusión con una solución de composición determinada, el almacenamiento hipotérmico y finalmente la implantación del órgano. Por lo anterior, los injertos de donador fallecido muestran una alta frecuencia de lo que se denomina retardo en el funcionamiento del injerto **(RFI)** definido como la necesidad de diálisis dentro de la primera semana posterior al trasplante ⁽⁶⁾. La frecuencia reportada de RFI

Varía de acuerdo a si el injerto proveniente de donante vivo o bien con muerte cerebral, en este último caso la frecuencia reportada es de 2 a 50%; recientes estrategias se han implementado con la finalidad de incrementar el *pool* de donantes utilizando órganos *sub-óptimos* de sujetos con criterios extendidos:

Tabla 1. Criterios extendidos para potenciales donantes de riñón

1.- Edad ≥ 60 años

2.- ≥ 50 años con al menos dos de los siguientes criterios:

- Hipertensión arterial sistémica de más de 10 años de evolución.
 - Muerte por accidente cerebrovascular
 - Creatinina pre-ablación renal de ≥ 1.5 mg/dL
-

Otra estrategia para aumentar el *pool* de donantes es utilizar órganos provenientes de donantes en asistolia, los riñones de este grupo sufren mayor tiempo de isquemia caliente (tiempo transcurrido desde el paro cardíaco hasta el inicio de la perfusión de los órganos con solución de preservación) con una incidencia FRI de 60 a 100%.

En cambio la frecuencia de retraso en la función del injerto después de un trasplante procedente de donante vivo es de 4 al 10%⁽⁷⁻¹¹⁾.

La prevalencia de RFI de trasplantes de riñón proveniente donantes fallecidos varía de un centro a otro, es posible que esto se deba a que no se diferencia si los trasplantes provienen de donantes en asistolia o con corazón latiente, y a la falta de precisión de la definición de RFI. Algunos centros consideran como premisa en la definición la necesidad de diálisis durante los primeros 7 días después del trasplante; excluyendo aquellos pacientes con necrosis tubular aguda no-oligúrica quienes no tienen indicación de diálisis y también incluye erróneamente aquellos pacientes con recuperación lenta del injerto que requieren diálisis por una indicación diferente, como hipercalcemia. Otras variables que han sido utilizadas para definir FRI son el gasto urinario menor a 1200 mL/día o la falta de descenso de la creatinina sérica del 10% o más dentro de las primeras 48 h. Otra variable incluida ha considerado el tiempo en

que se logra una depuración de creatinina de más de 10 ml/min (Cockcroft-Gault), un valor arbitrario como mínimo de función renal ⁽¹²⁾.

Los sujetos quienes desarrollan RFI representan para las instituciones incremento en sus costos debido a una estancia prolongada, complicaciones hospitalarias, y la necesidad de diálisis ⁽¹³⁾. Recientemente una revisión sistemática y metanálisis reportó que los pacientes con RFI tenían un 41% mayor de riesgo de pérdida del injerto a 3.2 años de seguimiento (RR 1.41, IC 95% IC 1.27-1.56) comparados con aquellos sin RFI; sin embargo a 5 años de seguimiento no hubo una relación significativa (RR 1.14, 95% IC 0.94-1.39) ⁽¹⁴⁾.

La Función Lenta del Injerto (**FLI**) se caracteriza por un descenso lento de la creatinina sérica, preservando volúmenes urinarios necesarios para evitar la necesidad de diálisis. La FLI al igual que el RFI está asociada a mayor probabilidad de rechazo agudo y como consiguiente menor sobrevida del injerto a largo plazo ⁽¹⁵⁾.

Los rangos de función renal temprana después del trasplante van desde la anuria, necrosis tubular aguda no-oligúrica, recuperación lenta, recuperación retardada y una función rápida e inmediata del injerto.

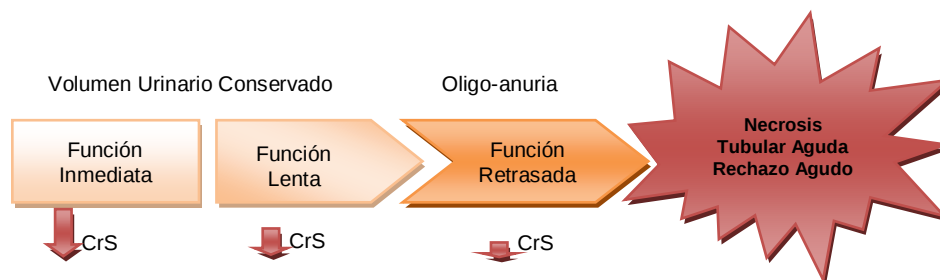


Fig.1 Espectro del comportamiento del injerto renal

Existen diversos factores de riesgo asociados al desarrollo de RFI, con fines didácticos se pueden dividir en tres grandes grupos: a) relacionados con la procuración del órgano, b) relacionados con el donador, c) relacionados patologías en el receptor.

Tabla. 2 Factores de riesgo para RFI.

Procuración

- Riñones procedentes de donante en asistolia
- Uso de inotrópicos en el potencial donante con muerte cerebral
- Preservación
- Tiempo de isquemia caliente
- Fenómeno de isquemia-Reperfusión

Donador

- Edad (> 55 años)
- Donadores marginales (diabéticos o hipertensos)

Receptores**Pre-renales**

- Hipovolemia
- Administración de albumina
- Hemodiálisis nocturna
- Ultrafiltración 24 h antes del trasplante
- Número de trasplantes previos

Renales

- Trombofilia
- Mutación del factor V Leiden
- Terapia con OKT3
- Anticuerpos anti-fosfolípidos
- Necrosis tubular aguda
- Nefrotoxicidad por ciclosporina
- Anticuerpos preformados donador específicos

Post-renales

- Oclusión ureteral
 - Fuga de orina ureteral
-

1.2 Fenómeno de Isquemia-Reperfusión.

El fenómeno de isquemia reperfusión en el contexto del trasplante renal es un proceso complejo que involucra tanto factores glomerulares como tubulares. Se desarrolla como consecuencia de una caída transitoria del flujo sanguíneo, de

forma regional o bien general, seguido de una fase de reperfusión que es vital para la recuperación de los tejidos, pero es bien sabido que conlleva una serie de eventos deletéreos que impactan sobre la morbimortalidad en los pacientes trasplantados y sobre el injerto renal, existiendo hasta el momento sólo terapias de soporte renal. El injerto renal sufre básicamente tres tipos de lesión parenquimatosa: la isquémica, la hipotérmica y la derivada por la reperfusión posterior al implante. El riñón humano difícilmente tolera una isquemia caliente superior a los 30 minutos, después de los 60 minutos el injerto no es viable.

1.2.1 Radicales libres

Dentro de los sistemas biológicos el término de radicales libres describe a una serie de pequeñas moléculas derivadas del oxígeno principalmente son el ion superóxido ($O_2^{\cdot-}$), el ion hidroxilo ($OH^{\cdot}$), radicales peróxido ($RO_2^{\cdot}$) o radicales alcoxil ($RO^{\cdot}$) una característica fundamental es la alta reactividad química que les confiere el tener un electrón desapareado. Las especies radicales pueden combinarse y formar otras especies más tóxicas o dañinas, como el peroxinitrito ($O=NOO^{\cdot}$), que es un producto de reacción del radical superóxido y el óxido nítrico. Los radicales libres reaccionan con substratos orgánicos clave como son los lípidos, las proteínas y el ADN. Otro importante radical libre es el óxido nítrico (NO) que tiene la capacidad de generar por sí mismo iones $OH^{\cdot}$ vía intermedia en la formación del peroxinitrato.

La formación de los radicales libres puede ser considerada en 3 contextos: a) producción exógena, b) Producción fisiológicamente endógena y c) Producción fisiopatológicamente endógena ⁽¹⁵⁻¹⁹⁾.

1.2.2 Producción endógena en condiciones fisiopatológicas

Sistema xantina oxidasa.

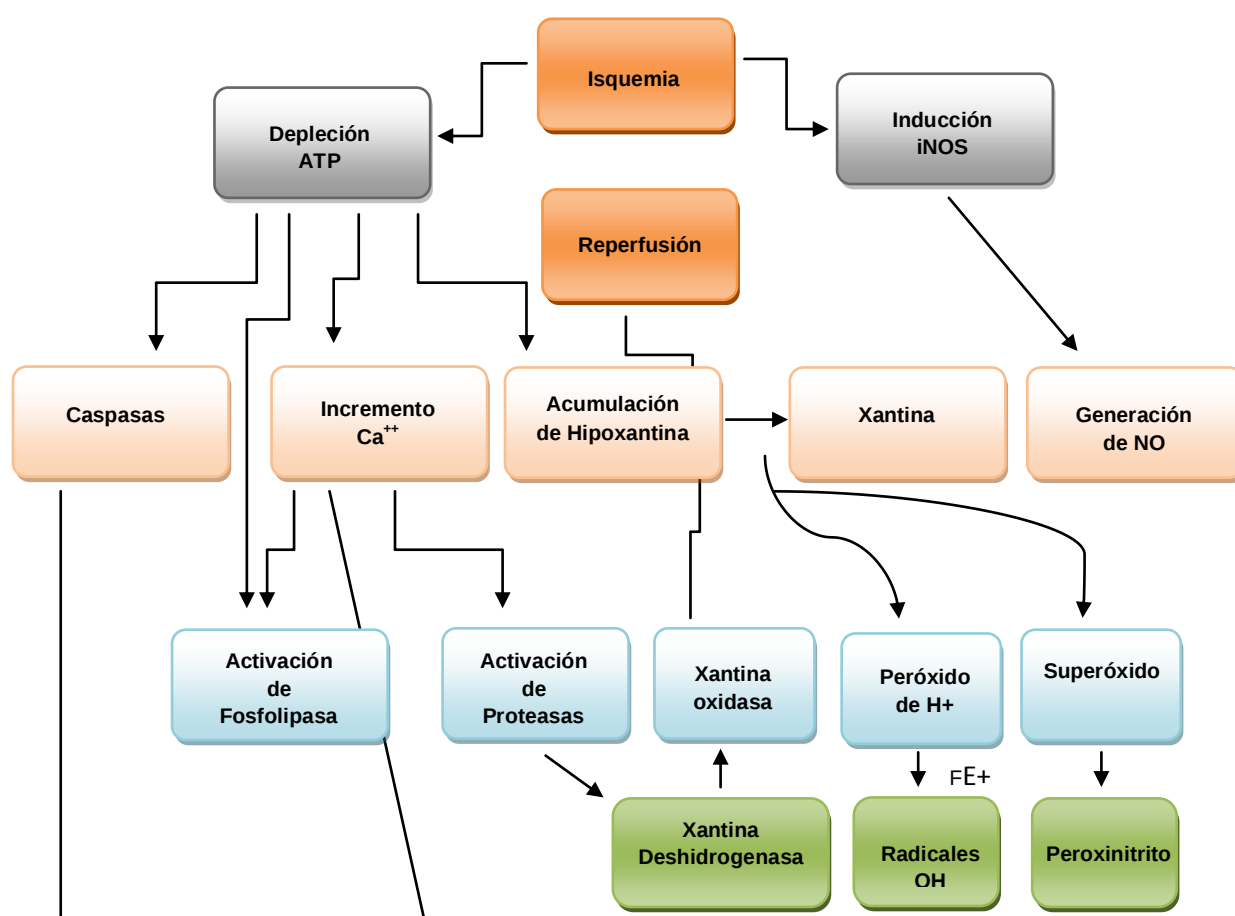
La depleción de Adenosina 5'-Trifosfato (ATP) durante la isquemia tiene como resultado, un incremento en la concentración de hipoxantina (producto de degradación de la adenosina), en condiciones normales la hipoxantina es metabolizada por la enzima xantina deshidrogenasa a ácido úrico, aunque también

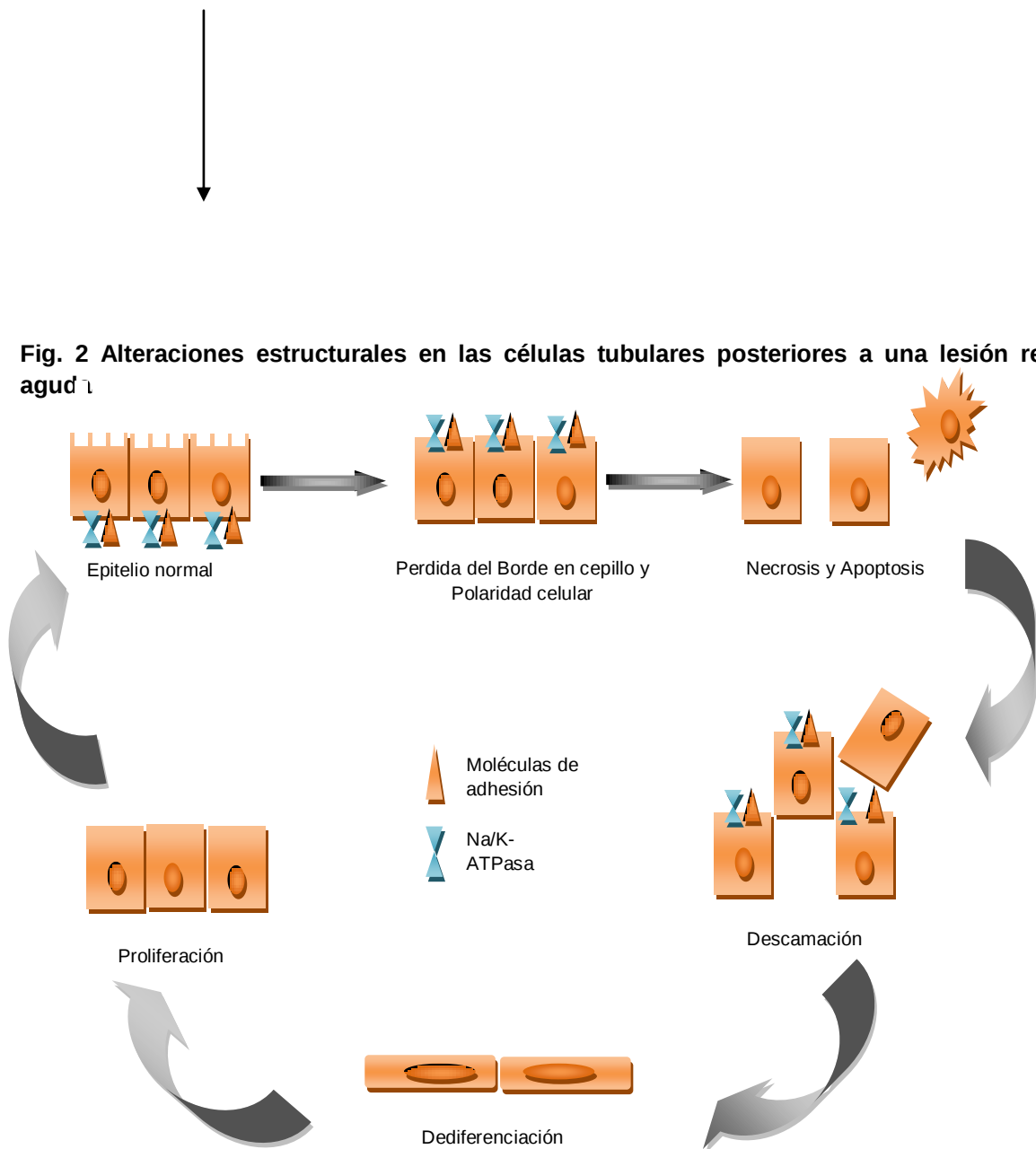
puede ser oxidada por la xantina oxidasa una isoforma de la xantina deshidrogenasa; la conversión de la deshidrogenasa a oxidasa esta mediada por una proteasa dependiente de calcio que es activada durante el periodo de ischemia o bien por otras citocinas. La acumulación de hipoxantina contribuye a la formación de radicales libres, como el peróxido de hidrógeno y el superóxido (20,21).

1.2.3 Membrana plasmática como fuente de radicales libres.

Si bien es cierto que la membrana plasmática es el blanco de las acciones nocivas de los radicales libres de oxígeno, también es fuente de los mismos. El incremento del calcio intracelular post-isquemia produce activación de la fosfolipasa A₂ la cual a través del ácido araquidónico favorece la génesis de radicales libres. Un modelo de ischemia-reperfusión miocárdica con ratones knockout para fosfolipasa A₂ sPLA(2)-X(-/-) mostró un menor tamaño del infarto disminución en la mieloperoxidasa miocárdica y menor liberación de ácido araquidónico cuando se compararon con los ratones sPLA(2)-X(+/+) (22).

Fig. 1 Mecanismos fisiopatológicos implicados en la falla renal aguda isquémica





Los mecanismos de lesión renal aguda inducidos por el fenómeno de I/R son multifactoriales y complejos, en los cuales están involucrados, la hipoperfusión, hipoxia, respuesta inflamatoria celular y el daño por la formación de radicales libres de oxígeno.

1.3 El papel de la aldosterona en el daño renal y beneficios de su bloqueo.

La aldosterona fue descubierta en 1952 por Simpson SA y cols, ⁽²³⁾. Es una hormona esteroidea, sintetizada en la capa externa de la corteza adrenal conocida como zona glomerulosa, aunque también se han reconocido sitios denominados extra-epiteliales implicados en su síntesis como son el riñón, células endoteliales, células del músculo liso del corazón, vasos sanguíneos, y cerebro ⁽²⁴⁾. La esteroidogénesis adrenal es controlada principalmente por dos vías de retroalimentación negativa: el eje Hipotálamo-Hipófisis-Adrenal (HHA) y el Sistema Renina- Angiotensina-Aldosterona (SRAA), otros estimuladores clásicos son potasio, corticotropina, estimuladores neuropéptidos-Aldosterona como las catecolaminas y prostaglandinas.

La aldosterona promueve la reabsorción de sodio en la nefrona distal por unión a su receptor específico intra-citoplasmático que promueve la expresión de diversos genes como: Transportador de Sodio/Cloro, subunidad alfa del canal epitelial de sodio ENaC, canal ROMK y ATPasa Na^+/K^+ de la membrana basolateral expresados en el túbulo distal y túbulo colector ⁽²⁵⁻²⁷⁾.

En modelos animales se ha demostrado la producción intrarrenal de aldosterona así como la expresión de receptores intrarrenales localizados en la vasculatura preglomerular, células mesangiales y células tubulares distales ⁽²⁸⁻³¹⁾; parece ser que los mediadores de progresión de la enfermedad renal promueven la síntesis local de aldosterona sugiriendo de este modo el papel de la hormona en el daño renal. Los mecanismo moleculares por los cuales la aldosterona produce daño renal no han sido bien esclarecidos, existen acciones a las que se les ha denominado “no genómicas”, que podrían ser independientes de la activación de su receptor ⁽³²⁾, es decir que no están involucradas en la expresión de genes, cuya principal participación es la regulación del volumen y equilibrio electrolítico (Na^+ y K^+); dichas acciones no afectan la transcripción genética, ocurren en minutos y se caracterizan por la activación de segundos mensajeros como el trifosfato inositol (IP3), calcio intracelular, disminución de la actividad de la proteína cinasa C (PCK) y la activación de la bomba ATPasa Na^+/K^+ . Otras acciones descritas son favorecer la producción del Factor de Crecimiento Tisular β (TGF- β) y fibronectina por células mesangiales en cultivos. Lo que es más interesante es la abolición del

mismo por antagonistas de la aldosterona ⁽³³⁾. Existe también evidencia de que la aldosterona promueve la proliferación y crecimiento de los fibroblastos a través de vías que involucran la actividad proteínas quinasas. La interacción de la aldosterona con la angiotensina II incrementa la expresión del Inhibidor tipo 1 del Activador de Plasminógeno (PAI-1), mismo que está involucrado en promover la acumulación de matriz extracelular en las células endoteliales; de igual forma su participación en el proceso de inflamación es muy importante al promover la expresión de interleucinas como IL-6, IL-1 β , radicales libres de oxígeno ^(34,35).

En forma muy general la participación de dicha hormona en el daño renal traducido por fibrosis túbulo-intersticial son: activación de señales involucradas en el proceso de inflamación, sobre-expresión de factores de crecimiento, síntesis de moléculas de señalización que participan en la proliferación celular y síntesis de matriz extracelular, sugiriendo todos ellos el papel como hormona profibrótica.

Estudios previos de nuestro laboratorio mostramos la participación de la aldosterona en la fisiopatología de la nefrotoxicidad por ciclosporina (CsA). Se han descrito dos formas de nefrotoxicidad: la nefrotoxicidad aguda o moderada y la nefrotoxicidad crónica o severa. La nefrotoxicidad aguda se caracteriza por vasoconstricción renal, lo que produce una reducción en la tasa de filtración glomerular. En cambio, la nefrotoxicidad crónica se caracteriza por la presencia de lesiones estructurales como arteriopatía y fibrosis túbulo intersticial, siendo esta última lesión irreversible ⁽³⁵⁻³⁷⁾. En el modelo de nefropatía crónica por CsA, se mostró que la administración de espironolactona redujo de manera significativa el porcentaje de fibrosis túbulo-intersticial y de arteriopatía. Estudios previos y de otros autores han demostrado que la nefrotoxicidad crónica por CsA está asociada con la sobre-expresión de TGF- β , en este estudio los niveles de RNAm de TGF- β se redujeron en el grupo tratado con espironolactona; enfatizando el papel del TGF- β en promover alteraciones estructurales vinculados con aldosterona. Un estudio demostró que la aldosterona incrementó la muerte celular por apoptosis en

endotelio vascular humano y músculo esquelético a través de mecanismos que implicaban la activación de caspasa-3; de forma similar, las ratas que fueron alimentadas con dieta baja en sodio y a las cuales se les administró CsA desarrollaron un incremento significativo de los niveles de RNAm de caspasa-3 y muerte celular por apoptosis, fenómeno que no fue observado en el grupo tratado con espironolactona, lo que sugiere por lo tanto, que la aldosterona promueve la muerte celular por apoptosis en la nefrotoxicidad crónica. Otro hallazgo particularmente interesante de éste estudio fue el efecto la espironolactona previno la disfunción renal ⁽³⁸⁾. En un estudio posterior se encontró que la aldosterona también previno la nefrotoxicidad aguda por CsA que se caracteriza sólo por vasoconstricción renal ⁽³⁹⁾. También ha sido demostrado que el uso de espironolactona evitó la progresión de la disfunción renal y la fibrosis, en las ratas con nefrotoxicidad crónica por CsA previamente establecida ⁽⁴⁰⁾. Por lo tanto, estos resultados sugerían fuertemente, que la aldosterona modula el tono del lecho vascular renal y que en la nefrotoxicidad por CsA participa en vasoconstricción renal que se observa en esta nefropatía.

Otro modelo que se ha utilizado para estudiar si la aldosterona participa en promover la vasoconstricción renal es el de isquemia/reperfusión. Por lo que, se ha evaluó si el tratamiento profiláctico con espironolactona podía prevenir el daño renal en este modelo. En efecto, la administración de espironolactona fue capaz de prevenir la disfunción renal y el daño estructural inducido por un proceso de isquemia/reperfusión ⁽⁴¹⁾. Gros y col. Reportaron que la aldosterona está implicada en la vasoconstricción de células vasculares de músculo liso humanas, de manera dosis dependiente, y este efecto de vasoconstricción fue abolido con espironolactona o esplerenora, sugiriendo por lo tanto la participación de los receptores mineralocorticoides ⁽⁴²⁾.

Se sabe que el tono de los vasos pre y posglomerulares, esta mediado por el oxido nítrico (NO) regulando la hemodinámica de la filtración glomerular. El NO es derivado de la sintasa de oxido nítrico de las cuales existe tres isoformas: isoforma neuronal (nNOS), isoforma inducible (iNOS) e isoforma endotelial (eNOS). La

eNOS se encuentra en el endotelio de las arteriolas aferentes y eferentes, capilares glomerulares, túbulo proximal, asa ascendente de Henle y conductos colectores. La sintasa de óxido nítrico inducible (iNOS) se expresa en diversos segmentos de la nefrona y se activa bajo condiciones inflamatorias. La iNOS se encuentra estrechamente relacionada con el fenómeno de I/R y se ha observado una disminución en la expresión de NO derivado de eNOS en dicho fenómeno (43,44,45).

En este estudio de I/R hubo una reducción en la excreción de nitritos y nitratos (NO_2/NO_3) en orina de 24 h, ambos considerados como metabolitos del NO, sin embargo en los animales tratados con espironolactona se previno la caída de estos metabolitos de NO, sugiriendo otro mecanismo de protección de daño renal. Los mecanismos que regulan la actividad de la eNOS es a través de modificaciones postraduccionales, en los cuales está implicada la fosforilación de la enzima. Existen cinco sitios potenciales de fosforilación, que están vinculados con la regulación de su actividad: la fosforilación de las serina 617, 635 y 1179 (1777 rata), traducen aumento de su actividad enzimática, por lo contrario, la fosforilación de la serina 116 y treonina 497 se asocian con reducción en la síntesis de NO ⁽⁴⁶⁾. En este estudio, los animales tratados con espironolactona se observó un aumento en la expresión de eNOS en el riñón y en la cantidad de eNOS fosforilada en el residuo S1177, aunado a una reducción en la fosforilación del residuo T497 lo que sugiere que la responsable del incremento de la excreción urinaria de NO_2/NO_3 y restablecimiento del flujo sanguíneo renal es la eNOS.

Parte de la fisiopatología en la I/R es la generación de radicales libres de oxígeno que están asociados con efectos nocivos a la membrana celular; este estudio de I/R se observó una reducción en la lipoperoxidación renal promovida por la espironolactona con un incremento significativo de RNAm de superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa, enzimas consideradas como antioxidantes.

De esta forma estos estudios hasta el momento sugieren que la aldosterona es una hormona estrechamente relacionada con la lesión renal aguda y que podría ser un blanco terapéutico para la prevención de efectos deletéreos relacionados

con I/R en diferentes contextos clínicos como trasplante de diferentes órganos, cirugía que involucre pinzamiento aórtico, pacientes susceptibles a desarrollar lesión renal aguda por alteraciones hemodinámicas intrínsecas a la enfermedad o relacionadas con el procedimiento terapéutico-quirúrgico.

1.4 El bloqueo de la Aldosterona en la clínica

Hacia 1955, Conn describió el primer caso de hiperaldosteronismo primario ^(47,48); posteriormente se demostró en una serie reportada de 145 casos con esta enfermedad que hasta el 85% cursaba con proteinuria; manifestación atribuida al daño renal debido a la hipertensión arterial sistémica o a la hipokalemia severa con la que cursaban estos pacientes. Hasta años recientes se ha propuesto que la aldosterona está implicada en mecanismos de daño renal iniciando así la terapia de bloqueo de aldosterona.

El estudio RALES (*The Randomized Aldactone Evaluation Study*) demostró una reducción en la morbilidad y mortalidad en pacientes con falla cardíaca ⁽⁴⁹⁾; éste estudio evaluó el papel de la espironolactona en la prevención de falla cardíaca recurrente y mortalidad en pacientes con disfunción ventricular izquierda; estudios previos al RALES ya consideraban la participación de la aldosterona en la fisiopatología de la falla cardíaca, así mismo se sugería que las dosis usuales de los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA) no suprimían completamente la producción de aldosterona, fenómeno conocido como “escape de la aldosterona”^(50,51), que podría ser secundario a la producción de angiotensina II (AII) no dependiente de ECA o bien a que la síntesis de aldosterona era independiente a la producción de AII.

Por lo siguiente el objetivo de dicho estudio fue determinar la estrategia de dosificación y seguridad de la espironolactona usada en forma conjunta con inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina y un diurético de asa. Se utilizaron dosis establecidas en 4 grupos de tratamiento de 12.5 mg, 25 mg, 50 mg, 75 mg. Uno de los eventos adversos de interés por el antagonismo de la aldosterona fue el incremento en la incidencia de hiperkalemia de 5%, 13%, 20% y

24% para los grupos tratados con 12.5, 25, 50,75 mg respectivamente, otros factores asociados con esta complicación fueron niveles séricos de potasio ≥ 4.2 mmol/L, creatinina sérica > 1.60 mg/dL, dosis de espironolactona de 50 y 75 mg/día y el uso de IECA diferentes al captopril.

Posterior al reporte del estudio RALES se incremento la tasa de prescripción de espironolactona y como consecuencias la incidencia de hiperkalemia. La tasa de prescripción era de 34 por 1000 pacientes en 1994 incrementando a 149 por 1000 pacientes para el 2001; la tasa de hospitalización por hiperkalemia se incrementó de 2.4 por 1000 pacientes en 1994 11.0 por 1000 pacientes en el 2001, y la mortalidad asociada se incremento de 0.3 por 1000 a 2.0 por 1000

pacientes ⁽⁵²⁾. En relación a el desarrollo de hiperkalemia, enfatizamos que la incidencia se incremento dosis dependiente, con dosis mayores a 25 mg/día.

Muchos de esos pacientes que recibieron espironolactona posterior al estudio no tenían falla cardíaca, cerca de un tercio tenían insuficiencia renal y en más de un tercio recibían suplementos de potasio.

Entre otros fármacos que se han asociado más y que potencializan el efecto hiperkalemiante de la aldosterona se encuentran los antiinflamatorios no esteroideos, beta-bloqueadores, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina, sólo por mencionar algunos; además para que la aldosterona tenga dicho efecto deberá existir función renal; órgano blanco, específicamente túbulo distal, donde se llevará a cabo la absorción intraluminal de potasio.

Existe evidencia que el bloqueo de la aldosterona con espironolactona asociado al bloqueo de la ECA reduce la tasa de excreción de proteínas, las dosis utilizadas de espironolactona por lo general han sido de 25 mg/día; en un estudio llevado a cabo en el 2004 por Rachmani en 46 pacientes diabéticos utilizando dosis de 100 mg/día con un tiempo de 12 meses, 7 pacientes presentaron incremento en los niveles séricos de potasio de 5.0 a 5.4 mmol/L. En este mismo estudio el nivel promedio de creatinina sérica basal de 0.91 ± 0.03 mg/dL. La incidencia de hiperkalemia asociada al bloqueo de aldosterona parece estar relacionada con la

dosis, con la combinación de fármacos potenciales que incrementan la probabilidad del desarrollo de dicha complicación y del daño renal existente.

1.5 Biomarcadores como subrogados de lesión renal aguda.

Uno de los biomarcadores usados desde 1926 para el diagnóstico de lesión renal aguda ha sido la creatinina sérica, sin embargo una elevación de la creatinina sérica no siempre es sensible para su detección. Este fenómeno se ha observado en biopsias de injertos renales, en las cuales un número sustancial de éstas tiene evidencia de alteraciones estructurales que evidencian daño renal sin incremento de la creatinina sérica ⁽⁵³⁾. Generalmente la elevación de la creatinina sérica es días posteriores al insulto renal. Un estudio demostró como la creatinina sérica se incrementa hasta 72 h posteriores a la lesión renal aguda ⁽⁵⁴⁾. Otros factores que hacen que la creatinina sérica pierda su sensibilidad para el diagnóstico temprano de lesión renal aguda son: enfermedades hepáticas, baja masa muscular, volumen de distribución de la creatinina como sucede en la resucitación agresiva de volumen que puede mantener en parámetros normales las cifras de creatinina sérica.

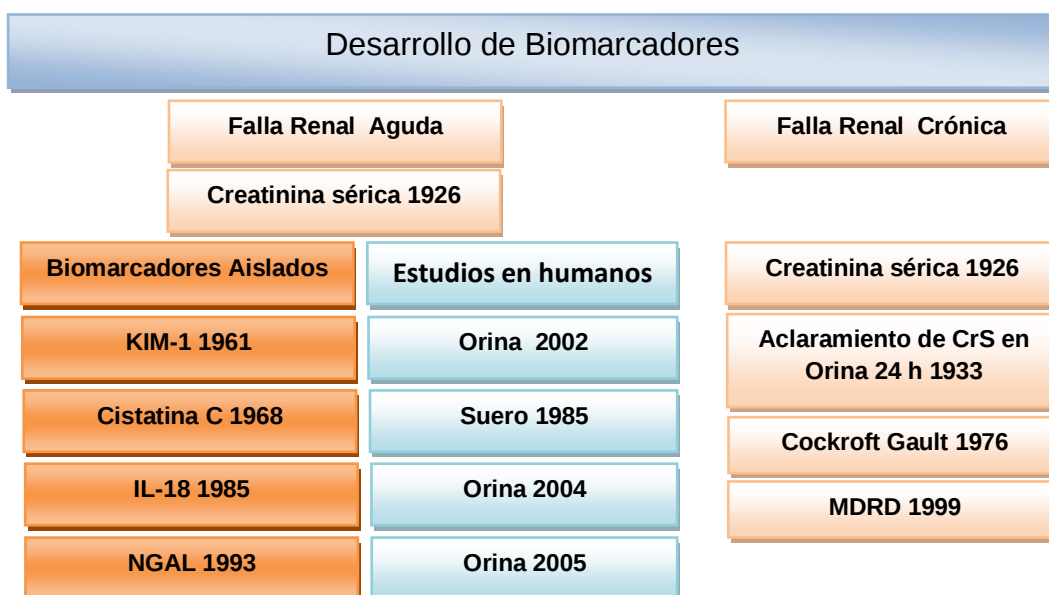


Fig. 4 Línea del tiempo. Demuestra el descubrimiento de biomarcadores y los primeros estudios con aplicación clínica.

1.5.1 Kidney Injury Molecule-1.

Kidney injury molecule-1 (KIM) es una glucoproteína transmembrana la cual contiene en su porción extracelular un dominio semejante a una inmunoglobulina con 6 cisteínas, dos sitios de glucosilación y un dominio rico en Treonina/Serina-Prolina (Thr/Ser-Pro) característico de proteínas glucosiladas-O como mucina y un dominio citoplasmático, corto que posee sitios potenciales de fosforilación ⁽⁵⁵⁾.

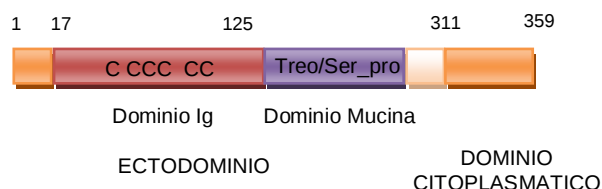


Fig. 5 Estructura de KIM-1. Tipo de glucoproteína transmembrana que contiene en su porción extracelular un ectodominio en el que se muestran dos dominios principales. Dominio Ig rico en cisteínas; dominio mucina rico en Tre/Ser-Pro.

El ectodominio es liberado de las células in vitro ⁽⁵⁶⁾ e in vivo en orina de roedores ^(57,58) y humanos después de un daño tubular ⁽⁵⁹⁾. Esta liberación es regulada por vías de señalización dependiente de las MAP cinasas que son activadas bajo situaciones de estrés ⁽⁶⁰⁾.

KIM-1 ha sido marcadamente sobre-regulado en tejido de ratas con daño tubular y no ha sido detectado en tejido renal de humanos sanos.

La utilidad como un biomarcador subrogado de lesión renal o daño tubular ha sido evaluada en diferentes contextos de enfermedad renal: Isquemia, daño renal mediado por angiotensina, diversas toxinas incluyendo cisplatino, gentamicina,

mercurio, cromo, cadmio, medio de contraste ionizado, vancomicina, ciclosporina, nefropatía por sobrecarga de proteínas, nefropatía por envejecimiento ⁽⁶¹⁻⁶⁴⁾.

En 1998 Ichimura y col. mostraron que KIM-1 era indetectable en tejido renal proveniente de sujetos sanos y se expresaba abundantemente en riñones post-isquémicos ⁽⁵⁵⁾.

La expresión de KIM-1 es más notable en segmentos S3 de segmentos cortico-medulares que son más propensos a daño por isquemia. También se encuentra expresado en túbulos de nefronas superficiales o medio-corticales donde la agresión primaria no es necesariamente en el segmento S3.

Otro estudio demostró en 201 pacientes con falla renal aguda que tiene valor predictivo en el desenlace de eventos como muerte o requerimientos de diálisis. Los pacientes dentro del cuartil más alto para KIM-1 tenían 3.2 (*odds ratio*) veces más riesgo de diálisis o muerte dentro del hospital cuando se compararon con los pacientes dentro del cuartil más bajo ⁽⁶⁵⁾.

Zhang y cols. Analizaron la expresión de KIM-1 en tres grupos de biopsias de pacientes trasplantados: a) Biopsias de injerto por protocolo en pacientes clínicamente estables (< 1 año después del trasplante) (n=25), b) biopsias con signos morfológicos de daño tubular agudo (n=25), c) biopsias que mostraban rechazo agudo celular (n=12). Encontraron la expresión de KIM-1 en el 100% de todas las biopsias con daño tubular agudo y 92% en las biopsias que mostraban rechazo agudo celular. Por el contrario, 72% de las biopsias de protocolo no mostraban tinción para KIM-1. Hubo una correlación positiva entre la expresión de KIM-1 y los niveles séricos de creatinina y nitrógeno ureico sérico (BUN) y una correlación inversa con la estimación de la tasa de filtración glomerular ⁽⁶⁶⁾.

Un estudio en pacientes sometidos a cirugía cardíaca estudiaron el comportamiento de KIM-1, NAG y NGAL; encontraron que inmediatamente después de la cirugía y 3 h después el área bajo la curva para el diagnóstico de lesión renal aguda posterior a la cirugía fue para KIM-1 de 0.68 y 0.65, NAG 0.61 y 0.63, para NGAL 0.59 y 0.65. La combinación de los tres biomarcadores para la detección de lesión renal aguda fue de 0.75 y 0.78 ⁽⁶⁷⁾.

1.5.2 Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin

Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL) es una proteína de 21 kD que pertenece a la superfamilia de las lipocalinas. Existe una gran diversidad de secuencias dentro de la familia de las lipocalinas; sin embargo muchas de ellas comparten motivos proteicos característicos. Estudios basados en cristalografía sugieren una estructura aceptor de ligandos, dependiente de secuencias aminoacídicas muy conservadas que exhiben la formación de ocho

láminas plegadas beta con la que forman una estructura muy similar a una canasta (*beta strand basket-like structures*) que se denomina en la terminología técnica como barril beta (*beta-barrel*) ⁽⁶⁹⁾. Las lipocalinas tienen múltiples funciones, por mencionar sólo algunas: participan en el transporte de componentes grasos como el complejo vitamínico A, ácidos grasos, ácidos biliares, fármacos y tóxicos; están implicadas en la fisiología hematoinmune, neurofisiología, fisiología de la reproducción y fertilidad, proliferación y división celular, supervivencia y apoptosis, función enzimática.

NGAL ha sido considerado como otro biomarcador de daño renal que se encuentra sobre-regulado en modelos de lesión renal aguda experimental y ha sido posible su detección tanto en suero como en orina ⁽⁷⁰⁾. NGAL ha sido investigado en diferentes contextos clínicos, después de cirugía cardíaca ⁽⁷¹⁻⁷³⁾, pacientes en terapia intensiva ^(74,75), en pacientes que reciben medio de contraste para realización de angiografía coronaria ^(76,77) y pacientes ingresados a un servicio de urgencias ⁽⁷⁸⁾; también ha sido estudiado tanto en población pediátrica como adultos ^(74,75,79,80).

Un metanálisis reciente evaluó la precisión de NGAL en el diagnóstico y pronóstico en lesión renal aguda, incluyó en su análisis 19 estudios de 244 estudios publicados, se analizaron los resultados de 2 538 pacientes en diferente contexto de lesión renal aguda; el desenlace primario fue lesión renal aguda definida como incremento de los niveles de creatinina sérica >50% de la basal dentro de los primeros 7 días o nefropatía inducida por contraste (incremento de la creatina

>25% o > 0.5 mg/dL en adultos o >50% de incremento en niños; dentro de las 48 h). Otros desenlaces fueron inicio de terapia de reemplazo renal y mortalidad en el hospital. De los 2 538 pacientes el 19.2% (487) desarrollo lesión renal aguda. Las curvas SROC/AUC-ROC para predecir lesión renal aguda fueron de 18.6 (IC 95%, 9.0-38.1)/0.815 (IC 95%, 0.732-0.892). Se encontró ser mejor predictor de lesión renal aguda en el contexto de exposición a medio de contraste (SROC, 92, AUC-ROC, 0.894). La especificidad del nivel de NGAL para predecir lesión renal aguda después de la exposición al medio de contraste fue > 95%, mientras que fue aproximadamente del 75% después de cirugía cardíaca, 70% para pacientes en terapia intensiva. La curva SROC/AUC-ROC de los niveles de NGAL en plasma/suero fueron similares en las determinaciones de NGAL en orina; sin embargo la predicción de lesión renal aguda fue ligeramente más alta en los valores de corte urinarios. Los niveles de NGAL fueron de utilidad pronóstica con respecto a la predicción de inicio de terapia de reemplazo renal (12.9 (IC 95%, 4.9-33.9)/0.782 (IC 95% 0.648-0.917) y la mortalidad hospitalaria (8.8 (IC 95% 1.9-40.8)/0.706 (IC 95% 0.530-0.747). Finalmente este estudio reportó que NGAL tiene bajo nivel predictivo con amplios intervalos de confianza en adultos comparado con niños; por lo que parece ser que la edad es un factor modificador de NGAL. El comportamiento de NGAL en muestras de orina, plasma/suero parece ser muy similar. Los valores de corte parecen estar situados > 150 ng/mL; existe gran dispersión de los valores cuando los puntos de corte son bajos, y como consecuencia la especificidad baja ⁽⁸¹⁾.

Con base a lo anterior el objetivo de este estudio fue evaluar si el bloqueo de los receptores mineralocorticoides con espironolactona en pacientes sometidos a trasplante renal atenuaba las acciones deletéreas dadas por la espironolactona disminuyendo la expresión de NGAL, KIM-1 y estrés oxidativo.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

En pacientes receptores de trasplante renal tanto de donador fallecido, como de donador vivo debido a los tiempos de isquemia, es inevitable que sufran todos los efectos deletéreos del fenómeno isquemia-reperfusión que finalmente son los principales factores causales de la función retardada del injerto y una menor sobrevida del mismo. Estudios experimentales previos de nuestro grupo han demostrado, que gran parte del daño renal ocasionado por el fenómeno de isquemia-reperfusión es mediado por la acción de aldosterona, ya que cuando las ratas son previamente tratadas con espironolactona, se reducen significativamente los marcadores de estrés oxidativo y las lesiones histopatológicas típicas del daño por isquemia reperfusión, además de mejorar los parámetros bioquímicos de función renal. Por lo anterior y ante la falta de estudios clínicos en la literatura, este estudio pretende contestar la siguiente interrogante:

¿El bloqueo de aldosterona con espironolactona es capaz de atenuar los efectos del fenómeno isquemia-reperfusión en receptores de trasplante renal?

III. JUSTIFICACIÓN

Durante las últimas tres décadas y hasta el momento, la población con enfermedad renal crónica y enfermedad renal crónica con requerimientos de tratamiento sustitutivo de la función renal, ya sea diálisis peritoneal o hemodiálisis, ha mantenido un constante crecimiento alcanzando proporciones alarmantes, considerándose actualmente un problema de salud pública no sólo por los gastos que genera su atención, sino también, por el impacto al reducir la calidad y expectativa de vida de la población afectada.

El trasplante renal es considerado la mejor opción terapéutica, sin embargo, a pesar de contar con mejor arsenal de terapias inmunosupresoras, que se traduce con una menor pérdida del injerto en etapas tempranas, dichos resultados no han podido traducirse en una mejor sobrevida del injerto a largo plazo. Los efectos del fenómeno de isquemia-reperfusión son más notables sobre los riñones procedentes de pacientes con muerte cerebral, dado que son sometidos a mayor tiempo de isquemia fría y por consiguiente los receptores, desarrollan con mayor frecuencia retardo en la función del injerto; lo que en múltiples estudios ha sido confirmado como un factor de riesgo independiente de pérdida del injerto e incluso de mayor frecuencia de rechazos agudos. La pérdida de los injertos renales significa reingresar a los pacientes a programas de terapia sustitutiva de la función renal, cuyos costos biológicos y económicos superan de manera significativa los costos de mantener injertos funcionales.

Estudios en animales han demostrado que el bloqueo de los receptores mineralocorticoides con espironolactona antes y después de la isquemia-reperfusión, tienen un efecto nefroprotector, este efecto ha sido sustentado al disminuir las alteraciones bioquímicas e histopatológicas ya descritas, cuando se compara con animales sin intervención farmacológica. De tal manera que éste estudio nos permitirá trasladar nuestras observaciones del nivel experimental a la práctica clínica. Si se logra reproducir dichos hallazgos, se reducirán los efectos asociados al síndrome de isquemia-reperfusión en el área de trasplante renal, tanto receptores de donante vivo o fallecido; obteniendo mayor beneficio aquellos pacientes que reciban órganos procedentes de donante fallecido, dado que estos pacientes son más vulnerables a desarrollar retardo en la función del injerto, impactando directamente en la sobrevida del injerto renal.

HIPOTESIS

Hipótesis de Trabajo:

1.- El bloqueo de los receptores mineralocorticoides con espironolactona en pacientes sometidos a trasplante renal disminuirá marcadores de estrés oxidativo así como biomarcadores de daño tubular (NGAL y KIM-1) en por lo menos un 50%, cuando se comparen con el grupo de pacientes con trasplante renal sin intervención farmacológica.

OBJETIVOS

V. OBJETIVOS

Objetivo General:

1. Evaluar el impacto de atenuar las acciones deletéreas de aldosterona en el fenómeno de isquemia reperfusión, por medio del bloqueo de los receptores mineralocorticoides con espironolactona en receptores de trasplante renal.

Objetivos Específicos:

1. Cuantificar el estrés oxidante y lesión tubular, producto del daño por isquemia-reperfusión, en receptores de trasplante renal de donador vivo, mediante la medición de:
 - a. Peróxido de hidrógeno en orina.
 - b. Biomarcadores de daño tubular en orina: Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL) y Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1).
2. Comparar los marcadores de estrés oxidante y de daño tubular renal en los receptores con y sin bloqueo de aldosterona.
3. Cuantificar mediante histomorfometría (morfometría del área tubular dañada), el daño histológico producido por el fenómeno de isquemia-reperfusión al quinto día postrasplante en biopsias del injerto renal.
4. Contrastar el grado de daño histológico con y sin el uso de espironolactona.

PACIENTES Y METODOS

VI. PACIENTES Y MÉTODOS

6. Diseño del Estudio: Ensayo clínico, doble ciego, controlado con placebo.

6.1 Universo de estudio: Pacientes receptores de trasplante renal del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

6.2 Muestra de estudio, cálculo del tamaño de muestra: Se trató de un estudio piloto. Puesto que no hay estudios previos al respecto no realizamos el cálculo del tamaño de muestra. El tamaño de la muestra fue realizado por conveniencia. Dado que el número de trasplantes que se realizan en el Instituto es en promedio de 40 sujetos por año decidimos incluir un total de 20 sujetos receptores y como controles los 20 donadores, es decir 20 parejas en total (donador-receptor).

6.3 Grupos de estudio y asignación de la intervención: Se realizó una aleatorización por bloques fijos, conformado cada bloque por 4 sujetos receptores, 2 para el brazo de espironolactona 25 mg y dos para el brazo de placebo. Un total de 5 bloques (n=20).

Para fines de este estudio se formaron los siguientes grupos de 10 pacientes cada uno. La administración del espironolactona 25 mg o placebo fue por vía oral 24 h antes del trasplante y cada 24 h los tres días posteriores al trasplante. Para fines de este estudio se formaron los siguientes tres grupos conformados por 10 pacientes cada uno.

A) Receptores de trasplante renal de donador vivo con uso de espironolactona (n=10).

B) Receptores de trasplante renal de donador vivo sin uso de espironolactona (n=10).

C) Grupo de sujetos sanos (n=20).

Este grupo fue conformado por 10 donadores renales, mismos que recibieron la intervención farmacológica de acuerdo al brazo asignado a su receptor, es decir espironolactona 25 mg o placebo. Única dosis 24 h antes de la nefrectomía laparoscópica. El objetivo de haber incluido este grupo de pacientes fue para obtener unidades de referencia en sujetos que fueron motivo de estudio como donantes y a los cuales se descartó posibles patologías que pudieran contradecir la donación, catalogándolos como sujetos “aparentemente sanos” y que además fueron sometidos a procedimientos de anestesia igual que los receptores, se retiró un riñón y el riñón restante estuvo expuesto a los factores hemodinámicos propios de una cirugía mayor.

6.4 Lugar de Realización: Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

6.5 Periodo de Estudio: El estudio fue llevado a cabo desde marzo de 2009 a Febrero de 2011.

6.6 Criterios de Inclusión:

- Mayores de 18 años.
- Que acepten participar en el estudio y firmen el consentimiento informado.

6.6.1 Criterios de Exclusión:

- Receptores de Trasplante múlti-orgánico.

6.6.2 Criterios de Eliminación:

- Pacientes que presenten complicaciones infecciosas severas, cardiovasculares o de otro tipo que potencialmente pudiera modificar los parámetros a evaluar.
- Pacientes que fallezcan antes de completar las mediciones.
- Aquellos que retiren su consentimiento.

VII. MÉTODOS

7. Recolección y manejo de las muestras:

7.1 Orina:

7.2a) Muestras basales (Previas a procedimiento quirúrgico): se recolectó orina de 24 h a temperatura ambiente en un contenedor de 4 L; se homogeneizó la muestra de orina y posteriormente se tomaron cuatro alícuotas de 4 mL cada una, tanto al receptor como al donador previo a la cirugía.

b) Muestras posteriores a procedimiento quirúrgico (trasplante y nefrectomía). La misma dinámica de recolección se realizó en las muestras de orina de 24 h durante cinco días consecutivos posterior al evento quirúrgico. Las muestras fueron almacenadas a -70°C hasta el momento de su análisis.

7.3 Sangre periférica:

Se tomaron muestras de sangre periférica de 4 mL en tubos con anticoagulante EDTA 24 h previo a la cirugía y los cinco días posteriores a la misma. El mismo procedimiento que fue realizado al receptor y al donador.

Las muestras fueron centrifugadas a temperatura ambiente, a 15 000 g por 10 minutos; el plasma se alicuotó en fracciones de 1.5 mL y se almacenaron a -80°C hasta el momento de su análisis.

7.4 Biopsia del injerto:

Se realizó biopsia de riñón en tiempo cero o basal previo al implante del órgano y al 5º día pos-trasplante en el receptor guiada por ultrasonido por vía percutánea.

8. Estudios bioquímicos

8.1 Estrés oxidante:

8.1.1 Peróxido de hidrógeno urinario.

Los niveles de peróxido de hidrógeno se determinaron como medida indirecta de la producción de anión superóxido que es producido como consecuencia del incremento del estrés oxidante. Para ello se empleó un estuche comercial *Amplex® Red Hydrogen Peroxide/Peroxidase Assay Kit (Invitrogen)* de acuerdo a las instrucciones emitidas por el fabricante. Es un método colorimétrico en el cual el 10-acetil-3,7- dihidroxifeboxizano reacciona con el peróxido de hidrógeno contenido en las muestras produciendo un producto de oxidación rojo-fluorescente; la resurfina, que puede ser cuantificada por espectrofotometría a una absorbencia máxima a 560 nm. Se realizó una curva estándar de peróxido de hidrógeno 1 a 10 μM . Las muestras fueron diluidas en amortiguador de trabajo 1X. Se colocaron 50 μL de cada estándar o muestra en una placa de ELISA posteriormente se les agregó 50 μL de solución de rojo Amplex/HRP conjugado y fueron incubadas las muestras durante 30 minutos protegidas de la luz. Posteriormente la placa fue leída a una absorbencia de 560 nm; la concentración de H_2O_2 fue determinada por la interpolación de la curva patrón. Los resultados se expresaron en unidades de nmol/mL de H_2O_2 .

8.2 Marcadores de daño tubular en orina:

8.2.1 NGAL. Se realizó la determinación de NGAL por técnica de ELISA. Estuche comercial. Bioporto® Diagnostics, Kit 036.

8.2.2 KIM-1. Se realizó la determinación de KIM-1 por técnica de ELISA.

9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

- ❖ Las variables nominales se reportaron en frecuencias y proporciones.
- ❖ Las variables numéricas continuas fueron analizadas mediante la prueba de “Z” de Kolmogorov–Smirnov para conocer su distribución.
- ❖ Los resultados de variables continuas con distribución anormal, se analizaron en medianas y rangos intercuartilares.
- ❖ Se analizaron la diferencia entre dos grupos con distribución anormal bajo la prueba estadística de U de Mann-Whitney.
- ❖ Se consideró una prueba estadísticamente significativa con una $P < 0.05$.

RESULTADOS

Características de los pacientes

Se incluyeron un total de 20 receptores de trasplante renal de donante vivo HLA- idéntico y –no idéntico durante el periodo marzo 2009 a marzo 2010; Las características basales de los receptores se describen en la tabla 1. El esquema de inmunosupresión se llevó de acuerdo al protocolo del Departamento de Trasplante del Instituto Nacional de Ciencias Médicas “Salvador Zubirán”, que consistió en: *a) Esquema de inducción*: Anticuerpos anti-receptor de IL2; 3 pacientes (15%) compartían dos haplotipos por lo no fueron candidatos a recibir fármacos de inducción; *b) Esquema de mantenimiento*: Inhibidor de calcineurina (tacrolimus), antiproliferativo (micofenolato de mofetilo) y prednisona para los 20 receptores. No hubo diferencias estadísticas basales entre los grupos.

Tabla.1 Características basales de receptores.

Variable	Espironolactona	Placebo	Valor de p
	<i>Md (Rango IC)</i>	<i>Md (Rango IC)</i>	
Edad	31.50 (24.75 - 37.75)	32. (23.25 - 43.75)	NS
Genero (H/M)	4/6	6/4	NS
Función renal residual	6	7	NS
Trasplantes previos	0	1	NS
Hemodiálisis	5	3	NS
Diálisis peritoneal	4	4	NS
Trasplante anticipado	1	3	NS
Tiempo de ERC (años)	1 (1 - 3)	1(1 – 6.25)	NS
Etiología			
Diabetes mellitus	2	1	NS
Otras	4	0	NS
Desconocida	4	9	NS
Haplotipos Compartidos			
0 – 1	8	9	NS
2	2	1	NS
Régimen de Inducción			
Sin Inducción	2	1	NS
Timoglobulina	1	0	NS
Basiliximab/Daclixumab	1/6	2/7	NS
Terapia Inmunosupresora	TC/PD/MMF	TC/PD/MMF	NS
Cirugía Laparoscópica	10	10	NS
Conversión a Cirugía Abierta	1	0	NS

Abreviaturas: *Md*, mediana; *IC*, intercuartilar; *TC*, tacrolimus; *PD*, prednisona; *MMF*, micofenolato de mofetilo; *NS*, no significativo.

Tres pacientes en el grupo de placebo recibieron trasplante anticipado y 1 para el grupo de espironolactona. Siete pacientes en el grupo placebo tenían función renal residual y seis en el grupo de espironolactona; definida función renal residual como volumen urinario > 400 ml.

En la tabla 2 y 3 se muestran las variables de cuatro pacientes que presentaron complicaciones en los primeros 5 días posteriores al trasplante, El 75% pertenecían al grupo de espironolactona.

Tabla 2. Parámetros bioquímicos de CrS y biomarcadores de daño tubular.

No	Genero	Edad (años)	Grupo de tratamiento	Haplotipos	TRR	CrS Basal	CrS al 5° día	NGAL pg/ml	KIM-1 ng/mL
1	Mujer	18	Espironolactona	1	DP	3.20	3.49	36412	55.08
2	Hombre	21	Placebo	0	HD	15.60	2.80	40877	51.37
3	Hombre	30	Espironolactona	0	HD	7.53	4.24	40765	51.73
4	Hombre	54	Espironolactona	1	HD	10.85	7.74	41857	65.41

Abreviaturas: *DP*, diálisis peritoneal; *HD*, hemodiálisis, *CrS*, creatinina sérica; *TRR*, terapia de reemplazo renal

En la biopsia del injerto se documentó la participación inmunológica de células T en dos receptores (No. 1 y 3), caracterizado por rechazo celular IA y IB; destacando el desarrollo de anticuerpos donador específico en el sujeto no. 3 sin haberse demostrado por biopsia datos histopatológicos que sugirieran participación humoral. Sin embargo, los niveles de NGAL y KIM-1 en este grupo de 4 pacientes no se vieron incrementados significativamente con respecto al resto de los receptores de riñón. Otras complicaciones asociadas fueron el desarrollo de infección de vías urinarias con aislamiento de *E. coli* BLEE; neumonía nosocomial y alteraciones hemodinámicas intrarrenales secundarias a la presencia de brida que comprimía la vena renal. El comportamiento clínico fue el de retardo en la función del injerto de acuerdo a la definición de Halloran; todos ellos recuperaron la función renal en los primeros 15 días después del trasplante. Destacando que los niveles de biomarcadores de daño tubular no presentaron un

incremento sustancial con respecto a las muestras de pacientes sin función retardada del injerto.

Tabla 3. Complicaciones clínicas y resultado de biopsia.

No	Genero	Edad (años)	Grupo de tratamiento	Otras complicaciones	Biopsia
1	Mujer	18	Espironolactona	Compresión de vena renal por brida. Urosepsis por E. coli BLEE	Rechazo celular AI C4d negativo ADE negativo.
2	Hombre	21	Placebo		Datos de hipoperfusión sin datos francos para NTA. ADE (+)
3	Hombre	30	Espironolactona	Edema agudo pulmonar posquirúrgico inmediato Neumonía Nosocomial	Rechazo celular 1B
4	Hombre	54	Espironolactona		NTA

Abreviaturas: ADE, anticuerpos donador específico; NTA, necrosis tubular aguda.

En el trasplante renal es inevitable la isquemia fría y reperfusión caliente que afecta la nefrona distal con alteraciones tanto funcionales como histológicas similares a la lesión renal aguda por otras causas; en ambos grupos en este estudio no encontramos diferencia estadística con los tiempos de isquemia caliente y fría, variable que incrementa el riesgo de producir efectos deletéreos sobre el aloinjerto.

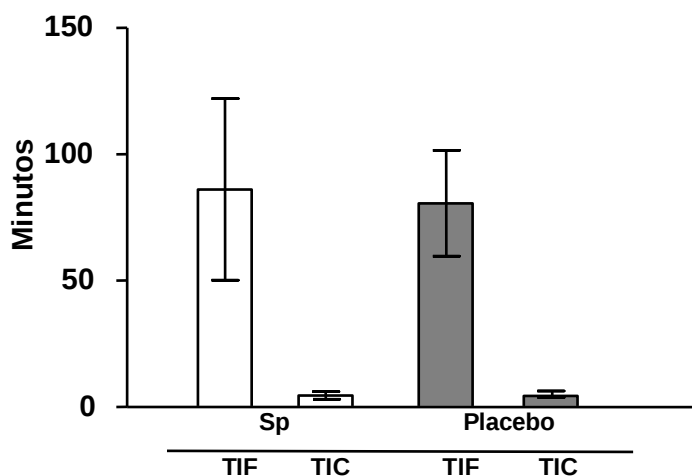


Fig. 1. Tiempos de isquemia fría y caliente. TIF, Tiempo de isquemia fría; TIC, Tiempo de isquemia caliente.

Volumen urinario y marcadores tradicionales.

Se obtuvieron muestras de orina con un tiempo de recolección de 24 h previo a la cirugía de los receptores de trasplante renal y durante los 5 días subsecuentes; como se muestra en el panel A de la figura 2 cuatro de los pacientes aleatorizados al grupo de tratamiento a espironolactona y 3 en el grupo placebo tenían oliguria o anuria pre-trasplante; la finalidad de realizar la recolección de orina pre-trasplante fue para tener un valor de referencia de los valores de los biomarcadores de daño renal y observar la cinética en tiempo en ambos grupos.

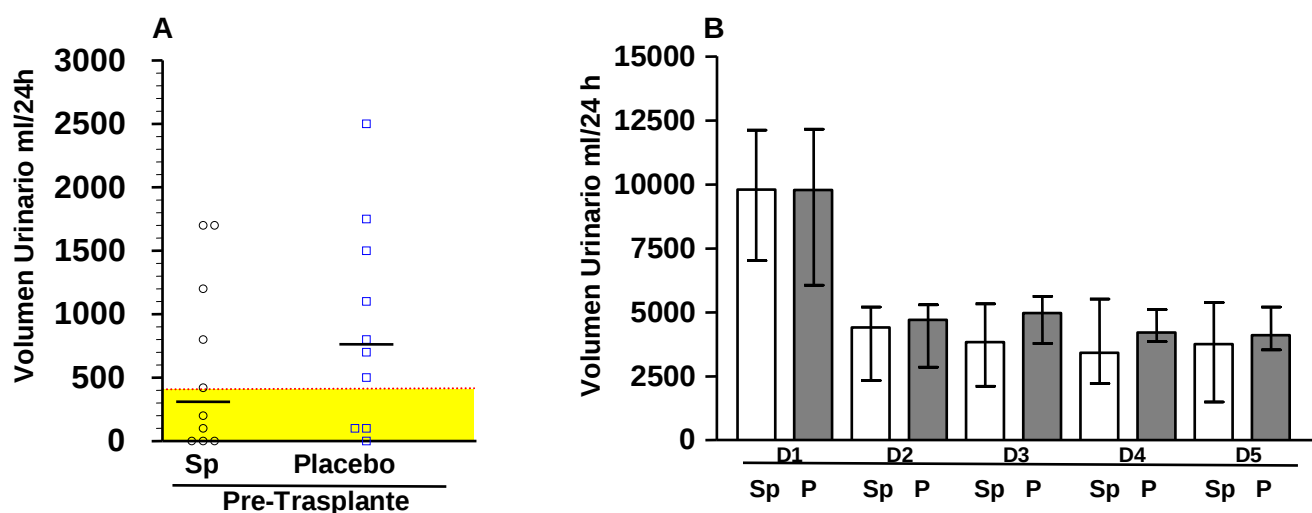


Fig. 2. Volumen urinario basal y postrasplante.

Panel A. Volumen de orina emitido en un periodo de 24 h previo a la cirugía de trasplante. En el grupo de Sp cinco pacientes con función renal residual. En el grupo placebo 7 pacientes con función renal residual. **Panel B.** Volúmenes urinarios de 24 h posteriores al trasplante. Abreviaciones. D1, día 1; D2, día 2; D3, día 3; D4, día 4; D5, día 5; Sp, espironolactona; P, placebo. Mediana y valores máximos y mínimos.

En el panel B de la figura 2 se muestran los volúmenes urinarios posterior al trasplante, llegando a los 10 000 ml de orina/24 h en el día 1 y un descenso de

hasta el 50% del volumen emitido en los días subsecuentes. Todos los pacientes como era de esperarse en el trasplante renal de donador vivo presentaron volúmenes urinarios mayores a los 1500 ml; punto de corte, abajo del cual se ha utilizado para denominar a aquellos pacientes que desarrollan función retardada del injerto.

En el panel A de la figura 3, se muestran los niveles séricos de creatinina pretrasplante y día quinto postrasplante, no hubo diferencia en la mediana de las deltas del día basal o pre-quirúrgico al día 5 para el grupo de espironolactona fue de -6.225 comparada con -6.025 de descenso con el grupo placebo como se muestra en el panel B de la figura 3.

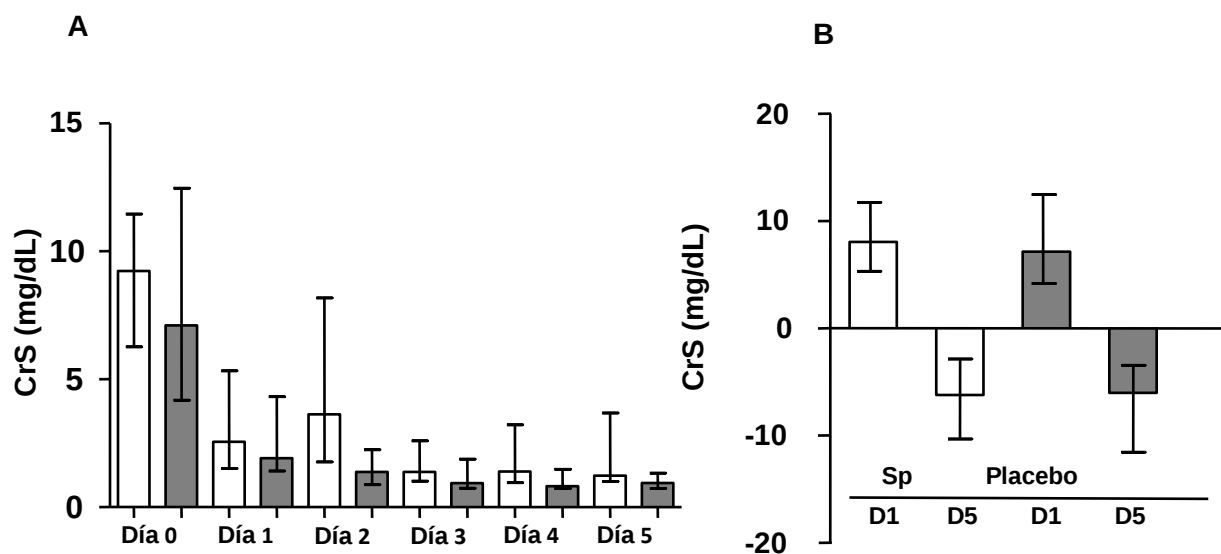


Fig. 3. Panel A. Comportamiento bioquímico de la creatinina sérica previo a la cirugía de trasplante y los primeros 5 días subsecuentes al procedimiento. **Panel B.** Deltas de medianas de creatinina sérica entre el día 1 y el día 5. Abreviaciones. *CrS*, creatinina sérica; *D1*, día 1; *D2*, día 2; *D3*, día 3; *D4*, día 4; *D5*, día 5; *Sp*, espironolactona; *P*, placebo.

Un efecto secundario al uso de la espironolactona es el desarrollo de hipercalemia que puede poner en riesgo la vida del paciente, en estos resultados los niveles de potasio sérico no presentaron un incremento sustancial que tradujera hipercalemia y con ello un efecto secundario al uso de este diurético ahorrador de potasio (figura 4).

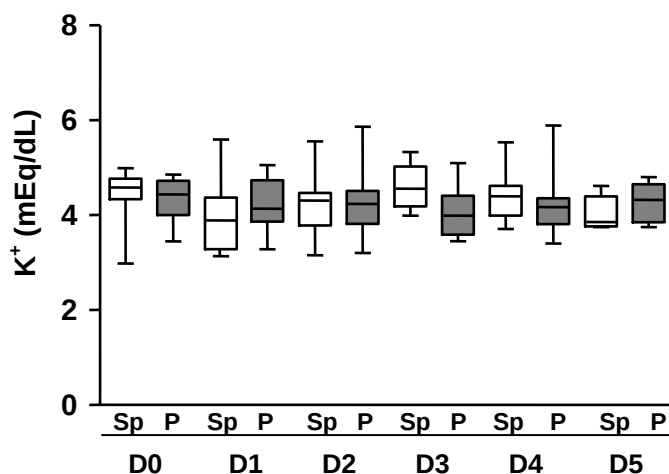


Fig. 4. Comportamiento bioquímico del potasio sérico previo a la cirugía de trasplante y en los primeros 5 días subsecuentes al trasplante.

Biomarcadores de daño tubular (NGAL y KIM-1).

Para determinar el efecto del bloqueo de los receptores mineralocorticoides sobre el daño inducido por el fenómeno de isquemia reperusión realizamos la determinación urinaria de KIM-1 y NGAL; ambos biomarcadores de daño renal resultan de una síntesis local en el riñón más que a una filtración de la sangre. Dado la cinética que han reportado en otros artículos en donde la expresión es máxima en las primeras 2 h posteriores al insulto, con una máxima expresión a las 24 h del daño renal se decidió determinar las concentraciones de NGAL y KIM-1 a las 24 h posteriores al trasplante renal. Un estudio recientemente publicado reportó que los niveles urinarios de NGAL pre-trasplante no se correlacionaron

con la función renal de los riñones nativos ($R= 0.089$, $p=NS$); Otros estudios han demostrado que las concentraciones urinarias de NGAL se encuentran en elevados en pacientes con enfermedad renal crónica. En los 20 receptores de trasplante que se incluyeron, en 7 ($n=20$) no se obtuvo muestra de orina pretrasplante por presentar oligoanuria.

Para obtener valores de referencia de NGAL y KIM-1 urinarios utilizamos las muestras de los donadores pre-nefrectomía y a las 24 h de la cirugía para hacer comparaciones con los receptores de trasplante renal.

En la figura 5 se muestran la comparación de los niveles de KIM-1 urinario en los donantes de riñón ($n=10$) basal y al día uno posterior a la nefrectomía laparoscópica y los niveles urinarios de KIM-1 en los receptores al día 1 post-trasplante. No hubo diferencia estadística de los niveles urinarios de KIM-1 a las 24 h pos-trasplante en ambos grupos de los receptores. Sin embargo, los niveles de KIM-1 urinario a las 24 h pos-nefrectomía fueron mayor respecto a los basales con una diferencia estadísticamente significativa ($p=0.0029$).

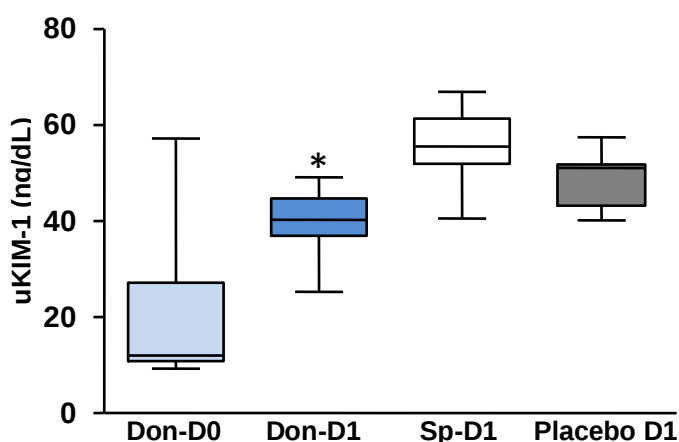


Fig. 5. Determinación de KIM-1 urinario. Incremento a las 24 h post-nefrectomía en donantes de riñón ($n=10$) ($p= 0.0029$). En el grupo espironolactona y placebo sin lograr diferencias en sus medianas. Abreviaturas: *uKIM-1*, KIM-1 urinario; Don, donador, *Sp*, espironolactona; *D0*, día 0; *D1*, día 1.

En relación a la determinación de NGAL urinario observamos el mismo comportamiento en los donadores (Figura 6). La determinación basal de uNGAL fue de 80,49 pg/mL con un incremento hasta dos veces el valor 16,218 pg/mL, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p= 0.01823$). Por otro lado, no hubo diferencia en los niveles de uNGAL en los receptores a las 24 h posteriores al trasplante (Sp= 40,983 pg/mL; Placebo= 29,476 pg/mL).

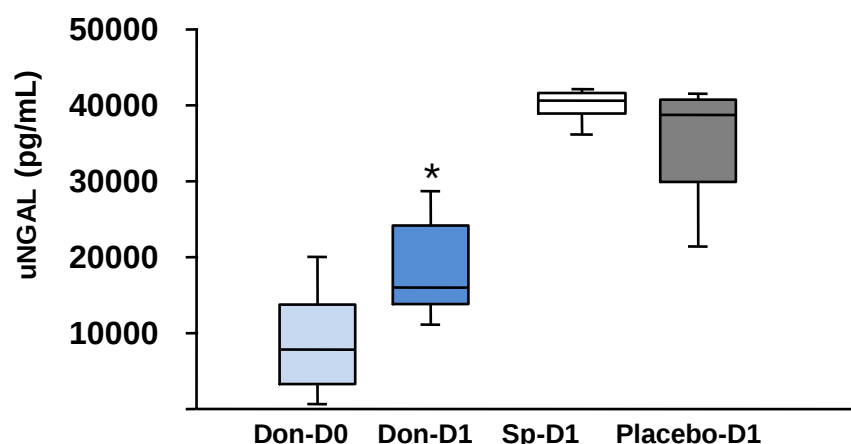


Fig. 6. Determinación de NGAL urinario. Incremento a las 24 h post-nefrectomía en donantes de riñón (n=10) ($p= 0.01823$). En el grupo espironolactona y placebo sin lograr diferencias en sus medianas. Abreviaturas: uNGAL-1, NGAL urinario; Don, donador, Sp, espironolactona; D0, día 0; D1, día 1.

Marcadores de estrés oxidante.

El estrés oxidante es definido en forma muy general como un desequilibrio entre la producción de especies reactivas de oxígeno y la capacidad de defensa antioxidante. Con la finalidad de explorar uno de los mecanismos renoprotectores conferidos por la espironolactona en la isquemia/reperfusión, se realizó la determinación de peróxido de hidrógeno como producto subrogado del estrés oxidante generado durante la cirugía del trasplante. Estudios previos han postulado el papel de la aldosterona en la génesis de la generación de especies reactivas de oxígeno.

Los resultados presentados en la figura 7 muestran los valores de peróxido de hidrógeno en orina (H_2O_2). Se midieron los niveles en orina de H_2O_2 los días 1, 3, 5 posteriores al trasplante. Observando una disminución de la excreción urinaria de H_2O_2 en el grupo de espironolactona desde el día 3, siendo esto estadísticamente significativo al día 5 postrasplante ($p=0.0307$).

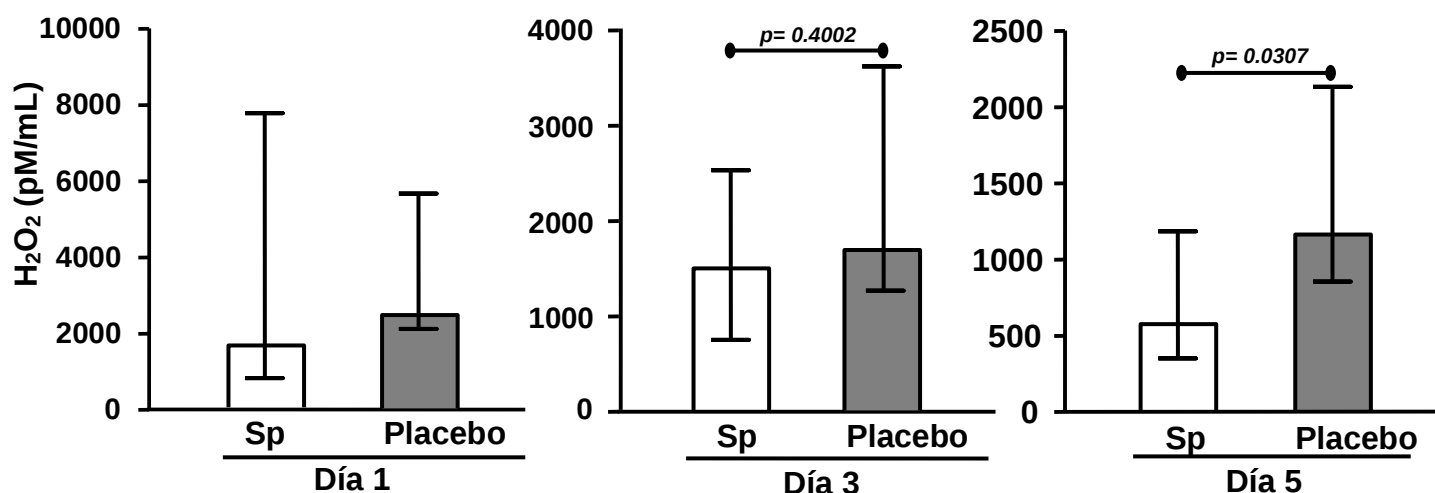


Fig. 7. Peróxido de hidrógeno en Orina (H_2O_2). Se muestran los niveles de H_2O_2 en orina los días 1, 3 y 5 posterior al trasplante renal.

Histología.

Se obtuvieron un total de 11 biopsias basales de los 20 pacientes incluidos; de los cuales sólo se les realizó biopsia del injerto renal al quinto día a 9/11. En la tabla 8 se muestra la distribución de las biopsias basales y al quinto día en el grupo de espironolactona y placebo.

Tabla 4. Distribución de las biopsias basales y al quinto día postrasplante.

BIOPSIA	ESPIRONOLACTONA	PLACEBO	TOTAL
BASAL	3	8	11
5° DIA	2	7	9

TOTAL	5	15	20
-------	---	----	----

En tres pacientes existió indicación médica para no realizar la biopsia del injerto al quinto día, como fueron: 1. colocación de malla abdominal postrasplante; 2. anticoagulación post-trasplante por trombo proximal en arteria femoral; 3. desgarro de arterial polar y dificultad para realizar la anastomosis. Dos pacientes que habían previamente firmado el consentimiento informado no aceptaron la realización de la biopsia al quinto día.

Dado lo anterior no fue factible realizar los estudios histológicos con la finalidad de encontrar posibles diferencias puesto que el número de biopsias quedo desbalanceado en ambos grupos.

DISCUSSION

El fenómeno de isquemia reperfusión (I/R) es una entidad sumamente compleja e inherente al trasplante renal, independiente si se realiza de un donante fallecido o vivo. Las consecuencias de I/R estarán en relación con el tiempo en que se perpetuó el insulto renal y con la intensidad del mismo; sin embargo, el desenlace final será la lesión renal aguda con diferente traducción clínica, es decir lesión renal aguda con volumen urinario preservado para la excreción mínima de solutos (oligúrica) o no oligúrica. De los mecanismos descritos se encuentran la depleción de ATP, activación de fosfolipasa C; incremento de calcio citosólico, generación de especies reactivas de oxígeno, liberación de proteasas, acidosis intracelular, estos y seguramente otros más, que culminarán con disfunción celular del epitelio tubular, en el que algunas células tubulares tendrán la capacidad de tolerar el insulto, a lo que se conoce como lesión subletal o bien la muerte celular ya sea mediada por necrosis o bien por apoptosis.

Estudios experimentales previos han sugerido que muchas de las acciones deletéreas en el fenómeno de isquemia reperfusión están mediadas por la aldosterona y que el bloqueo de su receptor atenúa alteraciones tanto funcionales como estructurales. Por lo que se ha postulado a la aldosterona como una hormona profibrótica y proinflamatoria. La interrogante que llevo a este estudio fue precisamente conocer si el bloqueo de los receptores mineralocorticoides se asociaba a una disminución en la expresión de biomarcadores de daño tubular renal y atenuación de la génesis en el estrés oxidativo en pacientes receptores de trasplante renal.

Como se señaló anteriormente existe un interés profundo en la búsqueda de nuevos biomarcadores de daño renal que puedan: a) realizar un diagnóstico oportuno de lesión renal aguda, incluso previo al incremento de creatinina en suero; b) Que sea una prueba no invasiva; c) Que sea una prueba no laboriosa e inclusive con la obtención de resultados en minutos; d) que tenga la capacidad de discriminar entre un insulto y otro; e) Valor pronóstico para ingresar pacientes a terapia de reemplazo renal; f) Valor pronóstico de recuperación; g) Severidad de la lesión establecida; entre otros requisitos imputables. También es

bien conocido que la creatinina sérica está influenciada por factores no renales como son edad, peso, género, volumen de distribución, ingesta proteica, estado de hidratación, enfermedades concomitantes como hepatopatías, inanición, entre otros. Es por ello la necesidad urgente de identificar biomarcadores que pudieran satisfacer algunos de los criterios señalados.

En el contexto de trasplante renal, dado que el fenómeno de isquemia reperusión es inexorable al procedimiento se considera un modelo idóneo para la búsqueda y validación de nuevos biomarcadores. La lesión renal aguda debida al fenómeno de IR ocurre invariablemente en receptores de donantes fallecidos e incluso en receptores de donador vivo. De lo más característicos han sido NGAL, KIM-1 e IL-18 entre otros y su estudio ha sido en pacientes con función retardada del injerto; como factor pronóstico de recuperación de la función renal; en biopsias del aloinjerto renal por inmunohistoquímica, en orina y en un escenario donde el fenómeno de IR es más contundente, como lo son receptores de trasplante de donador fallecido ⁽⁸²⁻⁹²⁾; no obstante no se ha estudiado si estos biomarcadores pudieran en un momento dado estar expresados en la orina de receptores de donante vivo sin evidencia clínica de lesión tubular manifestada por incremento de la creatinina sérica; expresión que tradujera daño tubular por el fenómeno de IR y más aún si la expresión de dichos marcadores pudieran aminorarse al realizar una maniobra farmacológica.

Dos biomarcadores clásicos de daño tubular como son la proteinuria tubular y N-acetil-beta-glucosaminidasa (NAG) han sido considerablemente abatidos su expresión a nivel urinario en un grupo de animales de experimentación que recibieron espironolactona previo a la isquemia renal. Por lo anterior y otros estudios clínicos se trató de extrapolar las acciones correspondientes al bloqueo de los receptores mineralocorticoides a la práctica clínica en un tipo de pacientes donde es inexorable el fenómeno de isquemia reperusión.

En este estudio exploratorio no encontramos una disminución de los marcadores de daño tubular a las 24 h en receptores de trasplante renal que recibieron 25 mg de espironolactona pre-trasplante y 25 mg 3 días posteriores al

mismo, con una dosis total de exposición de 100 mg de espironolactona. Tanto KIM-1 como NGAL han demostrado ser biomarcadores sensibles para predecir lesión renal aguda en diferentes contextos clínicos de insulto renal.

Es posible que dichos resultados se deban a: a) Manejo de muestras de orina. Podría ser que el almacenamiento de muestras de orina de 24 h a temperatura ambiente propició modificaciones en el pH que podrían haber influido en modificaciones estructurales de estas proteínas (KIM-1 y NGAL); b) Dilución de los biomarcadores. Como se señaló, la cantidad de orina emitida en las primeras 72 h posteriores al trasplante en alguno de los pacientes superaron los 10 L, volumen urinario que podría haber diluido la cantidad de dichos biomarcadores; c) Poca exposición al fármaco. Otra posibilidad es la falta de niveles séricos óptimos del fármaco en estudio que no permitió un bloqueo de mayor magnitud de los receptores mineralocorticoides y como consecuencia la ausencia del efecto deseado.

Sin embargo, los resultados obtenidos en estudios experimentales no necesariamente significa su extrapolación a la práctica clínica; la lesión renal aguda producida en modelos de roedores es un modelo puro, que consiste en la interrupción del flujo sanguíneo de la arterial renal por varios periodos de tiempo, manteniéndose el órgano a temperatura corporal del animal y posteriormente una reperfusión caliente; no siendo equiparables a la lesión renal aguda en paciente y en diferentes escenarios de insulto renal. Los modelos de lesión renal aguda por isquemia difieren en roedores y humanos; en el contexto de falla renal aguda en humanos pese a que existe compromiso en la microcirculación y oxigenación secundaria a alteraciones en la hemodinámica sistémica o local, el flujo sanguíneo nunca está totalmente disminuido, por lo que el consumo de oxígeno se mantiene para el transporte tubular residual ⁽⁹³⁾.

El incremento súbito de la concentración de oxígeno una vez que se restablece el flujo sanguíneo renal puede conducir a la formación de especies reactivas de oxígeno por diferentes mecanismos: a) Xantina oxidasa y fosfolipasa

A₂ que son activadas posterior al incremento de calcio citosólico durante la isquemia, b) Por alteración en la cadena respiratoria mitocondrial.

Pese a que existen múltiples estudios experimentales donde destacan la generación de especies reactivas de oxígeno en la lesión renal aguda isquémica, dichos biomarcadores de estrés oxidativo no se han medido en el contexto de trasplante renal. Ha sido difícil medir las especies reactivas de oxígeno debido a su extremadamente corta vida media. Estudios de isquemia-reperfusión llevados en el laboratorio reportaron que en animales a quienes se les había administrado espironolactona previo a la inducción de isquemia-reperfusión se asociaba con una prevención en lipoperoxidación renal y un aumento en los niveles de RNAm de enzimas antioxidantes. Otros estudio han medido especies reactivas de oxígeno con resultados diferentes e inclusive hasta opuestos ^(94,93,94); de igual forma no se han podido reproducir estudios que hayan evaluado el efecto sobre la función temprana del injerto en pacientes receptores de trasplante renal al recibir como maniobra la administración de suplementos antioxidantes tanto por vía oral o intravenosa, señalando como debilidad de estos estudios la falta de medición de marcadores de estrés oxidativo ^(95,96). Al menos en la práctica clínica deberá de establecerse asociación entre las especies reactivas de oxígeno generadas durante el fenómeno de isquemia-reperfusión sobre la disfunción temprana del injerto renal.

Está bien descrito la generación de especies reactivas de oxígeno durante la hipoxia secundaria a la isquemia y la reperfusión, que conlleva a la muerte celular de las células tubulares por necrosis o bien por apoptosis; a la vez que se genera una gran infiltración de neutrófilos responsables de la liberación de especies reactivas de oxígeno y proteasas.

Con la finalidad de investigar el grado de estrés oxidativo después del trasplante nos dimos a la tarea de medir la presencia un subrogado de estrés oxidativo como fue el peróxido de hidrógeno urinario.

A las 24 h posteriores a la cirugía de trasplante hubo una gran dispersión de los niveles urinarios de peróxido de hidrogeno en ambos grupos con valores en el grupo de espironolactona de 370 a 9475 pMol/mL y de 687 a 12050 pMol/ml en el grupo placebo. Al quinto día postrasplante no hubo diferencia en las medianas de los niveles urinarios de H₂O₂, sin embargo pareciera haber una tendencia en el grupo de espironolactona de una disminución en la excreción urinaria de dicho marcador de estrés oxidativo. Es posible que la explicación, al igual que KIM-1 y NGAL en las primeras 24 h posteriores al trasplante, sea debido a los grandes volúmenes urinarios en las primeras 24 h que hayan diluido su presencia en la orina.

Como se señaló anteriormente, estudios previos han sugerido el papel de la aldosterona en la génesis de especies reactivas de oxígeno, sin embargo se ha postulado que las especies reactivas de oxígeno pueden activar el receptor mineralocorticoide citoplasmático, inclusive bajo condiciones de bajos niveles de aldosterona.

Por otro lado, se ha sugerido que algunos de los biomarcadores de lesión renal aguda sean ajustados a la tasa de excreción de creatinina urinaria (CrU).

La concentración urinaria de cualquier biomarcador no sólo dependerá de su excreción, sino también de la tasa de flujo urinario. Debido al efecto de la reabsorción de agua sobre la concentración de urinaria de un soluto, la concentración de biomarcadores urinarios es comúnmente expresada tomando en consideración la tasa de excreción de creatinina urinaria (CrU); en forma muy general la oliguria causaría un aumento en la concentración de CrU y la poliuria una disminución.

Sin embargo, la tasa de excreción no siempre es constante, por lo que está corrección para CrU no sería válida; la asunción de que la excreción urinaria siempre es constante, es incorrecta, dado que esta dependerá de los cambios en la función renal, volumen de distribución, variabilidad en la producción entre individuos e incluso en el mismo individuo, con un coeficiente de variación

estimado de 10.5 a 14.4% para determinaciones de CrU en muestras de orina de 24 h ^(83,84); otros estudios han sugerido una variación diurna e incluso una variación horaria; pese a que la CrU es filtrada, una fracción no despreciable es secretada por los túbulos y en el contexto de AKI, podría generarse un fenómeno de reciclaje a la circulación sistémica desde los mismo túbulos dañados.

En un estudio que incluyó a 12 receptores de trasplante reportó una variabilidad interindividual de la CrU (Tabla 5); cuando ajustaron KIM-1 a CrU en un paciente que cursó con retardo en la función del injerto, los niveles de uKIM-1 fueron 4 veces mayores que cuando se comparó con los niveles absolutos del biomarcador en 24 h, dicho efecto sobre el biomarcador estuvo dado por una baja excreción de CrU ⁽⁹⁷⁾.

Tabla 5. Colección de orina para la medición de KIM-1 en pacientes sometidos trasplante renal

Sujeto	Edad	CrS mg/dL				Duración de recolección (h) Volumen (ml)	CrU mg/mL	KIM-1 pg/mL	Excreción CrU mg/24h	uKIM/CrU µg/g
		Basal	Día 1	Día 2	Día 3					
1	54	9.1	6.8	5.2	3.7	4.75/1000	0.32	79.1	1607	0.25
2	64	5.6	3.5	1.9	1.7	6/675	0.81	185	2198	0.23
3	25	4.2	2.3	0.9	0.8	6/850	0.26	59.4	887	0.23
4	55	9.4	5.3	5.0	4.8	6/1450	0.19	180	1125	0.93
5	50	7.3	6.7	6.7	5.2	6/1375	0.37	175	2046	0.47
6	65	10.3	8.5	9.3	9.2	6/50	1.19	5075	238	4.26
7	47	4.1	3.0	1.3	0.9	6/475	0.57	965	1077	1.70
8	58	7.8	5.3	2.4	1.6	6/2300	0.25	362	2327	1.43
9	55	5.9	6.6	7.4	4.6	6/300	0.36	834	431	2.32
10	43	2.2	1.3	0.9	0.8	6/1200	0.25	501	1176	2.04
11	63	5.0	4.3	2.0	1.2	6/775	0.60	147	1845	0.25
12	50	4.3	2.5	1.9	1.3	6/300	1.46	4505	1746	3.10

Dado lo anterior, no se consideró ajustar los biomarcadores en orina a la excreción de creatinina urinaria.

Si bien no fue parte del objetivo conocer el descenso de los niveles de CrS postrasplante contrastando ambos grupos; como era de esperarse el descenso de la creatinina fue similar en ambos grupos; la comparación de las deltas de creatinina sérica fue por análisis por intención a tratar, no excluyendo del análisis a los pacientes que presentaron retardo en la función del injerto, no observando diferencias con el descenso de la CrS y lo más interesante es que la cuantificación

niveles urinarios de KIM-1 y NGAL no mostró diferencias en aquellos sujetos que cursaron con función retardada del injerto.

Consideramos que tiene como debilidades: a) Número de muestra incluido; es muy probable que el efecto se haya diluido o bien, b) Exposición a la espironolactona sea mínima y no permita observar diferencias significativas en las variables a estudiar; c) Falta de estudio histológico; d) Determinación de los niveles de aldosterona pre y pos-trasplante. Hasta el momento no se ha estudiado si el trasplante per se modifica las concentraciones de aldosterona pos-trasplante.

CONCLUSIONES

No se descarta la posibilidad de reproducir los resultados obtenidos en modelos experimentales, al bloquear las acciones denominadas no-genómicas de la aldosterona por espironolactona en la IR en receptores de trasplante renal; es factible realizar ciertas modificaciones pertinentes en el manejo de las muestras como son la toma de orina directamente de la sonda uretral sin necesidad de recolectar las muestras por 24 h, factor que pudiese haber modificado la determinación de dichos biomarcadores de daño tubular y estrés oxidativo; aumentar la exposición tanto al fármaco administrando mayor dosis e incrementando el tiempo de exposición. Los resultados no son concluyentes, ni descartan los efectos nefroprotectores que se le han atribuido al bloqueo de los receptores mineralocorticoides en otros contextos de lesión renal; por lo que se plantea la necesidad de realizar un segundo ensayo clínico controlado.

BIBLIOGRAFIA

1. Eknoyan G, Lameire N, Barsoum R, Eckardt KU, Levin A, Levin N et al. The burden of kidney disease: improving global outcomes. *Kidney Int* 2004; 66(4):1310-1314.
2. Levey AS, Eckardt KU, Tsukamoto Y, Levin A, Coresh J, Rossert J et al. Definition and classification of chronic kidney disease: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int* 2005; 67(6):2089-2100.
3. Meguid EN, Bello AK. Chronic kidney disease: the global challenge. *Lancet* 2005; 365(9456):331-340.
4. Hariharan S, Johnson CP, Bresnahan BA, Taranto SE, McIntosh MJ, Stablein D. Improved graft survival after renal transplantation in the United States, 1988 to 1996. *N Engl J Med* 2000; 342(9):605-612.
5. Levey AS, Beto JA, Coronado BE, Eknoyan G, Foley RN, Kasiske BL et al. Controlling the epidemic of cardiovascular disease in chronic renal disease: what do we know? What do we need to learn? Where do we go from here? National Kidney Foundation Task Force on Cardiovascular Disease. *Am J Kidney Dis* 1998; 32(5):853-906.
6. Koning OH, Ploeg RJ, van Bockel JH, et al. Risk factors for delayed graft function in cadaveric kidney transplantation: a prospective study of renal function and graft survival after preservation with University of Wisconsin solution in multi-organ donors. European Multicenter Study Group. Transplantation. 1997 Jun 15;63(11):1620-8.
7. Ojo AO, Wolfe RA, Held P, Port FK, Schmouder RL. Delayed graft function: risk factors and implications for renal allograft survival. *Transplantation* 1997; 63: 968–74.
8. The Organ Procurement and Transplantation Network. <http://www.OPTN.org> (accessed July 5, 2004).

9. Jacobs SC, Cho E, Foster C, Liao P, Bartlett ST. Laparoscopic donor nephrectomy: the University of Maryland 6-year experience. *J Urol* 2004; 171: 47–51.
10. The Canadian Multicentre Transplant Study Group. A randomized clinical trial of cyclosporine in cadaveric renal transplantation. Analysis at three years. *N Engl J Med* 1986; 314: 1219–25.
11. Gjertson DW. Impact of delayed graft function and acute rejection on kidney graft survival. In: Cecka JM, Terasaki PI, eds. *Clinical Transplants*. Los Angeles: The Regents of the University of California, 2000: 467–79.
12. Shoskes DA, Shahed AR, Kim S. Delayed graft function. Influence on outcome and strategies for prevention. *Urol Clin North Am*. 2001; 28: 721–32.
13. Almond PS, Troppmann C, Escobar F, et al. Economic impact of delayed graft function. *Transplant Proc*. 1991 Feb;23(1 Pt 2):1304.
14. Yarlagadda SG, Coca SG, Formica RN Jr, et al. Association between delayed graft function and allograft and patient survival: a systematic review and meta-analysis. *Nephrol Dial Transplant*. 2009 Mar;24(3):1039-47.
15. Humar A, Johnson EM, Payne WD, et al. Effect of initial slow graft function on renal allograft rejection and survival. Clin Transplant. 1997 Dec;11(6):623-7.
16. Dickstein RA. Reperfusion injury: the role of leukocytes. *Perfusion Life* February 1990; 34-8.
17. Biemond P, Swaak AJG, Beindorff CM, Koster JF. Superoxide-dependent and -independent mechanisms of iron mobilization from ferritin by xanthine oxidase. Implications for oxygen-free-radical-induced tissue destruction during ischaemia and inflammation. *Biochem J* 1986; 239: 169-73.
18. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease. Free radicals and tissue injury. *Lub Invest* 1982; 47: 412-26.
19. Halliwell B. Oxidants and human disease: some new concepts. *FASEB J* 1987; 1: 358-64.

20. Acker CG, Flick R, Shapiro R, et al. Thyroid hormone in the treatment of post-transplant acute tubular necrosis (ATN). *Am J Transplant*. 2002 Jan;2(1):57-61
21. Acker CG, Singh AR, Flick RP, et al. A trial of thyroxine in acute renal failure. *Kidney Int*. 2000 Jan;57(1):293-8.
22. Prasad Devarajan. Update on mechanisms of ischemic acute kidney injury. *J Am Soc Nephrol*. 2006; 17:1503-1520
23. Simpson SA, Tait JF, Bush IE. Secretion of a salt-retaining hormone by the mammalian adrenal cortex. *Lancet* 1952; 2(6727):226-228.
24. Del Vecchio L, Procaccio M, Vigano S, Cusi D. Mechanisms of disease: The role of aldosterone in kidney damage and clinical benefits of its blockade. *Nat Clin Pract Nephrol* 2007; 3(1):42-49.
25. Kim GH, Masilamani S, Turner R, Mitchell C, Wade JB, Knepper MA. The thiazide-sensitive Na-Cl cotransport an aldosterone-induced protein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95(24):14552-14557.
26. Masilamani S, Kim GH, Mitchell C, Wade JB, Knepper MA. Aldosterone-mediated regulation of ENaC alpha, beta, and gamma subunit proteins in rat kidney. *J Clin Invest* 1999; 104(7):R19-R23.
27. Seok JH, Hong JH, Jeon JR, Hur GM, Sung JY, Lee JH. Aldosterone directly induces Na, K-ATPase alpha 1 subunit mRNA in the renal cortex of rat. *Biochem Mol Biol Int* 1999; 47(2):251-254.
28. Gomez-Sanchez EP. Brain mineralocorticoid receptors: orchestrators of hypertension and end-organ disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2004; 13(2):191-196.
29. Lombes M, Alfaidy N, Eugene E, Lessana A, Farman N, Bonvalet JP. Prerequisite for cardiac aldosterone action. Mineralocorticoid receptor and 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase in the human heart. *Circulation* 1995; 92(2):175-182.
30. Golestaneh N, Klein C, Valamanesh F, Suarez G, Agarwal MK, Mirshahi M. Mineralocorticoid receptor-mediated signaling regulates the ion gated

sodium channel in vascular endothelial cells and requires an intact cytoskeleton. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 280(5):1300-1306.

31. Nishiyama A, Yao L, Fan Y, Kyaw M, Kataoka N, Hashimoto K et al. Involvement of aldosterone and mineralocorticoid receptors in rat mesangial cell proliferation and deformability. *Hypertension* 2005; 45(4):710-716.
32. Nagai Y, Miyata K, Sun GP, Rahman M, Kimura S, Miyatake A et al. Aldosterone stimulates collagen gene expression and synthesis via activation of ERK1/2 in rat renal fibroblasts. *Hypertension* 2005; 46(4):1039-1045.
33. Arima S, Kohagura K, Xu HL, Sugawara A, Uruno A, Satoh F et al. Endothelium-derived nitric oxide modulates vascular action of aldosterone in renal arteriole. *Hypertension* 2004; 43(2):352-357.
34. Lai L, Chen J, Hao CM, Lin S, Gu Y. Aldosterone promotes fibronectin production through a Smad2-dependent TGF-beta1 pathway in mesangial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 348(1):70-75.
35. Perez-Rojas JM, Bobadilla NA. [Novel action of aldosterone in CSA nephrotoxicity. *Rev Invest Clin* 2005; 57(2):147-155.
36. Bobadilla NA, Gamba G. New insights into the pathophysiology of cyclosporine nephrotoxicity: a role of aldosterone. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 293(1):F2-F9.
37. Li C, Yang CW, Kim WY, Jung JY, Cha JH, Kim YS et al. Reversibility of chronic cyclosporine nephropathy in rats after withdrawal of cyclosporine. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003; 284(2):F389-F398.
38. Feria I, Pichardo I, Juárez P, Ramírez V, González MA, Uribe N et al. Therapeutic benefit of spironolactone in experimental chronic cyclosporine A nephrotoxicity. *Kidney Int* 2003; 63(1):43-52.
39. Pérez-Rojas JM, Derive S, Blanco JA, Cruz C, Martínez M, Gamba G et al. Renocortical mRNA expression of vasoactive factors during spironolactone protective effect in chronic cyclosporine nephrotoxicity. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005; 289(5):F1020-F1030.

40. Perez-Rojas J, Blanco JA, Cruz C, Trujillo J, Vaidya VS, Uribe N et al. Mineralocorticoid receptor blockade confers renoprotection in preexisting chronic cyclosporine nephrotoxicity. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006.
41. Mejia-Vilet JM, Ramirez V, Cruz C, Uribe N, Gamba G, Bobadilla NA. Renal ischemia-reperfusion injury is prevented by the mineralocorticoid receptor blocker spironolactone. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 293(1):F78-F86.
42. Gros R, Ding Q, Armstrong S, et al. Rapid effects of aldosterone on clonal human vascular smooth muscle cells. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2007 Feb;292(2):C788-94.
43. Kone BC. Nitric oxide synthesis in the kidney: isoforms, biosynthesis, and functions in health. *Semin Nephrol*. 2004 Jul;24(4):299-315.
44. Kone BC, Kuncewicz T, Zhang W, et al. Protein interactions with nitric oxide synthases: controlling the right time, the right place, and the right amount of nitric oxide. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2003 Aug;285(2):F178-90.
45. Goligorsky MS, Brodsky SV, Noiri E. NO bioavailability, endothelial dysfunction, and acute renal failure: new insights into pathophysiology. *Semin Nephrol*. 2004 Jul;24(4):316-23.
46. Fulton D, Gratton JP, Sessa WC. Post-translational control of endothelial nitric oxide synthase: why isn't calcium/calmodulin enough?. *J Pharmacol Exp Ther*. 2001 Dec;299(3):818-24.
47. Conn JW. Presidential address. I. Painting background. II. Primary aldosteronism, a new clinical syndrome. *J Lab Clin Med* 1955; 45(1):3-17.
48. Conn JW, Knopf RF, Nesbit RM. Clinical characteristics of primary aldosteronism from an analysis of 145 cases. *Am J Surg* 1964; 107:159-172.
49. Pitt B, Zannad F, Remme WJ, Cody R, Castaigne A, Perez A et al. The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure. Randomized Aldactone Evaluation Study Investigators. *N Engl J Med* 1999; 341(10):709-717.
50. Aldigier JC, Huang H, Dalmay F, Lartigue M, Baussant T, Chassain AP et al. Angiotensin-converting enzyme inhibition does not suppress plasma

angiotensin II increase during exercise in humans. *J Cardiovasc Pharmacol* 1993; 21(2):289-295.

51. Borghi C, Boschi S, Ambrosioni E, Melandri G, Branzi A, Magnani B. Evidence of a partial escape of renin-angiotensin-aldosterone blockade in patients with acute myocardial infarction treated with ACE inhibitors. *J Clin Pharmacol* 1993; 33(1):40-45.
52. Juurlink DN, Mamdani MM, Lee DS, et al. Rates of hyperkalemia after publication of the Randomized Aldactone Evaluation Study. *N Engl J Med* 2004; 351(6):543-551.
53. Rachmani R, Slavachevsky I, Amit M, Levi Z, Kedar Y, Berla M et al. The effect of spironolactone, cilazapril and their combination on albuminuria in patients with hypertension and diabetic nephropathy is independent of blood pressure reduction: a randomized controlled study. *Diabet Med* 2004; 21(5):471-475.
54. Gwinner W, Hinzmann K, Erdbruegger U et al. Acute tubular injury in protocol biopsies of renal grafts: prevalence, associated factors and effect on long-term function. Am J Transplant. 2008 Aug;8(8):1684-93.
55. Parikh CR, Mishra J, Thiessen-Philbrook H et al. Urinary IL-18 is an early predictive biomarker of acute kidney injury after cardiac surgery. *Kidney Int*. 2006 Jul;70(1):199-203.
56. Ichimura T, Bonventre JV, Bailly V, et al. Kidney injury molecule-1 (KIM-1), a putative epithelial cell adhesion molecule containing a novel immunoglobulin domain, is up-regulated in renal cells after injury. *J Biol Chem*. 1998 Feb 13; 273 (7):4135-42.
57. Bailly V, Zhang Z, Meier W, et al. Shedding of kidney injury molecule-1, a putative adhesion protein involved in renal regeneration. J Biol Chem. 2002 Oct 18;277 (42):39739-48.
58. Ichimura T, Hung CC, Yang SA, et al. Kidney injury molecule-1: a tissue and urinary biomarker for nephrotoxicant-induced renal injury. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2004 Mar;286(3):F552-63.

59. Vaidya VS, Ramirez V, Ichimura T. et al. Urinary kidney injury molecule-1: a sensitive quantitative biomarker for early detection of kidney tubular injury. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2006 Feb;290(2):F517-29.
60. Han WK, Bailly V, Abichandani R, Thadhani R. et al. Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1): a novel biomarker for human renal proximal tubule injury. *Kidney Int*. 2002 Jul;62(1):237-44.
61. Zhang Z, Humphreys BD, Bonventre JV. Shedding of the urinary biomarker kidney injury molecule-1 (KIM-1) is regulated by MAP kinases and juxtamembrane región. *J Am Soc Nephrol*. 2007 Oct;18(10):2704-14.
62. Waikar SS, Bonventre JV. Biomarkers for the diagnosis of acute kidney injury. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2007; 16: 557–564.
63. Vaidya VS, Ferguson MA, Bonventre JV. Biomarkers of acute kidney injury. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2008; 48: 463–493.
64. Prozialeck WC, Vaidya VS, Liu J et al. Kidney injury molecule-1 is an early biomarker of cadmium nephrotoxicity. *Kidney Int*. 2007; 72:985–993.
65. Jost G, Pietsch H, Sommer J et al. Retention of iodine and expression of biomarkers for renal damage in the kidney after application of iodinated contrast media in rats. *Invest Radiol*. 2009; Feb;44(2):114-23.
66. Liangos O, Perianayagam MC, Vaidya VS et al. Urinary N-acetyl-beta-(D)-glucosaminidase activity and kidney injury molecule-1 level are associated with adverse outcomes in acute renal failure. *J Am Soc Nephrol*. 2007; 18: 904–912.
67. Zhang PL, Rothblum LI, Han WK et al. Kidney injury molecule-1 expression in transplant biopsies is a sensitive measure of cell injury. *Kidney Int*. 2008 Mar;73(5):608-14.
68. Won K.Han, Gebhard W, Yanqing Z et al. Urinary biomarkers in the early detection of acute kidney injury after cardiac surgery. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2009; 4:873-882.
69. Flower DR. Beyond the superfamily: the lipocalin receptors. *Biochim Biophys Acta*. 2000 Oct 18;1482(1-2):327-36.

70. Mishra J, Ma Q, Prada A, et al. Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel early urinary biomarker for ischemic renal injury. *J Am Soc Nephrol*. 2003 Oct;14(10):2534-43.
71. Wagener G, Jan M, Kim M, et al. Association between increases in urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin and acute renal dysfunction after adult cardiac surgery. *Anesthesiology*. 2006;105:485-491.
72. Bennett M, Dent CL, Ma Q, et al. Urine NGAL predicts severity of acute kidney injury after cardiac surgery: a prospective study. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2008;3:665-673.
73. Haase-Fielitz A, Bellomo R, Devarajan P, et al. Novel and conventional serum biomarkers predicting acute kidney injury in adult cardiac surgery—a prospective cohort study. *Crit Care Med*. 2009;37:553-560.
74. Zappitelli M, Washburn KK, Arikan AA, et al. Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin is an early marker of acute kidney injury in critically ill children: a prospective cohort study. *Crit Care*. 2007;11:R84.
75. Wheeler DS, Devarajan P, Ma Q, et al. Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a marker of acute kidney injury in critically ill children with septic shock. *Crit Care Med*. 2008;36:1297-1303.
76. Ling W, Zhaohui N, Ben H, et al. Urinary IL-18 and NGAL as early predictive biomarkers in contrast-induced nephropathy after coronary angiography. *Nephron Clin Pract*. 2008;108:c176-181.
77. Bachorzewska-Gajewska H, Malyszko J, Sitniewska E, et al. Neutrophil-gelatinase-associated lipocalin and renal function after percutaneous coronary interventions. *Am J Nephrol*. 2006;26:287-292.
78. Nickolas TL, O'Rourke MJ, Yang J, et al. Sensitivity and specificity of a single emergency department measurement of urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin for diagnosing acute kidney injury. *Ann Intern Med*. 2008; 148:810-819.
79. Mishra J, Dent C, Tarabishi R, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery. *Lancet*. 2005;365: 1231-1238.

80. Bennett M, Dent CL, Ma Q, et al. Urine NGAL predicts severity of acute kidney injury after cardiac surgery: a prospective study. Clin J Am Soc Nephrol. 2008;3:665- 673.
81. Haase M, Bellomo R, Devarajan P, et al. Accuracy of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in diagnosis and prognosis in acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis. Am J Kidney Dis. 2009 Dec;54(6):1012-24.
82. Epstein FH, Oxigena n renal metabolism. Kidney Int 1997;51: 381-385.
83. Greenblat DJ, Ransil BJ, Hartmatz JS, et al. Variability of 24-h urinary creatinine excretion by subject normal subjects. J Clin Pharmacol 1976; 16:321-328.
84. Newman DJ, Pugia MJ, Lott JA, et al. Urinary protein and albumin excretion corrected by creatinine and specific gravity. Clin Chim Acta 2000; 294: 139-155.
85. [Waikar SS](#), [Sabbiseti VS](#), [Bonventre JV](#). Normalization of urinary biomarkers to creatinine during changes in glomerular filtration rate. [Kidney Int](#). 2010 Sep;78(5):486-94.