



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

## **BENEFICIS CARDIOVASCULARS DE LA CORRECCIÓ DE L'ANÈMIA AMB ERITROPOETINA EN ELS MALALTS AMB INSUFICIÈNCIA RENAL CRÒNICA PREDIÀLISI. INFLUÈNCIA DE L'ESTRÈS OXIDATIU, LA INFLAMACIÓ I EL NT-PROBNP**

**Luis Marcas Vila**

**ADVERTIMENT.** L'accés als continguts d'aquesta tesi doctoral i la seva utilització ha de respectar els drets de la persona autora. Pot ser utilitzada per a consulta o estudi personal, així com en activitats o materials d'investigació i docència en els termes establerts a l'art. 32 del Text Refós de la Llei de Propietat Intel·lectual (RDL 1/1996). Per altres utilitzacions es requereix l'autorització prèvia i expressa de la persona autora. En qualsevol cas, en la utilització dels seus continguts caldrà indicar de forma clara el nom i cognoms de la persona autora i el títol de la tesi doctoral. No s'autoritza la seva reproducció o altres formes d'explotació efectuades amb finalitats de lucre ni la seva comunicació pública des d'un lloc aliè al servei TDX. Tampoc s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant als continguts de la tesi com als seus resums i índexs.

**ADVERTENCIA.** El acceso a los contenidos de esta tesis doctoral y su utilización debe respetar los derechos de la persona autora. Puede ser utilizada para consulta o estudio personal, así como en actividades o materiales de investigación y docencia en los términos establecidos en el art. 32 del Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual (RDL 1/1996). Para otros usos se requiere la autorización previa y expresa de la persona autora. En cualquier caso, en la utilización de sus contenidos se deberá indicar de forma clara el nombre y apellidos de la persona autora y el título de la tesis doctoral. No se autoriza su reproducción u otras formas de explotación efectuadas con fines lucrativos ni su comunicación pública desde un sitio ajeno al servicio TDR. Tampoco se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al contenido de la tesis como a sus resúmenes e índices.

**WARNING.** Access to the contents of this doctoral thesis and its use must respect the rights of the author. It can be used for reference or private study, as well as research and learning activities or materials in the terms established by the 32nd article of the Spanish Consolidated Copyright Act (RDL 1/1996). Express and previous authorization of the author is required for any other uses. In any case, when using its content, full name of the author and title of the thesis must be clearly indicated. Reproduction or other forms of for profit use or public communication from outside TDX service is not allowed. Presentation of its content in a window or frame external to TDX (framing) is not authorized either. These rights affect both the content of the thesis and its abstracts and indexes.

Luis Marcas Vila

**BENEFICIS CARDIOVASCULARS DE LA CORRECCIÓ DE  
L'ANÈMIA AMB ERITROPOETINA EN ELS MALALTS  
AMB INSUFICIÈNCIA RENAL CRÒNICA PREDIÀLISI.  
INFLUÈNCIA DE L'ESTRÈS OXIDATIU, LA INFLAMACIÓ  
I EL NT-PROBNP**

TESI DOCTORAL

Dirigida pel Dr. Alberto Martínez Veá

Departament de Medicina i Cirurgia



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

Tarragona  
2016

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI  
BENEFICIS CARDIOVASCULARS DE LA CORRECCIÓ DE L'ANÈMIA AMB ERITROPOETINA EN ELS MALALTS AMB INSUFICIÈNCIA RENAL  
CRÒNICA PREDIÀLISI. INFLUÈNCIA DE L'ESTRÈS OXIDATIU, LA INFLAMACIÓ I EL NT-PROBNP  
Luis Marcas Vila



FAIG CONSTAR que aquest treball, titulat “ BENEFICIS CARDIOVASCULARS DE LA CORRECCIÓ DE L'ANÈMIA AMB ERITROPOETINA EN ELS MALALTS AMB INSUFICIÈNCIA RENAL CRÒNICA PREDIÀLISI. INFLUÈNCIA DE L'ESTRÈS OXIDATIU, LA INFLAMACIÓ I EL NT-PROBNP”, que presenta LUIS MARCAS VILA per a l'obtenció del títol de Doctor, ha estat realitzat sota la meva direcció al Departament Medicina i Cirurgia d'aquesta universitat

Tarragona, gener de 2016

El Director de la tesi doctoral

Dr. Alberto Martínez Veá

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI  
BENEFICIS CARDIOVASCULARS DE LA CORRECCIÓ DE L'ANÈMIA AMB ERITROPOETINA EN ELS MALALTS AMB INSUFICIÈNCIA RENAL  
CRÒNICA PREDIÀLISI. INFLUÈNCIA DE L'ESTRÈS OXIDATIU, LA INFLAMACIÓ I EL NT-PROBNP  
Luis Marcas Vila

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI  
BENEFICIS CARDIOVASCULARS DE LA CORRECCIÓ DE L'ANÈMIA AMB ERITROPOETINA EN ELS MALALTS AMB INSUFICIÈNCIA RENAL  
CRÒNICA PREDIÀLISI. INFLUÈNCIA DE L'ESTRÈS OXIDATIU, LA INFLAMACIÓ I EL NT-PROBNP  
Luis Marcas Vila

*Als meus pares i els meus  
germans, perquè sense ells no  
seria el que sóc.*

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI  
BENEFICIS CARDIOVASCULARS DE LA CORRECCIÓ DE L'ANÈMIA AMB ERITROPOETINA EN ELS MALALTS AMB INSUFICIÈNCIA RENAL  
CRÒNICA PREDIÀLISI. INFLUÈNCIA DE L'ESTRÈS OXIDATIU, LA INFLAMACIÓ I EL NT-PROBNP  
Luis Marcas Vila

## AGRAÏMENTS:

Al Professor Alberto Martínez-Vea per la seva tasca en direcció de la tesi i en el reclutament de pacients.

Al Dr. Alfredo Bardají, Cap de Servei de Cardiologia de l'Hospital Joan XXIII, per el seva tasca en les exploracions ecocardiogràfiques.

A les doctores Carme García i Carmen Peralta del Servei de Nefrologia de l'Hospital Joan XXIII i a la Dra. Teresa Compte de l'Hospital de Jesús, Tortosa, per la seva ajuda en el reclutament de pacients.

A les doctores Montserrat Giralt i Marta Romeu del Departament de Farmacologia de la Universitat Rovira i Virgili pel suport en el reclutament d'individus sans i en les determinacions analítiques d'estrès oxidatiu, ja que per la seva complexitat s'han de realitzar el laboratoris especialitzats.

Al Dr. Francisco Avilés del Servei d'Otorinolaringologia pel seu assessorament estadístic

A les infermeres de la Unitat d'Hemodiàlisi de l'Hospital Universitari de Tarragona Joan XXII per la seva ajuda en les extraccions analítiques.



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI  
BENEFICIS CARDIOVASCULARS DE LA CORRECCIÓ DE L'ANÈMIA AMB ERITROPOETINA EN ELS MALALTS AMB INSUFICIÈNCIA RENAL  
CRÒNICA PREDIÀLISI. INFLUÈNCIA DE L'ESTRÈS OXIDATIU, LA INFLAMACIÓ I EL NT-PROBNP  
Luis Marcas Vila

## ÍNDIX

<b>0. LLISTA D'ABREVIACIONS:</b> .....	<b>1</b>
<b>INDEX DE TAULES</b> .....	<b>3</b>
<b>INDEX DE FIGURES</b> .....	<b>5</b>
<b>A.- INTRODUCCIÓ:</b> .....	<b>6</b>
<b>1. DEFINICIÓ DE MALALTIA RENAL CRÒNICA:</b> .....	<b>6</b>
<b>1.1. AFECTACIÓ CARDIOVASCULAR A LA INSUFICIÈNCIA RENAL CRÒNICA</b> .....	<b>7</b>
<b>2. ANÈMIA A LA IRC</b> .....	<b>11</b>
<b>2.1. ANÈMIA I AFECTACIÓ CARDIOVASCULAR EN ELS PACIENTS PREDIÀLISI</b> .....	<b>11</b>
<b>2.2. ANÈMIA I AFECTACIÓ CARDIOVASCULAR EN ELS PACIENTS EN DIÀLISI</b> .....	<b>13</b>
<b>3. HIPERTRÒFIA CARDÍACA</b> .....	<b>18</b>
<b>4. ESTRÈS OXIDATIU:</b> .....	<b>35</b>
<b>4.1. METABOLISME OXIDATIU:</b> .....	<b>35</b>
<b>4.2. RADICAL LLIURE</b> .....	<b>37</b>
<b>4.3. ESPECIES REACTIVES D'OXIGEN</b> .....	<b>37</b>
<b>4.4. ANTIOXIDANTS</b> .....	<b>39</b>
<b>4.4.1. SISTEMES ANTIOXIDANTS ENZIMÀTICS</b> .....	<b>39</b>
<b>4.4.1.1. SUPERÒXID DISMUTASA</b> .....	<b>39</b>
<b>4.4.1.2. GLUTATIÓ PEROXIDASA</b> .....	<b>40</b>
<b>4.4.1.3. CATALASA</b> .....	<b>42</b>
<b>4.4.1.4. GLUTATIÓ REDUCTASA</b> .....	<b>43</b>
<b>4.4.2. SISTEMES ANTIOXIDANTS NO ENZIMÀTICS</b> .....	<b>43</b>
<b>4.4.2.1. GLUTATIÓ</b> .....	<b>44</b>
<b>4.5. ALTRES MARCADORS D'ESTRÈS OXIDATIU</b> .....	<b>47</b>
<b>4.5.1. PARAOXONASA 1</b> .....	<b>47</b>
<b>4.5.2. ANTICOSSOS ANTI LDL OXIDADA</b> .....	<b>48</b>
<b>4.6. ESTRÈS OXIDATIU I INSUFICIÈNCIA RENAL CRÒNICA</b> .....	<b>49</b>
<b>4.7. ESTRÈS OXIDATIU I ANÈMIA</b> .....	<b>51</b>
<b>4.8. ESTRÈS OXIDATIU I AFECTACIÓ CARDIOVASCULAR A LA INSUFICIÈNCIA RENAL CRÒNICA</b>	<b>51</b>
<b>5. INFLAMACIÓ I HIPERTRÒFIA CARDÍACA</b> .....	<b>55</b>
<b>6. PÈPTID NATRIÜRÈTIC I HIPERTRÒFIA CARDÍACA</b> .....	<b>57</b>
<b>B.- HIPÒTESI</b> .....	<b>60</b>
<b>7. HIPÒTESI</b> .....	<b>60</b>
<b>8.0. MATERIAL I MÈTODES:</b> .....	<b>61</b>
<b>8.1. PACIENTS</b> .....	<b>61</b>
<b>8.2. PROCEDIMENTS:</b> .....	<b>61</b>
<b>8.3. METODOLOGIA:</b> .....	<b>62</b>
<b>8.3.1.- DETERMINACIÓ DE VARIABLES DEMOGRÀFIQUES, CLÍNiques I TERAPÈUTiques:</b> .....	<b>62</b>
<b>8.3.2.- DETERMINACIONS ANALÍTiques CONVENCIONALS:</b> .....	<b>63</b>
<b>8.3.3. DETERMINACIÓ DE PARÀMETRES DE FUNCIÓ RENAL:</b> .....	<b>63</b>
<b>8.3.4. DETERMINACIÓ DE MARCADORS INFLAMATORIS:</b> .....	<b>63</b>
<b>8.3.5.- DETERMINACIÓ DELS NIVELLS DE NT PRO-BNP:</b> .....	<b>63</b>
<b>8.3.6. DETERMINACIÓ DE PARÀMETRES INDICADORS DE L'ESTRÈS OXIDATIU</b> .....	<b>64</b>
<b>8.3.7. ESTUDIS ECOCARDIOGRÀFICS:</b> .....	<b>65</b>
<b>8.3.8.- ECOCARDIOGRAMA-DOPPLER D'ONA POLSADA:</b> .....	<b>67</b>
<b>8.3.9.- DEFINICIÓ DE VARIABLES:</b> .....	<b>68</b>
<b>8.3.9.1. DADES CLÍNiques:</b> .....	<b>68</b>
<b>8.3.9.2. PARÀMETRES ECOCARDIOGRÀFICS:</b> .....	<b>69</b>
<b>8.3.10.- OBTENCIÓ, PREPARACIÓ I CONSERVACIÓ DE LES MOSTRES</b> .....	<b>70</b>
<b>8.3.10.1. TUB D'HEPARINA-LITI</b> .....	<b>70</b>

8.3.10.2. TUB D'EDTA .....	72
8.3.11.- DETERMINACIÓ DE L'HEMATÒCRIT I L'HEMOGLOBINA.....	73
8.3.11.1. HEMATÒCRIT .....	73
8.3.11.2. HEMOGLOBINA .....	73
8.3.12. DETERMINACIONS ENZIMÀTIQUES:.....	74
8.3.12.1. SUPERÒXID DISMUTASA .....	74
8.3.12.2. GLUTATIÓ S-TRANSFERASA .....	75
8.3.12.3. GLUTATIÓ PEROXIDASA.....	76
8.3.12.4. GLUTATIÓ REDUCTASA .....	77
8.3.12.5. CATALASA.....	78
8.3.13. DETERMINACIÓ DE L'EQUILIBRI GLUTATIÓ OXIDAT/REDUÏT .....	79
8.3.13.1. GSH.....	79
8.3.13.2.- GSSG .....	79
8.3.14. DETERMINACIÓ DELS PRODUCTES DE LA PEROXIDACIÓ LIPÍDICA: TBARS.....	81
8.3.15.- DETERMINACIÓ DE LA SUSCEPTIBILITAT D'OXIDACIÓ: TEST D'HEMÒLISI .....	82
9. ANÀLISI ESTADÍSTICA:.....	83
10. RESULTATS: .....	84
10.1. CARACTERÍSTIQUES GENERALS BASALS .....	84
10.1.1. CARACTERÍSTIQUES DELS PACIENTS:.....	84
10.1.2. CARACTERÍSTIQUES DE LA POBLACIÓ D'ESTUDI: .....	85
10.1.3. CARACTERÍSTIQUES ECOCARDIOGRÀFIQUES BASALS: .....	87
10.2. MASSA CARDÍACA BASAL: .....	88
10.2.1. FACTORS QUE INFLUEIXEN AMB L'IMVE BASAL.....	88
10.2.2. ANÀLISI UNIVARIANT .....	90
10.3.- CARACTERÍSTIQUES ALS 6 MESOS.....	90
10.3.1. EFECTE DEL TRACTAMENT AMB RHUEPO SOBRE LES VARIABLES DEMOGRÀFIQUES I CLÍNiques .....	90
10.3.2. EFECTE DEL TRACTAMENT AMB RHUEPO SOBRE ELS NIVELLS D'HEMOGLOBINA .....	91
10.3.3. EFECTE DEL TRACTAMENT AMB RHUEPO SOBRE L'ACLARIMENT DE CREATININA .....	92
10.3.4. EFECTE DEL TRACTAMENT AMB RHUEPO SOBRE LA ESTRUCTURA CARDÍACA I LA FUNCIO SISTÒLICA .....	93
10.3.5 MASSA CARDÍACA ALS 6 MESOS: .....	94
10.3.5.1 FACTORS QUE INFLUEIXEN AMB L'IMVE ALS 6 MESOS DE TRACTAMENT AMB EPO... ..	94
10.3.5.2 MASSA CARDIACA AL 6 MESOS DE TRACTAMENT AMB EPO: ANALISI UNIVARIANT. ...	97
10.3.5.3. HIPERTRÒFIA VENTRICULAR ESQUERRA .....	97
10.3.5.4. DISFUNCIO DIASTÒLICA: .....	98
10.4. COMPARACIÓ ENTRE PACIENTS RESPONEDORS I NO RESPONEDORS.....	99
10.4.1 CARACTERÍSTIQUES BASALS.....	99
10.4.2. CARACTERÍSTIQUES ALS 6 MESOS DE TRACTAMENT AMB EPO .....	101
10.4.3. CARACTERÍSTIQUES ECOCARDIOGRÀFIQUES ALS 6 MESOS DE TRACTAMENT:.....	103
10.4.4. REGRESSIÓ LOGÍSTICA:.....	104
10.5. INFLUÈNCIA DE LA INFLAMACIÓ: .....	105
10.6. INFLUÈNCIA DE L'ESTRÈS OXIDATIU.....	109
10.6.1. PERFIL OXIDATIU BASAL: .....	109
10.6.2 EFECTE DE LA CORRECCIÓ DE L'ANÈMIA EN ELS MARCADORS D'ESTRÈS OXIDATIU:...	110
10.6.3. PERFIL OXIDATIU ALS 6 MESOS DE TRACTAMENT AMB EPO .....	111
10.6.4. COMPARACIÓ ENTRE "RESPONEDORS" I "NO RESPONEDORS":.....	112
10.6.5. ANÀLISI DE REGRESSIÓ LOGÍSTICA DE L'ESTRÈS OXIDATIU .....	114
10.7. INFLUÈNCIA DELS NIVELLS DE NT-PROBNP EN LA REGRESSIÓ DE LA MASSA CARDÍACA DESPRÉS DEL TRACTAMENT AMB RHUEPO. ....	115

<b>10.7.1 CARACTERÍSTIQUES BASALS.....</b>	<b>115</b>
<b>10.7.1.1. - NIVELLS BASALS DE NT-PRO BNP.....</b>	<b>115</b>
<b>10.7.1.2. NIVELLS DE NT-PRO BNP EN ELS DIFERENTS ESTADIS D'IRC:.....</b>	<b>115</b>
<b>10.7.2. NIVELLS DE NT-PRO BNP SEGONS LA PRESENCIA D'HVE , FUNCIÓ DIASTÒLICA, I SEGONS LA MORFOLOGIA CARDÍACA . .....</b>	<b>116</b>
<b>10.7.2.1. -CARACTERÍSTIQUES ECOCARDIOGRÀFIQUES BASALS.....</b>	<b>116</b>
<b>10.7.2.2. NIVELLS DE NT-PRO BNP RESPECTE A L'ANÈMIA: .....</b>	<b>118</b>
<b>10.7.3 CARACTERÍSTIQUES ALS 6 MESOS: .....</b>	<b>119</b>
<b>10.8. ESTUDI A 12 MESOS .....</b>	<b>121</b>
<b>10.8.1 MODIFICACIÓ DELS NIVELLS D'HEMOGLOBINA DURANT L'ESTUDI:.....</b>	<b>123</b>
<b>10.8.2. MODIFICACIÓ DELS PARÀMETRES ECOCARDIOGRÀFICS DURANT L'ESTUDI: .....</b>	<b>124</b>
<b>10.8.3. MODIFICACIÓ DE LA MASSA VENTRICULAR DURANT L'ESTUDI:.....</b>	<b>125</b>
<b>10.8.4. MODIFICACIÓ DEL VOLUM VENTRICULAR DURANT L'ESTUDI: .....</b>	<b>126</b>
<b>10.8.5. MODIFICACIÓ DE LA TENSIÓ ARTERIAL ALS 12 MESOS: .....</b>	<b>127</b>
<b>10.8.6. MODIFICACIÓ DE LA GEOMETRIA CARDÍACA .....</b>	<b>127</b>
<b>C. DISCUSSIÓ:.....</b>	<b>128</b>
<b>MALALTIA CARDIOVASCULAR. ....</b>	<b>128</b>
<b>HIPERTRÒFIA VENTRICULAR ESQUERRE I INSUFICIÈNCIA RENAL CRÒNICA. ....</b>	<b>129</b>
<b>ANÈMIA, HIPERTRÒFIA VENTRICULAR ESQUERRA I TRACTAMENT AMB EPO.....</b>	<b>131</b>
<b>ESTRÈS OXIDATIU I INSUFICIÈNCIA RENAL CRÒNICA .....</b>	<b>136</b>
<b>TRACTAMENT AMB EPO I L'ESTRÈS OXIDATIU.....</b>	<b>139</b>
<b>ESTRÈS OXIDATIU, HIPERTRÒFIA VENTRICULAR ESQUERRE I INSUFICIÈNCIA RENAL CRÒNICA .....</b>	<b>140</b>
<b>EFFECTE DE L'EPO SOBRE PARAOXONASA I LDL OXIDADA.....</b>	<b>142</b>
<b>ANÈMIA, TRACTAMENT AMB EPO, MASSA VENTRICULAR ESQUERRE I INFLAMACIÓ EN LA IRC: .....</b>	<b>144</b>
<b>NT-PROBNP I HIPERTRÒFIA CARDÍACA EN LA MALALTIA RENAL CRÒNICA: .....</b>	<b>146</b>
<b>ANÈMIA, TRACTAMENT AMB EPO, MASSA VENTRICULAR ESQUERRE I NT-PROBNP EN LA IRC: .....</b>	<b>147</b>
<b>ANÈMIA, NT-PROBNP I IRC: .....</b>	<b>148</b>
<b>EFFECTE DE LA REGRESSIÓ DE LA MASSA VENTRICULAR AL LLAR DEL TEMPS.....</b>	<b>149</b>
<b>D.- LIMITACIONS DE L'ESTUDI:.....</b>	<b>150</b>
<b>E.- CONCLUSIONS:.....</b>	<b>152</b>
<b>BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>154</b>

## **0. LLISTA D'ABREVIACIONS:**

Ac. LDLox: anticossos anti lipoproteïnes de baixa densitat

AE: mida de l'aurícula esquerra

AO: diàmetre de l'arrel aòrtica

Ara II: antagonistes del receptor de l'angiotensina II

CaxP: producte fosfocàlcic

D: dona

DD: disfunció diastòlica

DM: diabetis mellitus

DTDVE: diàmetre telesistòlic del ventricle esquerre

DTSVE: diàmetre telediastòlic del ventricle esquerre

EI: estat inflamatori

EPO: eritropoetina

Fe ev: ferro endovenós

FC: freqüència cardíaca

FS: fracció d'escurçament

GSH: glutatió reduït

GSSG: glutatió oxidat

GPx: glutatió peroxidasa

GRP: Gruix relatiu de la paret

H: home

Hb: hemoglobina

Htc: hematòcrit

HVE: hipertròfia ventricular esquerra

IECA: inhibidors de l'enzima de conversió de l'angiotensina I

IL-6: interleucina 6

IMC: índex de massa corporal

IMVE: índex de massa ventricular esquerra

IRC: insuficiència renal crònica

IST: índex de saturació de transferrina

MVE: massa ventricular esquerra

NT-proBNP:

PCR: proteïna C reactiva

Pp: pressió del pols

PP: gruix de la paret posterior del ventricle esquerra

PTH: hormona paratiroidal

SOD: superòxid dismutasa

TA: tensió arterial

TAD: tensió arterial diastòlica

TAS: tensió arterial sistòlica

TDOE: temps de desacceleració de la ona E

TIV: gruix del septe interventricular

TRIV: temps de relaxació isovolumètrica del ventricle esquerra

VE: ventricle esquerra

VVE: Volum del ventricle esquerra

## **INDEX DE TAULES**

Taula 1. Classificació en graus de la malaltia renal crònica	7
Taula 2. Factors de risc tradicionals i no tradicionals per malaltia cardíaca a la IRC	8
Taula 3. Classificació d'espècies reactives d'oxigen.	37
Taula 4. Característiques demogràfiques.	85
Taula 5 Tipus i freqüència de fàrmacs.	85
Taula 6: Tipus de fàrmacs hipotensors.	86
Taula 7: Etiologia de la IRC.	86
Taula 8. Característiques analítiques.	86
Taula 9. Característiques ecocardiogràfiques.	87
Taula 10. Funció diastòlica.	87
Taula 11. Característiques clíniques basals en pacients amb IRC amb HVE i sense	88
Taula 12. Anàlisi univariant de la massa cardíaca basal.	90
Taula 13 . Tractament amb EPO: característiques clíniques.	91
Taula 14. Tractament amb EPO: paràmetres ecocardiogràfiques i doppler.	93
Taula 15. iMVE als 6 mesos i Diabetis mellitus.	94
Taula 16. iMVE als 6 mesos i Antagonistes alfa.	95
Taula 17. l'iMVE als 6 mesos i Antagonistes del calci.	96
Taula 18. Anàlisi univariant de la massa cardíaca als 6 mesos.	97
Taula 19. Característiques demogràfiques i analítiques entre “responedors” i “no responedors” basals i als 6 mesos.	102
Taula 20. Dades ecocardiogràfiques de pacients “responedors” i “no responedors” basals i als 6 mesos.	103
Taula 21: Característiques basals dels pacients amb estat inflamatori i sense.	106

Taula 22: Característiques ecocardiogràfiques pacients amb estat infamatori i sense.	106
Taula 23. Perfil oxidatiu basal comparat amb grup control	109
Taula 24. Marcadors d'estrès oxidatiu basals i als 6 mesos de tractament amb EPO	110
Taula 25. Comparació marcadors d'estrès oxidatiu entre “responedors” i “no responedors”.	113



## **INDEX DE FIGURES**

Figura. 1 Traducció de l'estímul hipertròfic en el miòcit	20
Figura 2: Entrecreuament de senyals	21
Figura 3 : Activació dels receptors acoblats a la proteïna G	23
Figura 4: Activació dels receptors amb activitat intrínseca tirosina cinasa (RTyrK)	25
Figura 5: Activació dels receptors de citocines	26
Figura 6: Activació de la integrina	28
Figura 7: Activació de la calcineurina	29
Figura 8. Patrons geomètrics cardíacs	35
Figura 9. Estrès oxidatiu.	36
Figura 10. Metabolisme de l'oxigen molecular fins l'aigua.	37
Figura 11. Reacció química superòxid dismutasa	40
Figura 12. Reacció química glutatió peroxidasa	42
Figura 13. Reacció química catalasa	43
Figura 14. Reacció química glutatió reductasa	44

## **A.- INTRODUCCIÓ:**

### **1. Definició de malaltia renal crònica:**

La malaltia renal crònica (MRC) és defineix com la presència, durant al menys tres mesos, d'alteracions de l'estructura o la funció renal amb implicació per la salut. Els criteris diagnòstics són la reducció del filtrat glomerular estimat (FGe) per sota de 60 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, o la presència de marcadors de lesió renal (albúmina en orina elevada, alteracions en el sediment d'orina, alteracions electrolítiques o altres alteracions d'origen tubular, alteracions estructurals histològiques en la biòpsia renal, alteracions estructurals en les proves diagnòstiques d'imatge i l'estat de portador de trasplantament renal) (Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group, 2013). Un cop fet el diagnòstic la MRC es classifica en graus o categories segons el FGe i l'albuminúria i segons l'etiologia. ((KDIGO) CKD Work Group, 2013). A partir del grau 3 és quan parlem d'Insuficiència Renal Crònica (IRC)(Galcerán JM et al., 2013).

La MRC és un problema important de salut pública. Segons l'estudi EPIRCE (Epidemiologia de la Insuficiència Renal Crònica en España), promogut per la Societat Espanyola de Nefrologia amb el suport del Ministeri de Sanitat i Consum i dissenyat per conèixer la prevalença de MRC, aproximadament 11 % de la població adulta pateix algun grau de MRC (Otero A et al, 2010). A l'Estat Espanyol, el cost anual associat al tractament en les fases més avançades de la MRC s'estima en més de 800 milions d'euros.

**Taula1. Classificació en graus de la malaltia renal crònica**

<b>GRAU</b>	<b>DEFINICIÓ</b>	<b>FGe ml/min/1,73 m<sup>2</sup></b>
G1	FG normal o augmentat	> 90 ml/min
G2	Lleu descens del FG	60-89 ml/min
G3A	Lleu- moderat descens del FG	45-59 ml/min
G3B	Moderat-sever descens del FG	30-44 ml/min
G4	Descens sever del FG	15-29 ml/min
G5	Fallada renal establerta	< 15 ml/min
<b>CATEGORIES</b>	<b>DESCRIPCIÓ</b>	<b>Quocient albúmina/creatinina en orina</b>
A1	Normal a lleument elevada	< 30 mg/gr
A2	Moderadament elevada	30-300 mg/gr
A3	Molt elevada (inclou síndrome nefròtica)	> 300 mg/gr

### **1.1. Afectació cardiovascular a la insuficiència renal crònica**

La malaltia cardiovascular és la causa fonamental de mort en pacients amb insuficiència renal crònica (IRC) (Keith et al, 2004). La presència d'IRC amplifica el risc de mort en la malaltia cardiovascular independentment de tenir altres factors de risc cardiovasculars (Sarnak MJ et al., 2002). El risc de desenvolupar IRC terminal amb la necessitat d'iniciar tractament substitutiu renal es inferior al risc de morir, principalment per causa cardiovascular. La mortalitat cardiovascular és de 10 a 30 vegades superior en pacients en tractament amb diàlisi que en la població general, tot i ajustar per sexe, raça i presència de diabetis. Quan s'ajusta per l'edat, la mortalitat cardiovascular segueix sent 5 vegades superior en pacients en diàlisi que en la població general (Foley et al, 1998).

En els pacients amb IRC els factors de risc cardiovascular es solen classificar en «tradicionals» i «no tradicionals» (Vlagopoulos PT et al, 2005).

**Taula 2. Factors de risc tradicionals i no tradicionals per a la malaltia cardíaca en la malaltia renal crònica.**

Factors de risc tradicionals	Factors alterats per la urèmia	Factors associats a la urèmia
Hipertensió	Dislipèmia	Sobrecàrrega hemodinàmica
Hiperlipidèmia	Lipoproteïna A elevada	Anèmia
Diabetis mellitus	Factors protrombòtics	Augment de l'estrès oxidatiu
Tabac	Hiperhomocisteïnèmia	Hipoalbuminèmia
Inactivitat física		Diàlisi inadequada
		Anormalitat d'ions divalents
		Acidosis metabòlica
		Hipo/hiperpotassèmia

Els factors de risc tradicionals són els derivats del Framingham Heart Study, i s'utilitzen per estimar el risc de desenvolupar una cardiopatia isquèmica simptomàtica. La majoria dels factors de risc de malaltia cardiovascular tradicionals com edat, diabetis, pressió arterial sistòlica, hipertròfia ventricular esquerra i colesterol de les lipoproteïnes de baixa densitat (cLDL) elevat, també són molt prevalents en els pacients amb IRC.

Diversos estudis han assenyalat que l'equació de risc de l'estudi Framingham és insuficient per predir l'extensió del risc cardiovascular en pacients amb IRC (Sarnak MJ et al., 2002)(Longenecker JC et al, 2002). Això s'explicaria perquè els factors de risc tradicionals podrien tenir una diferent relació quantitativa i qualitativa per malaltia cardiovascular en pacients amb IRC comparats amb la població general, i els factors no tradicionals que no s'inclouen en l'equació de Framingham, però que la seva prevalença augmenta a mesura que el FG disminueix, podrien tenir un paper important en l'aparició de malaltia coronària en

pacients amb IRC. Diversos factors de risc no tradicionals com: la hiperhomocisteïnèmia, l'estrès oxidatiu o l'elevació de marcadors d'inflamació s'associen a arteriosclerosi. Es creu que l'estrès oxidatiu i la inflamació poden ser els mediadors primaris que explicarien l'enorme prevalença de malaltia cardiovascular en pacients amb IRC. Però hi ha altres factors importants, entre ells l'anèmia, que es relaciona amb la miocardiopatia, i el metabolisme fosfocàlcic anormal, que s'associa a remodelat vascular i pèrdua de l'elasticitat dels vasos sanguinis.

Es considera la IRC com un factor de risc independent per desenvolupar una malaltia cardiovascular (Coresh EJ et al, 2004). La disminució del filtrat glomerular prediu la incidència d'episodis isquèmics (Rahman M et al., 2006), ja que reflexa més probabilitat de mort per un procés cardiovascular que per la insuficiència renal (Sarnak MJ et al., 2003) (Tonelli M et al., 2006). La meitat dels pacients amb IRC avançada o terminal moren per causa cardiovascular (Tonelli M et al., 2006)(Shlipak M et al., 2002)(Foley RN et al, 1998)(Herzog C et al., 2011) que és de 15 a 30 cops més elevada que (Shlipak M et al., 2002) en la població general després d'ajustar per edat (Tonelli et al., 2006) (Parfrey PS et al, 1999) i encara més en pacients joves ( 25-34 anys) en que la mortalitat cardiovascular és 500 vegades major que la dels controls (Sarnak MJ et al., 2003).

La prevalença d'hipertrofia ventricular esquerra és del 45,2 % en pacients amb aclariment de creatinina < 25 ml/min; del 30,8 % en els que tenen aclariment de creatinina entre 25-49 ml/min, i del 26,7 % dels que tenen aclariment de creatinina > 50 ml /min ( Levin A et al, 1996).

Les dades del Framingham Heart Study van indicar per primera vegada la associació entre la IRC i la mortalitat cardiovascular, sobre tot en homes (Culleton B et al., 1999). Posteriorment s'ha comprovat una relació no lineal entre el FG i el risc de mort, episodis

cardiovasculars i hospitalitzacions sobre tot a partir d'un FG < 60 ml/min (Go A et al, 2004). És obvi que la malaltia cardiovascular comença i es desenvolupa durant el curs de la malaltia renal anys abans d'iniciar el tractament substitutiu renal. Al començament de la hemodiàlisi, el 18 % dels pacients ha patit un infart agut de miocardi, 22% presenten angor, 37 % han presentat episodis d'insuficiència cardíaca, i quasi el 80 % tenen una fracció d'ejecció del ventricle esquerre < 40 % o una hipertròfia ventricular esquerra (HVE) o ambdues. (Foley RN et al., 1994)(Foley RN et al., 1995). El 40 % dels pacients que inicien tractament substitutiu renal amb hemodiàlisi tenen una afectació coronària i el 85 % alteració de l'estructura i/o la funció del ventricle esquerre (Herzog CA et al, 1998). Les característiques clíniques difereixen de la resta de la població: només el 25% presenten clínica, el 33 % presenten isquèmia miocàrdica silent durant la sessió d'hemodiàlisi. Estudis angiogràfics han demostrat que el 50 % dels pacients presenten malaltia coronària, que arriba a un 75 % si els pacients són diabètics (De Vriese AS et al, 2012). La cardiopatia isquèmica té una alta incidència a causa de múltiples factors com la inflamació crònica i les calcificacions precoces. Alguns estudis reporten la calcificació coronària en un 41,8 % dels pacients en HD (Genovesi S et al., 2013), però en altres estudis amb TAC multital·l van trobar que en el 79,5 % tenien calcificació coronària, cosa que s'incrementa en diabètics amb una Odds ràtio de 17,33 (Pencak P et al., 2013).

La supervivència dels malalts urèmics en diàlisi que presenten un ecocardiograma normal o signes d'HVE moderada o severa va ser del 97, 85 i 53 % respectivament als dos anys de seguiment (Parfrey PS et al, 1999). Gran part de l'augment de la dilatació del ventricle esquerre i de l'HVE que presenten els malalts en diàlisi esdevé durant el primer any de diàlisi (Foley RN et al., 1998). Entre els factors implicats en l'aparició de l'HVE i de la dilatació del ventricle esquerre en els pacients urèmics està l'expansió de volum

extracel·lular, l'elevat flux sanguini a través de la fístula arteriovenosa i l'anèmia, com a factors potencials de sobrecàrrega de volum, i la hipertensió arterial com a factor implicat en la sobrecàrrega de pressió (Eckardt KU et al, 1999).

## **2. Anèmia a la IRC.**

L'anèmia ja s'observa en estadis inicials de la IRC (estadi 3) però la seva prevalença augmenta a mesura que progressa a estadis més avançats (Astor BC et al, 2002). En els pacients amb IRC la principal causa de l'anèmia és el dèficit d'eritropoetina endògena, hormona que actua sobre la diferenciació i maduració dels precursors de la sèrie vermella; no obstant també s'ha implicat una disminució de la vida mitja dels hematies, el dèficit de ferro, vitamines i altres factors (Astor BC et al, 2002), l'acumulació de toxines urèmiques i la inflamació (Nurko S, 2006).

L'anèmia en pacients amb IRC es defineix com la situació en que l'hemoglobina (Hb) a sang es troba dues desviacions estàndard per sota de la concentració mitja d'Hb de la població general corregida per l'edat i el sexe (Locatelli F, 2004).

### **2.1. Anèmia i afectació cardiovascular en els pacients prediàlisi**

L'anèmia es produeix una hipòxia tissular i una disminució de la pressió arterial que activa el sistema nerviós simpàtic i el sistema renina-angiotensina-aldosterona que redueix el flux sanguini renal i la fracció de filtració glomerular amb el consegüent increment de l'absorció de sodi i aigua. L'expansió de volum i la vasodilatació originen un augment de la despesa cardíaca (Metivier F et al, 2000). Amb el temps la sobrecàrrega de volum del miocardi pot conduir a una remodelació desfavorable del ventricle esquerre amb hipertròfia, dilatació, apoptosi, fibrosi miocàrdica i insuficiència cardíaca crònica (Silverberg DS et al., 2006).

L'anèmia és un predictor independent per a la insuficiència cardíaca en pacients amb IRC (Walker AM et al, 2006). pacients en diàlisi (Harnett JD et al, 1995), i en portadors de trasplantament renal (Rigatto C et al, 2002). L'anèmia s'associa amb el desenvolupament de canvis ecocardiogràfics d'hipertrofia ventricular esquerra en els pacients amb IRC prediàlisi (Levin A et al, 1999) i en pacients en diàlisi (Foley RN et al, 1996), i HVE electrocardiogràfica en els portadors de trasplantament (Rigatto C et al, 2003). L'anèmia és un factor de risc independent per al desenvolupament d'HVE en pacients urèmics prediàlisi (Levin A et al, 1996)(Levin A et al, 1999); un descens de 1gr/dl d'Hb s'associa a un increment del risc de desenvolupar HVE (Levin A et al, 1999). A mesura que la funció renal empitjora, la prevalença d'HVE augmenta de forma paral·lela als descens de l'Hb, malgrat que la tensió arterial estigui ben controlada (Levin A et al., 1999).

La reducció de l'índex de massa ventricular esquerra en els pacients en diàlisi s'ha relacionat amb un augment de la supervivència per totes les causes de mortalitat cardiovascular (London GM et al, 2001), i la progressió de la miocardiopatia s'ha associat amb el desenvolupament d'una insuficiència cardíaca de novo (RN Foley et al., 2000). Nombrosos estudis han demostrat que el tractament de l'anèmia amb eritropoetina en els pacients amb IRC augmenta els nivells d'Hb i hematòcrit, redueix els requeriments transfusionals i millora la qualitat de vida. (Stone WJ et al, 1988)(Canadian Erythropoietin Study Group, 1990)(Beusterien KM et al., 1996).



## **2.2. Anèmia i afectació cardiovascular en els pacients en diàlisi**

L'anèmia és un factor de risc per el desenvolupament de complicacions cardíques en els pacients en diàlisi. Un descens de 1 gr/dL d'hemoglobina s'associa a un increment del 42 % del risc de desenvolupar dilatació del ventricle esquerre, un 28 % per l'aparició d'insuficiència cardíaca "de novo", i un 20 % de presentar insuficiència cardíaca recurrent (Foley RN et al., 1996).

La correcció parcial de la anèmia amb eritropoetina (EPO) en els malalts en diàlisi s'acompanya d'efectes beneficiosos cardiovasculars. Així doncs, la despesa cardíaca disminueix de forma paral·lela a l'increment de l'hematòcrit (Htc), i s'associa a una normalització del diàmetre telediastòlic del ventricle esquerre. La massa ventricular esquerra disminueix un 18 % després d'un promig de temps de 45 setmanes de tractament i d'assolir xifres d'Htc entre 29-35 % (Radermacher J et al, 1995). És inhabitual que la massa ventricular esquerra es normalitzi, cosa que potser reflexa l'efecte residual de la correcció incompleta de l'anèmia, l'excessiu flux sanguini de la fístula arteriovenosa, la fibrosi miocàrdica associada o l'efecte negatiu de la hipertensió arterial que s'ha relacionat amb l'ús de l'EPO. En els malalts tractats amb EPO que desenvolupen hipertensió, el gruix de la paret posterior del ventricle esquerre pot augmentar, a diferència dels malalts tractats amb EPO que no desenvolupen hipertensió, en els que es pot observar una reducció del 7 % en el gruix de la paret del ventricle (Zehnder et al, 1992).

Atès que amb l'increment de l'anèmia augmenta el grau d'HVE s'han fet molts estudis sobre la correcció de l'anèmia i els seus efectes cardiovasculars. Al millorar en els nivells d'hemoglobina de <10 g / dl a nivells de fins a aproximadament 12 g / dl hi ha una regressió de la hipertròfia ventricular esquerra. No sembla que augmentant més els nivells d'Hb

s'aconsegueixi una major regressió de la HVE. Això s'observa en un metanàlisi de 15 estudis que en els pacients amb anèmia basal més greu ( $<10$  Jr/DL) el tractament per augmentar els nivells d'hemoglobina a  $\leq 12$  g / dl es va associar amb una reducció significativa en l'índex de massa ventricular esquerra ( $-32,7$  g / m<sup>2</sup>; IC del 95%  $-49.4$  a  $-16.1$ ). En els pacients amb anèmia basal moderada, el tractament a qualsevol nivell d'Hu nivells  $> 12$  g / dl o  $\leq 12$  g / dl es va associar amb variacions insignificants en l'índex de massa ventricular esquerra (Perfaré PS et al ,2009).

Calen més estudis sobre els efectes beneficiosos cardiovasculars de la correcció parcial de l'anèmia en relació a la regressió de l'HVE, ja que hi ha factors de confusió per l'efecte de la tensió arterial. No està clar si els efectes beneficiosos de l'EPO en la correcció de l'anèmia estan involucrats en la regressió de la HVE o si la absència d'EPO en l'anèmia en els pacients amb IRC esta associada a la HVE (Berns JS, Anemia and left ventricular hypertrophy in chronic kidney disease Uptodate, 2015). Per altre banda hi ha altres factors de risc no tradicionals que tenen un efecte sobre la HVE con l'estrès oxidatiu i la inflamació.

### **2.3. Eritropoetina.**

L'eritropoetina (EPO) és una citocina i una hormona de caràcter glicoproteic, codificada per un gen localitzat en el cromosoma 7, que actua com regulador primari de l'eritropoesi. La seva massa molecular és de 30,4 kilodaltons (Dordal MS et al, 1985) amb un nucli peptídic de 165 aminoàcids. És una citocina de la família de classe I que conformen una estructura de caràcter globular i compacte de 4 cadenes alfa (Wen D et al, 1994). L'EPO es produeix en els hepatòcits en el període fetal. Després del naixement s'origina a les cèl·lules peritubulars corticals de caràcter fibroblàstic (Maxwell PH et al., 1997) L'estímul principal per la producció d'EPO és la hipòxia tissular. En els pacients amb funció renal normal els nivells d'EPO augmenten de forma exponencial al decrement dels nivells d'hemoglobina sèrica. Els nivells normals són de 15 U/L i es poden incrementar fins a 10.000 U/L (Jelkmann W et al, 2004). En els pacients amb IRC els nivells no es correlacionen amb els nivells d'hemoglobina sèrica. Hi ha variacions circadianes dels nivells d'EPO amb un increment de nivells nocturns de fins un 40 % (Wide L et al, 1989). Els nivells d'EPO estan regulats per un factor transcripcional anomenat factor inductor de la hipòxia (HIF) mitjançant uns sensors d'oxigen. L'EPO es regula per la distribució d'oxigen més que pels nivells d'hemoglobina, i és l'oxigen sèric el paràmetre essencial (però de difícil mesura o determinació) en el maneig de les anèmies, per la qual cosa és inadequada la selecció de les hemoglobines diana com a paràmetre terapèutic (Ortega LM, 2009). Hi ha evidència que l'EPO s'elimina en la circulació mitjançant endocitosi pels eritròcits i altres cèl·lules que tenen receptors d'EPO (Jelkmann W et al, 2002). L'EPO s'uneix a 2 receptors idèntics que existeixen com homodímers (Constantinescu SN et al., 2001). En el receptor d'EPO, en contacte amb la seva porció citoplasmàtica hi ha 2

molècules janus cinases (JAK2) tirosín cinases que s'activen canalitzant diverses senyals de transducció (Remy I et al, 1999).

La eritropoetina s'uneix al receptor de l'EPO ubicat a les cèl·lules progenitores eritroides de la medul·la òssia i indueix la producció d'eritròcits. L'EPO actua sobre l'eritropoesi a diferents nivells: incrementa la diferenciació eritroide, estimula la hemoglobinogènesi, redueix les etapes maduratives de l'eritropoesi i estimula la sortida medul·lar de reticulòcits. L'eritropoetina humana recombinant (rHu-Epo o Epo), és una molècula de síntesi idèntica a la Epo endògena. Actua com un regulador primari de l'eritropoesi, estimulando la proliferació i diferenciació de les cèl·lules precursors dels eritròcits en la medul·la òssia.

En els anys 80 es van desenvolupar dues formes d'eritropoetina recombinant humana (r-HuEPO): epoetina alfa i epoetina beta, que es van indicar inicialment en el tractament de l'anèmia associada a malaltia renal. A l'any 2002, l'Agència Europea del Medicament (EMA) va autoritzar la comercialització de l'epoetina delta (r-HuEPO) així com de la darbepoetina alfa que és un factor estimulador de l'eritropoesi, anàleg hiperglicosilat de les r-HuEPO, que estimula l'eritropoesi pel mateix mecanisme que l'hormona endògena, i amb una vida mitjana fins a tres vegades superior a la de r-HuEPO. A la fi de l'any 2007 es autoritzar un nou agent estimulador de la eritropoesi: metoxi-polietilenglicol epoetina beta; aquesta última és un activador continu del receptor de l'eritropoetina que es caracteritza per una associació més lenta i una dissociació més ràpida del receptor, i un augment de la vida mitjana (Cabrera L et al, 2009). Actualment es troben disponibles diferents "Agents estimuladors de l'eritropoesi", que pertanyen al subgrup terapèutic ATC dels "antianèmics (B03XA) ": el Eprex®, Epopen® (epoetina alfa), el Neorecormon ® (epoetina beta), Aranesp® (darbepoetina), Dynepo® (epoetina delta) (a) i Mircera® (metoxi-polieti-

lenglicol epoetina beta). A més dels agents anteriors en els últims s'han autoritzat mitjançant procediment centralitzat en la Unió Europea diverses eritropoetines "Bioequivalents" el que significa que són biosimilars a un agent biològic, essent en tots els casos l'eritropoetina alfa l'agent de referència: Binocrit®, i Retacrit®, aquesta última presenta com a principi actiu l'epoetina zeta (Cabrera L et al, 2009).

Les indicacions autoritzades de la EPO són: tractament de l'anèmia simptomàtica crònica associada a la insuficiència renal crònica en pacients en tractament substitutiu renal en diàlisi i tractament de la anèmia simptomàtica crònica associada a la insuficiència renal crònica en pacients que encara no estan en diàlisi (Cabrera L et al, 2009).

L'EPO exògena (r-HuEPO), introduïda el 1985, constitueix un tractament ben acceptat en el maneig d'aquests pacients. Així va quedar recollit en les guies de pràctica clínica per al tractament de l'anèmia en pacients amb ERC en diàlisi publicada el 1997 i el 1999 a Estats Units i a Europa respectivament. No obstant això, el reconeixement que la malaltia cardiovascular era una important causa de morbimortalitat en aquests pacients i la millora de la funció cardíaca amb el tractament de l'anèmia, van posar de manifest la importància de començar el tractament en estadis precoços de la malaltia (Cabrera L et al, 2009).

Les guies actuals (European Best Practice Guidelines And National Kidney Foundation) recomanen l'inici del tractament de l'anèmia en pacients amb insuficiència renal estiguin o no en diàlisi. L'European Best Practice Guidelines (EBPG) estableix que els pacients amb ERC (estadis 1-5) i que desenvolupin anèmia ( $Hb < 11 \text{ g / dL}$ ) han de ser tractats amb agents estimulants de eritropoetina. Aquests pacients han de rebre més suplementes de ferro per tal d'assegurar un dipòsit de ferro adequat ( $\text{ferritina} > 100 \text{ ng / ml}$ ). D'acord a aquestes guies, l'objectiu de concentració d'hemoglobina, per sobre de  $11 \text{ g / dl}$ , ha de ser definit de forma individual, tenint en compte factors com ara l'edat, el sexe, la situació basal del pacient i les

malalties concomitants; així en pacients amb malaltia cardiovascular severa la concentració d'hemoglobina no ha de ser superior a 12 g / dl. En tots els pacients xifres d'hemoglobina per sobre de 14 g / dl han de ser evitades, a causa dels riscos associats. Entre aquests es troben l'augment de la pressió arterial o un agreujament d'una hipertensió existent, i l'aparició de fenòmens trombòtics (del shunt, infart de miocardi, accidents cerebrovasculars, i embolisme pulmonar)

### **3. Hipertròfia cardíaca.**

La hipertròfia cardíaca s'ha definit clàssicament com l'augment de la mida o el pes de cor. També es pot definir macroscòpicament com un augment del gruix de la paret i/o el septe interventricular (Liang F et al, 1999); en la cèl·lula es caracteritza com un augment de la mida del miòcit cardíac amb un augment de la síntesi proteica i un canvi en l'organització de l'estructura sarcomèrica (Frey N et al, 2004). Els miòcits cardíacs són cèl·lules altament diferenciades que es caracteritzen per tenir gran nombre de sarcòmeres, abundants mitocòndries i un o dos nuclis. La funció miocàrdica depèn del nombre de miòcits i de la quantitat de sarcòmeres per cèl·lula. Pel contrari, la quantitat de sarcòmeres és variable i es modifica dinàmicament en funció de l'estrès hemodinàmic (Lavandero S et al, 2007).

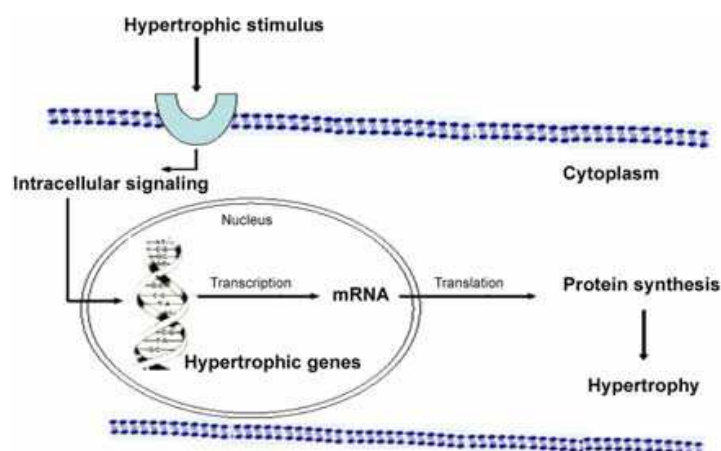
La hipertròfia fisiològica es podria interpretar com un procés adaptatiu del miocardi en front de la situació que l'origina (Ennis IL et al, 2008). En situacions com l'embaràs, el creixement o l'activitat física intensa augmenta la mida dels miòcits de forma proporcional als elements estructurals del miocardi. D'acord a l'enunciat de la llei de Laplace: (Tensió= Pressió/ 2 x Gruix) l'augment de la paret es produeix sense un augment de la fibrosi intersticial i sense un compromís funcional. L'augment del gruix de la paret ventricular afavoriria la normalització de l'estrès del ventricle davant una sobrecàrrega hemodinàmica. En la hipertròfia patològica l'augment de la mida del miòcit s'acompanya d'un augment de

la fibrosi intersticial, un augment de l'apoptosi, una disminució de la densitat capil·lar i una reprogramació de l'expressió gènica amb inducció de gens fetals i repressió de els gens que codifiquen les respectives isoformes de l'adult (Sadoshima J et al, 1997)(Van Empel VP et al, 2004)(McKinsey TA et al, 1999). Aquestes alteracions s'associen a un deteriorament de la funció ventricular que porta cap a la insuficiència cardíaca. El procés d'hipertròfia miocàrdica és un esdeveniment complex en el que diferents estímuls activen distintes vies de senyalització cel·lular que condueixen a canvis en l'arquitectura i funcionament cel·lular (Chien KR, 1999). L'activitat contràctil cardíaca està regulada per mecanismes intrínsecs (autocrins i paracrins) i mecanismes extrínsecs, (endocrins, nerviosos i electrofisiològics) que permeten adaptar el volum minut a les variacions hemodinàmiques.

La hipertròfia cardíaca s'origina per diversos estímuls com l'estirament del miocardi, l'activació neurohumoral i /o l'alliberament de factors de creixement i citocines. Aquests estímuls activen receptors de membrana que activen vies de senyalització cel·lular que són responsables del desenvolupament de la resposta hipertròfica. Moltes de les vies de senyalització cel·lular que en altres teixits condueixen a la proliferació cel·lular, en la cèl·lula miocàrdica modulen el creixement hipertròfic (Molkentin JD et al, 2001)(Passier R et al., 2000). La interacció entre lligand i receptor activa un sistema de transducció mitjançant segons missatgers que es denomina via de senyalització. Les vies de senyalització son cascades enzimàtiques activades per cinases o fosfatases com tirosina cinasa, proteïnes cinases activades per mitògens (MAPK), fosfolipasa C, fosfolipasa D i fosfolipasa A2 (PLC,PLD,PLA2), proteïna cinasa C (PC), proteïna cinasa janus (JNK), factor de creixement epidèrmic (EFG) , factor de creixement de fibroblasts (FGF),etc. (Sadoshima J et al, 1992). Aquestes vies convergeixen en una via final en el nucli on

activen o inhibeixen proteïnes que tenen la capacitat de regular la expressió gènica (Liang F et al, 1999).

**Figura. 1 Traducció de l'estímul hipertrofic en el miòcit. Adaptat de (Dias JA et al, 2008).**

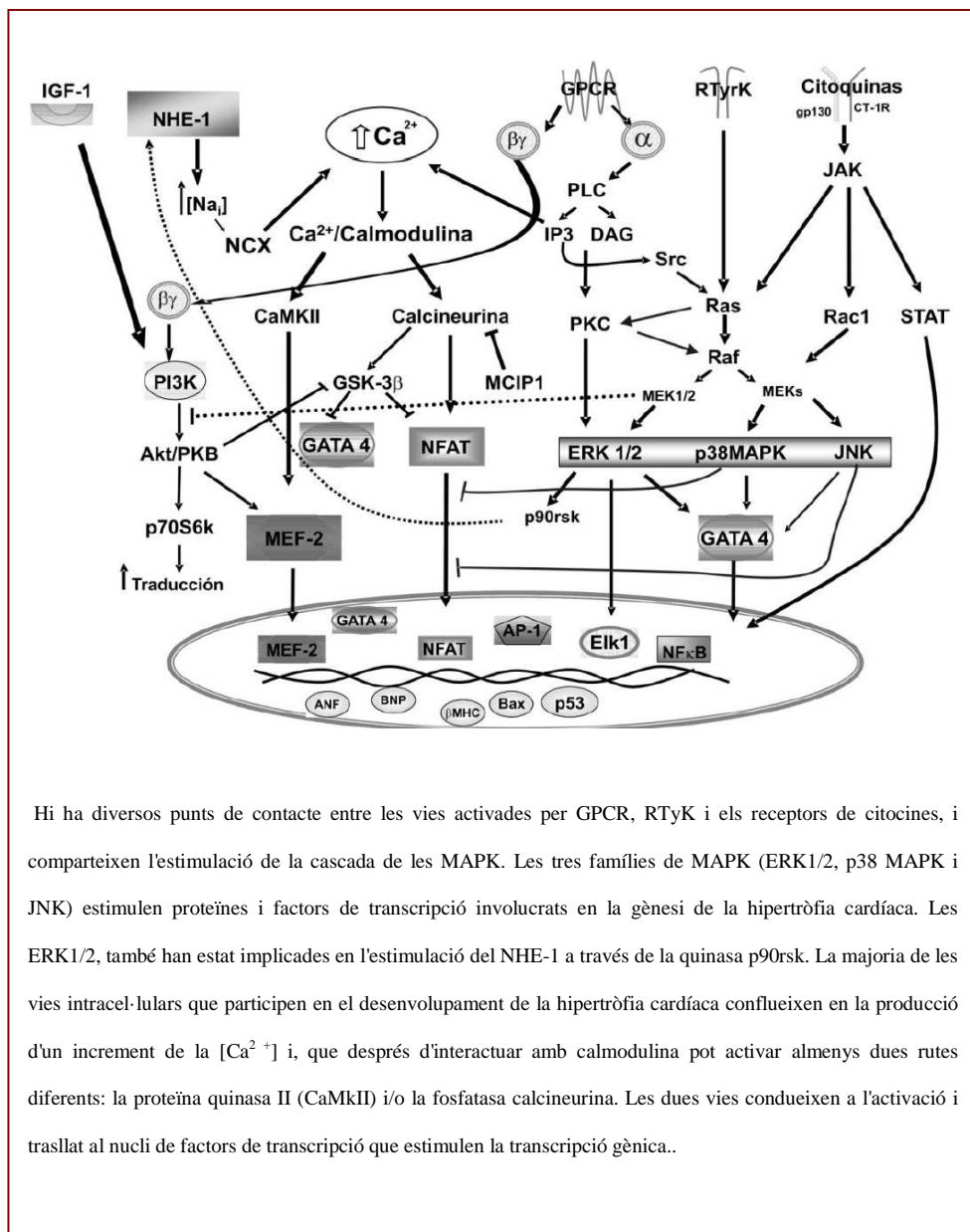


Els receptors de membrana involucrats són entre altres els acoblats a la proteïna G (GPCR), els receptors amb activitat intrínseca de tirosina cinasa (RTyrK), els receptors de citocines i les integrines. Els receptors de membrana són de naturalesa proteica i s'uneixen a lligands de naturalesa hidrosoluble que no poden travessar la membrana.

Els esmentats receptors activen vies de senyalització diferents però entre les quals hi ha entrecreuament i interdependència que conforma una extensa i intrincada xarxa, de tal manera que cap via de senyalització intracel·lular regula la hipertrofia de les cèl·lules miocàrdiques de manera aïllada (Ennis IL et al, 2008).



**Figura 2: Entrecreuament de senyals (Adaptat de (Nolly MB, 2012))**



Hi ha diversos punts de contacte entre les vies activades per GPCR, RTyK i els receptors de citocines, i comparteixen l'estimulació de la cascada de les MAPK. Les tres famílies de MAPK (ERK1/2, p38 MAPK i JNK) estimulen proteïnes i factors de transcripció involucrats en la gènesi de la hipertròfia cardíaca. Les ERK1/2, també han estat implicades en l'estimulació del NHE-1 a través de la quinasa p90rsk. La majoria de les vies intracel·lulars que participen en el desenvolupament de la hipertròfia cardíaca conflueixen en la producció d'un increment de la  $[Ca^{2+}]_i$  i, que després d'interactuar amb calmodulina pot activar almenys dues rutes diferents: la proteïna quinasa II (CaMKII) i/o la fosfatasa calcineurina. Les dues vies condueixen a l'activació i trasllat al nucli de factors de transcripció que estimulen la transcripció gènica..

Els **receptors acoblats a la proteïna G (GPCR)** són activats per l'angiotensina II, la endotelina (ET) i la adrenalina i noradrenalina. Estimulen a receptors units a la proteïna G (AT<sub>1</sub>, ET<sub>A</sub> i receptors alfa-1 adrenèrgics, respectivament) relacionats amb el desenvolupament de la hipertròfia patològica i el seu eventual progrés a la insuficiència cardíaca (Molkentin JD, 2001)(Hunter JJ et al, 1999) Aquests receptors estan acoblats a proteïnes G heterodimèriques tipus G<sub>q</sub>, G<sub>s</sub> i G<sub>i</sub>, les quals estan formades dos subunitats; G $\alpha$  i G $\beta\gamma$ . L'ocupació del receptor produeix l'intercanvi de GDP per GTP a la subunitat G $\alpha$ , cosa que ocasiona la dissociació de les dues subunitats, les quals activen vies diferents de senyalització intracel·lular.

La subunitat  $\alpha$  recluta l'isoforma  $\beta$  de la fosfolipasa C (PLC  $\beta$ ) a la membrana, la qual hidrolitza el fosfat idilinositol 4,5 bisfosfat (PIP<sub>2</sub>) resultant inositol 1,4,5-trifosfat (IP<sub>3</sub>) i diacilglicerol (DAG). El DAG facilita l'activació de la proteïna cinasa C (PKC) que activa les cinases de proteïnes activades per mitògens (MAPKs) mitjançant la cinasa Raf. L'activació de les MAPKs pot produir-se a través de Raf per una via independent de G $\alpha_q$  que involucra cinases de tirosina. La MAPK ERK 1/2 fosforila a la cinasa p90RSK, i aquesta última activa per fosforilació a NHE-1 (intercanviador sodi-hidrògen) (Frohlich ED et al., 1992). D'aquesta manera es promou l'entrada de Ca<sup>2+</sup> a través de la ruta NHE-1/NCX [intercanviador sodi-hidrògen/intercanviador Na<sup>+</sup>/Ca<sup>++</sup>]. Per altra banda, el IP<sub>3</sub> podria induir l'alliberament de Ca<sup>2+</sup> des del reticle sarcoplasmàtic (RS) o de la membrana nuclear. (Wu X et al., 2006). L'augment de la concentració de calci seria el responsable de l'activació de fosfatases i/o cinases que determinen l'augment de la transcripció i de la síntesi proteica i el desenvolupament d'hipertròfia cardíaca (Frey N et al, 2000). De les vies intracel·lulars prohipertròfiques dependents de Calci, la de la calcineurina/NFAT (factor de

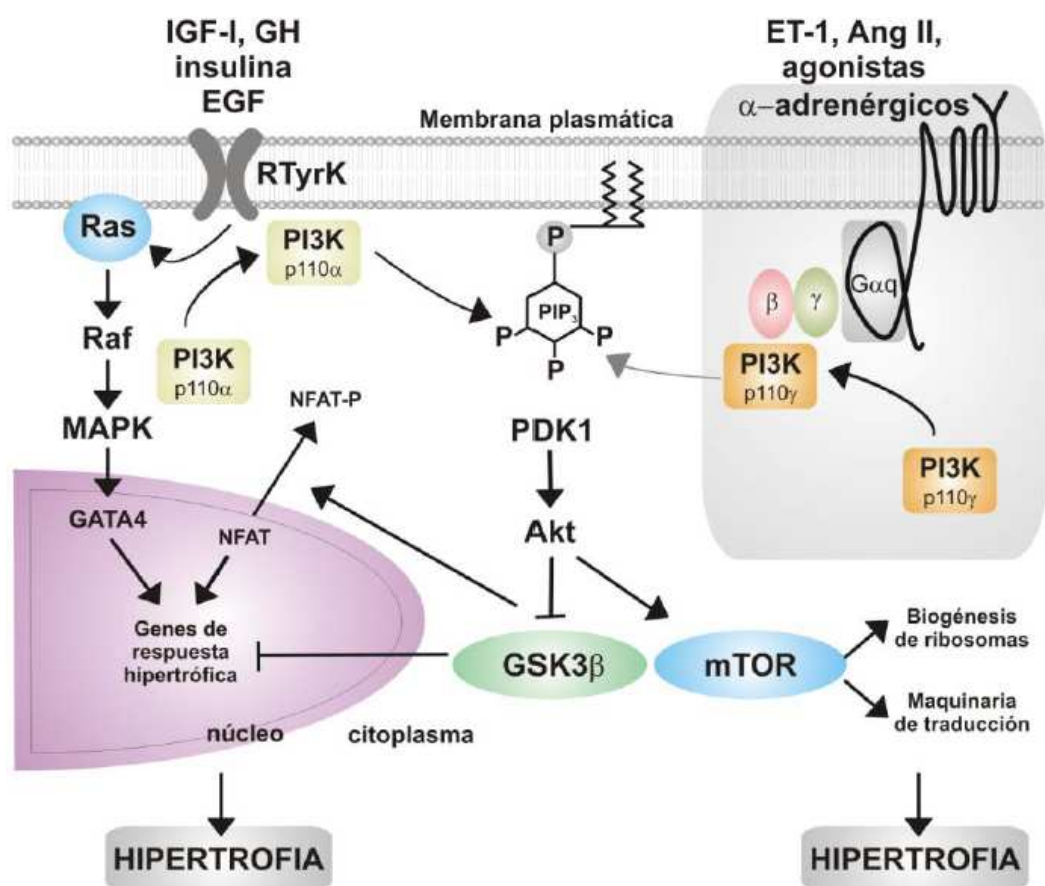


estimulació del GPRC resulta en l'activació de RTyrK, en absència d'un lligand específic per aquest últim, generant senyals mitogèniques. Aquests factors de creixement activen una cascada de segons missatgers relacionats amb el creixement hipertròfic fisiològic (Lupu F et al, 2001). L'estimulació d'aquests receptors activa al menys dues vies de senyalització intracel·lulars diferents: la via cinasa de lípids PI3K/proteïna cinasa B (Akt) i la via Ras/MAPKs. El principal efector de la primera via és l'isoforma 1  $\alpha$  de la PI3K (P110 $\alpha$ ) que mitjançant l'Akt promou la síntesi proteica mitjançant la fosforilació de l'activador de la traducció, mTOR , i la transcripció gènica mitjançant fosforilació i inactivació de la cinasa 3  $\beta$  de la glucògen sintetasa (GSK3  $\beta$ ) (Dorn GW et al, 2005)(Tanaka N et al., 1998). La GSK3  $\beta$  en el seu estat actiu fosforila i inhibeix a diverses molècules vinculades amb el desenvolupament d'hipertrofia cardíaca, per exemple els membres de la família NFAT. Aquesta via s'ha vinculat fonamentalment al desenvolupament d'hipertrofia cardíaca fisiològica o adaptativa atès que la seva activació es caracteritza per una hipertrofia cardíaca amb funció contràctil preservada, absència de fibrosi intersticial, absència d'inducció de gens fetals i és completament reversible (Shiojima I et al., 2005). La inducció de la via dels RTyrK també es pot produir més per transactivació. Evidències recents suggereixen que almenys gran part dels efectes prohipertrofiants dels agonistes dels GPCRs, es deuen a la transactivació de RTyrK com el del EGF (EGFR) (Zhai P et al., 2006). La transactivació estaria intervinguda per diversos mecanismes que no són mútuament excloents i que inclouen la participació de molècules intermediàries de senyalització intracel·lular com el Ca<sup>2+</sup>, l'associació física d'ambdós tipus de receptors en basses lipídiques i l'activació de metal·loproteases que cliven i alliberen de la membrana cel·lular un factor similar a l'EGF, l'HB-EGF, que actua com agonista d'aquests receptors

(Zhai P et al., 2006). A més, els agonistes dels GPCRs, mitjançant la subunitat G  $\beta\gamma$ , activen a l'isoforma P110  $\gamma$  de la PI3K, i conseqüentment a la Akt i els seus efectors.

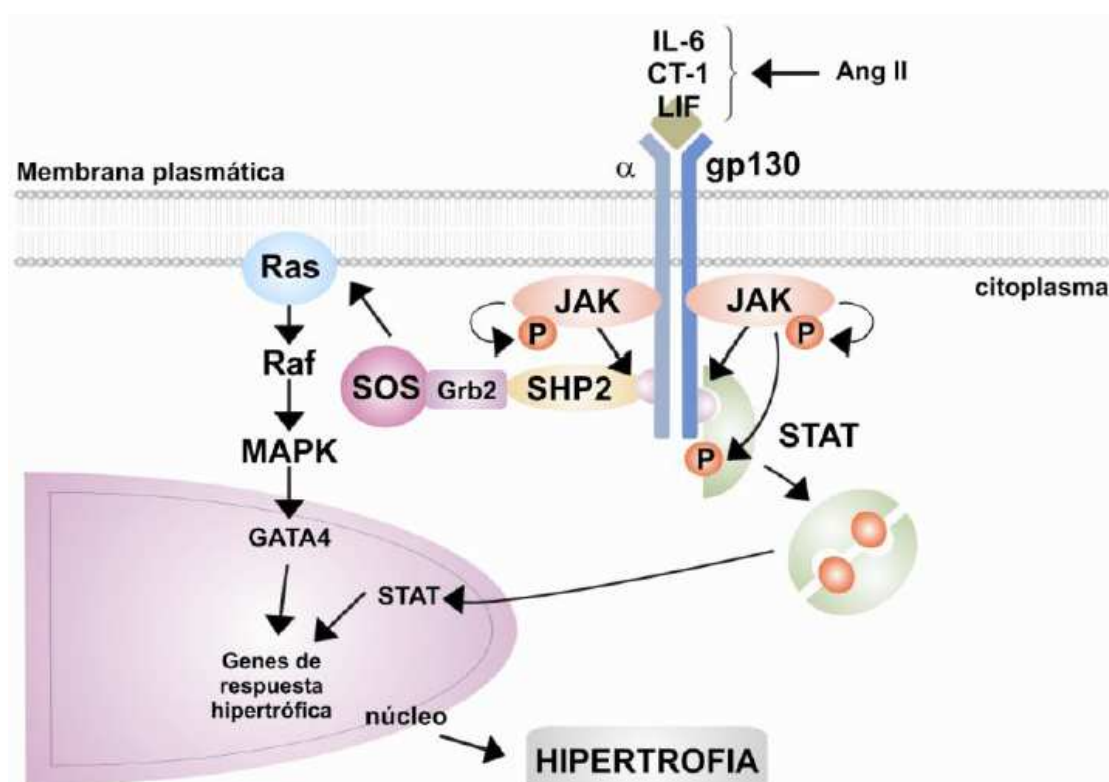
**Figura 4: Activació dels receptors amb activitat intrínseca tirosinacinasas (RTyrK)**

(Adaptat de (Nolly MB et al., 2012))



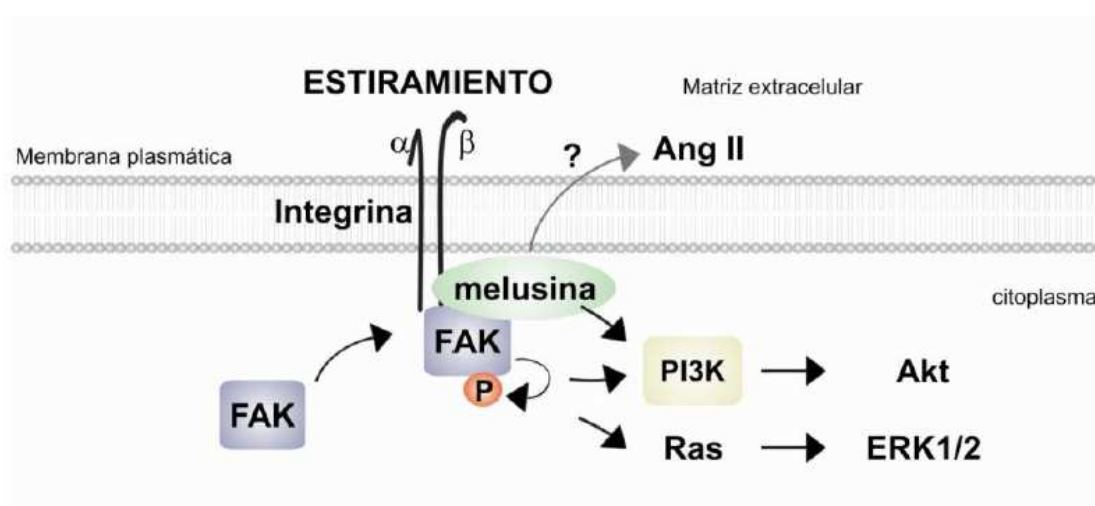
L'activació dels **receptors de citocines** és mitjançant la via de la glicoproteïna gp-130. La gp 130 és una proteïna de membrana que actua com a resposta a les citocines de la família de la IL-6 com la cardiotrofina (CT-1), el factor activador de la leucèmia (LIF), i la IL-6 (Kanda T et al, 2004).

Figura 5: Activació dels receptors de citocines (Adaptat de (Nolly MB et al., 2012))



Les **integrines** són un tipus de receptors que connecten l'aparell contràctil dels miòcits a les proteïnes de la matriu extracel·lular i tenen un paper fonamental amb la conversió de la força mecànica (sobrecàrrega hemodinàmica) en resposta hipertròfica (Kanda T et al, 2004)(Brancaccio M et al., 2003)(Brancaccio M et al., 2006). L'estrès mecànic produït per l'estirament físic dels miòcits al qual es sotmès el miocardi és suficient per induir una resposta genètica i fenotípica hipertròfica. Les integrines són proteïnes integrades a la membrana i que estan implicades en la unió a la matriu extracel·lular. Estan constituïdes per 2 subunitats  $\alpha$  i  $\beta$  que s'estenen a través de la membrana plasmàtica amb un domini extracel·lular que li permet unir-se a proteïnes de la matriu i una porció citoplasmàtica curta que interactua amb els filaments d'actina mitjançant proteïnes accessòries (Miranti CK et al, 2002). No es coneix el mecanisme íntim d'aquest estímul però està avalat per abundants evidències experimentals (Díez J et al, 2001)(Sadoshima J et al, 1997)(Komuro I et al., 1990)(Mann D et al., 1989)(Sadoshima J et al., 1992). La unió de la integrina a un substrat o com a resposta a l'estirament produeix l'activació de proteïnes com FAK (cinasa d'adhesió focal) i melusina. FAK s'activa per autofosforilació induint les vies hipertròfiques PI3K/Akt i Ras/ERK  $\frac{1}{2}$  (Franchini KG et al, 2000). Melusina activa la via hipertrofiant PI3K/Akt com a resposta a l'estirament (Brancaccio M et al., 2003).

**Figura 6: Activació de la integrina (Adaptat de (Nolly MB et al., 2012))**



Existeixen altres vies de transducció de senyals controlades per calci i per altre banda també estan implicats en la resposta hipertròfica els receptors de mineralcorticoides:

### **Hipertròfia cardíaca, $Ca^{2+}$ i calcineurina**

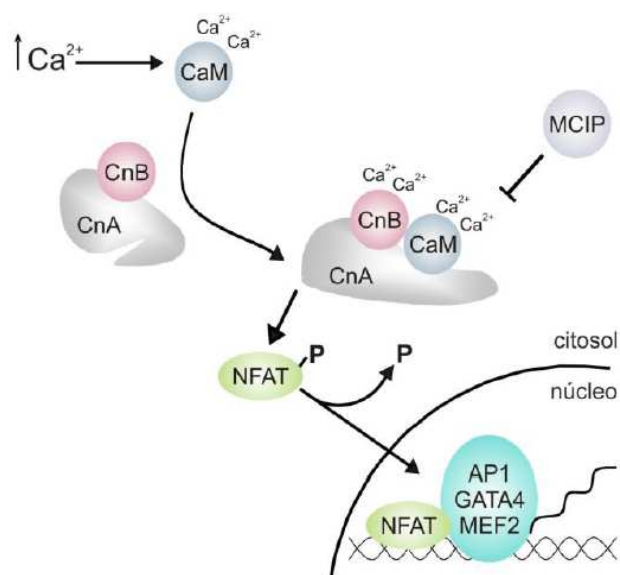
La majoria dels estímuls que indueixen la hipertròfia patològica en resposta a una sobrecàrrega hemodinàmica activen la via de Gq i conflueixen en l'augment de la concentració de calci [ $Ca^{2+}$ ] i activant les vies de senyalització intracel·lular dependents d'aquest ió. L'augment de la [ $Ca^{2+}$ ] és un dels fenòmens més importants en el desenvolupament de la resposta hipertròfica, la qual cosa s'ha confirmat provocant l'augment de la [ $Ca^{2+}$ ] i per mitjà d'agonistes càlcics, (Sei CA et al., 1991) d'ionòfors de  $Ca^{2+}$ , (Sonnenberg H et al, 1986) o mitjançant l'elevació del  $Ca^{2+}$  extracel·lular, (LaPointe MC et al, 1990) induint hipertròfia en els cardiomiòcits in vitro.

A banda de les cinases, com les MAPKs i la PI3K, les fosfatases són també importants factors de transducció de senyals que regulen el creixement i les respostes a l'estrès en molt tipus cel·lulars. Una d'aquestes fosfatases és la fosfatasa de proteïnes 2B (PP2B)



calcineurina. Davant augments sostinguts en la  $[Ca^{2+}]$  i la calcineurina és activada pel complex  $Ca^{2+}$ /calmodulina (CaM) i desfosforila a membres de la família de factors de transcripció NFAT en el citoplasma, permetent que aquests es trasloquin al nucli i interactuïn amb altres factors de transcripció com AP-1, GATA-4 i MEF-2 estimulant la transcripció gènica. (Crabtree CR et al, 1999) (Klee CB et al, 1998) (Dolmetsch RE et al, 1997)(Hogan PG et al, 2003). L'activació de la calcineurina és un senyal suficient per induir la hipertròfia cardíaca encara que possiblement no estrictament necessària (Zhang et al., 1999)(Ding B et al., 1999). El tractament amb inhibidors de la calcineurina com el tacrolimus i la ciclosporina (tot i que amb alguns resultats contradictoris en aquest últim cas), indueix la regressió o prevé el desenvolupament d'hipertròfia cardíaca en diferents models experimentals (Sakata Y et al., 2000)(Meguro T et al., 1999)(Oie E et al, 2000).

**Figura 7: Activació de la calcineurina (Adaptat de (Nolly MB et al., 2012))**



### **Receptors de mineralocorticoides i hipertròfia cardíaca.**

Els receptors de mineralocorticoides estan involucrats en el desenvolupament de la hipertròfia miocàrdica i estan presents en els miòcits cardíacs, en les cèl·lules endotelials i en el múscul llis vascular (Funder JW et al, 1989)(Lombès M et al., 1992)(Funder JW et al,1989; Lombes et al, 1992), i també s'ha demostrat la presència dels enzims necessaris per la síntesi d'aldosterona en el miocardi (Silvestre JS et al., 1998)(Kayes-Wandover KM et al, 2000). El receptor de mineralocorticoides és un receptor intracel·lular que en interactuar amb l'aldosterona es trasloca al nucli i regula la transcripció gènica induint la síntesi de proteïnes (principalment del canal epitelial de Na<sup>+</sup>). L'activació del receptor de mineralocorticoides indueix el desenvolupament de fibrosi cardíaca mitjançant dos mecanismes diferents. En primer lloc, estimulando la síntesi de col·lagen pels fibroblasts cardíacs (Brilla, CG et al, 1994) i en segon lloc originant estrès oxidatiu, inflamació i secundàriament fibrosi (Ahokas, RA et al, 2005). S'ha demostrat que el bloqueig del receptor de mineralocorticoides és efectiu per disminuir la morbiditat i mortalitat d'origen cardiovascular en diferents models experimentals d'hipertròfia cardíaca i a la insuficiència cardíaca així com en pacients amb disfunció ventricular esquerra associada a insuficiència cardíaca o post-infart de miocardi (Pitt B et al., 2003). Aquest efecte beneficiós seria pel bloqueig dels receptors de mineralocorticoides del miocardi, dels vasos sanguinis i del sistema nerviós autònom sent independent dels nivells sèrics d'aldosterona, així com dels valors de pressió arterial. Per exemple, el "4E-left ventricular Hypertrophy study" va mostrar que en pacients amb hipertensió arterial essencial i hipertròfia cardíaca en els que els nivells plasmàtics d'aldosterona eren normals, el bloqueig dels receptors de mineralocorticoides era efectiu per reduir la massa ventricular esquerra, juntament amb la pressió arterial i la incidència de microalbuminúria (Pitt B et al., 2003). El tractament amb

bloquejants dels receptors de mineralocorticoides redueix la fibrosi miocàrdica i vascular (Weber KT, 2000)(Zannad F et al, 2000)(Young M et al, 1995) millora la funció endotelial (Farquharson CA et al, 2015); el balanç autonòmic (Macfadyen RJ et al, 1997)(Wang W et al, 1994); i inhibeix l'estrès oxidatiu. A més el tractament amb espironolactona (receptors de mineralocorticoides) és efectiu per reduir el desenvolupament d'hipertrofia ventricular i prevenir l'estrès oxidatiu en un model experimental d'insuficiència renal crònica (Michea L et al., 2008).

La **hipertrofia ventricular** és el paràmetre estructural cardíac que més augmenta el risc cardiovascular (Mancia G et al., 2007) i és un factor predictiu independent de morbimortalitat tal com es va mostrar al Framingham Heart Study fins i tot després d'ajustar per altres factors de risc cardiovascular com la tensió arterial, la diabetis mellitus o tabaquisme. La HVE és l'única variable relacionada amb la incidència de malaltia cardiovascular i mortalitat per totes les causes en la població general estudiada en l'estudi Framingham , amb excepció de l'edat (Levy D et al, 1990). El diagnòstic d'HVE es pot fer mitjançant la radiografia de tòrax, l'ECG, l'ecocardiografia o la ressonància magnètica nuclear (Mancia G et al., 2007). La radiografia de tòrax no és molt bona tècnica pel diagnòstic d'HVE. La sensibilitat de l'ECG en la detecció de la HVE és baixa (Cabezas M et al., 1996). El diagnòstic ECG es pot fer servir tres criteris: l'índex de Sokolov-Lion, l'índex de Cornell o el Producte de Cornell. Amb l'índex de Sokolov-Lion es diagnostica HVE si l'amplitud d'ona S a V1 més l'amplitud d'ona R a V5 o V6 és superior a 38 mm, amb una sensibilitat del 22 % i una especificitat del 92 %, o bé si l'amplitud d'ona S a V1 més l'amplitud d'ona R a aVL és superior a 11 mm, amb una sensibilitat de 18 % i especificitat del 92 %. Amb l'índex de Cornell, es diagnostica HVE si l'amplitud d'ona S a V3 més l'amplitud d'ona R a aVL és superior a 20 mm en dones i superior a 28 mm en

homes amb una sensibilitat del 31 % i especificitat del 87 %. Amb el Producte de Cornell es diagnostica HVE si la duració del complex QRS per l'amplitud de l'ona R a aVL més l'amplitud d'ona S a V3 és superior a 2.440/mm seg. El producte de Cornell juntament amb l'Índex de Sokolov-Lion és un predictor independent d'esdeveniments cardiovasculars (Mancia G et al., 2007). L'ecocardiografia és el mètode més sensible per el diagnòstic de la HVE. La RNM es reserva per indicacions especials a causa del seu elevat cost.

L'estudi ecocardiogràfic de la HVE habitualment es fa en mode M quantificant el gruix del septe i la paret posterior del ventricle esquerre. Es diagnostica HVE si el gruix de les parets es superior a 11 mm segons els criteris de la Societat Americana d'Ecocardiografia (Sahn D et al, 1978) (Lang RM et al. 2005), no obstant el mètode més fiable per la valoració de la HVE és la estimació de la massa ventricular esquerra ja que la quantificació del gruix miocàrdic mesurant un diàmetre únic com el gruix de la paret posterior o el septe interventricular no té en compte la mida global de la cavitat ventricular. Per això pel diagnòstic de la HVE s'ha de calcular la massa ventricular esquerra considerant el gruix de les parets ventriculars i el diàmetre ventricular. La Massa ventricular esquerra té una bona correlació amb les troballes de les necròpsies (Koren, MJ et al, 1991).

El càlcul de la MVE es pot realitzar mitjançant diverses fórmules però les més acceptades són el mètode de la convenció de PENN i el mètode modificat de l'American Society of Echocardiography (ASE).

La fórmula de PENN exclou el gruix de l'endocardi com a mesura del septe i de la paret posterior i l'inclou en el diàmetre sistòlic i diastòlic de ventricle esquerre. Es correlaciona estretament amb els resultats de les necròpsies i sobreestima la MVE en tant sols un 6 % (Devereux RB et al, 1977)(Devereux RB et al, 1986).

$$MVE = 1,04 \times [(DTDVE+GTDIV+GTDPP)^3-(DTDVE)^3] - 13,6 \text{ gr}$$

La fórmula de ASE modificada inclou l'endocardi en el gruix del septe interventricular i la paret posterior. La fórmula inicial també tenia una bona correlació amb les troballes de les necròpsies ( $r= 0,9$ ;  $p< 0,001$ ) i sobreestimava la massa ventricular esquerra en un 25 %, per la qual cosa es va modificar i actualment és molt utilitzada (Devereux RB et al, 1986).

$$MVE = 0,8 \times [1,04 \times [(DTDVE+GTDIV+GTDPP)^3-(DTDVE)^3]] + 0,6 \text{ gr}$$

La massa cardíaca està influenciada per la mida corporal per la qual cosa s'ha de corregir per la superfície corporal i s'obté l'índex de massa ventricular esquerra (IMVE) que és el millor indicador per determinar l'anatomia del VE (Devereux RB et al., 1984).

Un cop calculada la massa ventricular esquerra i la superfície corporal es pot calcular l'índex de massa ventricular esquerra: IMVE ( $\text{gr}/\text{m}^2$ ):  $MVE/SC$ .

El sexe i la superfície corporal tenen una influència important en l'anatomia normal del ventricle esquerra. El punt de tall per el diagnòstic de HVE per l'IMVE és  $134 \text{ gr}/\text{m}^2$  en homes i  $110 \text{ gr}/\text{m}^2$  en dones (Devereux RB et al, 1986) (Devereux RB et al., 1984), o  $49,2 \text{ gr}/\text{m}^{2,7}$  en homes i  $46,7 \text{ g}/\text{m}^{2,7}$  en dones. La indexació de la massa ventricular esquerra permet fer comparacions entre subjectes amb diferents mides corporals. No obstant la indexació amb l'alçada, pes o superfície corporal segueix sent controvertida. Els estudis suggereixen que la indexació per alçada elevada a potències al·lomètriques tals com 2,7 tenen avantatges sobre la superfície corporal especialment quan es tracta de predir esdeveniments en pacients obesos (Chirinos et al., 2010)(De Simone et al., 2005). No obstant els estudis poblacionals més grans que reporten la massa del VE han indexat per la superfície corporal (Marwick T et al., 2015). Per altre banda, en pacients amb IRC en hemodiàlisis està sotmès a grans variacions de pes corporal a causa de les alteracions de la volèmia o per el compromís de l'estat nutricional que pot induir a error d'avaluació basats en la indexació per la superfície corporal, per la qual cosa la indexació a la potència de 2,7

proposada per de Simone et al sembla ser la més encertada per aquest tipus de pacients (Henrique S et al, 2008).

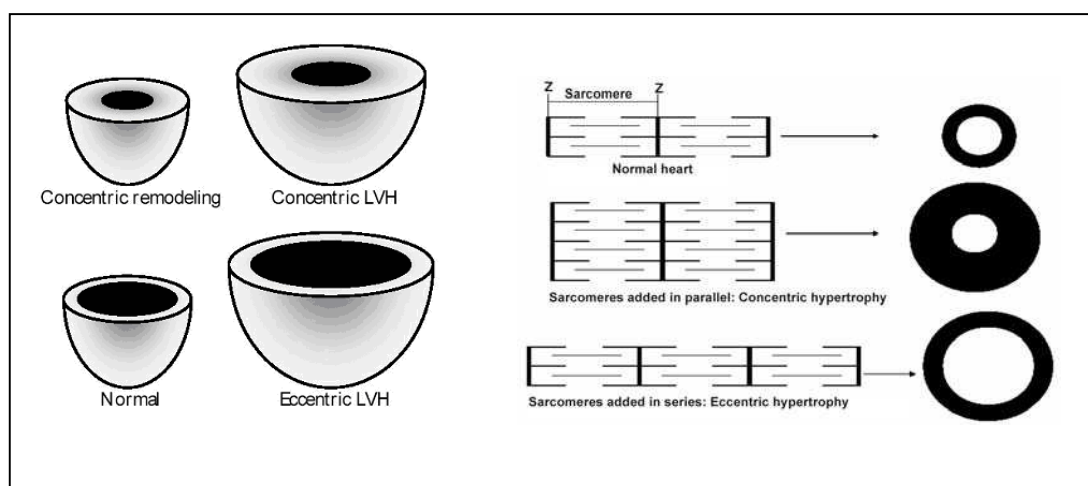
L'ecocardiografia en modo M calcula la PP i el DTDVE. A partir d'aquestes dades es calcula el gruix relatiu de la paret (GRP) amb la fórmula descrita per Reichek i Devereaux (Reichek N et al, 1982)  $GR = 2 \times (PP / DTDVE)$ . Es considera un GRP normal si  $GRP < 0,45$  (Ganau A et al., 1992)(Koren MJ et al., 1991).

Existeixen tres patrons geomètrics d'hipertrofia patològica en funció del gruix de la paret i el diàmetre de la cavitat del ventricle esquerre: hipertrofia concèntrica, hipertrofia excèntrica i el remodelat concèntric. La hipertrofia concèntrica es caracteritza per un augment de l'espessor de la paret amb poc o cap grau de dilatació de la cavitat. La incorporació de sarcòmers és predominantment en paral·lel amb el creixement en amplada del miòcit. Aquest tipus d'hipertrofia es dona quan els estímuls produeixen una sobrecàrrega crònica de pressió.

La hipertrofia excèntrica es caracteritza per un increment menor del l'espessor de la paret ventricular i un augment de la cavitat. El agregat de sarcòmers és en sèrie, cosa que indueix un augment en longitud del miòcit. Es dona associat a sobrecàrrega de volum.

En la remodelació concèntrica hi ha un índex de massa ventricular normal però amb augment del gruix relatiu de la paret ventricular.

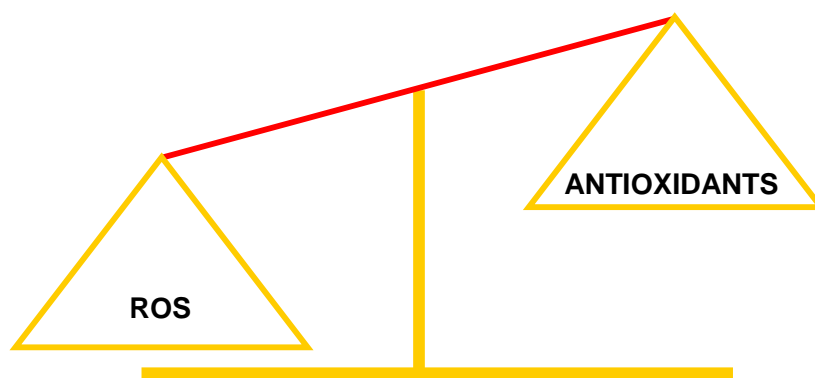
**Figura 8. Patrons geomètrics cardíacs (adaptat de Dias Garcia JA et al, 2008).**



#### 4. Estrès oxidatiu:

L'estrès oxidatiu és un terme descrit per primera vegada per Sies el 1985 i es defineix com la lesió tissular produïda per un desequilibri entre la generació d'espècies reactives d'oxigen i una insuficiència dels mecanismes de defensa antioxidant (Sies H, 1985).

**Figura 9: Estrès oxidatiu**



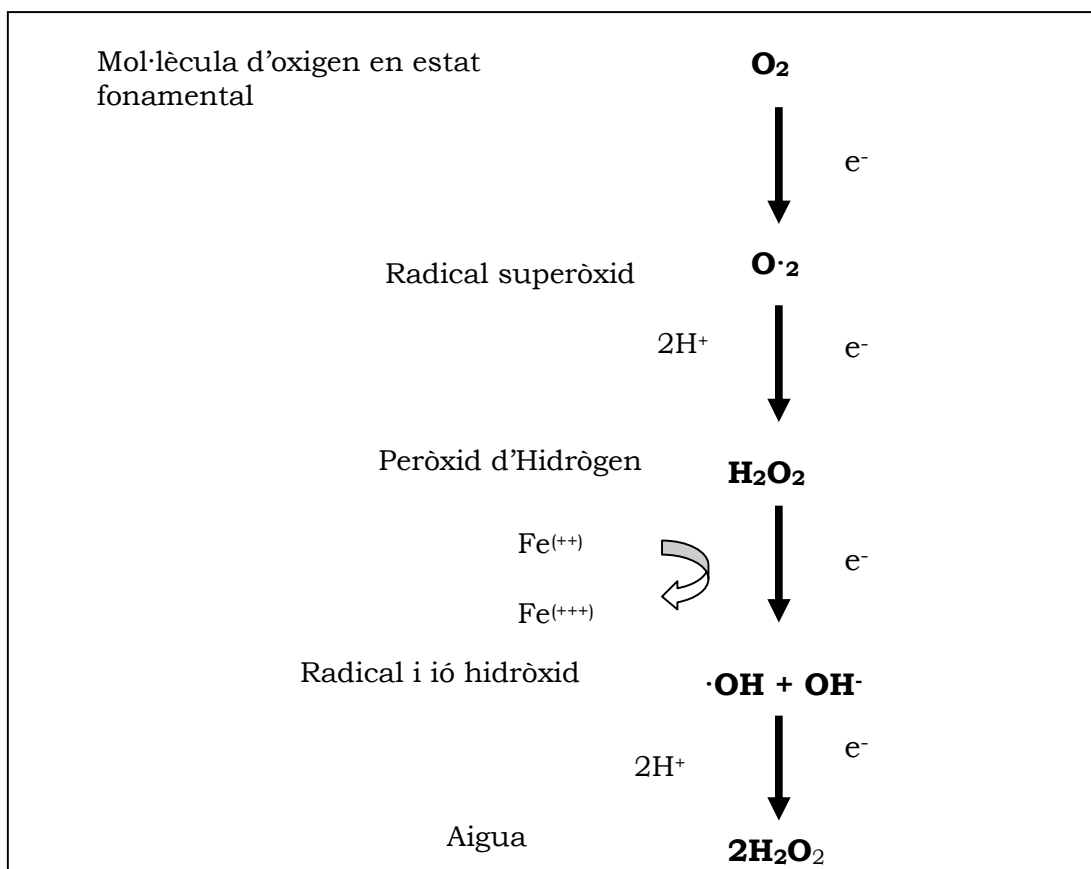
**L'estrès oxidatiu es produeix per l'augment en la velocitat de generació de ROS o disminució de les defenses antioxidants**

#### 4.1. Metabolisme oxidatiu:

La oxidació és un procés bioquímic en el que es produeix una pèrdua d'electrons, una captació d'oxigen o una cession d'hidrogen i reducció aquell procés en que es capten electrons o es perden oxígens. Tot procés d'oxidació s'acompanya sempre d'un altre procés de reducció. A aquestes reaccions d'oxidoreducció se'ls denomina reaccions REDOX entre parells conjugats. Aquestes reaccions d'oxidoreducció permeten als éssers vius obtenir la major part d'energia lliure en forma d'ATP durant l'oxidació de carbohidrats i altres compostos orgànics. Per la producció de l'energia es requereix oxigen. L'oxigen per acció del complex citocrom oxidasa de la cadena respiratòria mitocondrial rep 4 electrons per formar aigua. L'oxigen molecular ( $O_2$ ) té dos electrons no aparellats amb espins paral·lels, cosa que fa difícil que capti dos electrons simultàniament. Normalment, aproximadament un  $< 5\%$  de l'oxigen és reduït en forma incompleta en acceptar un menor nombre

d'electrons, donant origen a compostos intermedis inestables, anomenats espècies reactives d'oxigen o reactive oxygen species (ROS). L'oxigen es metabolitza al final de la cadena mitocondrial. Per a una reducció complerta de l'oxigen mol·lecular es necessari afegir 4 electrons ( $e^-$ ) i quatre protons ( $H^+$ ). En la primera reacció s'afegeix un electró a l'oxigen i es produeix el radical superòxid ( $O_2^-$ ). L'adició d'un electró al superòxid crea el peròxid d'hidrogen ( $H_2O_2$ ) el qual es dissocia i forma un radical hidroxil i un ió hidroxil ( $OH^-$ ) mitjançant una reacció catalitzada pel ferro en la seva forma reduïda ( $Fe^{++}$ ).

**Figura 10. Metabolisme de l'oxigen mol·lecular fins l'aigua. Adaptació de John Dryden (2000)**





## 4.2. Radical lliure

Un radical lliure d'oxigen (RLO) és una mol·lècula o fragment mol·lecular que presenta 1 o 2 electrons desaparellats en el seu orbital més extern, la qual cosa els fa ser extremadament reactius. Un electró desaparellat incrementa la reactivitat d'un àtom o mol·lècula i busca complementar el seu últim orbital, per la qual cosa els radicals lliures tenen una vida mitja molt curta (milionèsimes de segons) i són altament reactius amb altres mol·lècules (Castrejón Sosa M, 2007). Els radicals lliures oxiden a les mol·lècules veïnes per adquirir un equilibri químic. Els RLO danyen les macromol·lècules com hidrats de carboni, lípids, proteïnes i àcids nucleics, i alteren els processos cel·lulars (respiració cel·lular, funcionalitat de les membranes, producció d'enzims ...).

## 4.3. Espècies reactives d'oxigen

Els radicals lliures provinents de l'oxigen es denominen col·lectivament espècies reactives de l'oxigen o ROS (reactive oxygen species). Els ROS es classifiquen en:

**Taula 3. Classificació d'espècies reactives d'oxigen.**

Radicals lliures	No Radicals
ROO·      radical peròxid	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> peròxid d'hidrogen
OH·      radical hidroxil	
O <sub>2</sub> <sup>-</sup> anió superòxid	<sup>1</sup> O <sub>2</sub> *      oxigen singlet

Fonts biològiques de radicals lliures:

- Mitochondria : és la principal font de RL mitjançant el procés de fosforilació oxidativa.

L'O<sub>2</sub> actua com l'acceptor final d'electrons amb producció d'aigua. En el procés es formen mol·lècules amb diferent grau d'oxidació. Reducció complerta:  $O_2 + 4H^+ + 4e \rightarrow 2H_2O$ .

Les espècies parcialment reduïdes són: el radical superòxid:  $O_2 + e \rightarrow O_2^{\cdot-}$  (radical superòxid); el peròxid d'hidrogen:  $O_2 + 2H^+ + 2e \rightarrow H_2O_2$  (peròxid d'hidrogen); i el radical hidroxil:  $O_2 + 2H^+ + 3e \rightarrow OH^- + OH^{\cdot}$  (radical hidroxil).

- Peroxisomes: són organelas citoplasmàtiques molt riques en oxidases i generen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> que es metabolitza per la catalasa (CAT) i transformat en H<sub>2</sub>O (Camps D, 2010).

- Leucòcits polimorfonuclears: al trobar-se amb l'agent infeccios els PMN experimenten un marcat consum d'oxigen que succeeix a la membrana plasmàtica on la NADPH oxidasa genera RL a partir de l'oxigen i electrons derivats de la via de les pentoses (Camps D, 2010).

-L'enzim xantina oxidasa es localitza en el citoplasma i en la superfície de la membrana cel·lular. Participa en la oxidació de substàncies endògenes com les purines i substàncies exògenes com l'alcohol. La seva funció més reconeguda és la de factor limitant de la degradació d'àcids nucleics durant la qual les purines són degradades fins àcid úric a expenses de generar anió superòxid (Camps D, 2010).

-Els ROS es generen també a l'organisme com l'exposició a radiacions ionitzants, raigs UV, contaminació ambiental, alguns fàrmacs, hiperòxia, excés d'exercici o isquèmia, entre altres.

#### 4.4. Antioxidants

Els antioxidants són molècules que quan estan presents en concentracions més baixes que el substrat oxidable són capaces d'endarrerir o d'inhibir l'oxidació d'aquest substrat (Benzie, 2003). Els mecanismes de defensa antioxidant es poden dividir segons la seva naturalesa en dos grups: en enzimàtics i no enzimàtics.

##### 4.4.1. Sistemes antioxidants enzimàtics

Aquests enzims representen la primera barrera per a la producció de ROS. Es tracta d'enzims amb capacitat antioxidant, que no es consumeixen en reaccionar amb les ROS, i són dependents de certs cofactors, generalment metalls, com el coure, el ferro, el magnesi, el zinc o el seleni. Els enzims antioxidants més importants són la superòxid dismutasa (SOD), la catalasa (CAT), la glutatió reductasa (GR) i la glutatió peroxidasa (GPx).

###### 4.4.1.1. Superòxid dismutasa

La superòxid dismutasa (SOD) va ser descoberta per Man i Keilin el 1939. És un enzim compost de metal·loproteïnes que està present en les cèl·lules aeròbiques i fluids extracel·lulars, catalitza la dismutació de RL superòxid a peròxid d'hidrogen, cosa que no requereix cosubstrats (Bandyopadhyay, et al, 1999).

**Figura 11: Reacció química Superòxid dismutasa.**



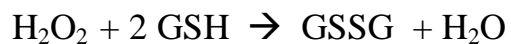
La SOD protegeix a la cèl·lula de les reaccions nocives del superòxid. El superòxid és una de les principals ROS en la cèl·lula, per la qual cosa la SOD té un paper fonamental com antioxidant.

En humans existeixen tres isoformes SOD depenent del metall que continguin. Les isoformes predominants són la SOD1 que és un dímer, es troba en el citoplasma com SOD-Cu i SOD-Zn, i esta localitzada preferentment al citosol (Chaudière J, et al, 1999). El gen que la codifica es troba localitzat en el cromosoma 21 (Yu, 1994). La isoforma SOD 2 és un tetràmer, té manganès en el seu centre reactiu i es troba en la matriu mitocondrial (Chaudière J, et al, 1999). El gen que la codifica es troba localitzat en els cromosoma 6 (Yu, 1994). La isoforma SOD 3 és un tetràmer, conté coure i Zn en el seu centre reactiu i es troba en el líquid extracel·lular (Chaudière J, et al, 1999). Els gen que la codifica es troba localitzat en els cromosoma 4 (Yu, 1994). La biosíntesis d'aquests enzims es troba fortament regulat per la concentració de substrat sobre la qual actua.

#### **4.4.1.2. Glutatió peroxidasa**

És una selenoproteïna que s'ubica a la matriu mitocondrial i al citosol. En presència de glutatió reduït (GSH) com agent reductor catalitza la reducció del peròxid d'hidrogen a hidrogen i altres peròxids orgànics en aigua i alcohol, respectivament (Powers et al, 1999). Al igual que altres selenoproteïnes el lloc actiu de GSH-Px conté seleni (Se) sota la forma de residus de selenocisteïna incorporada a una cadena polipeptídica conformada per 21 aminoàcids. Les intervencions de la GPx poden evidenciar-se en les següents reaccions:

## Figura 12. Glutatió peroxidasa



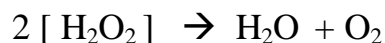
S'han descrit 4 isoformes de les de la GSH-Px que difereixen tant en la seva ubicació com en la especificitat de substrate (Holben D et al, 1999), tres de les quals presenten estructura tetramèrica (Arthur JR, 2000); (Allan C et al, 1999). La primera d'elles, la GPx cel·lular o clàssica, està pràcticament en totes les cèl·lules, pot reduir el peròxid d'hidrogen i hidroperòxids orgànics lliures en aigua i alcohols. La segona isoforma és la GPx plasmàtica o extracel·lular, és una glicoproteïna purificada, caracteritzada a partir de plasma humà que és sintetitzada en les cèl·lules tubulars proximals del ronyó. El tercer tipus és la GPx fosfolípid hidroperòxid, la funció biològica de la qual és protegir contra la LPO reduint hidroperòxids d'àcids grassos en les membranes cel·lulars i prevenint l'oxidació de lipoproteïnes de baixa densitat. És la única forma la estructura de la qual és monomèrica, es a dir, que conté un sol residu de selenocisteïna (Arthur JR, 2000); (Allan C et al., 1999).

L'últim tipus es denomina GPx gastrointestinal i representa la principal peroxidasa dependent de glutatió en el tracte gastrointestinal. És important en la reducció d'hidroperòxids de colesterol i en la protecció contra la ingestió de peròxids lipídics (Holben et al, 1999).

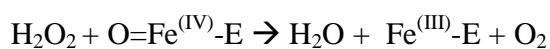
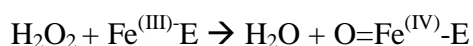
#### 4.4.1.3. Catalasa

Va ser descoberta per Loew el 1901. És un enzim que conté 4 grups hem amb ampla distribució intracel·lular, es concentra principalment en peroxisomes i mitocòndries (Powers SK et al, 1999) per catalitzar la descomposició del peròxid d'hidrogen, provinent de la dismutació del superòxid en aigua i oxigen. Aquesta funció és compartida amb l'enzim glutatió peroxidasa que no requereix cofactors.

**Figura 13. Catalasa:**



El mecanisme complert de la catalasa encara no es coneix, la reacció química es produeix en dos etapes:



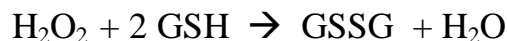
On Fe-E representa el nucli de ferro del grup hem unit a l'enzim. En general les baixes concentracions de peròxid d'hidrogen estimulen l'activitat de peroxidases, mentre que les altes concentracions de peròxid són preferentment catalitzades per la catalasa (Yu, 1994).

#### 4.4.1.4. Glutatió reductasa

La glutatió reductasa és un flavoenzim depenent del nicotinamin adenin dinucleòtid fosfat reduït (NADPH) que catalitza la reducció del glutatió oxidat (GSSG) a glutatió reduït (GSH) el qual serà utilitzat per la glutatió peroxidasa (GPx) per la reducció del peròxid d'hidrogen ( $H_2O_2$ ) i de lipoperòxids (L-OOH), els quals són elements tòxics.

La glutatió reductasa es un enzim homodimèric compost por 2 subunitats idèntiques entre sí unides por un pont disulfur. Cada subunitat conté 478 aminoàcids amb un pes mol·lecular de 51 569 Daltons (Cisneros E, 1995).

**Figura 14. Reacció química Glutatió reductasa**



#### 4.4.2. Sistemes antioxidants no enzimàtics

Principalment són d'origen exogen i provenen de la dieta. Els antioxidants exògens s'oxiden al neutralitzar el radical lliure per la qual cosa la reposició d'aquests ha de ser contínua amb la ingesta dels nutrients que els contenen Són principalment la vitamina E, vitamina C, beta carotens, polifenols, flavonoides i oligoelements. Alguns components són d'origen endogen com el glutatió (GSH), l'urat, l'ubiquinol, la melatonina i algunes proteïnes plasmàtiques.

#### 4.4.2.1. Glutatió

El glutatió (gamma-glutamilcistinilglicina), GSH es troba en tots les animals, plantes i microorganismes, principalment en forma soluble en el citosol. Va ser descobert per Hopkins el 1921. El glutatió en les cèl·lules de mamífers es troba en concentracions promig de 12 mM. Té importants funcions com antioxidant, es part important de la detoxificació de xenobiòtics, és cofactor per les reaccions d'isomerització i també serveix com a emmagatzemen i transport de cisteïna (Ballatori N et al, 2009).

Existeix en dos formes la forma antioxidant "glutatió reduït" ( GSH ) i la forma oxidada, un composta unit per enllaços disulfur, conegut com "glutatió oxidat" (GSSG) (Kosower NS et al, 1978).

El GSH en la seva forma reduïda és una molècula formada per la unió de tres aminoàcids, l'àcid glutàmid, la cisteïna i la glicina, units covalentment terminació amb terminació. El grup sulfidril (-SH) prové del residu de cisteïna i és el que confereix a la mol·lècula la seva capacitat donadora d'electrons. El GSH està present dins de les cèl·lules principalment en la seva forma reduïda. En una cèl·lula en bon estat el GSSG rarament excedeix el 10 % del total de la cèl·lula (Anderson, 1996).

El GSH és controlat homeostàticament, es a dir que contínuament està ajustat respecte el balanç entre la síntesis de GSH (GSH sintetasa), el seu reciclatge a partir de GSSG ( GSH reductasa) i la seva utilització.

El GSH es sintetitza al citoplasma. Primer la cisteïna i el glutamat són combinats per l'enzim gamma-glutamilcisteïna sintetasa, la disponibilitat de cisteïna usualment és un factor limitant. L'acumulació excessiva de GSH actua inhibint aquest enzim i d'aquesta manera es controla la síntesis de GSH. La segona reacció per la síntesis de GSH combina a



la gamma-glutamilcisteïna amb la glicina per generar GSH, aquesta reacció està catalitzada per la GSH sintetasa.

El GSH és un cofactor essencial per els enzims antioxidants denominats GSH peroxidases les quals són utilitzades per detoxificar peròxids. Un cop el GSH ha estat oxidat a GSSG el reciclatge del GSSG a GSH es porta a terme per l'enzim glutatió reductasa. Aquest enzim utilitza com a font d'electrons el coenzim NADPH el qual prové principalment de la via de les pentoses fosfato. El GSH també contribueix al reciclatge d'altres antioxidants que han estat oxidats com l'alfa-tocoferol (vitamina E) i els carotenoides (Kidd, 1997).

Quan augmenta l'estrès oxidatiu, la capacitat del sistema GSH peroxidasa/GSH reductasa pot ser superada i produir-se un acúmulo intracel·lular de GSSG. Per mantenir l'estat redox de la cèl·lula, el GSSG és transportat activament fora de la cèl·lula, per la qual cosa el nivell de GSSG plasmàtic pot ser considerat un bon índex de l'estrès oxidatiu intracel·lular (Deleve et al, 1990).

La vitamina E o tocoferol és el principal antioxidant en relació amb les LDL. És capaç de captar radicals de l'oxigen i aturar la cadena de reaccions dels radicals lliures. La vitamina E és un potent captador biològic de radicals, ja que la seva estructura li permet captar radicals lliures tant en la zona lipofílica com hidrofílica. La trobem a la membrana i al plasma. Té diverses formes isomèriques però la més important pel que fa a quantitat i acció és l' $\alpha$ -tocoferol. Després de la seva interacció amb el radical lliure, el radical tocoferoxi pot ser regenerat pel ubiquinol, glutatió reduït i per la vitamina C (Céspedes T, 2000). Interacciona amb la vitamina C, que es troba al citosol i regenera el tocoferol, ja que el lloc actiu de la vitamina E està ubicat la cara interna de la membrana, que es troba en contacte amb el citosol.

L' àcid ascòrbic o vitamina C o és considera un dels més poderosos i potser el menys tòxic dels antioxidants naturals (Bendich A et al, 1987), participa en nombrosos processos biològics com la hidroxilació hepàtica del colesterol a nivell microsomal, i a més per les seves propietats reductores milloren l'estabilitat i utilització de l'àcid fòlic i la vitamina E. La vitamina C capta radicals superòxid i hidroxil, i actua com a antioxidant interrompent la cadena de la peroxidació lipídica. També actua, indirectament, protegint les membranes lipídiques, mitjançant la regeneració de la forma activa de vitamina E que s'uneix a les membranes. La vitamina C semblar ser important en la protecció antioxidant del plasma, així com en altres fluids extracel·lulars, en membranes i intracel·lularment (Dart AM, 1999). La vitamina C és hidrofílica, i al contrari que la vitamina E, actua millor en mitjans aquosos (Yu B. et al, 1994). L'àcid ascòrbic és molt abundant a l'humor aquós cosa que protegeix el cristal·lí contra els processos radicalars de l'envelliment que condueixen a la cataracta. La vitamina C pot estar reduïda o oxidada, i formar una espècie intermèdia de tipus radicalari que té capacitat de captar l'oxigen singulet i altres espècies de tipus radicalars. S'ha demostrat que l'administració crònica de vitamina C reverteix la disfunció vasomotora endotelial en pacients amb malaltia coronària (Gokce N et al, 1999). Les fruites són la major font d'àcid ascòrbic en la dieta, especialment els cítrics, el meló, el kiwi i les cireres. També forma part de la composició de alguns vegetals com tomàquets, coliflor, cols de Brussel·les, col, o bròquil (Levine M et al., 1986).

Els carotenoides són pigments que es troben en plantes i microorganismes, però no són sintetitzats pels organismes animals. Els principals carotenoides trobats en el plasma humà són: luteïna, criptoxantina, carotè, i carotens. Les principals fonts de carotenoides en la dieta són les fruites i vegetals com la pastanaga, tomàquets, taronges, bròquil, meló, entre

d'altres. La dieta ens aporta de mitjana uns 6 mg / dia dels principals carotenoides (Michaud DS et al , 2000)(López-Miranda J et al, 2000).

Els flavonoides són un gran grup d'antioxidants polifenòlics que es troben en moltes fruites, vegetals i begudes com el te, el vi i la cervesa principalment com O-glicòsids. Són eficients antioxidants capaços de reaccionar amb radicals com els radicals peroxils, el radical hidroxil, radical superòxid , formant el radical fenoxi (Rice-Evans CA et al, 1995)(Rice-Evans CA et al, 1996).

L'àcid úric és el producte final del metabolisme de les purines en l'esser humà i altres primats, ja que no tenen l'enzim uricasa, la qual cosa fa que continuï la degradació fins al·lantoïna i urea. L'àcid úric actua com a antioxidant fisiològic ja que és un “scavenger” de radicals oxigenats i quelant d'ions de metalls de transició (Becker BF et al, 1993)

#### **4.5. Altres marcadors d'estrès oxidatiu.**

##### **4.5.1. Paraoxonasa 1**

La paraoxonasa 1 (PON 1) pertany a una família de tres gens: la PON1 PON2 i PON3. La PON 1 i la PON 3 es sintetitzen exclusivament al fetge; la PON2 es sintetitza a fetge, cervell, ronyó i testicles.

La paraoxonasa 1 (PON1) es troba unida a l'apolipoproteïna A1 de les lipoproteïnes d'alta densitat (HDL). Aquest enzim actua inhibint l'oxidació de les LDL i de les HDL per la qual cosa disminueix l'estrès oxidatiu. Aquest enzim presenta un grup de polimorfismes tant a la regió codificant com en la regió promotora La presència de l'al·lel de risc pot afavorir l'aparició o no d'un esdeveniment cardiovascular en els individus. No obstant això, recents estudis suggereixen que mesurar l'activitat és més important que determinar la presència o no del polimorfisme per se.

La PON1 és capaç d'hidrolitzar compostos òrgans fosforats (ex: paraoxón, diazoxón soman, sarín), té una funció arilesterasa i funció lactonasa, en hidrolitzar lactones, específicament homocisteïna tiolactona per regenerar la homocisteïna. Diversos estudis li han atribuït propietats antioxidants per la seva capacitat d'eliminar peròxids lipídics de les lipoproteïnes, especialment de la LDL, a més de modular els nivells d'estrès oxidatiu, evitant així, la formació i propagació de la placa d'ateroma i risc cardiovascular.

S'ha reportat una concentració, de PON1 menor en els pacients en hemodiàlisi que en pacients controls (Juretić D et al., 2001), en pacients amb insuficiència renal crònica prediàlisi i en pacients en hemodiàlisis (Dirican M et al, 2004), i en portadors de trasplantament renal i en pacients en hemodiàlisi (Sztanek F et al., 2012). En un altre estudi es va mostrar que el nivell sèric de PON1 era el millor predictor del gruix intima mitja carotídi en una petita cohort de pacients amb IRC prediàlisi i en hemodiàlisi (Saeed SA et al, 2008).

#### **4.5.2 Anticossos anti LDL oxidada**

Hi ha gran quantitat d'evidències experimentals atribueixen als radicals lliures i especialment la peroxidació lipídica un paper important en la patogènesi de l'aterosclerosi ja que les modificacions estructurals que experimenten les LDL després de l'acció oxidant dels radicals lliures poden incrementar les seves característiques aterogèniques (Aviram, M et al, 1993). Les LDL modificades per processos oxidatius són la forma més aterogènica de LDL e intervenen en els processos que porten a la formació de la placa ateromatosa com la inducció de la lesió endotelial, la acumulació de macròfags i monòcits, la formació de cèl·lules espumoses i la inducció d'anticossos (Catapano AL et al, 2000)(Gaziano JM et al, 2000). La LDL es captada de forma incontrolada pels macròfags de la paret arterial

conduint a la formació de les cèl·lules espumoses i les plaques ateromatoses (Stocker R et al, 2004). La LDL oxidada té un caràcter immunogènic provocant la aparició d'anticossos sèrics, els Ac. anti LDL oxidada (Gounopoulos P et al., 2007). Els anticossos anti LDL oxidada es demostren tant en pacients sans com en malaltia cardiovascular y la seva funció no queda clara i se'ls atribueix propietats tant aterogèniques (Shoji et T al., 2002) (Shoenfeld Y et al, 2004) com anti-aterogèniques (Gounopoulos P et al, 2007). Alguns estudis han mostrat que en els pacients amb IRC els nivells d'anticossos són majors que en la població general (Maggi E et al, 1994)(Yilmaz MI et al, 2005).

#### **4.6. Estrés oxidatiu i insuficiència renal crònica**

En la insuficiència renal crònica s'ha descrit un increment de l'estrès oxidatiu com a conseqüència d'un increment de l'activitat oxidant i una disminució de la capacitat antioxidant (Kao MP et al, 2010). La patogènesi es complexa i s'han descrit uns factors relacionats amb la urèmia i uns factors relacionats amb l'hemodiàlisi.

Factors relacionats amb la urèmia: s'ha trobat nivells d'anió superòxid més elevats en pacients en hemodiàlisi que en els pacients controls. Hi ha evidències de que els enzims antioxidants s'alteren a mesura que disminueix la funció renal i estan molt alterats amb la urèmia. La IRC està associada a una disminució de la concentració de seleni i una disminució de GPX a plaquetes (Kuo KL et al, 2010). S'objectiven nivells elevats de marcadors d'estrès oxidatiu com F<sub>2</sub>-isoprostans, 8-hidroxi-2'- desoxiguanosina, productes finals de la glicosilació avançada, malondialdehid, diens conjugats i LDL oxidada. S'ha demostrat disminució dels nivells de glutatió a plasma en els pacients amb IRC (Ceballos-Picot I et al., 1996) com també nivells disminuïts d'enzims antioxidants com la superòxid

dismutasa, catalasa, i glutatió peroxidasa (Dounousi E et al., 2006)( Locatelli F et al., 2003)(Diepeveen SH et al., 2004)(Massy ZA et al, 2009)(Alhamdani MS et al, 2005).La IRC també està associada a una marcada alteració en el sistema de l'òxid nítric a causa d'un increment en la concentració d'inhibidors endògens de l'òxid nítric. S'ha vist que la LDL és més susceptible a la oxidació in vitro en els pacients amb IRC que en la població sana (Esper RJ et al., 2006).

Factors relacionats amb la diàlisi: la bioincompatibilitat del sistema de la hemodiàlisi juga un paper fonamental en la producció de ROS per activació dels polimorfonuclears neutròfils. En particular dos components majors del sistema de la hemodiàlisi contribueixen a l'estrès oxidatiu: la membrana del dialitzador i la petita quantitat d'endotoxines en el dialitzat. Pot haver-hi una pèrdua concomitant de vitamines antioxidants durant el proses de la diàlisi (Kao MP et al, 2010)(Kuo KL et al, 2010). La vitamina E i el Seleni plasmàtics estan reduïts i hi ha una deficiència significativa de GPx, Coure-zinc SOD i manganès SOD en els pacients amb IRC (Kuo KL et al, 2010).

Els efectes clínics de l'estrès oxidatiu en la IRC són la disfunció endotelial, i el desenvolupament d'hipertrofia ventricular esquerra (Kao MP et al., 2010)(Seddon M et al, 2007)(Annuk M et al, 2001)(Takimoto E et al, 2007). Un excés d'espècies reactives d'oxigen estimula el creixement del miocardi, provoca fibrosi i remodelat de la matriu extracel·lular i causa disfunció cel·lular i contribueix a la progressió de la HVE. També es produeix la progressió a altres complicacions com són l'aterosclerosi, anèmia i amiloïdosi.

#### **4.7. Estrès oxidatiu i anèmia**

L'anèmia és una causa important d'estrès oxidatiu en els pacients urèmics (Kao MP et al., 2010)(Lahera V et al., 2006) i està directament associada a la HVE en aquests pacients (Levin A et al., 1996)(Levin A et al., 1999). La correcció de l'anèmia amb agents estimulants de la eritropoesi té efectes beneficiosos en l'estrès oxidatiu (Kao MP et al., 2010)(Katavetin P et al, 2007) i indueix la regressió de la HVE en els pacients amb IRC (Parfrey PS et al, 2009). El tractament amb eritropoetina en els pacients amb IRC té un efecte beneficiós en l'estrès oxidatiu disminuint els nivells d'anticossos anti-LDL oxidada i incrementant l'activitat sèrica de la paraoxonasa-1 (Marsillach J et al., 2007). Es desconeix si l'estat prooxidant de la IRC pot influenciar en els efectes del tractament de l'anèmia amb eritropoetina sobre la massa ventricular esquerra.

#### **4.8. Estrès oxidatiu i afectació cardiovascular a la insuficiència renal crònica**

Existeixen nombroses evidències que confereixen a l'estrès oxidatiu un paper fonamental en l'hipertrofia cardíaca patològica i en la progressió a insuficiència cardíaca (Burgoyne J et al, 2012). Les ROS es generen com un subproducte de la respiració cel·lular i el metabolisme o per enzims especialitzades i estan involucrats en vies de senyalització redox que s'ha vist que poden tenir tant un efectes moduladors tant en processos fisiològics com patològics. La senyalització redox es defineix com les modificacions d'oxidoreducció, específiques i usualment reversibles, dels components de les vies de senyalització cel·lular (Forman HJ et al, 2004). Cada vegada i ha més evidències de que les modificacions de les proteïnes cel·lulars redox-depenents i les vies de senyalització redox tenen un paper important en el desenvolupament de la hipertrofia cardíaca (Burgoyne JR et al., 2012). En el desenvolupament de la hipertrofia de les cèl·lules miocàrdiques estan involucrades

moltes vies de senyalització que estan superposades i les espècies reactives d'oxigen modulen moltes d'aquestes vies (Mudd JO et al, 2008)(Shah AM et al, 2011).

Els efectes de senyalització de ROS estan influenciats pel seu lloc de producció, el tipus d'espècie reactiva d'oxigen, la concentració a nivell local i les reserves antioxidants dels diferents compartiments cel·lulars. Les fonts principals de ROS al cor i altres teixits són la cadena de transport electrònic mitocondrial, altres enzims mitocondrials i de les vies metabòliques, la nicotinamida adenina dinucleòtid fosfat (NADPH) oxidases (Noxs), i NO sintetases desacoblades (NOS). Els senyals redox tenen un efecte fisiològic en la diferenciació i proliferació de les cèl·lules miocàrdiques, en la excitació-contracció muscular i en la regulació del flux sanguini. Els ROS també un efectes patològics en disfunció contràctil, disregulació del calci, arítmies, apoptosi, fibrosi, hipertròfia miocàrdica i en la dilatació de les càmeres cardíques. També estan implicats en les lesions d'isquèmia reperfusió i en les vies de protecció contra aquestes lesions.

Les ROS poden modular directament l'estat redox de les macromolècules i les vies de senyalització o poden exercir efectes indirectes, per exemple, per reacció amb NO i la disminució de la biodisponibilitat local de NO (Giordano FJ et al, 2005). Els ROS que intervenen en la senyalització redox són principalment l'anió superòxid i el peròxid d'hidrogen; també intervenen les espècies reactives de nitrogen (Pacher P et al, 2005).

Els sensors de les proteïnes responen als canvis de l'estat redox local amb canvis en la conformació, la estabilitat, interaccions mol·leculars i activitat que produeixen senyals de transducció. Les proteïnes tiols de cisteïna i metionines són les dianes moleculars de "senyalització" ROS més susceptibles en les cèl·lules cardíques. La cisteïna condueix a l'oxidació intra o intermoleculars de la formació de disulfurs o altres modificacions de tiol



com la nitrosilació (NO unit a proteïna tiol) i glutatiolació (un disulfur unit a una proteïna tiol amb glutatió). Altres modificacions redox postraduccionals freqüents inclouen la hidroxilació de prolina i arginina, i la nitració d'aminoàcids aromàtics (per exemple, triptòfan o tirosina). Aquestes modificacions poden afectar la conformació, estabilitat i funció de les proteïnes.

Els ROS indueixen nombroses cinases i factors de transcripció que activen senyals hipertròfiques involucrades en la resposta hipertròfica miocàrdica, entre elles la tirosina cinasa Src, PKC, Mapas, Ask-1 i Akt (Takimoto E et al, 2007)(Santos C et al, 2011)(Burgoyne et al., 2012). Per altra banda, l'estrès oxidatiu induït per espècies reactives de l'oxigen està associada amb la fibrosi cardíaca. La fibrosi cardíaca es caracteritza per la proliferació anormal de miofibroblasts cardíacs i un excessiu dipòsit de la matriu extracel·lular i és la principal causa del deteriorament progressiu de la funció i l'estructura cardíaca en les malalties cardíques cròniques com hipertensió, malaltia coronària, i miocardiopaties (Tan LG et al., 2015). Els miofibroblasts cardíacs són el tipus cel·lular cardíac que juga un paper fonamental en la fibrosi cardíaca. En resposta a estímuls com ara citocines, hormones i l'estirament mecànic, els fibroblasts cardíacs es poden transformar en els miofibroblasts cardíacs que presenten un augment de les seves propietats migratòries, proliferatives i de secreció. Els miofibroblasts són la principal font de matriu extracel·lular en la fibrosi miocàrdica (Souders CA et al, 2009). Les ROS estan significativament més elevades en els cors dels pacients i en models animals amb fibrosi cardíaca (Zhao W et al, 2006)(Droehner W et al, 2002). L'augment de ROS també augmenta la proliferació de miofibroblasts i la síntesi de la matriu extracel·lular (Lijnen PJ et al, 2012)(van Empel VP et al., 2006)(Cheng T et al., 2003)(Burgoyne J et al., 2012). D'altra banda, les ROS redueixen la degradació de la matriu extracel·lular mitjançant la regulació del nivell de

metal·loproteïnases de la matriu (MMPs) i l'inhibidor tissular de les metal·loproteïnases (Siwik DA et al, 2001) (Paoletti D et al, 2005)(Spinale F et al, 2007)(Sorescu D et al, 2002). Els ROS també activen l'apoptosi mitjançant la senyalització de la cinasa -1 el factor nuclear  $\kappa$ B que està implicat en la hipertròfia del miòcit cardíac. A nivell subcel·lular, els radicals lliures impedeixen el moviment de calci a través dels sarcolemma per inhibició de la bomba Na-K-ATPasa, de l'intercanviador Na-Ca i de la unió del calci, i poden desacoblar el transport de calci de la hidròlisi de l'ATP, cosa que comporta una depressió de la funció contràctil.

En la insuficiència cardíaca s'ha evidenciat un augment de l'estrès oxidatiu que es caracteritza per un descens de l'activitat de la superòxid dismutasa (SOD), catalasa i glutatió peroxidasa. Estudis en humans han confirmat la l'existència d'una relació estreta entre l'estrès oxidatiu i la severitat de la insuficiència cardíaca i al disminució de la tolerància al exercici, causat possiblement per una reducció de l'activitat eritrocitària de la SOD. El pretractament amb vitamina D redueix l'estrès oxidatiu i augmenta els mecanismes de defensa en la insuficiència cardíaca. La utilització de betablocants com el carvedilol redueix la morbimortalitat dels pacients amb insuficiència cardíaca probablement mitjançant les propietats antioxidants d'aquest fàrmac.

Per tot això, es probable que l'augment de l'estrès oxidatiu que s'associa a la urèmia pugui contribuir a la disfunció miocàrdica que presenten aquests pacients, independentment de la seva relació amb l'arteriosclerosi.

D'una banda, les hematies poden ser considerades com "antioxidants", i l'anèmia està considerada "per se" com un estat d'estrès oxidatiu. El tractament de l'anèmia amb EPO en pacients en hemodiàlisis capaç de disminuir la generació de radicals lliures. D'altra banda,

es conegut que l'administració de ferro per via parenteral en aquests pacients pot facilitar la peroxidació lipídica, cosa que pot contribuir a un empitjorament de l'aterosclerosi.

L'anèmia crònica que presenten els pacients urèmics pot tenir un doble paper en la disfunció cardíaca: en primer lloc, promouria l'aparició d'insuficiència cardíaca a per mitjà d'un augment de la despesa cardíaca, i en segon lloc, mitjançant d'una disminució de la reserva antioxidant. No existeixen estudis que relacionin l'estrès oxidatiu, la anèmia, el tractament amb EPO i la afectació miocàrdica que presenten els pacients amb IRC prediàlisi.

### **5. Inflamació i hipertròfia cardíaca**

La inflamació crònica està caracteritzada per l'increment de nivells de proteïna C reactiva (PCR). La proteïna C reactiva és una proteïna pentamèrica sintetitzada en el fetge per estímul de citocines inflamatòries (TNF, IL 1, IL 6). Es comporta com un reactant de fase aguda. Hi ha evidència que els pacients amb IRC tenen una marcada activació de la inflamació, ja que un 30-50% dels pacients amb IRC tenen elevats diferents marcadors d'inflamació com proteïna C reactiva (PCR), fibrinogen, interleucina 6 (IL-6), factor de necrosi tumoral alfa, factor VIIc i factor VIIIc, complex plasmina-antiplasmina, D-dímers i mol·lècules d'adhesió E-selectina, VCAM-1 i ICAM-1 (Jofré et al, 2006). Alguns estudis han documentat l'increment de citocines inflamatòries i nivells elevats de PCR i una reducció de l'aclariment de substàncies proinflamatòries en pacients amb IRC (Oberg BP et al, 2004)(Menon V et al, 2003)(Iseki K et al, 1999). Els nivells de PCR estan elevats en els pacients amb IRC i s'incrementen a mesura de disminueix la funció renal (Liuzzo G et al., 1994). La prevalença de PCR en els malalts amb IRC es al voltant del 35 % i en els malalts amb IRC en hemodiàlisi és superior al 50 % (Stenvinkel P et al, 2002). La PCR s'ha

demonstrat que és tan bon predictor de risc cardiovascular com la LDL. La PCR és un índex d'inflamació que ara es creu que promou directament tots els estadis de la inflamació inclús la fractura de la placa. La PCR ultrasensible també és un predictor d'esdeveniments recurrents en pacients amb malaltia coronària coneguda. La PCR és un marcador de totes les causes de mortalitat cardiovascular tant en la població normal com en els pacients amb insuficiència renal crònica (Cachofeiro V et al., 2008) (Weiner D.E et al., 2008).

En pacients hipertensos la sobrecàrrega de pressió i les citocines inflamatòries com la IL-6 activen senyals hipertròfiques cel·lulars del miòcit que condueixen a la hipertròfia. Es produeix l'activació del receptors de citocines per via de la glicoproteïna (gp130).

La gp130 és una proteïna de membrana que actua com a coreceptor en resposta les citocines: la IL-6, la cardiotrofina-1 (CT-1) i el factor inhibidor de la leucèmia (LIF), capaços de promoure el desenvolupament d'hipertròfia cardíaca (Terrell M et al., 2006).

La IL-6 no es troba elevada en HC fisiològica i sí en la patològica (Iemitsu M et al, 2005), i s'ha descrit per a tots els membres de la família de la IL-6 que tant la seva producció com el seu efecte sobre la hipertròfia cardíaca és induït per angiotensina II (Sano M et al., 2000)(Sano M et al., 2001). La unió d'aquestes citocines al seu receptor específic  $\alpha$  indueix la dimerització amb gp130 i això activa a les cinases Janus (JAKs), que activades fosforilen al receptor i permeten l'activació de via Ras/Raf/MAPK. Les JAK activades també fosforilen i activen a membres de la família STAT (transductor de senyals i activador de la transcripció) que es trasloquen al nucli i activen la transcripció de gens directament vinculats al desenvolupament d'hipertròfia cardíaca.

Per altre banda, alguns estudis han mostrat que els nivells elevats de PCR en els pacients amb IRC són predictors independents d'increment de la masa ventricular esquerra (Cottone S et al., 2007).

Els nivells elevats de PCR post hemodiàlisi són un factor predictor de reactivitat proaterogènica i d'hipertrofia cardíaca. La PCR augmenta en paral·lel amb la hipervolemia, d'hiperparatiroidisme i l'anèmia, factors que causen hipertrofia ventricular esquerra i malaltia cardíaca.

## **6. Pèptid natriürètic i hipertrofia cardíaca**

Els pèptids natriürètics són una família d'hormones que juguen un paper molt important en l'homeòstasi del sodi i del volum corporal: intervenen en el control de la diuresi, la vasodilatació i la natriüresi (Fassett RG et al., 2011). S'han identificat tres pèptids natriürètics: el pèptid natriürètic atrial (ANP), el pèptid natriürètic tipus B (BNP), i pèptid natriürètic tipus C (CNP) que tenen una estructura en anell de 17 aminoàcids i tenen accions dirigides a protegir l'organisme de l'excés de volum (Iwanaga I et al, 2010).

L'ANP es produeix fonamentalment a les aurícules. El BNP es produeix al miocardi ventricular en resposta a l'estirament i tensió de la paret ventricular (Iwanaga I et al., 2006). El CNP també es sintetitza al miocardi. Es coneixen 3 tipus de receptors de superfície de membrana per aquests pèptids que es denominen RPN-A, RPN-B i RPN-C que contenen una guanilatoclasa amb un domini d'unió extracel·lular, una regió transmembrana i un domini intracel·lular que conté la regió catalítica en el seu terminal carboxil (Hirose S et al, 2001). Els pèptid natriürètics tipus A (ANP) i tipus B (BNP) són hormones d'origen cardíac que a més de ser molt importants en la regulació del volum sanguini i del to vascular (tenen efecte diürètic, natriürètic i vasodilatador i inhibitori sobre la secreció de renina i la síntesi d'aldosterona) actuen en el miocardi de manera autocrina/paracrina com a agents antihipertròfics i antifibròtics. La secreció de ANP i BNP és estimulada per l'estirament del miocardi i exerceixen els seus efectes cardiovasculars en unir-se als receptors de tipus A (NPRA) l'activació augmenta la producció de GMP cíclic. L'efecte antihipertròfic dels

pèptid natriürètic és independent del seu efecte sobre la pressió arterial i ha estat demostrat en nombrosos models experimentals, sent especialment importants els resultats obtinguts en ratolins genèticament manipulats perquè no expressin RPN-A que desenvolupen una marcada hipertròfia cardíaca i en cultius de miòcits cardíacs aïllats de rates adultes i nounades (Nishikimi T et al, 2006). El ANP i el BNP regulen negativament la resposta hipertròfica interferint amb diverses vies de senyalització intracel·lular prohipertròfiques com per exemple la via calcineurina-NFAT i la de les MAPK (Nishikimi T et al., 2006).

En resposta al estirament ventricular el pre proBNP s'escindeix com proBNP i es llibera com hormona BNP activa (aminoàcids 79 a 108) i un fragment inactiu, NT-proBNP (aminoàcids 1-76), en una relació 1:1. L'augment dels pèptids natriürètics BNP y NT-proBNP a sèrum s'ha associat en la població general amb el grau de disfunció ventricular, la gravetat de la insuficiència cardíaca i a un mal pronòstic (McCullough PA et al., 2002)(Epshteyn K et al., 2003)(Maisel KS et al., 2002)(Xu R et al., 2014)(Kaffer K et al, 2014). El NT-proBNP és un bon marcador per la predicció del primer esdeveniment cardiovascular en la població general, així com el risc d'ictus en pacients amb fibril·lació auricular (Kara K et al., 2015)(Hijazi Z et al., 2012). El NT-proBNP té una vida mitja més llarga i per tant els seus nivells poden ser més estables que BNP en cas d'estrès agut. Tant el NT-proBNP com el BNP s'eliminen poc durant la sessió d'hemodiàlisi (Wahl HG et al, 2004) i el NT-proBNP sembla acumular-se en major mesura durant l'hemodiàlisi (Ishizaka Y et al., 1995)(McCullough PA et al, 2003).

En els pacients amb IRC prediàlisi el NT-proBNP i la proteïna C reactiva d'alta sensibilitat s'associen de forma independent amb un augment de la mortalitat per totes les causes (Vickery S et al., 2008), cosa que també s'ha evidenciat en els pacients en diàlisi (Apple F et al, 2004). Tanmateix, el NT-proBNP, però no el BNP, va ser predictor de mortalitat en

pacients amb insuficiència cardíaca i FG inferior a  $60 \text{ ml/min/1,72 m}^2$  (DeFilippi C et al, 2007). El NT-proBNP és un predictor de mortalitat en pacients amb IRC independentment de la sobrecàrrega de volum i la modalitat de diàlisi (Paniagua R et al, 2010)(Svensson M et al, 2009).

## **B.- HIPÒTESI**

### **7. Hipòtesi**

La correcció de l'anèmia amb EPO en pacients amb IRC prediàlisi podria tenir un efecte beneficiós en l'estructura cardíaca. Aquest efecte podria estar modulats per la inflamació i l'estrès oxidatiu característic dels pacients amb IRC. El pèptid NT-proBNP podria tenir influència en la regressió de la massa cardíaca induïda per la correcció de l'anèmia amb EPO amb aquesta població.

#### **Objectius concrets:**

Objectiu general: Valorar els efectes beneficiosos cardiovasculars de la correcció de l'anèmia amb EPO en pacients amb IRC prediàlisi a curt i mig termini.

Objectius:

- Valorar l'efecte de la correcció de l'anèmia amb EPO en pacients amb IRC prediàlisi sobre diversos paràmetres de l'estructura cardíaca (índex de massa ventricular esquerra, despesa cardíaca, funció diastòlica, funció sistòlica).
- Valorar la relació entre la presència d'inflamació i els efectes cardiovasculars del tractament de l'anèmia amb EPO.
- Valorar la influència de l'estrès oxidatiu sobre l'estructura i funció cardíaca en els pacients amb IRC prediàlisi, avaluant la seva relació amb els beneficis cardiovasculars de la correcció de l'anèmia amb EPO.
- Valorar la influència del NT-proBNP sobre l'estructura i funció cardíaca en els pacients amb IRC prediàlisi, i la seva relació amb els beneficis cardiovasculars de la correcció de l'anèmia amb EPO.



## **8.0. Material i mètodes:**

### **8.1. Pacients.**

Es van realitzar un estudi prospectiu que va incloure 72 pacients amb IRC prediàlisi (estadis 3-5), amb nivells d'Hb basal inferiors a 11 gr/dl i ferritina > 200 ng/dL i índex de saturació de transferrina > 20 % que no hagueren estat tractats prèviament amb EPO. Els pacients procedien de les consultes externes del Servei de Nefrologia de l'Hospital Universitari de Tarragona Joan XXIII i de Hospital de Jesús, Tortosa. Es va obtenir un grup control d'individus sans aparellats per edat i sexe per l'estudi de l'estrès oxidatiu facilitats pel Departament de Farmacologia de la Universitat Rovira i Virgili, on es van processar les determinacions analítiques d'estrès oxidatiu, ja que per la seva complexitat s'han de realitzar el laboratoris especialitzats. El protocol d'estudi va ser aprovat pel Comitè Ètic de l'Hospital Universitari de Tarragona Joan XXIII. Es va obtenir el consentiment informat de cadascun dels pacients inclosos en l'estudi.

### **8.2. Procediments:**

Tots els pacients van ser tractats amb eritropoetina humana recombinant beta (EPO) a una dosi inicial de 80-120 UI/kg, subcutània, un o dos cops a la setmana. Posteriorment es van ajustar les dosis per aconseguir mantenir nivells d'hemoglobina entre 12 i 13 g/dL. La durada del tractament va ser de 6 mesos. Segons l'estat del ferro durant el tractament amb rHuEPO beta es va administrar ferro endovenós (ferro sacarosa –Venofer® - o gluconat fèrric- Ferlecit® -) per mantenir nivells sèrics de ferritina > 200 ng/dL i un índex de saturació de transferrina > 20 %. Durant la realització de l'estudi, els pacients varen

continuar la seva dieta habitual i es va ajustar la seva medicació hipotensora per mantenir controlada la tensió arterial.

Es va excloure de l'estudi aquells pacients que es va preveure que poguessin requerir diàlisi en menys de 1 any, aquells amb una esperança de vida < a 6 mesos, hipertensió severa o no controlada, neoplàsia associada, història de convulsions, malaltia valvular cardíaca que pogués requerir cirurgia, infart de miocardi, cirurgia i/o angioplàstia cardíaca en els tres mesos previs a l'estudi, insuficiència cardíaca congestiva ( classe IV ), malaltia isquèmica cardíaca o arítmia severa no controlada, tractament amb andrògens, i pacients amb edat inferior a 18 anys o superior a 80 anys.

### **8.3. Metodologia:**

En tots els pacients es va procedir a:

#### **8.3.1.- Determinació de variables demogràfiques, clíniques i terapèutiques:**

Es van determinar l'índex de massa corporal(IMC) i la tensió arterial que es va mesurar amb un monitor oscil·lomètric automatitzat (OMRON 705 CP, HealthcareGMBH, Hamburg, Germany), amb el pacient assegut després de 5 minuts de repòs, segons les recomanacions de les Societats Europees d'Hipertensió i de Cardiologia. Es va definir hipertensió arterial (HTA) com tensió arterial sistòlica (TAS) de 140 mm Hg o major, tensió arterial diastòlica (TAD) de 90 mm Hg o major, o estar amb tractament hipotensor.

### **8.3.2.- Determinacions analítiques convencionals:**

Es van determinar calci, fòsfor, fosfatases alcalines, PTH (quimioluminescència ), albúmina plasmàtica, hemograma complet, Orina de 24 hores ( proteïnúria quantitativa, sodi ).

### **8.3.3. Determinació de paràmetres de funció renal:**

Es va determinar la creatinina (mètode colorimètric de Jaffé modificat), i filtrat glomerular estimat mitjançant la fórmula de Gault-Cockroft.

### **8.3.4. Determinació de marcadors inflamatoris:**

Es van determinar la interleucina-6 (IL-6) d'alta sensibilitat i la proteïna C reactiva (PCR) d'alta sensibilitat. La IL-6 es va determinar mitjançant el mètode d'ELISA no competitiu (immunoassaig enzimàtic tipus sandwich). Es va utilitzar el kit comercial Human IL-6 Quantikine HS High Sensitivity (R&D Systems, Lille, France). La sensibilitat de mètode va ser de 0,016 pg/mL i els coeficients de variació intra i interassaig varen ser menors de 7,8 % i 9,6 % respectivament. La PCR va ser determinada en mostres de sèrum mitjançant el mètode immunonefelomètric (N High Sensitivity CRP ) en el nefelòmetre (BNII de Dade Behring). La sensibilitat va ser del 0.175 mg/L, amb coeficients de variació intra-assaig i inter-assaig menor de 4,4 % i 5,7 % respectivament.

### **8.3.5.- Determinació dels nivells de NT pro-BNP:**

Per mesurar els nivells de NT pro-BNP en sèrum es va utilitzar l'analitzador automàtic Roche Elecsys 2010 ( Kit Elecsys ® pro-BNP, Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanya) mitjançant electroquimioluminiscència. El coeficient de variació intra-assaig és de 0.9-3 % i inter-assaig de 2.2-5.8 %. L'interval de medicació és de 5-35000 pg/mL.

### **8.3.6. Determinació de paràmetres indicadors de l'estrès oxidatiu.**

a) En eritròcits:

- 1) Glutació-S-transferasa (GST) total. (Habig WH, et al 1974).
- 2) Glutació-S-transferasa (GST) termostable.(Habig WH, et al, 1974).
- 3) Glutació reduït (GSH) (Hissin & Hilf, 1976)
- 4) Glutació oxidat (GSSG), (Hissin & Hilf, 1976)
- 5) Superòxid dismutasa (SOD) (Misra & Fridovich, 1972)
- 6) Catalasa (CAT), (Cohen, et al, 1970)
- 7) Glutació peroxidasa (Gpx), (Wheeler, et al, 1990)
- 8) Glutació reductasa (GR), (Wheeler et al., 1990)
- 9) TBARS (indicadors de peroxidació lipídica) (Buege JA, 1978 modificat per detecció fluorimètrica).
- 10) Test d'hemòlisi.(Farrell et al. 1977)

b) En plasma:

- 1) GSH, (Hissin & Hilf, 1976)
- 2) GSSG, (Hissin & Hilf, 1976)
- 3) TBARS, (Buege JA, 1978 modificat per detecció fluorimètrica).

### 8.3.7. Estudis ecocardiogràfics:

Es va realitzar un estudi ecocardiogràfic estàndar Doppler color en modo 2D i M guiat per 2D, amb un aparell Diasonic 800 Vingmed Sound (Horten, Noruega), utilitzant un transductor de 3.5 MHz. Els estudis es van realitzar i analitzar pel mateix ecografista. L'estudi es va realitzar via paraesternal, pla longitudinal i transversal, i via subcostal, pla apical de dos i quatre cambres.

Es calcularen els següents paràmetres:

D'acord amb les recomanacions de l'Amèrican Society of Ecocardiography, es varen determinar: diàmetre telesistòlic del ventricle esquerre ( DTDVE), diàmetre telediastòlic del ventricle esquerre, ( DTSVE), gruix del septe interventricular ( TIV), gruix de la paret posterior del ventricle esquerre, ( PP ), mida de l'aurícula esquerra, ( AE), diàmetre de l'arrel aòrtica, ( AO ), fracció d'escurçament, ( FS )

La massa ventricular esquerra (MVE) es va calcular amb la següent fórmula:

$$MVE = 0.8 \times 1.04 [(DTDVE + TIV + PP)^3 - DTDVE^3] + 0.6$$

L'índex de massa ventricular esquerra (IMVE) es va obtenir després de la correcció per l'alçada corporal expressada en g/m<sup>2.7</sup>.

$$IMVE = MVE / talla^{2.7}$$

$$IMVE = 0.8 \times 1.04 [(DTDVE + TIV + PP)^3 - DTDVE^3] + 0.6 / talla^{2.7}$$

El gruix relatiu de la paret (GRP) va ser calculat mitjançant la següent fórmula:

$$\text{GRP} = 2 * (\text{PP cm} / \text{DTDVE cm}) .$$

La hipertrofia ventricular esquerra (HVE) es va definir com l'IMVE major de  $49 \text{ g/m}^{2.7}$  en homes i major de  $47 \text{ g/m}^{2.7}$  en dones

Els patrons geomètrics ventriculars definits com geometria normal, remodelació concèntrica (IMVE normal i GRP disminuït), hipertrofia concèntrica (IMVE augmentat i GRP augmentat), i hipertrofia excèntrica: (IMVE augmentat i GRP disminuït), es van calcular amb la relació entre els valors de  $49 \text{ g/m}^{2.7}$  (homes) /  $47 \text{ g/m}^{2.7}$  (dones) i 0,45 per l'IMVE i GRP, respectivament.

Als 6 mesos de tractament amb rHuEPO beta, els pacients varen ser classificats com a malalts "responedors" si l'IMVE disminueix  $\geq 10 \%$  o com a "no responedors" si l'IMVE disminueix  $< 10 \%$  o augmenta en relació als valors basals.

### **8.3.8.- Ecocardiograma-Doppler d'ona polsada:**

L'eco-doppler guiat bidimensionalment es va utilitzar per l'estudi del flux d'entrada del ventricle esquerre i es van gravar els perfils de velocitat del ventricle esquerre en el punt de màxima velocitat precoç.

Els paràmetres de funció diastòlica mesurats varen ser:

- a) Velocitat pic de l'ona d'ompliment passiu precoç del ventricle (ona E) en metres/segon (m/s), prenent com a referència la velocitat del flux màxim en diàstole precoç.
- b) Temps de desacceleració de l'ona E (TDOE), definit com el temps transcorregut des del pic de l'ona E fins l'encreuament de la línia de descens de l'ona E amb la línia basal.
- c) Velocitat pic de l'ona de contracció auricular esquerra (ona A) en m/s, prenent com a referència la màxima velocitat de flux en telediàstole (després de la ona p de l'ECG).
- d) Índex E/A com un índex de la relativa contribució de l'aurícula a l'ompliment ventricular esquerre.
- e) Temps de relaxació isovolumètrica del VE (TRIV), definit com el temps transcorregut entre el tancament de la vàlvula aòrtica mesurat per doppler fins l'inici de l'ona E del flux mitral.

L'alteració de la relaxació del ventricle esquerre (disfunció diastòlica) es va identificar pel temps prolongat de la relaxació isovolumètrica ( < 100 msec ) o el temps de desacceleració ( > 250 msec), així com la disminució del ràtio E/A (<1).

### **8.3.9.- Definició de variables:**

Per tal de poder establir les relacions i correlacions entre les diferents variables recollides, es van utilitzar les dades clíniques, les determinacions analítiques realitzades i les dades ecocardiogràfiques es varen definir les diferents variables a utilitzar de la manera següent:

#### **8.3.9.1. Dades clíniques:**

**-Hipertensió arterial:** tensió arterial sistòlica (TAS) 140 mm Hg o major, i/o tensió arterial diastòlica (TAD) de 90 mm Hg o major, o rebre tractament hipotensor.

**-Hàbit tabàquic:** es va dividir en dos grups: 1) fumadors, 2) ex-fumadors i/o no fumadors.

**-Microalbuminúria:** excreció urinària d'albumina entre 30-300 mg/dia.

**-Etiologia de la malaltia renal:** 1) glomerular, 2) túbulo-intersticial, 3) vascular i 4) no filiada.

**-Estadi de la IRC:** Segons els valors del filtrat glomerular expressat en ml/min per 1,73 m<sup>2</sup>: estadis del 1 al 5 ( 1:  $\geq 90$ , 2: 60-89, 3: 30-59, 4: 15-29, 5:  $< 15$ ).

**-Estat inflamatori (EI):** quan els nivells basals dels paràmetres inflamatoris estaven per sobre de la mitjana del grup. EI: PCR  $> 2,5$  mg / L i/o IL-6  $> 2,3$  pg / mL



### 8.3.9.2. Paràmetres ecocardiogràfics:

**Massa ventricular esquerra** (MVE) es va calcular amb la següent fórmula:

$$MVE = 0.8 \times 1.04 [(DTDVE + TIV + PP)^3 - DTDVE^3] + 0.6$$

**Índex de massa ventricular esquerra** (IMVE) es va obtenir després de la correcció per l'alçada corporal expressada en  $g/m^{2.7}$ .  $IMVE = MVE / talla^{2.7}$

- **Hipertròfia ventricular esquerra:** a partir dels índexs de massa ventricular esquerra es va considerar hipertròfia ventricular els valors de  $iMVE \geq 49,2 g / m^{2.7}$  en homes i de  $iMVE \geq 46,7 g / m^{2.7}$  en dones<sup>243</sup>.

- **Gruix relatiu de la paret** (GRP) va ser calculat mitjançant la següent fórmula:

$$GRP = 2 * (PP \text{ cm} / DTDVE \text{ cm}) .$$

- **Volúmen ventricular (VV):** es va calcular mitjançant la fórmula:

$$VV = (VTDVE)^3 \times 0,001047 / \text{superfície corporal}$$

**Patrons d'estructura o geometria cardíaca:** dividits en 4 grups:

es van calcular amb la relació entre els valors de  $49 g/m^{2.7}$  (homes) /  $47 g/m^{2.7}$  (dones) i 0,45 per l'IMVE i GRP, respectivament.

geometria normal, (IMVE normal i GRP normal),

remodelació concèntrica (IMVE normal i GRP disminuït),

hipertròfia concèntrica (IMVE augmentat i GRP augmentat), i

hipertròfia excèntrica: (IMVE augmentat i GRP disminuït),

**Disfunció diastòlica:** o alteració de la relaxació del ventricle esquerre, segons els criteris de

TRIV >100 i/o de TDOE >250 i/o E/A <1.

**Malalts responedors:** si la MVE als 6 mesos de tractament amb EPO va disminuir > 10% respecte als valors basals.

**Malalts No-responedors:** si la MVE va augmentar o va disminuir < 10% respecte als valors basals.

### **8.3.10.- Obtenció, preparació i conservació de les mostres**

#### **8.3.10.1. Tub d'heparina-liti**

El plasma i els eritròcits es van separar centrifugant durant 15 minuts a 850 g i a 4°C. El plasma sobrenedant es va extreure tenint en compte de no aspirar la fina capa de leucòcits que el separa dels eritròcits. Els leucòcits es van descartar. Els eritròcits es van rentar dues vegades amb sèrum fisiològic centrifugant 5 minuts a 1300 g i a 4°C.

Es van precipitar dos mil·lilitres de plasma amb TCA (Àcid Tricloracètic Panreac ref.131067) al 70 % i fred, en una concentració final del 10 % per tal d'extreure les proteïnes de la mostra i conservar-la en un medi àcid i evitar l'oxidació. La barreja es va agitar i es va guardar a 4°C durant uns 20 minuts. Passat aquest temps es va separar el precipitat centrifugant a 850 g 10 minuts a 4°C. El sobrenedant es va al·liquotar en tubs de microcentrífuga tipus eppendorf i es va guardar al congelador (-20°C) per determinar el glutatió reduït i oxidat posteriorment.

Una suspensió 1:20 amb PBS (8 g/l NaCl Prolabo ref.27810295, 0,2 g/l KCl Panreac ref.141494, 2 g/l Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> Panreac ref.131679, 0,15 g/l KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> Panreac ref.131509, pH 7,4) dels eritròcits rentats es va utilitzar per fer el test d'hemòlisi.

Per determinar la GST, els eritròcits restants es van llisar amb 20 volums de tampó fosfat Na 10 mM (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> Panreac ref.131679 – NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> Panreac ref. 131677) pH 6,25

EDTA 1 mM, i l'hemoglobina es va separar barrejant la preparació hemolisada amb Sephadex 1:100 (Sephadex CM50 Pharmacia Biotech ref.17-0220-01) durant 3 minuts i amb agitació suau constant. Després de centrifugar-ho a 1300 g durant 10 minuts a 4°C, la GST es concentra en el sobrenedant, mentre que l'hemoglobina queda retinguda en el pèl·let amb el Sephadex. La preparació hemolisada amb hemoglobina també va servir per obtenir les mostres per poder determinar el glutatió reduït i oxidat i les TBARS. El processament de la mostra va ser el següent: 3 ml es van precipitar amb TCA al 70 % en fred a una concentració final del 10 %, la barreja es va agitar enèrgicament i es va deixar 20 minuts a la nevera (4°C). Després es va centrifugar a 850 g i a 4°C durant 10 minuts. El sobrenedant es va dividir en dues parts, 2 ml en un tub per determinar les TBARS i la resta en un tub de centrífuga tipus eppendorf per determinar el GSH i GSSG de la fracció eritrocitària de la sang. Ambdues alíquotes es van guardar a -20°C mentre se n'esperava la determinació. La sang total d'aquest tub es va utilitzar per determinar l'hematòcrit i l'hemoglobina.

### **8.3.10.2. Tub d'EDTA**

El plasma i els eritròcits es van separar centrifugant durant 15 minuts a 850 g i a 4°C. El plasma sobrenedant es va extreure tenint en compte de no aspirar la fina capa de leucòcits que el separa dels eritròcits. Els leucòcits es van descartar. Es van alíquotar 80 µl de plasma en un tub de centrífuga tipus eppendorf per determinar posteriorment els productes de la peroxidació (TBARS). La resta de plasma així com l'eppendorf es varen congelar a - 20 °C. Els eritròcits es van rentar de la mateixa manera que s'ha descrit a l'altre tub. Les cèl·lules vermelles es van sotmetre a dos processaments diferents:

En primer lloc 500 µl es van dipositar en un tub que es va congelar i descongelar dues vegades a - 20°C i s'hi van afegir 5 volums d'aigua destil·lada freda per acabar de llisar els eritròcits. Es va extreure l'hemoglobina amb una solució d'etanol: cloroform (6,25:3,75).

Després d'agitar la barreja enèrgicament i centrifugar-la 5 minuts a 1900 g a 4°C, la SOD es trobava en la fase del sobrenedant i es va alíquotar en un tub de centrífuga tipus eppendorf que es va guardar a 4°C. En segon lloc, 250 µl dels eritròcits rentats es van diluir 1:20 amb aigua bidestil·lada per obtenir el producte hemolisat que conté els enzims CAT, GPx i GR. D'aquest producte se'n van separar 100 µl per determinar la CAT i la resta per determinar la GR i la GPx. Les dues mostres es van congelar a - 20°C fins al moment de ser processades.

### **8.3.11.- Determinació de l'hematòcrit i l'hemoglobina**

#### **8.3.11.1. Hematòcrit**

Els valors de l'hematòcrit es van obtenir utilitzant de capil·lars que s'omplien de sang total i es centrifugaven a temperatura ambient. Cada mostra es va fer per duplicat i els resultats es van expressar com a percentatge d'eritròcits en sang total.

#### **8.3.11.2. Hemoglobina**

La quantitat d'hemoglobina continguda en sang total es va determinar mitjançant la reacció de Drabkin (QCA ref.994933) que mescla la sang total amb 250 volums del reactiu. Després d'una espera de 20 minuts a temperatura ambient, la mostra es va llegir en un espectrofotòmetre (Perkin Elmer Lambda 2) a 540 nm. El que llegeix l'espectrofotòmetre prové de l'oxidació de l'hemoglobina a metahemoglobina i la conversió d'aquesta a cianometahemoglobina. Cal construir una recta estàndard de concentració: absorbància. Cada mostra es va fer per duplicat i el resultat es va expressar amb grams d'hemoglobina per cada 100 ml de sang. La determinació de l'hemoglobina té com a objectiu poder referir tots els altres paràmetres per gram d'hemoglobina.

### **8.3.12. Determinacions enzimàtiques:**

#### **8.3.12.1. Superòxid dismutasa**

L'activitat enzimàtica es va mesurar mitjançant el mètode de Misra i Fridovich (J Biol Chem, 1972) basat en l'autooxidació de l'epinefrina.

Els superòxids formats oxiden l'epinefrina formant l'adrenocrom. Això es pot seguir espectrofotomètricament a 480 nm. La SOD transforma els superòxids fins a peròxid d'hidrogen i oxigen i així evita la formació d'adrenocrom. El primer pas és avaluar la corba d'autooxidació de l'epinefrina. Per això es van barrejar 2,5 ml del tampó Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (Merck ref.6392) - NaHCO<sub>3</sub> (Probus ref.2030) 50 mM pH 10,2 EDTA (Titriplex®III Merck ref.8418.0100) 0,1 mM amb 300 µl d'aigua bidestil·lada i 200 µl d'epinefrina 6mM (Sigma ref.E-4375) en HCl 1mM. La lectura es va fer cada 40 segons i durant 23 min a 30°C en un espectrofotòmetre (Perkin Elmer Lambda 2) a 480 nm. Seguidament es van fer les dilucions apropiades de la mostra per tal de trobar la concentració que inhibeix el 50 % de la formació de l'adrenocrom (I<sub>50</sub>). A la cubeta es va barrejar 2,5 ml de tampó, 300 µl de les dilucions corresponents i 200 µl d'epinefrina, i la lectura es va realitzar a l'espectrofotòmetre com s'ha descrit anteriorment. El resultat es va expressar en unitats/g Hb, on una unitat és la quantitat de mostra que inhibeix en un 50 % la transformació de l'epinefrina en adrenocrom a pH alcalí.

### 8.3.12.2. Glutatió S-Transferasa

L'activitat de la GST es va mesurar amb el mètode de Habig i col·ls. (Journal of Biological Chemistry, 1974). L'enzim es va determinar mesurant la velocitat de formació del conjugat dinitrofenilglutatió a partir del GSH i del CDNB. La reacció contenia 1-clor-2,4-dinitrobenzè 30 mM (CDNB Sigma ref.C-6396) i GSH 30 mM (Glutathion Sigma ref.G-4251) com a substrats de tots els isoenzims de la GST. Es va utilitzar un tampó fosfat  $\text{Na}^+$  10 mM pH 6,25 EDTA 1 mM. L'hemolisat lliure d'hemoglobina es va dividir en dos tubs. Un es va fer servir per determinar l'activitat GST total i l'altre per determinar la fracció termoestable de la GST. Per assolir aquest objectiu, una porció es va mantenir a 4°C mentre que l'altra es va escalfar a 52°C durant 25 minuts. La dilució de la mostra a la cubeta va ser 1:6 en el cas de la determinació de l'activitat enzimàtica total i 1:3 en el cas de la termoestable, en un volum final de 3 ml per cubeta. En cada cubeta es van posar 100 µl de GSH i després d'una incubació de 5 minuts, s'hi van afegir 100 µl del substrat electrofílic CDNB. Es va determinar també la formació espontània de conjugats, és a dir, sense la intervenció de la GST.

L'activitat es va calcular monitoritzant en un espectrofotòmetre (Perkin Elmer Lambda 2) l'increment d'absorbància a 340 nm (coeficient d'extinció molar= $9,6\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) realitzant lectures cada 60 s durant 5 minuts en total. Es va calcular l'increment/minut de l'activitat GST total i de la termoestable expressada en µmol/min/g Hb (fa referència als µmols de CDNB conjugats). També es va calcular el percentatge de GST termoestable sobre la total i s'anomenà % de GST residual.

### 8.3.12.3. Glutatió peroxidasa

A partir de la preparació de l'hemolisat 1:20 es van fer les determinacions dels enzims GPx, GR i CAT. Tant la GPx com la GR es van determinar seguint el mètode descrit per Weeler i col·ls. (Analytical Biochemistry, 1990) que valora el nivell de desaparició del NADPH o NADP<sup>+</sup>.

En una cubeta de 3 ml es van barrejar 1,8 ml de tampó fosfat potàssic (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> Panreac ref.131509 - K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> Probus ref.1461) 100 mM pH 7,5 EDTA 0,5 mM amb 120 µl de l'hemolisat 1:20. Tot seguit, s'hi van afegir 30 µl de NADPH (Sigma ref.N-7505) 20 mM, 100 µl de GSH 60 mM i 4 µl de glutatió reductasa (GR Fluka ref.49755) que aporten 1 U de glutatió reductasa per cubeta. La barreja es va incubar 5 minuts a 37°C, després s'hi van afegir 100 µl d'hidroperòxid de Cumè (Sigma ref.B-2633) 36 mM. La lectura es va fer a 340 nm en un espectrofotòmetre (Perkin Elmer Lambda 2) cada minut durant 5 minuts; això ens va permetre veure la desaparició del NADPH (coeficient d'extinció molar 6,22 mM<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>).

Es va calcular el decrement/minut i els resultats es van expressar en µmol/min/g Hb (µmols de NADPH transformats).



#### **8.3.12.4. Glutatió reductasa**

En una cubeta de 3 ml es van barrejar 1,8 ml de tampó fosfat potàssic descrit ja en el mètode de la GPx, 120 µl de l'hemolisat 1:20 i 100 µl de glutatió oxidat 75 mM. Després d'incubar durant 5 minuts a 37°C, s'hi van afegir 30 µl de NADPH i es va llegir immediatament a l'espectrofotòmetre en les mateixes condicions que en la determinació de la GPx. El que veiem ara, però, és la generació de NADP<sup>+</sup> a partir del NADPH durant la reducció del GSSG (Goldberg, Methods of Enzymatic Analysis, 1983). Es va calcular l'increment/minut i els resultats es van expressar en µmol/min/g Hb (µmols de NADP<sup>+</sup> generats).

### 8.3.12.5. Catalasa

Per determinar la catalasa es va utilitzar el mètode de Cohen i col·ls. (Anal Biochem, 1970). Amb els 100  $\mu$ l d'hemolitzat 1:20 que s'havien guardat al congelador es va fer una dilució 1:5 addicional amb aigua destil·lada. En una cubeta de quars de 3 ml es van barrejar 2,980 ml d' $\text{H}_2\text{O}_2$  (solució de peròxid d'hidrogen Merck ref.8599) 19 mM (amb tampó fosfat potàssic 100 mM ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ -  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ) pH 7,5) amb 20  $\mu$ l de la mostra. El que interessa és veure el grau de desaparició del peròxid d'hidrogen en els primers 30 segons. Per fer-ho, es va utilitzar un espectrofotòmetre (Perkin Elmer Lambda 2) amb lectura a 240 nm.

Es va calcular el decrement/minut i els resultats es van expressar en mmol/min/g Hb (fa referència a mmol de  $\text{H}_2\text{O}_2$  transformats).

### **8.3.13. Determinació de l'equilibri glutatió oxidat/reduït**

L'equilibri GSSG/GSH es va mesurar per fluorimetria amb el mètode d'Hissin i Hilf (Analytical Biochemistry, 1976) amb l'ajuda d'un espectrofluorímetre (Perkin Elmer LS 50B) a una longitud d'ona d'excitació de 350 nm i 420 nm de longitud d'ona d'emissió.

#### **8.3.13.1. GSH**

El glutatió reduït reacciona amb l'O-phtalaldehid (OPT Merck ref.11452) a un pH de 8. La mostra, que es tenia congelada en un medi àcid, es va diluir 1:10 amb un tampó fosfat sòdic ( $\text{Na}_2 \text{HPO}_4$  Panreac ref.131679 -  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  Panreac ref.131677) pH 8 100 mM i EDTA 5 mM. Es va fer una segona dilució, en aquest cas 1:20, a la cubeta de reacció amb mostra (100  $\mu\text{l}$ ) i tampó fosfat sòdic (1,8  $\mu\text{l}$ ). S'hi van barrejar 100  $\mu\text{l}$  d'OPT i després d'una incubació de 15 minuts es va fer la lectura al fluorímetre amb les condicions especificades al començament d'aquest apartat.

#### **8.3.13.2.- GSSG**

El glutatió oxidat també reacciona amb l'OPT i dóna fluorescència, però a pH 12. A pH 8, com ja s'ha comentat, el GSH reacciona amb l'OPT; ara bé, per sobre d'aquest pH, el GSH s'oxida i això ens faria augmentar el valor del GSSG. Per tant, el primer que es va fer per determinar el glutatió oxidat va ser incubar la mostra amb N-etilmaleimida (NEM Merck ref.1308) durant 25 minuts, la qual cosa en va impedir l'oxidació. Després es va diluir 1:10 amb el tampó NaOH 0,1 N que ens va aportar el pH bàsic desitjat. La mostra es va tornar a diluir, aquest cop 1:20, a la cubeta, s'hi va afegir l'OPT i, després d'una incubació de 15 minuts, es va fer la lectura al fluorímetre amb les condicions ja descrites. És important, en

cada sessió, afegir un estàndard o una recta estàndard si els tampons són nous, que ens validi els resultats obtinguts per poder determinar la concentració de la mostra. Els resultats es van expressar en  $\mu\text{mols/g Hb}$  i  $\text{nmols/ml plasma}$ , i la relació entre tots dos paràmetres es calcula mitjançant el quocient entre el valor del GSSG i el del GSH. També cal tenir la precaució de posar un duplicat per cada mostra sempre que sigui possible, en totes les determinacions.

### **8.3.14. Determinació dels productes de la peroxidació lipídica: TBARS**

Les TBARS es van determinar amb el mètode de Buege i Aust (Methods in Enzymology, 1978) però mesurant la fluorescència en un espectrofluorímetre Perkin Elmer LS 50B a 515 nm de longitud d'ona d'excitació i 548 nm de longitud d'onada emissió, tal com descriuen Richard i col·ls. (Clinical Chemistry, 1992).

Primer de tot, es van diluir les mostres amb sèrum fisiològic. En el cas dels eritròcits es va fer una dilució 1:2 i pel plasma se'n va fer una 1:50. Seguidament, es va barrejar 1 ml de la mostra diluïda amb 2 ml d'una solució TCA-TBA-HCl: àcid tricloracètic al 15%, àcid tiobarbitúric al 0,375 % (Merck ref.8180) i àcid clorhídric 0,25 N (Probus ref.17750 35 %). Aquesta barreja es va posar 15 minuts a ebullició (100 °C) i es va refredar amb gel. Després es va centrifugar a 1900 g durant 10 minuts a 4°C. Finalment, es va recollir el sobrenedant que es va llegir al fluorímetre. L'estàndard utilitzat va ser el bis-dietilacetal malonaldehid (d=0,92 kg/l) en diferents concentracions. La recta obtinguda va servir per determinar la concentració de la mostra. Els resultats es van expressar en nmols/g Hb i nmol/ml plasma.

### **8.3.15.- Determinació de la susceptibilitat d'oxidació: Test d'hemòlisi**

El test d'hemòlisi utilitza una solució de peròxid d'hidrogen per conèixer la resistència dels eritròcits a l'hemòlisi. Per dur a terme aquest test es treballa amb eritròcits nets diluïts 1:20 amb PBS (Farrell i col·ls., J Clin Invest, 1977).

Per saber l'hemòlisi espontània que es produeix, els eritròcits 1:20 es van diluir, de nou, 1:2, en PBS fins a un volum total de 600 µl (tub 1). En un altre tub (tub 2), es van fer reaccionar 300 µl de la dilució d'eritròcits amb un 2 % de peròxid d'hidrogen en un volum total de 600 µl per veure la resistència de les membranes a l'hemòlisi. I, finalment, per saber l'hemòlisi total de la mostra, es van posar 300 µl de la dilució 1:20

d'eritròcits i 3,8 ml d'aigua destil·lada (tub 3). Els tubs 1 i 2 es van fer per triplicat per saber el resultat als 60, 120 i 180 minuts d'incubació a 37 °C. El tub 3 representa l'hemòlisi total de la mostra que en els càlculs es considera d'un 100%. Després de la incubació de 60, 120 o 180 minuts es va afegir el PBS necessari perquè tots els tubs tinguessin un volum final de 4,1 ml. Es van centrifugar durant 3 minuts a 500 g a temperatura ambient per sedimentar els eritròcits que hi restaven. La lectura de les cubetes es va realitzar en un espectrofotòmetre Perkin Elmer Lambda 2 a 405 nm de longitud d'ona.

Els resultats es van expressar com a % d'hemòlisi. Aquesta quantitat indica la feblesa de la membrana dels eritròcits, mitjançant la mesura de l'hemoglobina alliberada per les cèl·lules vermelles, eliminant la que s'allibera per efectes de la tècnica, i respecte a l'hemòlisi total obtinguda en el tub 3.

## 9. Anàlisi estadística:

L'anàlisi estadística es va realitzar amb el paquet estadístic SPSS/PC + (IMC, Chicago, IL). En primer lloc es va analitzar el tipus de distribució que van presentar les variables quantitatives incloses en l'estudi. A tal fi, es va utilitzar el test de normalitat de Kolmogorov-Smirnov. Els valors s'han expressat com a mitjana aritmètica  $\pm$  desviació estàndard per les variables amb distribució normal i mitjana i rang per les variables que es desvien de la distribució normal. Per comparar les variables categòriques es va utilitzar el test de  $\chi^2$ . Les comparacions entre les mitjanes de les variables amb distribució normal es van realitzar amb la prova T de Student tant per mostres independents com a mostres relacionades. Per comparar les variables quantitatives no normals es van utilitzar les proves no paramètriques: la U de Mann-Whitney per les mostres independents i la prova de Wilcoxon per les mostres relacionades. Per les correlacions entre les diferents variables es va utilitzar la P de Pearson si la distribució era normal i la P de Spearman si la distribució era no normal. Es va realitzar la transformació logarímic del NT-proBNP per analitzar les correlacions amb els paràmetres ecocardiogràfics i l'IMVE. Es va crear un anàlisi de regressió logística multivariant incorporant les variables associades al iMVE en l'anàlisi univariant per determinar factors predictors independents de regressió de la hipertròfia ventricular esquerra. Altres variables com el ràtio redox GSH es van incloure a priori en el model en base a la seva significació clínica com a índex d'estatus oxidatiu de l'organisme en la seva totalitat. Es van considerar estadísticament significatius valors de  $p < 0,05$ .

## **10. Resultats:**

### **10.1. Característiques generals basals**

#### **10.1.1. Característiques dels pacients:**

Es van excloure de l'estudi 27 pacients a causa d'iniciar tractament amb hemodiàlisi (10), estudi ecocardiogràfic incomplet per mala finestra ecocardiogràfica (11), reacció al·lèrgica a rHuEPO beta (1), èxits (2), neoplàsia (1), i resistència al tractament amb rHuEPO beta (2). El grup final va incloure un total de 49 pacients (23 homes i 26 dones) amb una edat mitjana entre  $63,8 \pm 11,6$  anys. Catorze pacients eren diabètics (28,6%) i trenta quatre pacients (69,4 %) estaven en tractament amb algun blocador del sistema renina-angiotensina (IECA i/o ARA -II ). Quaranta set pacients eren hipertensos amb tensions arterials sistòliques de  $148,3 \pm 18,5$  mm Hg i tensions arterials diastòliques de  $79,6 \pm 9,3$  mm Hg.

D'acord amb les guies de pràctica clínica de la National Kidney fundation, tots els pacients presentaven insuficiència renal crònica en diferents estadis: tres pacients en estadi III, vint-i-quatre en estadi IV, i vint-i-dos en estadi V. Les diferents causes etiològiques de la malaltia renal crònica en el nostre grup de pacients varen ser: dotze vasculars (24,5 %), vuit glomerulars (16,2 %), tretze intersticials-malaltia quística (26,5 %), onze diabètiques (22,4%), i cinc de causa desconeguda



### 10.1.2. Característiques de la població d'estudi:

**Taula 4. Característiques demogràfiques:**

Variable	
Sexe (H / D):	23/26
Edat (anys)	63,8 ± 11,6
Etiologia de la IRC	
Diabetis mel·litus	14 (28,6%)
HTA	47(95,8 %)
IECA i/o Ara-II :	34(69,4%)
Estadis d'IRC:	3(3), 4(24), 5(22)
N ° d'Hipotensors	1,98 ± 0,14
Sistòlica basal, mm Hg	152,2 ± 23,7
Diastòlica basal, mm Hg	79,1 ± 11,0
Índex massa corporal basal	27,4 ± 4,838

**Taula 5: Tipus i freqüència de fàrmacs.**

Tipus de fàrmacs	Nombre	Percentatge
Hipotensors		
IECA i/o ARA II	34	69,4
IECA	19	38,8
ARA-II	15	30,6
Antagonistes del calci	29	59,2
Vasodilatadors	1	2
Diürètics	19	38,8
Beta blocadors	11	22,4
Antagonistes alfa	16	32,7
Altres fàrmacs		
Estatines	10	20,4
Antiagregants plaquetars	5	10,2
Antidiabètics orals	6	12,2
Insulina	8	16,3
Quelants amb calci	15	30,6

**Taula 6: Tipus de fàrmacs hipotensors.**

Nombre de fàrmacs hipotensors	Nombre de pacients	Percentatge
0	1	2
1	19	8,2
2	4	38,8
3	13	26,5
4	12	24,5

**Taula 7: Etiologia de la IRC.**

Etiologia	Nombre	Percentatge
Diabètica	11	22,5
Vascular	12	24,5
Glomerular	18	16,3
Intersticial	13	26,5
No filiada	5	10,2

**Taula 8. Característiques analítiques:**

Variable	
Creatinina basal, umol/L	390,0 ± 149,0
Calci basal, mmol/L	2,46 ± 0,96
Fòsfor basal, mmol/L	1,63 ± 0,38
Fosfatasa alcalina basal, U/L	189,0 ± 92,8
PTH basal, pg/mL	216,9 ± 145,8
Albúmina basal gr/dL	37,8 ± 5,62
Hb basal, gr/dL	9,9 ± 0,6
Ferritina basal, ng/mL	268,9 ± 203,8
IST basal, (%)	26,7±13,0

### 10.1.3. Característiques ecocardiogràfiques basals:

La hipertròfia ventricular esquerra va estar present en quaranta-dos pacients (85,7 %) amb les característiques de geometria cardíaca següents: 36 pacients (73,5 %) tenien hipertròfia concèntrica, 6 (12,2 %) tenien hipertròfia excèntrica, 5 (10,2 %) presentaven signes de remodelat, i 2 (4,1 %) eren normals. El 85 % presentaven disfunció diastòlica.

**Taula 09. Característiques ecocardiogràfiques:**

Variable	
DiametreTeleDiastolic VI, mm	48,20±6,51
DiametreTeleSistolic VI, mm	28,73±8,018
Tabic InterVentricular, mm	12,82±1,667
Paret Posterior VI, mm	12,86±1,54
Aurícula Esquerra, mm	39,02±7,15
Aorta, mm	35,58±6,88

**Taula 10. Funció diastòlica:**

Variable	
ONA_E	76,95 ±21,098
ONA_A	85,12 ± 26,91
Ràtio E / A	0,99 ± 0,45
TDOE	198,19 ± 56,37
TRIV	111,76 ± 25,649

**Taula 11. Característiques clíniques basals en pacients amb IRC amb HVE i sense HVE**

	HVE (n=42 )	Sense HVE (n=7)	p
Edat (anys)	66,1 ± 9,7	49,8 ± 12,7	0,0001
Sexe (H/D)	19/23	4/3	ns
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	27,9 ± 4,7	24,5 ± 4,7	ns
TAS (mm Hg)	154,6 ± 24,0	138,1 ± 16,7	ns
TAD (mm Hg)	78,9 ± 11,0	80,8 ± 11,8	ns
Nº hipotensors (n)	2,74 ± 1,0	2,0 ± 0,5	0,01
Creatinina (µmol/L)	371,2 ± 144,2	503,1 ± 133,9	0,02
Calci (mmol/L)	2,50 ± 1,02	2,20 ± 0,27	ns
Fòsfor (mmol/L)	1,61 ± 0,38	1,74 ± 0,40	ns
Fosfatasa alcalina (U/L)	187,9 ± 92,9	197,8 ± 100	ns
PTH (pg/mL)	214,5 ± 143,5	227,2 ± 167,1	ns
Albúmina (g/L)	3,7 ± 0,5	4,0 ± 0,1	ns
Hemoglobina (g/dL)	9,8 ± 0,7	10,0 ± 0,5	ns
Ferritina ng/mL)	278,2 ± 217,8	213,0 ± 63,9	ns
IST (%)	26,1 ± 13,5	30,4 ± 9,2	ns
Gault Cockroft (ml/min)	18,30 ± 7,56	14,42 ± 3,84	ns
HDL (mg/dL)	49,3 ± 14,2	58,6 ± 17,9	ns
Proteïna C reactiva	3,44 ± 3,19	3,06 ± 3,05	ns
Interleucina-6	2,87 ± 1,67	3,76 ± 1,49	ns
NT-proBNP	1928,2 ± 2651,4	410,7 ± 306,6	0,01

## 10.2. Massa cardíaca basal:

### 10.2.1. Factors que influeixen amb l'IMVE basal

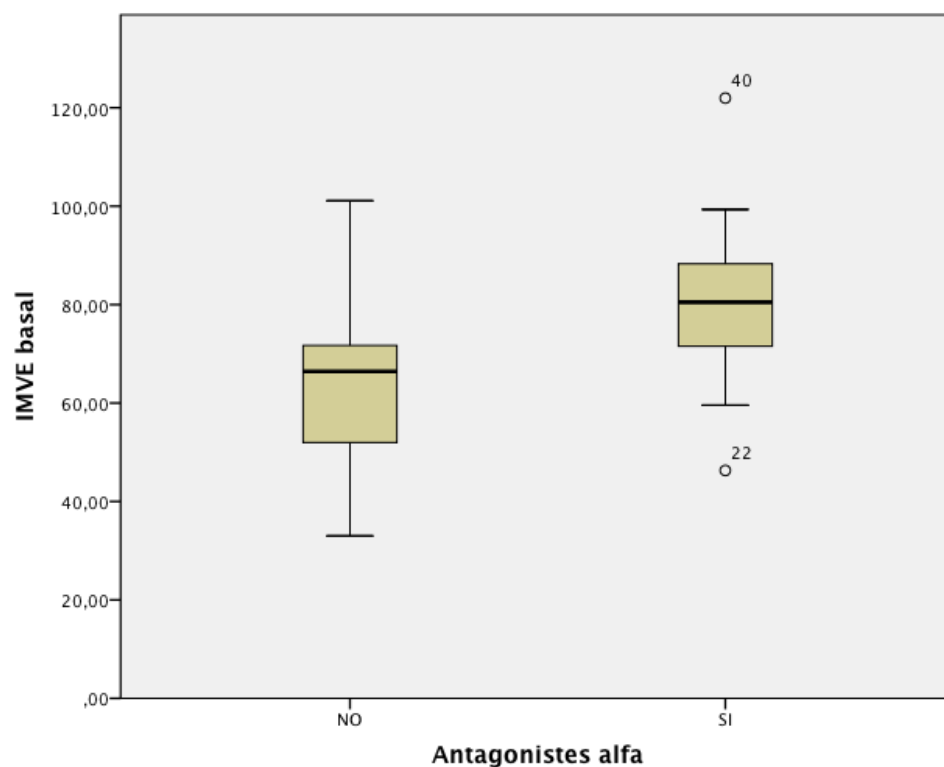
Al analitzar l'índex de massa ventricular basal segons les variable recollides, no es va observar diferències en la massa ventricular basal segons el sexe, tabaquisme, diabetis mel·litus, tractament amb hipotensors com IECA, ARA-II, antagonistes del calci, beta blocadors, o diürètics, tractament amb insulina o antidiabètics orals, tractament amb estatines, tractament amb antiagregants, tractament amb compostos amb calci, tractament amb vitamina D i presència de FAVI.

Si que es va trobar diferències en les següents variables:

Antagonistes alfa:

	Alfa antagonistes	Mitjana aritmètica	Desviació estàndard	p
iMVE	No (n=33)	63.73	15.37	0.001
	Si (n=16)	80.60	17.26	

Els pacients en tractament amb alfa antagonistes tenien major índex de massa ventricular esquerra.



### 10.2.2. Anàlisi univariant

La massa basal es va correlacionar amb l'edat, l'índex de massa corporal basal, la TA sistòlica basal, la pressió del pols basal, el ràtio/A, el TRIV i el N° d'hipotensors.

**Taula 12. Anàlisi univariant de la massa cardíaca basal**

	r	p
Edat	0,309	0,031
Índex de massa corporal	0,370	0,009
TAS, mm Hg	0,380	0,007
Pressió del Pols, mm Hg	0,334	0,019
N° hipotensors	0,295	0,040
TRIV	0,352	0,022
Ràtio E/A	0,025	< 0,0001

### 10.3.- Característiques als 6 mesos

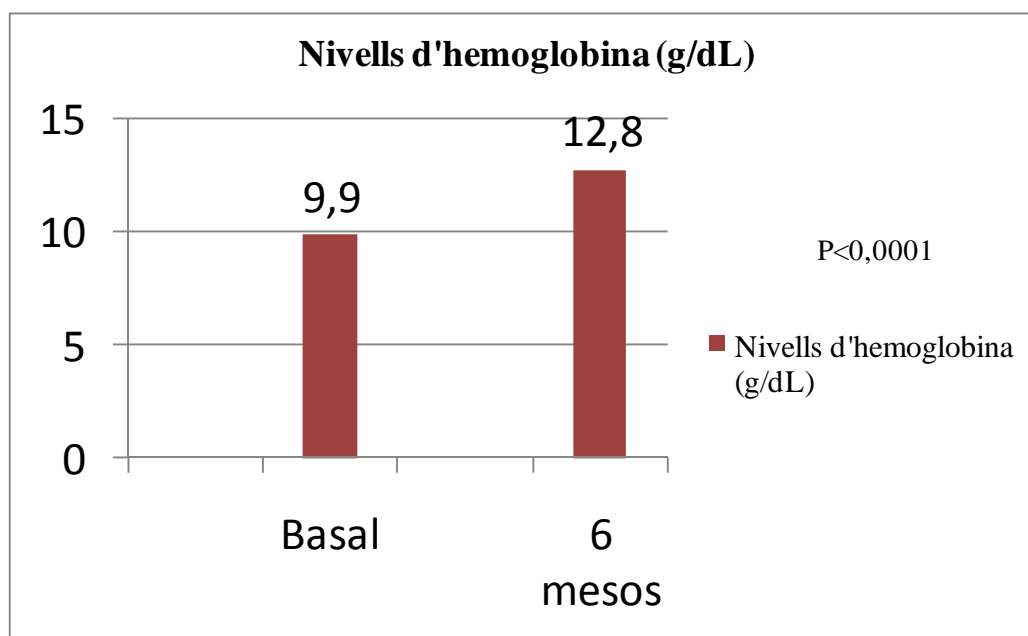
#### 10.3.1. Efecte del tractament amb rHuEPO sobre les variables demogràfiques i clíniques

Als 6 mesos de tractament el nivells de Hb varen augmentar de forma significativa, no obstant la funció renal va empitjorar i el producte fosfocàlcic va augmentar de manera significativa. Per altra banda es va observar una disminució de la TAS que no va resultar estadísticament significativa i no es van observar canvis en la resta de paràmetres demogràfiques ni clíniques.

**Taula 13. Tractament amb EPO: Característiques clíniques.**

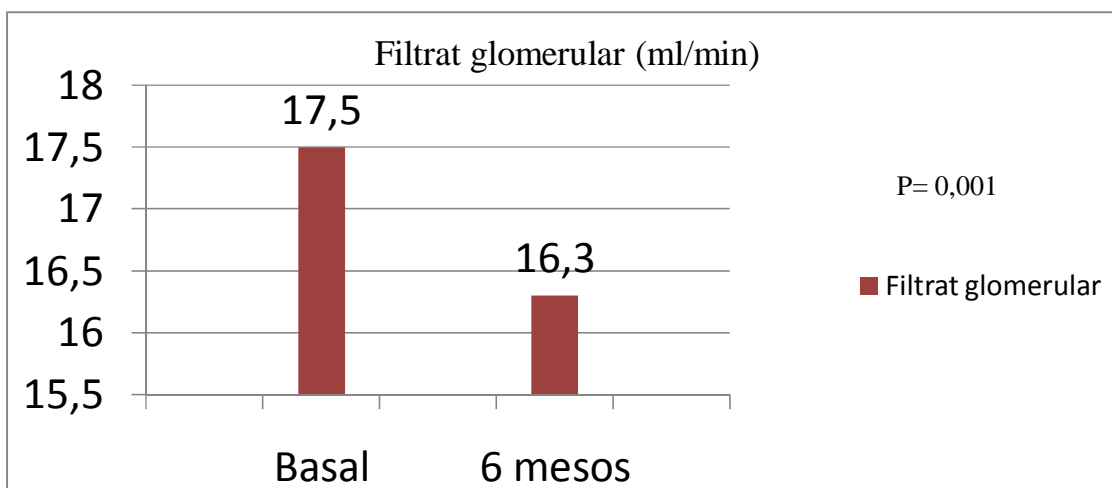
	Basal	6 mesos	p
Índex massa corporal	27,4 ± 4,8	27,8 ± 5,0	NS
Nº fàrmacs	2,6 ± 1,0	2,6 ± 1,1	NS
TA sistòlica, mm Hg	153,3 ± 24,0	148,3 ± 18,5	NS
TA diastòlica, mm Hg	79,3 ± 11,3	79,6 ± 9,3	NS
Pressió del pols, mm Hg	68,6 ± 16,2	74,0 ± 22,4	NS
Frec. Cardíaca,	73,5 ± 12,4	75,4 ± 13,6	NS
Hb, gr/dL	9,9 ± 0,6	12,8 ± 1,5	< 0,0001
Albúmina, gr/dL	37,6 ± 5,7	38,9 ± 4,6	0,02
PTH, pg/mL	168,4 ± 122,1	178 ± 120,7	NS
Ca x P	3,77 ± 0,89	4,36 ± 1,36	<0,0001
Creatinina, umol/L	390,0 ± 149,0	458,3 ± 222,7	<0,0001
Gault Cockroft, ml/min	17,7 ± 7,2	16,3 ± 8,4	0,001

### 10.3.2. Efecte del tractament amb rHuEPO sobre els nivells d'hemoglobina



Els nivells d'hemoglobina van passar de 9,9 g/dL a 12,8 g/dL als 6 mesos de tractament amb eritropoïetina.

### 10.3.3. Efecte del tractament amb rHuEPO sobre l'aclariment de creatinina





### 10.3.4. Efecte del tractament amb rHuEPO sobre la estructura cardíaca i la funció sistòlica

Es va observar una disminució estadísticament significativa en l'índex de la massa ventricular esquerra, en el gruix relatiu de la paret i en el gruix del tabic interventricular, cosa que tradueix una disminució de la hipertròfia del ventricle esquerre als 6 mesos de tractament de l'anèmia amb HuEPO beta. No obstant els diàmetres telesistòlics i telediastòlics i la fracció d'escurçament no es van modificar.

**Taula 14. Tractament amb EPO: Paràmetres ecocardiogràfiques i doppler.**

	Basal	6 mesos	p
iMVE, gr/m <sup>2,7</sup>	69,2 ± 17,7	64,1 ± 19,6	0,01
iMVE, gr/m <sup>2</sup>	142,1 ± 34,4	137,2 ± 39,8	0,03
DTDVE, mm	4,82 ± 0,65	4,81 ± 0,75	NS
DTSVE, mm	2,87 ± 0,80	2,78 ± 0,61	NS
TIV, mm	1,28 ± 0,16	1,23 ± 0,20	0,046
PP, mm	1,28 ± 0,15	1,19 ± 0,18	0,001
GRP	0,54 ± 0,10	0,50 ± 0,09	0,02
VV, ml/m <sup>2</sup>	70,8 ± 26,7	71,6 ± 30,7	NS
ONA E	78,6 ± 21,0	74,0 ± 19,7	NS
ONA A	85,5 ± 27,3	88,9 ± 30,1	NS
E/A	1,0 ± 0,4	0,8 ± 0,3	0,03
TDOE	198,3 ± 57,9	211,2 ± 63,3	NS
TRIV	111,1 ± 27,1	117,7 ± 24,9	NS

### 10.3.5 Massa cardíaca als 6 mesos:

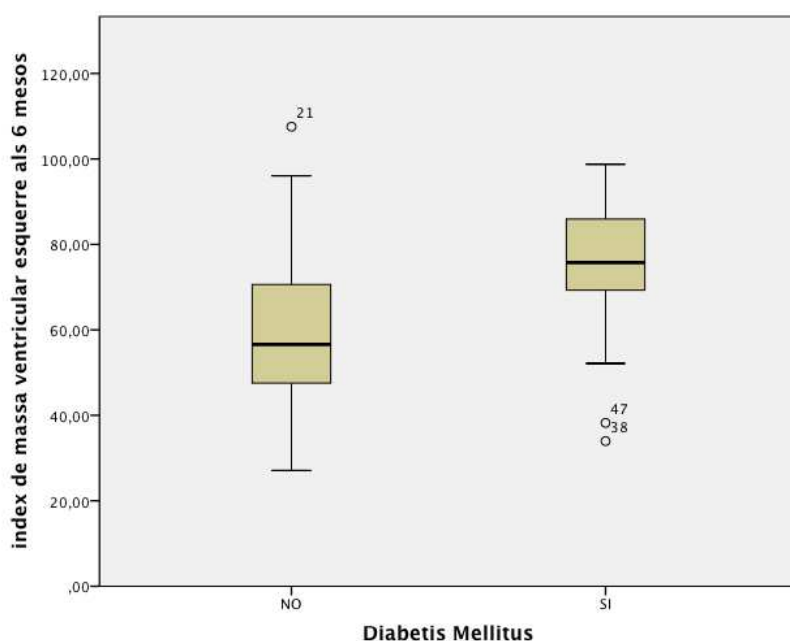
#### 10.3.5.1 Factors que influeixen amb l'iMVE als 6 mesos de tractament amb EPO.

Al analitzar l'índex de massa ventricular segons les variable recollides, no es va observar diferències en la massa ventricular als 6 mesos de tractament amb rHuEPO segons el sexe, tabaquisme, tractament amb hipotensors com IECA, ARA-II, beta blocadors, o diürètics, tractament amb insulina o antidiabètics orals, tractament amb estatines, tractament amb antiagregants, tractament amb compostos amb calci, tractament amb vitamina D i presència de FAVI. Si que es va trobar diferències en les següents variables:

**Taula 15, IMVE als 6 mesos i Diabetis mel·litis:**

	DM	Mitjana aritmètica	Desviació estàndard	p
iMVE	No	60,67	18,87	0.03
	Si	72,84	19,6	

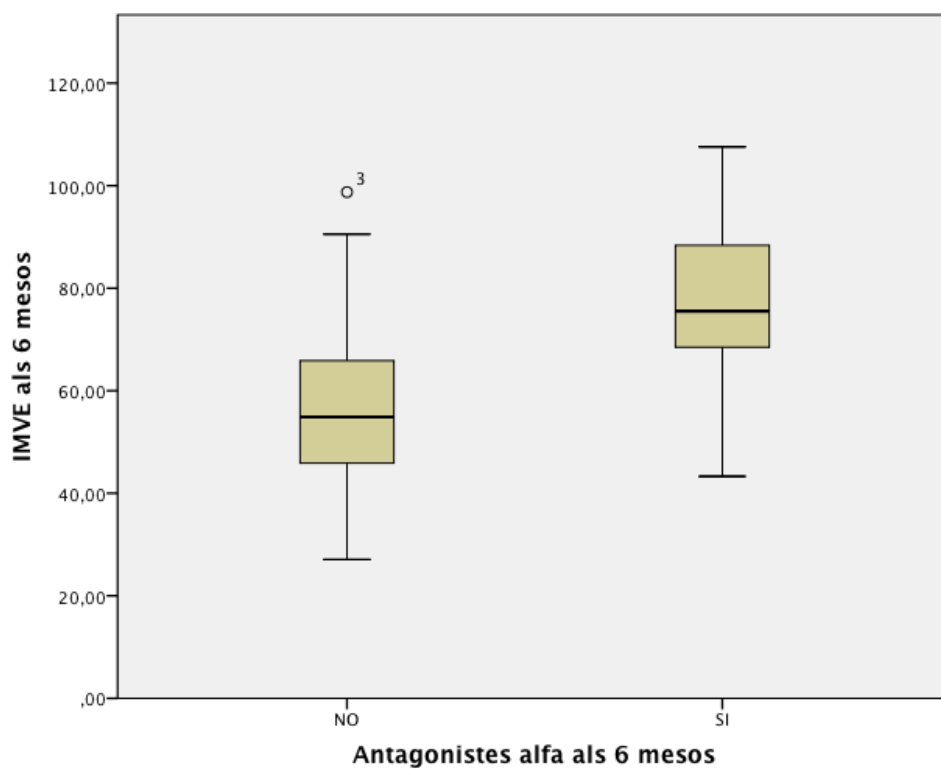
Els pacients amb DM tenien major índex de massa ventricular esquerra.



**Taula 16: IMVE als 6 mesos i Antagonistes alfa:**

	Alfa antagonistes	Mitjana aritmètica	Desviació estàndard	p
iMVE	No	55,71	17,41	< 0.0001
	Si	77,48	15,44	

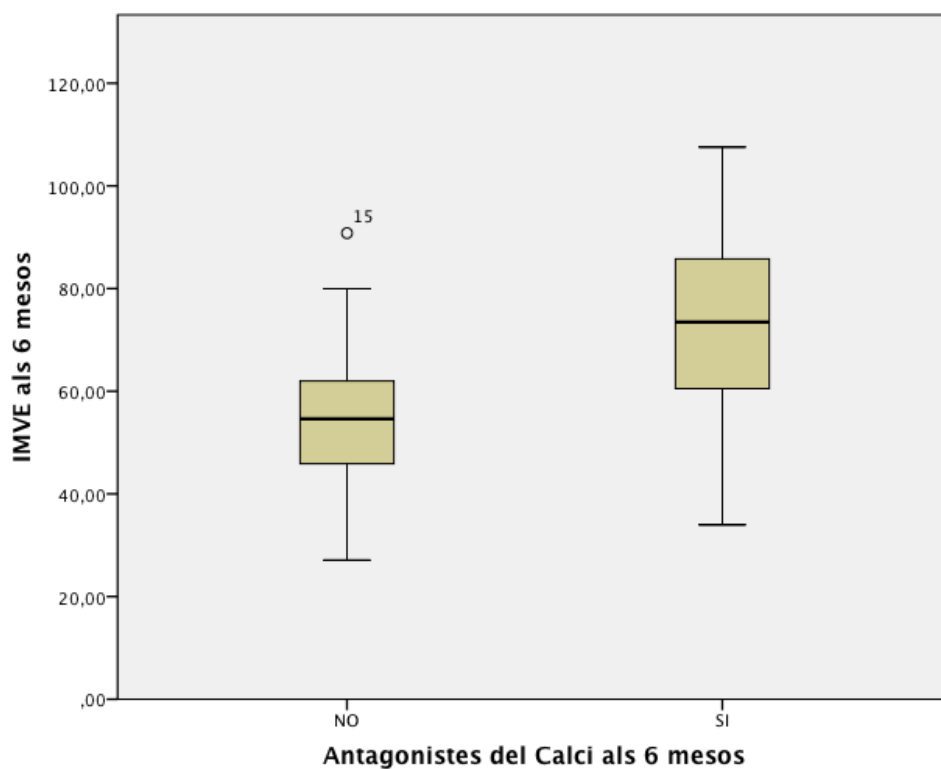
Els pacients en tractament amb alfa antagonistes tenien major índex de massa ventricular esquerra.



**Taula 17: IMVE als 6 mesos i Antagonistes del calci:**

	Antagonistes del calci	Mitjana aritmètica	Desviació estàndard	p
iMVE	No	53.87	16.06	0.001
	Si	71.85	18.81	

Els pacients en tractament amb antagonistes del calci tenien major índex de massa ventricular esquerra.



### 10.3.5.2 Massa cardíaca al 6 mesos de tractament amb EPO: Anàlisi univariant.

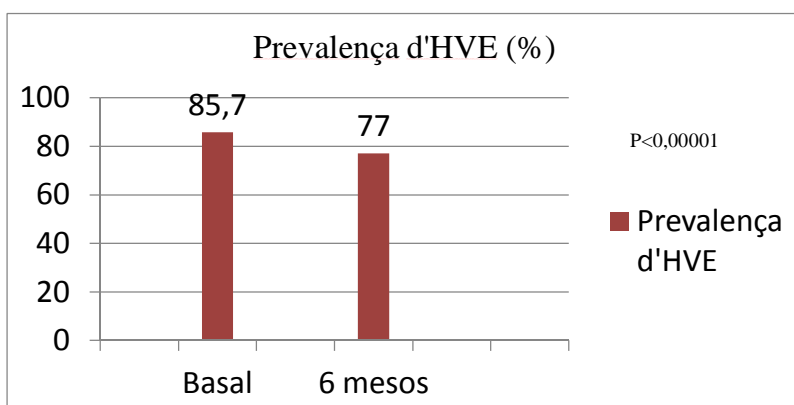
Els factors que estan influint la massa cardíaca als 6 mesos són: l'edat, l'índex de massa corporal als 6 mesos, la TA sistòlica als 6 mesos, la pressió del pols als 6 mesos, l'albumina als 6 mesos, i el N° de fàrmacs hipotensors.

**Taula 18. Anàlisi univariant de la massa cardíaca als 6 mesos**

	r	p
Edat	0,380	0,007
Massa basal	0,780	< 0,0001
Índex de massa corporal	0,416	0,003
TAS, mm Hg	0,507	< 0,0001
Pressió del Pols, mm Hg	0,449	0,002
Albumina, g/dL	- 0,312	0,035
N° hipotensors	0,511	< 0,0001
Ferritina	-0,322	0,02

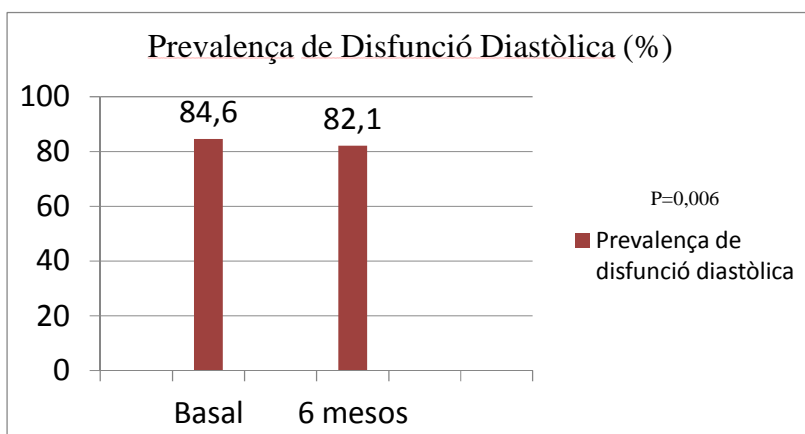
### 10.3.5.3. Hipertrofia ventricular esquerra

La prevalença d'hipertrofia ventricular esquerra en el grup global va ésser del 85,7 % dels malalts. Als 6 mesos de tractament amb eritropoietina va passar a ser del 77,6 % (p<0,00001)



#### 10.3.5.4. Disfunció diastòlica:

La prevalença de disfunció diastòlica va ser del 84,6 %. Als 6 mesos de tractament amb EPO va passar al 82,1% (  $p= 0,006$ ).



#### **10.4. Comparació entre pacients responedors i no responedors**

Es va avaluar l'efecte de la correcció de l'anèmia amb rHuEPO en l'índex de massa ventricular esquerra i es va avaluar la regressió de la hipertròfia ventricular esquerra. Es va considerar com a pacients "responedors" al tractament aquells en els quals l'iMVE va disminuir  $>10\%$  i com a "no responedors" aquells en que l'iMVE es va incrementar o es va decrementar  $< 10\%$ . Seguint aquest criteri es van classificar 25 pacients com a "responedors" i 24 com a "no responedors".

##### **10.4.1 Característiques basals**

L'edat, gènere, índex de massa corporal, nivells d'Hb, estatus de fumador actiu i clearance de creatinina varen ser similars en els dos grups. El número de pacients DM va ser major entre els no responedors que entre els responedors. Els no responedors van presentar una tendència a tenir major nivells de TAS i de pressió del pols i van rebre major número de fàrmacs hipotensors.

Les característiques ecocardiogràfiques basals varen ser similars en els dos grups.

### Característiques demogràfiques i analítiques entre “responedors” i “no responedors”

#### basals

	Responedors	No responedors	p
Edat	61.8 ± 11.9	65.9 ± 11	ns
Sexe	10/15	13/11	ns
TA sistòlica	149,5 ± 23.1	155 ± 24.5	ns
TA diastolica	80.6 ± 11.1	78.1 ± 11.7	ns
Pressio del pols	69.4 ± 22.9	76.9 ± 21.1	ns
Nº hipotensors	2.2 ± 0.9	3 ± 1.1	ns
IMC	26.3 ± 4.6	28.6 ± 4.8	ns
DM	3	11	0,01
Fumadors	0	3	ns
Albúmina	3.75 ± 0.7	3.77 ± 0.4	ns
Calci	9.4 ± 0.88	9.9 ± 0.85	ns
Fòsfor	5.07 ± 1.2	4.98 ± 1.2	ns
PTH	153.8 ± 105.6	184.7 ± 143.1	ns
Creatinina	4.47 ± 1.61	4.33 ± 1.78	ns
Acl creatinina	17 ± 7.8	18.4 ± 6.6	ns
Hemoglobina	9.7 ± 0.7	10 ± 0.6	ns
Ferritina	262 ± 221	268 ± 195	ns
Estatinas	4	6	ns
Vitamina D	5	8	ns
IECAs i/o Ara II	15	19	ns



**Característiques ecocardiogràfiques: diferències basals entre “responedors” i “no responedors”.**

	Responedors	No responedors	P
VTDVE, mm	48.7 ± 7.1	47.6 ± 5.8	ns
VTSVE, mm	28.2 ± 7.9	29.2 ± 8.2	ns
TIV, mm	12.8 ± 1.7	12.7 ± 1.6	ns
PP, mm	12.7 ± 1.5	13 ± 1.5	ns
GRP	0.53 ± 0.08	0.55 ± 0.11	ns
HVE, n(%)	21 (84)	21(87.5)	ns
VVE, ml/m <sup>2</sup>	75 ± 30.1	66.3 ± 22.6	ns
IMVE, g/m <sup>2.7</sup>	71 ± 21.2	67.3 ± 13.3	ns
Hipertròfia concèntrica, n (%)	18 (72)	18 (75)	ns
Hipertròfia excèntrica, n (%)	3 (12)	3 (12.5)	ns
Remodelat concèntric, n (%)	2 (8)	3 (12.5)	ns
Geometria normal, n (%)	2 (8)		

**10.4.2. Característiques als 6 mesos de tractament amb EPO**

Als 6 mesos de tractament amb rHUEPO, la dosi mitja setmanal d'EPO, la dosi mitja de ferro endovenós, l'ús de IECA i/o ARA-II, ús d'estatines o de vitamina D, o el número de pacients en els quals s'havia realitzat la FAVI no van diferir en els dos grups. Tampoc es varen observar diferències entre els canvis observats en les nivells d'Hb ni en el clearance de creatinina. Si que es va objectivar que els pacients responedors als 6 mesos presentaven xifres més elevades de TA sistòlica, major pressió del pols i major nombre de pacients diabètics respecte als no responedors.

**Taula 19. Característiques demogràfiques i analítiques entre “responedors” i “no responedors” basals i als 6 mesos.**

\*p = 0.01, entre “responedors” i “no responedors” als 6 mesos.

	Responedors (n = 25)			No responedors (n = 24)		
	Basal	6 mesos	p	Basal	6 mesos	p
Edat, anys	61.8 ± 11.9			65.9 ± 11		
Home/Dona	10/15			13/11		
TA Sistòlica, mm Hg	149,5 ± 23.1	141.5 ± 20.3	0.02	155 ± 24.5	154.5 ± 14.5*	NS
TA Diastòlica, mm Hg	80.6 ± 11.1	80.2 ± 8.5	NS	78.1 ± 11.7	80.2 ± 8.5	NS
Pressió pols, mm Hg	69.4 ± 22.9	62.5 ± 13.6	NS	76.9 ± 21.1	74.3 ± 14.1*	NS
Hipotensors, n	2.2 ± 0.9	2.2 ± 0.7	NS	3 ± 1.1	3 ± 1.1*	NS
Índex massa corporal, Kg/m <sup>2</sup>	26.3 ± 4.6	26.2 ± 4.8	NS	28.6 ± 4.8	28.3 ± 5.8	NS
FAVI, n		3			1	
Diabetis Mel·litus, n	3	3	NS	11	11*	NS
Fumadors, n	0	0		3	3	NS
Albúmina sèrica, g/dL	3.75 ± 0.7	3.86 ± 0.55	NS	3.77 ± 0.4	3.92 ± 0.35	NS
Calci sèric, mg/dL	9.4 ± 0.88	9.5 ± 0.80	NS	9.9 ± 0.85	9.3 ± 1.04	ns
Fosfat sèric, mg/dL	5.07 ± 1.2	5.94 ± 2.35	0.03	4.98 ± 1.2	5.57 ± 1.26	0.01
PTH sèrica, pg/mL	153.8 ± 105.6	192.6 ± 121.5	NS	184.7 ± 143.1	161.7 ± 125	NS
Creatinina sèrica, mg/dL	4.47 ± 1.61	5.36 ± 2.46	0.004	4.33 ± 1.78	5.03 ± 2.71	0.02
Aclar. creatinina, ml/min	17 ± 7.8	15.1 ± 8.4	0.008	18.4 ± 6.6	17.5 ± 8.4	NS
Hemoglobina, g/dL	9.7 ± 0.7	12.8 ± 0.7	< 0.001	10 ± 0.6	12.7 ± 1.5	< 0.001
Ferritina sèrica, ng/mL	262 ± 221	336 ± 185	NS	268 ± 195	284 ± 143	NS
Estatines, n	4	4	NS	6	6	NS
Vitamina D, n	5	5	NS	8	8	NS
IECA i/o ARA-II, n	15	15	NS	19	19	NS
Dosi EPO (UI/setmana)		6505 ± 3006			5801 ± 2956	
Dosi total ferro, mg		831 ± 499			697 ± 543	

### 10.4.3. Característiques ecocardiogràfiques als 6 mesos de tractament:

Als 6 mesos de tractament amb EPO l'IMVE i el volum ventricular esquerra van disminuir en el grup de “responedors”, mentre que es van incrementar en el grup de “no responedors”. La tensió arterial sistòlica i la pressió del pols també van disminuir en el grup de responedors però no va canviar i va romandre elevada en els “no responedors”.

**Taula 20. Dades ecocardiogràfiques de pacients “responedors” i “no responedors” basals i al 6 mesos**

	Responedors (n = 25)			No responedors (n = 24)		
	Basal	6 mesos	p	Basal	6 mesos	p
VTDVE, mm	48.7 ± 7.1	46 ± 6.4	0.001	47.6 ± 5.8	50.3 ± 8*	0.04
VTSVE, mm	28.2 ± 7.9	26.3 ± 5.8	NS	29.2 ± 8.2	29.5 ± 6	NS
TIV, mm	12.8 ± 1.7	11.6 ± 1.6	< 0.0001	12.7 ± 1.6	13 ± 2.1 **	NS
PP, mm	12.7 ± 1.5	11.2 ± 1.8	< 0.0001	13 ± 1.5	12.7 ± 1.6***	NS
GRP	0.53 ± 0.08	0.49 ± 0.09	NS	0.55 ± 0.11	0.51 ± 0.10	NS
HVE, n(%)	21 (84)	17(68)	NS	21(87.5)	21 (87.5)	NS
VVE, ml/m <sup>2</sup>	75 ± 30.1	63 ± 22.6	0.003	66.3 ± 22.6	80.6 ± 35.7*	0.02
IMVE, g/m <sup>2.7</sup>	71 ± 21.2	55.4 ± 18.2	< 0.0001	67.3 ± 13.3	72.3 ± 17****	0.01
Hipertròfia concèntrica, n (%)	18 (72)	12 (48)	NS	18 (75)	14 (58.5)	NS
Hipertròfia excèntrica, n (%)	3 (12)	5 (20)	NS	3 (12.5)	7 (29)	NS
Remodelat concèntric, n (%)	2 (8)	5 (20)	NS	3 (12.5)	3 (12.5)	NS
Geometria normal, n (%)	2 (8)	3 (12)	NS			NS

\*p= 0.04, \*\*p = 0.01, \*\*\*p = 0.005, \*\*\*\*p = 0.002, entre responedors i no responedors

#### 10. 4.4. Regressió logística:

Es va analitzar els factors associats amb la regressió de la hipertròfia del VE mitjançant l'anàlisi de regressió logística. Es va obtenir que els únics factors independents varen ser la tensió arterial als 6 mesos i la massa cardíaca basal.

Variable	$\beta$	Odds ràtio	95 % IC	p
Model 1*				
Edat	0.014	1.014	0.940-1.093	NS
IMC, 6 mesos	-0.103	0.902	0.767-1.060	NS
TAS, 6 mesos	-0.064	0.935	0.890-0.988	0.01
iMVE, basal	0.054	1.056	1.001-1.112	0.04
Diabetis, (si vs) no	-1.523	0.218	0.038-1.246	NS

$R^2 = 0.391$ , constant 9.595.

## 10. 5. Influència de la inflamació:

Es va investigar al relació entre la presència d'inflamació i els efectes cardiovasculars del tractament de l'anèmia amb EPO amb la hipòtesi que la inflamació pot tenir un efecte negatiu en la regressió de la massa cardíaca després del tractament amb de la anèmia amb EPO. Als 6 mesos de tractament no van haver-hi canvis en els nivells de marcadors d'inflamació, que van romandre elevats

variable	basal	6 mesos	p
IL-6	3,05 ±1,68	2,76 ± 1,63	ns
PCR	3,26± 3,16	3,22 ± 3,60	ns

La PCR basal i la IL-6 basal no es van correlacionar amb els paràmetres ecocardiogràfics basals ni amb la massa basal. La PCR als 6 mesos i la IL-6 als 6 mesos no es correlacionen amb els paràmetres ecocardiogràfics als 6 mesos ni amb la massa als 6 mesos

Vàrem definir que hi havia un Estat Inflamatori (EI) quan els nivells basals dels paràmetres inflamatoris estaven per sobre de la mitjana: EI: PCR > 2,5 mg / L i/o IL-6 > 2,3 pg / mL

Només es van poder avaluar els paràmetres inflamatoris en 41 malalts, per la qual cosa ens va quedar una població de les següents característiques: Edat: 63.6±11.6 anys; Sexe (H/M): 17/24; TAS/TAD:153.5±23.7/80.1±11.6; Diabetis mel·litus: 10(24.4%); IECAs i/o ARA II: 27(65.9%); Estadis IRC: 3(3), 4(17), 5(21).

Característiques basals dels pacients:

Els malats amb EI tenien major edat: 67,0 ± 7,6 vs 55,6 ± 15,1 p = 0,02 ; tenien més massa corporal 29,1 ± 1,5 vs 24,6 ± 3,6 p= 0,09 i tenien nivells de PCR i IL-6 superiors

que els malalts sense EI ( $4,4 \pm 3,4$  vs  $1,4 \pm 1,0$  vs mg/L  $p < 0,0001$  i  $3,3 \pm 1,6$  vs  $1,9 \pm 0,9$  pg/mL,  $p = 0,01$ ; respectivament).

No van haver-hi diferències en la resta de paràmetres antropomètrics, analítics ni ecocardiogràfics.

**Taula 21: característiques basals dels pacients amb estat inflamatori i sense.**

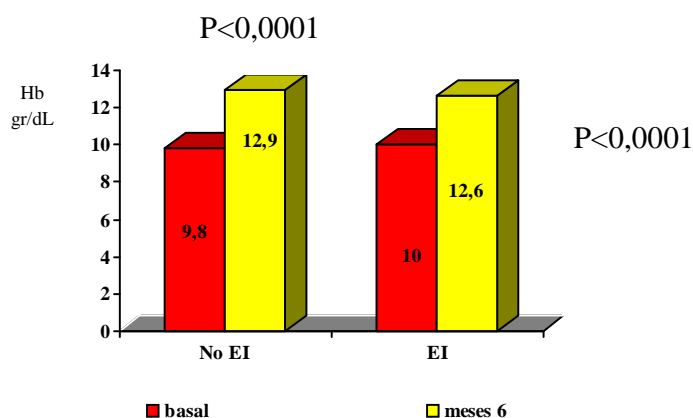
	No estat inflamatori	Estat inflamatori	P
Edat	$55,6 \pm 15,1$	$67,0 \pm 7,6$	0,02
Sexe (H/M)	5/8	12/13	NS
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	$24,6 \pm 3,6$	$29,1 \pm 5,1$	0,09
TA sistòlica	$147,0 \pm 25,7$	$155,8 \pm 23,1$	NS
TA diastòlica	$80,6 \pm 10,4$	$80,4 \pm 12,3$	NS
PCR (mg/L)	$1,4 \pm 1,0$	$4,4 \pm 3,4$	<0,0001
IL-6 (pg/mL)	$1,9 \pm 0,9$	$3,3 \pm 1,6$	0,01
Hb (g/dL)	$9,8 \pm 0,8$	$10,0 \pm 0,7$	NS
Creatinina (µmol/L)	$385,0 \pm 138,2$	$427,2 \pm 163,1$	NS
Acl. creatinina	$18,1 \pm 9,2$	$16,1 \pm 5,5$	NS
Calci (mmol/L)	$2,31 \pm 0,21$	$2,37 \pm 0,21$	NS
Fòsfor (mmol/L)	$1,57 \pm 0,43$	$1,68 \pm 0,38$	NS
PTH (pg/mL)	$219,5 \pm 177,1$	$228,8 \pm 132,1$	NS
Albúmina (gr/dL)	$36,4 \pm 9,5$	$38,7 \pm 2,6$	NS

Taula 22: Característiques ecocardiogràfiques basals: pacients amb estat infamatori i sense.

	No estat inflamatori	Estat inflamatori	P
DTDVE, mm	$47,4 \pm 9,3$	$49,2 \pm 5,1$	NS
DTSVE, mm	$27,3 \pm 8,9$	$29,0 \pm 7,6$	NS
TIV, mm	$12,0 \pm 1,3$	$12,8 \pm 1,5$	NS
PP, mm	$12,5 \pm 1,1$	$12,8 \pm 1,4$	NS
GRP	$0,54 \pm ,1$	$0,52 \pm 0,09$	NS
Índex MVE, g/m <sup>2.7</sup>	$64,9 \pm 22,1$	$72,0 \pm 15,1$	NS
VVE ml/m <sup>2</sup>	$73,2 \pm 38,6$	$73,18 \pm 21,3$	NS
HVE, n (%)	12(79)	22(88)	NS

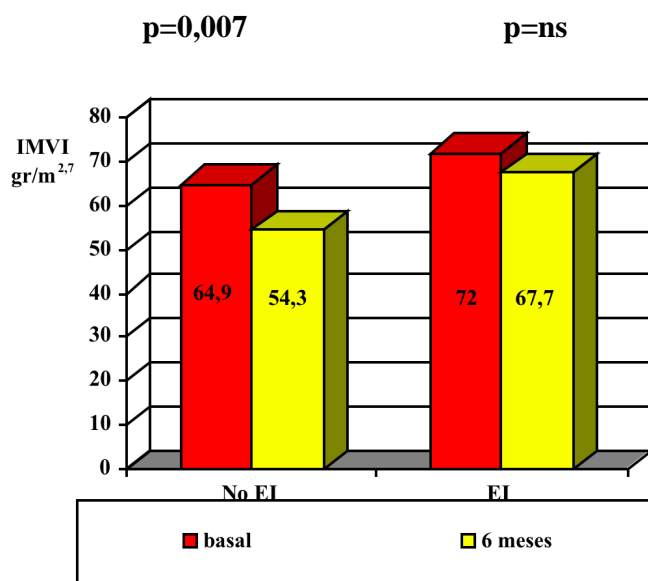
### Modificació dels nivells d'hemoglobina:

En el grup global, als 6 mesos de tractament amb EPO, la Hemoglobina va passar de 9,3 a 12,8 g/dL. En el grup amb EI la Hb va passar de 10,0 a 12,6 g/dL  $p < 0,0001$  i en el grup sense EI va passar de 9,8 a 12,9 g/dL.,  $p < 0,000$



### Modificació de la massa ventricular esquerra:

En el grup global, als 6 mesos de tractament amb EPO, la massa del VE va disminuir de 69,9 a 64,5  $\text{gr}/\text{m}^{2,7}$  ( $p = 0,01$ ). En el grup de malalts amb EI massa del VE no es va modificar i en els malalts sense EI la massa va disminuir de 64,9 a 54,3  $\text{gr}/\text{m}^{2,7}$ .



### Modificació del aclariment de creatinina:

Als 6 mesos de tractament, l'aclariment de creatinina no es va modificar el grup de malalts sense EI, però va empitjorar en el grup amb EI: 16,2 a 14,6 ml/min ; p=0,009.

### Modificació de la TA

No van haver-hi canvis significatius de TA als 6 mesos de tractament en cap dels dos grups de malalts.

### Regressió logística:

La regressió logística prenent om a variable depenent la regressió de la massa cardíaca va mostrar la inflamació com a predictor independent.

	$\beta$	Odds ràtio	p	IC
Edat	0,097	1,102	ns	0,986-1,232
TA sistòlica 6 m	0,036	0,935	0,054	0,873-1,001
IMVE basal	0,058	1,509	ns	0,993-1,13
Estat inflamatori (Si vs No)	-3,168	0,042	0,04	0,002-1,467
Diabetis mel·litus (Si vs No)	-23,367	0,000	0,999	0,000

Constant: 2,859; R<sup>2</sup>: 0.61



## 10.6. Influència de l'estrès oxidatiu.

### 10.6.1. Perfil oxidatiu basal:

Varem analitzar el perfil oxidatiu basal comparat amb grup control d'individus sans aparellats per edat i sexe.

**Taula 23. Perfil oxidatiu basal comparat amb grup control**

Marcadors d'EO eritròcit	Grup control	IRC	p
GSH, umol/g Hb	5,16± 1,56	4,95 ±2,38	p = ns
GSSG, nmol/mL	0,90 ± 0,41	1,47 ± 0,76	p < 0,0001
GSSG/GSH ràtio	0,19 ± 0,12	0,43±0,56	p < 0,0001
GPx umol/min/g Hb	27,15 ±8,40	30,58 ± 8,20	p = 0,04
Malonildialdehid	4,90 ±2,80	3,81± 4,06	p = 0,005
Superòxid dismutasa	1656,33 ±530,64	1670,96 ±764,15	p = ns
Catalasa	217,47 ± 50,65	222,43± 62,41	p = ns
Glutació reductasa	3,56± 1,49	4,35 ± 2,48	p = 0,01
Glutació-S-Transferasa total	1,62± 0,46	2,51±0,95	p < 0,0001
GSTdesnaturalitzada 52°C	0,34±0,21	0,44±0,39	p = ns
Activitat GST residual	21,35 ± 10,97	17,99 ±15,04	p = 0,01
Test d'Hemòlisi	11,61 ± 4,86	14,24 ± 4,81	p = 0,009
Marcadors d'EO plasmàtic			
GSH, umol/g Hb	22,77 ± 11,89	29,06± 15,24	p < 0,02
GSSG, nmol/mL	26,34 ± 7,11	30,16 ± 15,11	p = ns
GSSG/GSH ràtio	1,74 ± 1,50	1,38 ± 1,18	p = ns
Malonildialdehid	1,98 ±1,12	1,96± 0,91	p = ns

### 10.6.2 Efecte de la correcció de l'anèmia en els marcadors d'estrès oxidatiu:

Als 6 mesos de tractament va haver un decrement dels nivells de LDL oxidada i de la SOD i de la concentració PON 1, i un increment de l'activitat PON 1 i l'activitat eritrocitària de GSH i de GPx.

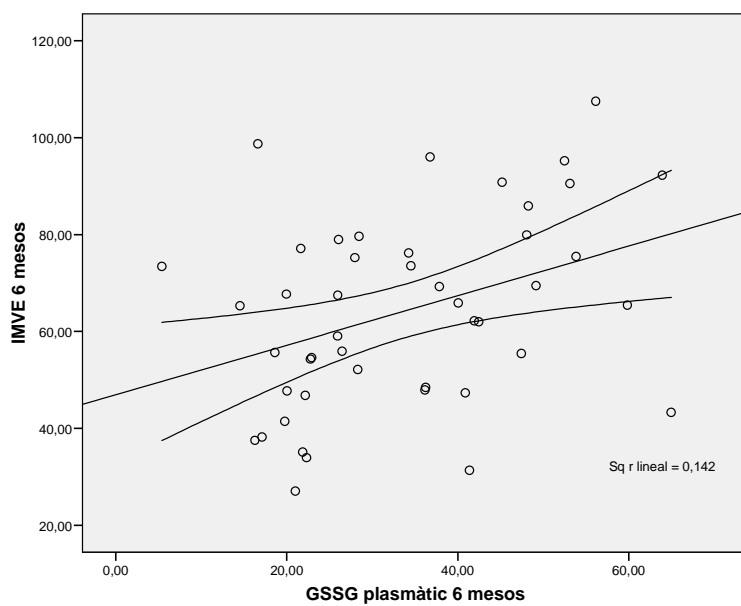
**Taula 24. Marcadors d'estrès oxidatiu basals i als 6 mesos de tractament amb EPO**

	Basal	6 mesos	p
Marcadors d'EO eritrocitaris			
GSH, umol/g Hb	4.9 ± 2.4	5.9 ± 2.3	0.03
GSSG, nmol/mL	1.46 ± 0.77	1.47 ± 0.69	NS
GSSG/GSH ràtio	0.43 ± 0.56	0.39 ± 0.12	NS
GPx, umol/min/g Hb	30.7 ± 8.2	34.9 ± 11.9	0.06
Malonil dialdehid, nmol/mL	3.86 ± 4.09	3.28 ± 2.35	NS
Superòxid dismutasa, U/g Hb	1629 ± 718	1299 ± 365	0.008
Catalasa, mmol /min / gr Hb	221 ± 62	211 ± 51	NS
Glutatió reductasa, μmol/min/g Hb	4.28 ± 2.46	4.74 ± 3.23	NS
Glutatió-S-Transferasa total, μmol /min / gr Hb	2.50 ± 0.9	2.25 ± 0.99	NS
GSTdesnaturalizada 52°C, μmol /min / gr Hb	0.46 ± 0.40	0.43 ± 0.31	NS
Activitat GST residual, %	19.2	18.5	NS
Test d'Hemòlisi, %	15.3	14.2	NS
Marcadors d'EO eritrocitaris			
GSH, umol/g Hb	29.0 ± 15.2	31.5 ± 16.2	NS
GSSG, nmol/mL	29.7 ± 14.9	33.8 ± 14.6	NS
GSSG/GSH ràtio	1.36 ± 1.19	1.45 ± 1.25	NS
Ac anti-LDL oxidada, U/mL	24.8 ± 13.3	17.5 ± 6.9	< 0.001
Malonil dialdehid, nmol/mL	1.98 ± 0.91	2.15 ± 1.04	NS
Activitat PON1 (U/L)	101.0 (50.0–332.5)	123.6 (76.1–343.6)	0.01
Concentració PON1 (mg/L)	46.7 (24.6–98.0)	37.3 (11.8–76.2)	< 0.001

### 10.6.3. Perfil oxidatiu als 6 mesos de tractament amb EPO

#### Correlacions de l'IMVE amb els marcadors d'estres oxidatiu als 6 mesos de tractament amb EPO:

L'índex de massa ventricular esquerra als 6 mesos de tractament amb EPO es correlaciona amb el glutatió oxidat plasmàtic ( $r = 0,377$  ;  $p = 0,01.$ )



#### **10.6.4. Comparació entre “responedors” i “no responedors”:**

Els marcadors basals d'estrès oxidatiu varen ser similars en els dos grups. Després de 6 mesos de tractament amb EPO els pacients “no responedors” varen presentar uns nivells plasmàtics de GSSG i un ràtio redox GSH més elevats i uns nivells plasmàtics de GSH inferiors comparats amb els “no responedors”. En la resta de paràmetres d'estrès oxidatiu no van haver diferències estadísticament significatives.

**Taula 25. Comparació marcadors d'estrès oxidatiu entre "responedors" i "no responedors".**

	Responedors (n = 25)			No responedors (n = 24)		
	Basal	6 mesos	p	Basal	6 mesos	p
<b>Marcadors d'EO eritrocitari</b>						
GSH, umol/g Hb	5.5 ± 2.6	6.1 ± 2.4	NS	4.3 ± 1.9	5.6 ± 2.2	0.02
GSSG, nmol/mL	1.52 ± 0.86	1.28 ± 0.52	NS	1.40 ± 0.68	1.68 ± 0.75	NS
GSSG/GSH ràtio	0.33 ± 0.27	0,25 ± 0.17	NS	0,53 ± 0,73	0,52 ± 0,39	NS
GPx umol/min/g Hb	29.7 ± 8.3	36.4 ± 12.7	0.05	31.5 ± 3	33.5 ± 8.1	NS
Malonil dialdehid	2.36 ± 1.66	3.40 ± 1.61	0.04	5.2 ± 5.1	3.1 ± 2.9	NS
Superòxid dismutasa	1787 ± 739	1379 ± 340	0.02	1485 ± 680	1225 ± 379	NS
Catalasa	203 ± 46	213 ± 49	NS	238 ± 71	208 ± 53	NS
Glutació reductasa	4.91 ± 3.26	5.10 ± 4.01	NS	3.71 ± 1.19	4.40 ± 2.35	NS
Glutació-S-Transferasa total	2.43 ± 0.86	2.24 ± 0.99	NS	2.57 ± 0.96	2.25 ± 0.82	NS
GSTdesnaturalizada 52°C	0.37 ± 0.33	0.41 ± 0.27	NS	0.55 ± 0.45	0.44 ± 0.35	NS
Activitat GST residual	17.0 ± 18.1	18.5 ± 9.7	NS	20.0 ± 11.2	19.9 ± 14.4	NS
Test d'Hemòlisi	13.19(5.46)	16.1(6.02)	NS	15.3(4.13)	14.6(6.54)	NS
<b>Marcadors d'EO plasmàtic</b>						
GSH, umol/g Hb	32.3 ± 16.2	36.5 ± 8.6	NS	26.1 ± 14.3	26.9 ± 12.3*	NS
GSSG, nmol/mL	30.9 ± 19.1	27.4 ± 10	NS	28.5 ± 9.9	39.6 ± 15.8**	< 0.0001
GSSG/GSH ràtio	1.19 ± 1.17	0,92 ± 0.57	NS	1.52 ± 1.2	1.93 ± 1.5****	NS
Ac anti-LDL oxidada, U/mL	26.3 ± 14.2	18.3 ± 6.5	0.004	23.1 ± 12.3	16.6 ± 7.2	< 0.0001
Malonil dialdehid	2.01 ± 0.88	2.07 ± 0.78	NS	1.96 ± 0.95	2.23 ± 1.24	NS
*p= 0.04, **p = 0.004, ***p = 0,005, entre responedors i no responedors als 6 mesos						

### 10.6.5. Anàlisi de regressió logística de l'estrès oxidatiu

Es varen analitzar els factors associats amb la regressió de la hipertròfia del VE mitjançant l'anàlisi de regressió logística. El ràtio redox GSH plasmàtic juntament amb la tensió sistòlica als 6 mesos de tractament amb EPO varen ser predictors independents de regressió de la HVE.

Model 2**	$\beta$	Odds ràtio	95 % IC	p
Edat	-0.027	0.973	0.884-1.072	NS
IMC, 6 mesos	-0.124	0.883	0.739-1.057	NS
TAS, 6 mesos	-0.052	0.949	0.897-1.005	NS
iMVE, basal	0.045	1.046	0.985-1.111	NS
GSSG/GSH ràtio plasmàtic, 6 mesos	-1.099	0.333	0.127-0.877	0.02
Diabetis, (si vs) no	-1.127	0.324	0.038-1.246	NS

Model 2\*\*  $R^2 = 0.522$ , constant 12.678.

Variable	$\beta$	Odds ràtio	95 % IC	P
Model 3**				
Edat	0.025	1.026	0.947-1.111	NS
IMC, 6 mesos	-0.090	0.913	0.769-1.085	NS
TAS, 6 mesos	-0.060	0.942	0.899-1.005	0,03
iMVE, basal	0.053	1.055	0.992-1.122	NS
GSSG plasmàtic, 6 mesos	-0.075	0.928	0.872-0.987	0.01
Diabetis, (si vs) no	-1.742	0.175	0.026-1.119	NS

Constant: 8.992;  $R^2$ : 0,51

## **10.7. Influència dels nivells de NT-proBNP en la regressió de la massa cardíaca després del tractament amb rHuEpo.**

### **10.7.1 Característiques basals.**

#### **10.7.1.1. - Nivells basals de NT-pro BNP.**

Els nivells basals de NT-pro BNP es van correlacionar amb l'edat ( $r = 0.47$ ,  $p = 0.001$ ), la TAS ( $r = 0.31$ ,  $p = 0,04$ ), la PP ( $r = 0.40$ ,  $p = 0,007$ ) i l'iMVE ( $r = 0.45$ ,  $p = 0.002$ ).

Els nivells basals de NT-proBNP no varen mantenir relació de forma significativa segons el sexe, la presència o no de diabetis ni amb la presa o no d'un blocador del sistema renina-angiotensina-aldosterona.

#### **10.7.1.2. Nivells de NT-pro BNP en els diferents estadis d'IRC:**

Es va observar una tendència en els nivells de NT-pro BNP a augmentar a mesura que avançava l'estadi d'IRC però sense assolir la significació estadística.

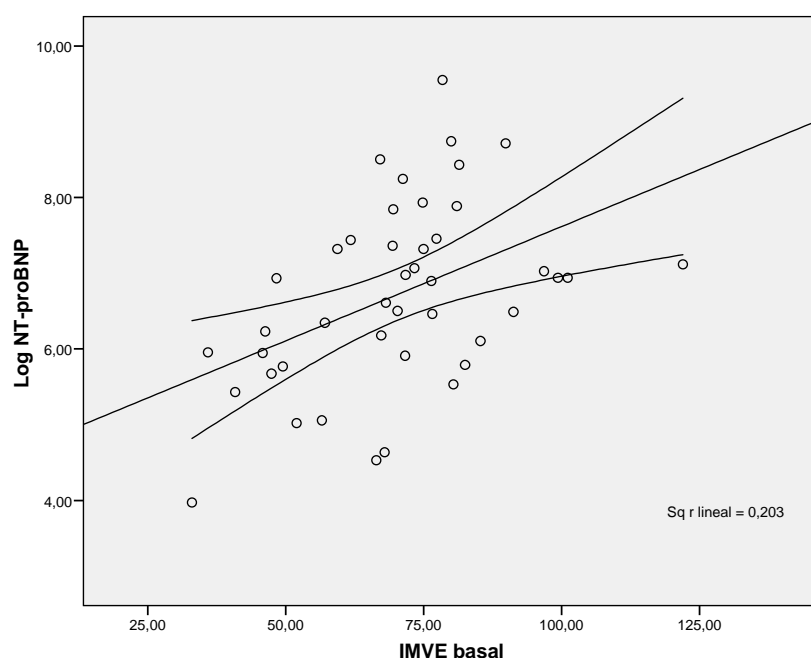
#### **Relació del log NT-pro BNP amb la IRC**

Insuficiència renal	Log NT-pro BNP	p
estadi 3	$2.74 \pm 0.06$	ns
estadi 4	$2,85 \pm 0.65$	ns
estadi 5	$3,01 \pm 0.40$	ns

## 10.7.2. Nivells de NT-pro BNP segons la presència d'HVE , funció diastòlica, i segons la morfologia cardíaca .

### 10.7.2.1. -Característiques ecocardiogràfiques basals.

Els nivells sèrics de NT-proBNP es van transformar logarítmicament per correlacionar-los amb l'índex de MVE, es va obtenir una correlació estadísticament significativa ( $r=0,451$ ,  $p<0,002$ ).



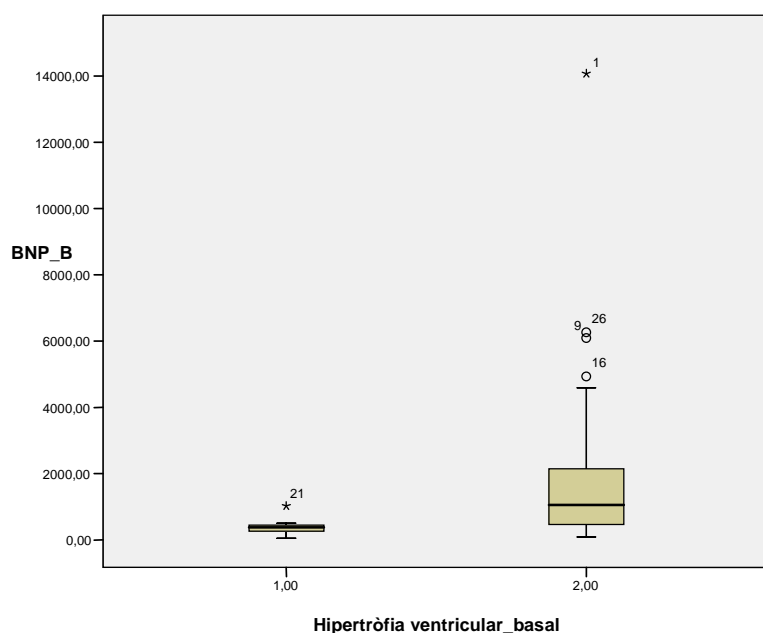
Es van correlacionar els nivells sèrics de NT proBNP transformats logarítmicament amb diferents paràmetres ecocardiogràfics.:

Es va obtenir una correlació estadísticament significativa amb el TIV i la paret posterior del VE ( $r=-0,371$ ,  $p<0,01$ ; y  $r=0,456$ ,  $p<0,002$ ; respectivament). No va haver-hi correlació amb els paràmetres de funció diastòlica.



### Nivells de NT-pro BNP segons la presència d'HVE

En comparar els nivells de NT-proBNP en sèrum entre els pacients amb IRC amb hipertròfia del ventricle esquerre i els pacients sense hipertròfia, vam obtenir diferències estadísticament significatives entre ambdós grups (mitjana 1052 (456-2345) pg / ml vs. mitjana 382 (288-508) pg / ml,  $p < 0,01$ )



Els nivells de NT-pro BNP són clarament més elevats en els subjectes amb HVE que en els subjectes sense HVE. Es va observar la mateixa diferència en els nivells de NT-pro BNP en els subjectes que presentaven disfunció diastòlica dels que no, però no va ser estadísticament significativa. Respecte a les diferències de nivells de NT-pro BNP segons la geometria cardíaca, varen ser majors en l'hipertròfia concèntrica de forma estadísticament significativa, seguit de l'hipertròfia excèntrica, el remodelat i per últim el normal.

### Relació del log NT-pro BNP amb la funció i estructura cardíaca

	NT-pro BNP*
Hipertròfia concèntrica	1052 (428-2691)
Hipertròfia excèntrica	896 (560-1302)
Remodelat	386 (336-767)
Normal	140( 53)

\* p = 0.04 per a la tendència

### Regressió logística:

	$\beta$	Odds ràtio	p	IC
Edat	0,035	1,036	ns	0,442-1,036
IMC 6m	-0,014	0,892	ns	0,738-1,079
TA sistòlica 6 m	0.086	0,918	0,01	0,859-0,981
IMVE basal	0.059	1,061	ns	0,996-1,130
Diabetis mel·litus (Si vs No)	-2,351	0,095	0,03	0,010-0,870
NT-proBNP basal	0,000	1,000	ns	1,000-1.001

R<sup>2</sup>: 0,52; Constant 9,736

En la regressió logística realitzada prenent com a variable dependent la regressió de la massa cardíaca el NT-proBNP basal no va ser predictor de la regressió de la massa cardíaca.

#### 10.7.2.2. Nivells de NT-pro BNP respecte a l'anèmia:

No s'ha trobat relació entre els nivells de NT-pro BNP i els d'Hb a nivell basal.

### 10.7.3 Característiques als 6 mesos:

#### *Efectes del tractament amb rHuEPO beta sobre el NT-proBNP*

Als 6 mesos de tractament els nivells de NT-proBNP no es varen modificar significativament.

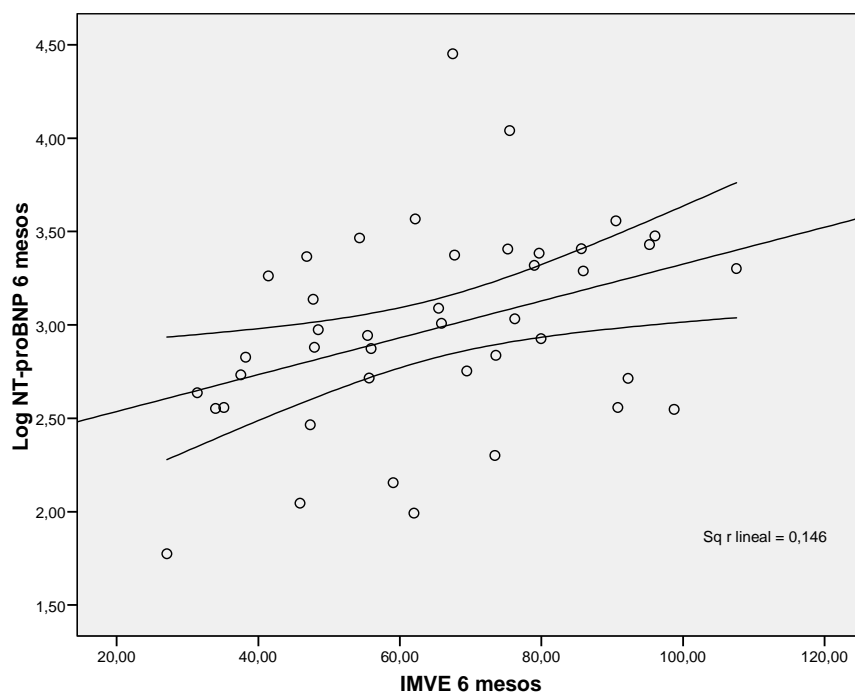
Variable	Basal	6 mesos	P
Hb	9.9 ± 0,6	12,8 ± 1,5	<0,0001
NT-proBNP	989 (368-1701)	909 (414-2380)	ns

#### **Correlació del Log proBNP als 6 mesos:**

En l'anàlisi univariant s'objectiva que als 6 mesos de tractament amb EPO es manté la relació dels nivells de NT-proBNP amb l'edat ( $r = 0.52$ ,  $p < 0,0001$ ), la creatinina ( $r = 0.37$ ;  $p = 0.01$ ), el filtrat glomerular ( $r = -0.44$ ,  $p = 0.003$ ), el producte de calci-fòsfor ( $r = 0.40$ ,  $p = 0,008$ ), la TAS ( $r = 0.37$ ,  $p = 0,01$ ) y la PP ( $r = 0.36$ ,  $p = 0,02$ ), la PCR ( $r = 0.36$ ,  $p = 0,02$ ),. No obstant no s'ha observat relació amb els nivells d'Hb als 6 mesos de tractament amb EPO ni amb ferro.

#### **Índex de massa ventricular esquerre i nivells de NT-proBNP als 6 mesos**

Els nivells sèrics de NT-proBNP als 6 mesos es van transformar logarítmicament per correlacionar-los amb l'índex de MVE als 6 mesos, es va obtenir una correlació estadísticament significativa ( $r = 0,382$ ,  $p < 0,01$ ).



Es van correlacionar els nivells sèrics de NT proBNP als 6 mesos transformats logarítmicament amb diferents paràmetres ecocardiogràfic i de funció diastòlica:

Es va obtenir una correlació estadísticament significativa amb el diàmetre de l'aurícula esquerra i el ràtio E/A ( $r=-0,404$ ,  $p<0,01$ ; y  $r= -0,475$ ,  $p<0,003$ ; respectivament).

### Regressió logística:

	$\beta$	Odds ràtio	p	IC
Edat	0,018	1,018	ns	0,934-1,109
IMC 6m	-0,127	0,881	ns	0,158-1,051
TA sistòlica 6 m	0,066	0,936	0,01	0,883-0,991
IMVE basal	0,042	1,043	ns	0,986-1,102
NT-proBNP	0,000	1,000	ns	1,000-1,000
Diabetis mel·litus(Si vs No)	-1,116	0,328	ns	0,050-2,138

$R^2$ : 0,37; constant: 9,691

## 10.8. ESTUDI A 12 MESOS

La normalització de los nivells d'hemoglobina (Hb) amb el tractament amb eritropoetina (EPO) beta en els pacients amb insuficiència renal crònica té un efecte beneficiós cardiovascular, amb regressió de la hipertròfia ventricular esquerra i milloria de la geometria del ventricle esquerre. No obstant, no es coneix si aquest efectes inicials es mantenen a mig termini. L'objectiu d'aquest estudi es valorar si els efectes cardiovasculars de la correcció de l'anèmia amb EPO beta son mantinguts durant un període de seguiment de un any. Per la qual cosa es va avaluar l'efecte de la correcció de l'anèmia sobre l'índex de massa esquerra (iMVI) i la geometria del ventricle esquerre als 6 i 12 mesos de l'inici del tractament mitjançant ecocardiografia.

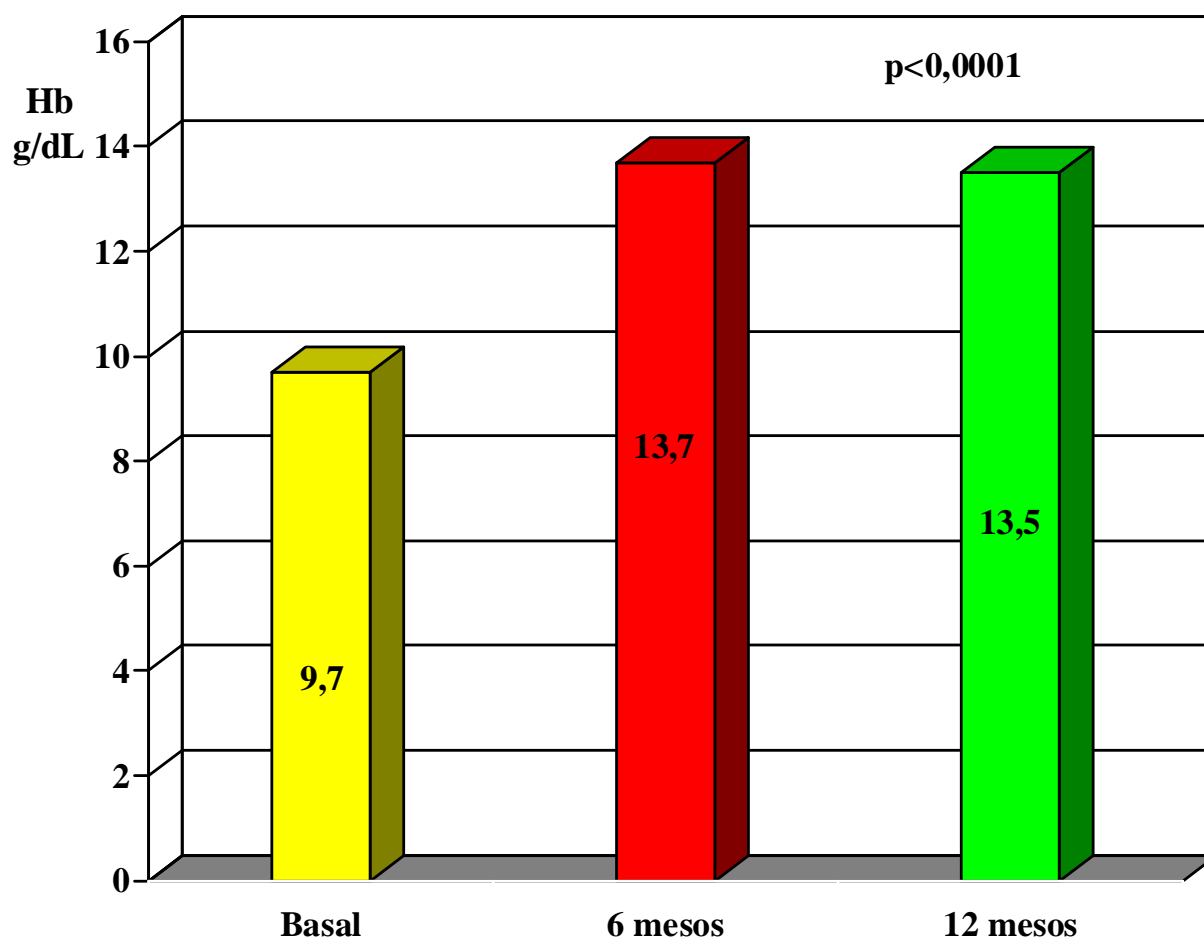
Quarant-nou pacients varen completar l'estudi als 6 mesos i només podem analitzar les dades de 23 pacients als 12 mesos de seguiment. La població resultant és d'una edat mitjana de  $61,0 \pm 14,3$  anys amb les característiques següents:

Característiques basals dels pacients:

	basal	6 mesos	12 mesos	
IMC	27,8 ± 5,7	27,6 ± 6,0	27,9 ± 5,8	ns
TAS	145,7 ± 22,6	144,7 ± 19,3	141,4 ± 18,6	ns
TAD	78,2 ± 11,0	79,12 ± 8,8	76,8 ± 5,9	ns
Nº hipotensors	2,3 ± 1,1	2,17 ± 1,0	2,5 ± 1,2	ns
Pressió pols	67,5 ± 18,7	65,5 ± 17,3	64,6 ± 18,5	ns
Hb	9,7 ± 0,9	13,7 ± 1,3	13,5 ± 0,8	0,0001
Albúmina	35,6 ± 7,8	38,3 ± 5,4	39,1 ± 5,9	ns
PTH	179,1 ± 145,7	207,7 ± 133,8	278,7 ± 212,6	ns
Calci x fòsfor	3,6 ± 0,94	4,0 ± 1,1	3,9 ± 1,3	ns
creatinina	394,7 ± 149,0	416,0 ± 152,1	494,3 ± 228,8	ns
Clearence creatinina	17,8 ± 7,6	17,0 ± 8,3	15,9 ± 9,9	ns

### 10.8.1 Modificació dels nivells d'hemoglobina durant l'estudi:

Va haver un increment dels nivells d'Hb als 6 mesos de tractament amb EPO. No van haver-hi canvis en els nivells de'Hb al final del estudi.



### 10.8.2. Modificació dels paràmetres ecocardiogràfics durant l'estudi:

Va haver una disminució de l'IMVE als 6 mesos de tractament amb EPO. No van haver-hi canvis en l'IMVE al final del estudi.

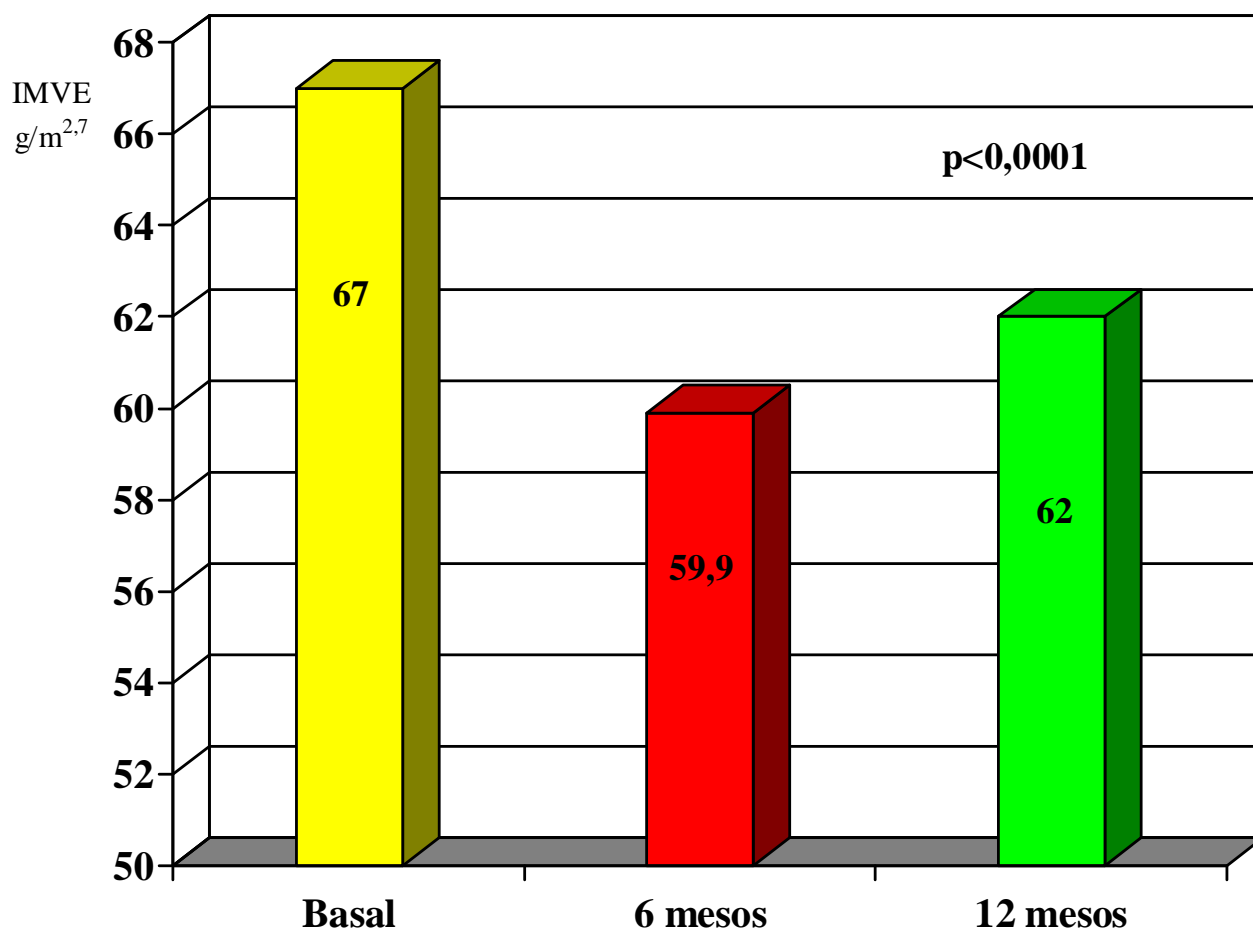
#### Paràmetres ecocardiogràfics als 12 mesos.

Variable	Basal	6 mesos	12 mesos	P
DTDVI (mm)	46,9 (6,5)	47,2 (8,1)	48,1(7,4)	NS
DTSVI (mm)	27,1 (8,3)	26,2 (5,7)	28,5(7,0)	NS
TIV (mm)	12,7 (1,4)	11,9 (2,2)	11,7(1,7)	0,07
PP (mm)	13,0 (1,5)	11,5 (2,0)	11,9(1,6)	0,005
IMVI(g/m <sup>2,7</sup> )	67,0 (16,7)	59,9 (20,2)	62,0(18,8)	0,02
VVE (ml/m <sup>2</sup> )	64 (22,8)	68,4 (34,6)	71,4(29,8)	NS



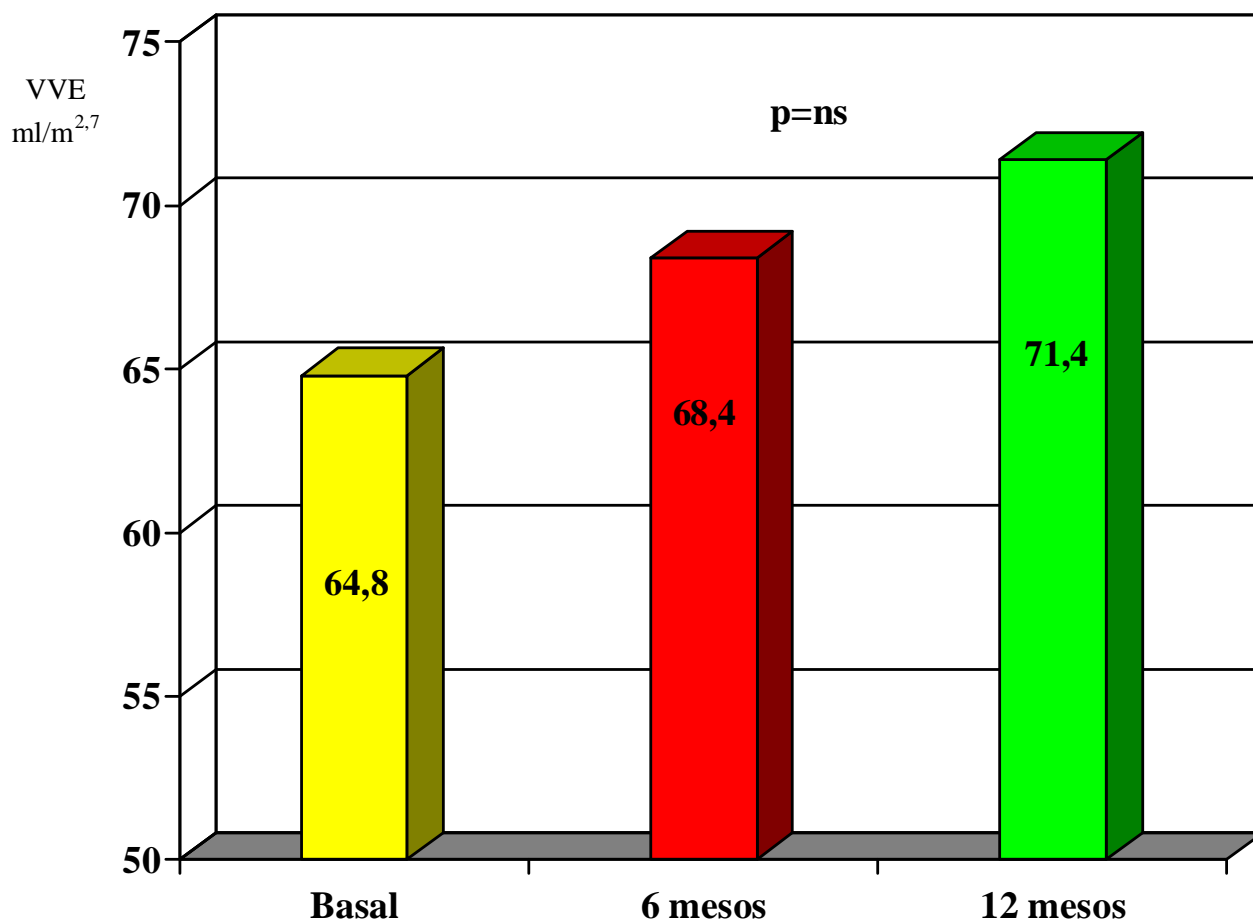
### 10.8.3. Modificació de la massa ventricular durant l'estudi:

Va haver una disminució de l'IMVE als 6 mesos de tractament amb EPO. No van haver-hi canvis en l'IMVE al final del estudi.



#### 10.8.4. Modificació del volum ventricular durant l'estudi:

Va haver-hi una tendència a l'increment del volum de la cavitat ventricular del ventriclle esquerre als 12 mesos de tractament (  $64,9 \pm 22,8$  a  $71,4 \pm 29,8$  mL ;  $p= ns$ )



### 10.8.5. Modificació de la tensió arterial als 12 mesos:

No van haver-hi canvis en la pressió arterial sistòlica i diastòlica als 6 i 12 mesos.

### 10.8.6. Modificació de la geometria cardíaca:

Als 12 mesos de tractament amb eritropoetina, la geometria del ventricle esquerre es va desenvolupar d'una forma concèntrica ( 77,8% vs 38,9%) a una configuració excèntrica (0% vs 33,3%),  $p= 0,01$ .

#### Modificació de la geometria cardíaca:

Geometria	Basal(%)	6 m (%)	12 m (%)
Normal	5,6	11,1	11,1
Remodelació concèntrica	16,7	16,7	16,7
Hipertròfia excèntrica	0	22,2	33,3
Hipertròfia concèntrica	77,8	50	38,8

$p < 0,01$

## **C. DISCUSSIÓ:**

### **Malaltia cardiovascular.**

L'esperança de vida en els pacients amb IRC està dràsticament reduïda comparat amb la població normal. Fins i tot petits descensos de la funció renal s'associen a un significatiu increment de la mortalitat i risc cardiovascular (Henry RM et al., 2002). Aquest increment del risc és multifactorial i s'associa a malaltia arterioscleròtica (Rigatto C et al., 2009). La mortalitat d'origen cardiovascular en IRC en hemodiàlisi és del 50 % als 5 anys, fins i tot pitjor que els pacients amb neoplàsia. En la població amb malaltia renal crònica el control de les factors de risc tradicionals inclosos en l'estudi Framingham no és suficient per disminuir els esdeveniments cardiovasculars com en la població normal i els estudis han suggerit que en els pacients amb IRC el factors de risc tradicionals són insuficients per predir el risc cardiovascular. Aquest fet s'ha interpretat de dues maneres. En primer lloc que hi ha factors de risc no tradicionals que no estan inclosos el l'estudi de Framingham i que en aquesta població són importants perquè afavoreixen la malaltia cardiovascular i en segon lloc que l'impacte del factors de risc tradicionals pot esser quantitativament i qualitativament diferents en aquests pacients ja que per exemple la incidència d'HTA es major en la IRC i la dislipèmia és menor (Flores GA et al, 2011).

La IRC es un factor de risc independent per desenvolupar malaltia cardiovascular. El risc de malaltia cardiovascular augmenta mesura que disminueix el FG. El risc de desenvolupar insuficiència cardíaca congestiva, la fibril·lació auricular, accident cerebrovascular, malaltia coronària, i la malaltia arterial perifèrica s'incrementa al doble en els pacients amb FGe <60 ml / min / 1,73m<sup>2</sup> (Kottgen A et al., 2007)(Wattanakit K et al., 2007)(Astor BC et al, 2006)(Alonso A et al, 2012)

Recents metanàlisis han demostrat que la MRC pot ser considerada un factor de risc independent per desenvolupar una malaltia cardiovascular (Fox CS et al, 2013)(Mahmoodi BK et al., 2014)-

Dins dels factors de risc tradicionals la HTA en la població d'aquest estudi es molt prevalent, un 95,8 %. La HTA és la principal causa d'HVE i té una elevada prevalença en la IRC. En l'estudi EPIRCE (Otero A et al., 2010) la prevalença d'HTA va ser del 24,1%. En aquest estudi el percentatge de pacients que estan en tractament amb estatines és del 20,4 %, les xifres de colesterol eren superiors a les recomanades i la HDL eren correctes. En l'estudi EPIRCE la prevalença de dislipèmia va ser del 29,3 %. En l'estudi EPIRCE la prevalença d'obesitat va ser del 26,1 % i en aquest estudi del 24,4 % En l'estudi Epirce la prevalença de diabetis mel·litus va ser del 9,2 % i en aquest estudi és del 28,6 %. La prevalença de tabaquisme en l'estudi EPIRCE va ser del 25,5 % i en aquest estudi del 6,12 %

### **Hipertròfia ventricular esquerra i insuficiència renal crònica.**

La HVE, un important factor de risc per episodis cardiovasculars adversos en els pacients amb insuficiència renal crònica (Schiffrin et al, 2007), és altament prevalent en aquesta població (Levin A et al., 1996)(Foley RN et al., 1995)(Nardi E et al., 2009) i la seva incidència s'incrementa amb la disminució progressiva de la funció renal (Foley RN et al., 1995). Aquest estudi posa de manifest en primer lloc la elevada proporció de pacients amb hipertròfia ventricular esquerra. El 86 % de la població de l'estudi té una HVE i la majoria presenta una alteració del patró geomètric. La prevalença de LVH del 86 % en el nostre estudi és superior a la observada en altres estudis. Els nostres pacients eren de major edat, la hipertensió estava present el major percentatge de subjectes i la majoria de pacients

estaven en estadis 4 o 5 de malaltia renal crònica, situacions que podrien explicar la alta prevalença de LVH en la nostre població.

La HVE és marcador subclínic de malaltia cardiovascular, és la anomalia cardíaca més freqüent en els pacients amb IRC i és el paràmetre estructural que més augmenta el risc cardiovascular i és un factor predictiu independent de mortalitat. La hipertròfia ventricular esquerra apareix molt tempranament en el curs de la MRC i la seva prevalença augmenta a mesura que el FG disminueix i és més alta en IRC en hemodiàlisi (Glassock RJ et al, 2009). La HVE és un factor de risc de desenvolupament d'insuficiència cardíaca, de malaltia isquèmica coronària o mort sobtada d'origen cardíac. En les pacients en hemodiàlisi amb HVE, un augment del volum auricular esquerre i la disfunció ventricular són factor de mortalitat independents (Patel RK et al., 2009). La HVE és un procés adaptatiu en resposta a un augment de treball del miocardi i es pot desenvolupar com a resultat d'interaccions entre la pressió (HTA preexistent, pressió del pols augmentat) i/o la sobrecàrrega de volum (anèmia, retenció hidrosalina) amb factors de creixement circulants o generats localment i substàncies vasoactives. La HVE es desenvolupa segons el estrés mecànic associat. La HVE, a grans trets, s'associa a la HTA i la HVE excèntrica a l'anèmia, però la patogènesi a la IRC no està aclarida. Al contrari de la HVE de la HTA amb funció renal normal la HVE en la IRC i en la IRC en hemodiàlisi és inapropiada i es caracteritza per l'increment simultani del gruix de les parets i dels diàmetres (Nardi E et al., 2009). Dades prospectives suggereixen que la HVE i IMVE afectarien directament a la progressió de la insuficiència renal.

La geometria del VE juga un paper important en la predicció d'esdeveniments cardiovasculars en aquests pacients ja que el pronòstic és pitjor en la hipertròfia excèntrica i

intermig en la concèntrica. Això suggereix que un augment de l'espessor del VE pot ser una resposta d'adaptació beneficiosa sota condicions de major càrrega de treball cardíac.

### **Anèmia, hipertròfia ventricular esquerra i tractament amb EPO.**

Estudis observacionals han mostrat que l'anèmia o la hipertròfia ventricular esquerra associats a la IRC és un risc addicional per IRC o a mortalitat cardiovascular (Vlagopoulos PT et al., 2005)(Weiner DE et al., 2005). L'anèmia en els pacients amb IRC apareix quan hi ha un deteriorament important i la incidència és del 25 % en el grau o estadi 3, del 44 % en el grau 4 (Gómez JM et al, 2002) i del 90 % en el grau 5. Diversos estudis han suggerit de l'anèmia és un dels majors factors de risc ja que promouria una hipòxia tissular amb un augment de la despesa cardíaca i això promouria una HVE. La anèmia contribueix a la sobrecàrrega de volum del ventricle esquerre mitjançant l'augment de la despesa cardíaca, l'estimulació del sistema nerviós simpàtic o la isquèmia miocardiaca relativa.

En un estudi del 1999, la prevalença d'HVE en pacients amb FG > 50 ml/min va ser del 26,7 %, 30,8 % amb FG entre 25 i 49 ml/min i del 42 %, amb FG < 25 ml/min. En l'anàlisi univariant es va mostrar que la concentració d'hemoglobina era un factor de risc independent pel desenvolupament de la HVE amb un increment del risc de 32 % per cada 0,5 gr/dL de disminució de la hemoglobina (Levin A et al., 1999).

La correcció de l'anèmia pot millorar el pronòstic mitjançant dos mecanismes relacionats: minorant l'anèmia com a factor de risc independent per la malaltia cardiovascular i suprimint la hipertròfia ventricular com altre factor de risc independent per la malaltia cardiovascular.

El nivell objectiu òptim de correcció de l'anèmia es controvertit en el sentit de reduir el risc de desenvolupar malaltia cardiovascular i millorar el pronòstic de la malaltia renal crònica.

Diversos estudis varen avaluar el benefici de l'administració de la EPO. La EPO administrada abans de l'inici de la diàlisi s'associava a un major pronòstic quan es comparava amb pacients no tractats (Fink J et al, 2001). Altre estudi a l'Estat Espanyol amb 11 pacients va mostrar que la correcció parcial de l'anèmia s'associava a una disminució significativa de la massa ventricular esquerra i un tendència a la disminució de la paret el ventricle esquerre (Portoles J et al, 2001). Altre estudi en pacients amb IRC prediàlisi va mostrar una reducció de la massa ventricular esquerra amb la correcció parcial de l'anèmia a 4 mesos i una disminució posterior de la massa ventricular esquerra als 12 mesos (Hayashi T et al., 2000). En un anàlisis retrospectiu als Estats Units, el Normal Hematocrit Trial, en 89193 pacients en tractament substitutiu renal es va mostrar que el tractament amb EPO prediàlisi s'associava a una Hb més elevada a l'inici de la diàlisi i a un risc de mortalitat en el primer any de l'inici del tractament (Xue JL et al, 2002). No obstant alguns estudis van suggerir que la normalització de l'hematòcrit donava resultats desfavorables. En un estudi en 1233 pacients amb IRCT en hemodiàlisi amb malaltia coronària i insuficiència cardíaca congestiva van ser aleatoritzats per assolir un hematòcrit de 30 o 42 %; es va concloure que l'administració d'EPO per obtenir un Htc de 42 % no era recomanable en pacients amb evidència clínica d'insuficiència cardíaca o malaltia coronària (Besarab A et al., 1998).

Darrerament s'han realitzat quatre grans estudis controlats aleatoritzats per determinar els efectes de la normalització de l'anèmia en pacients amb IRC prediàlisi sobre el risc de desenvolupar hipertròfia ventricular esquerra o malaltia cardiovascular (CREATE, CHOIR, ACORD i TREAT). Els esmentats estudis varen utilitzar normalitzar l'anèmia amb nivells



elevats d'hemoglobina (13.15 g/dL en el CREATE, 13,5 gr en el CHOIR, 13-15 gr/dL en el ACORD i superior a 13 g/dL en el TREAT). En cap d'aquests estudis es va determinar disminució del risc de desenvolupar HVE o malaltia cardiovascular respecte als grups amb hemoglobina objectiu més baixos, al voltant de 11 gr/dL. (Ritz E et al., 2007)(Singh AK et al., 2006) (Drüeke TB et al., 2006) (Pfeffer MA et al., 2009). Tantmateix, a l'estudi TREAT va haver un increment d'accident vascular cerebral significatiu on es va normalitzar l'anèmia. Per altre banda, en un metanàlisi sobre 9 estudis en que es va normalitzar l'anèmia amb Hb objectiu, > a 12 en 2 estudis, i > a 13 en 7 estudis, varen tenir més alt risc de mal control tensional, mort o trombosis de la FAVI. Tots aquest estudis suggereixen que la correcció total de l'anèmia no és necessàriament beneficiosa sinó que fins i tot pot esser perjudicial.

No està clar si els efectes negatius de correcció complerta de l'anèmia es deu principalment al alts nivells d'hemoglobina per se, o per les dosis excessives d'EPO o a tots dos. En un anàlisi secundari de l'estudi CHOIR van trobar resultats adversos en el grup on s'havia corregit l'anèmia i també van trobar que l'augment de concentració d'hemoglobina assolit no es van associar amb un major risc d'esdeveniments adversos, cosa que porta a la hipòtesi que les altes dosis de eritropoetina podien haver estat perjudicials. Les dosis més altes d'EPO podrien estar associades a una toxicitats per l'efecte de la eritropoesi (hiperviscositat i trombocitosi) i per efectes no relacionats amb la eritropoesi (hipertensió i hiperplàsia de la íntima),

Després d'aquests estudis les guies recomanen nivells objectius d'Hb entre 10-12 g/dL en pacients adults valorant símptomes i comorbiditat

Xifres per sota s'associen a sobrecàrrega de volum que pot conduir a HVE excèntrica ,a més de ser aquesta un factor independent de risc de malaltia cardiovascular. Xifres elevades s'associen a major risc de mortalitat i pitjor control de les xifres tensionals.

Estudis amb petit número de pacients amb IRC en prediàlisi han mostrat que la correcció parcial de l'anèmia severa aconsegueix una reducció de l'índex de massa ventricular esquerra (Hayashi T et al., 2000)(Ayus J et al., 2005). No obstant, assaigs clínics controlats, aleatoritzats , corregint l'anèmia fins a nivells d'Hb normals o molt propers a la normalitat no han aconseguit demostrar un efecte beneficiós en la regressió de la HVE (Levin A et al., 2005)(Parfrey PS et al., 2005)(Drueke TB et al., 2006). El nostre estudi mostra clarament l'efecte beneficiós de la correcció de l'anèmia amb rHuEPO beta en l'iMVE. La magnitud del canvi en l'iMVE observat en el 51 % dels pacients (els "responedors") va ser alt ( -15 g/m<sup>2</sup>,7) i es similar a l'obtingut per London et al. en els seu grup de pacients responedors en pacients amb IRC en hemodiàlisi en les quals l'atenuació de la sobrecàrrega hemodinàmica mitjançant el tractament de la tensió arterial i el tractament de l'anèmia va tenir un efecte favorable en la regressió de la HVE (London GM et al., 2001).

Els nostres resultats estan d'acord amb aquells recentment publicats per Parfrey et al. (Parfrey PS et al., 2009) en un metanàlisi de 15 estudis que abastaven 1731 pacients amb anèmia nefrogènica en IRC en hemodiàlisis. L'iMVE es va reduir només en aquells pacients que tenien anèmia severa basal (< 10 g/dL d'Hb) i que van ser tractats amb un objectiu d'Hb convencional (< 12 g/dL d'Hb). Contràriament, en els pacients amb anèmia menys severa la normalització de la Hb no va tenir un efecte beneficiós en l'iMVE. L'objectiu terapèutic d'Hb en els nostre estudi va ser de 12-13 g/dL. Aquest objectiu és més alt que el recomanat per les guies, el qual va ser generat per recents publicacions d'assaigs clínics investigant alts objectius terapèutics d'Hb en pacients amb IRC prediàlisi

(De Francisco ALM et al, 2010)(Locatelli F et al., 2010). El nostre estudi va ser dissenyat abans de la publicació d'aquests estudis. Els pacients amb complicacions cardiovasculars severes van ser exclosos del nostre estudi i no es van observar efectes adversos cardiovasculars. Els principals determinants de l'iMVE en la nostre població varen ser l'edat, l'índex de massa corporal, tensió arterial sistòlica, i la pressió del pols. No obstant, es va observar que l'iMVE no estava relacionat amb els nivells d'Hb. Aquesta troballa és una diferència amb altres estudis que havien demostrat una forta correlació entre la MVE i l'anèmia (Levin A et al., 1996). Per altra banda, altres estudis havien trobat que l'anèmia no era un predictor significatiu d'HVE en els pacients amb IRC (Paoletti E et al, 2005)(Patel PK et al., 2009)(Eckardt KU et al., 2009). Una possible explicació per aquesta absència de valor predictiu de l'anèmia en la MVE en el nostre estudi podria ser el molt estret nivell d'Hb en la nostre cohort de pacients (DE basal de 0,6 ) comparat amb altres estudis.

La TAS va ser un predictor independent de regressió de la HVE en el nostre estudi. Als 6 mesos, els pacients "no responedors" tenien una TAS més alta, una major pressió del pols , i requerien més hipotensors que els "responedors" de forma significativa. Per altra banda, els "responedors" van tenir una disminució significativa de la TA al final de l'estudi . Per això, la elevada TA pot haver contribuït a la falta de regressió de la HVE en els nostres pacients "no responedors". Les nostres troballes són coincidents amb altres estudis en l'associació entre la TA i la HVE en els pacients en prediàlisi i en hemodiàlisi (London G et al., 2001)(Paoletti E et al., 2005)(Patel RK et al., 2009) i reforça la importància del control de la TA en aquesta població de malalts.

Encara que hi ha controvèrsia si la diabetis mel·litus s'associa per si mateixa a hipertròfia ventricular esquerra, un estudi recent ha demostrat que la presència de DM tipus II s'associa a un increment del risc ( x 1,5) d'HVE en una població multiètnica (Eguchi K et

al., 2008). El nostre estudi inclou un número significatiu de subjectes amb DM, tenint el grup de “no responedors” més diabètics que el grup de “responedors”. En cap cas, els nostres resultats no demostren un valor predictiu de la DM per la regressió de la HVE.

Cal afegir que no hi ha estudis comparatius entre els diferents agents estimuladors de l'eritropoesi sobre la mortalitat cardiovascular, infart agut de miocardi o ictus i segons l'última revisió Cochrane (Palmer SC et al, 2013) no hi ha evidències per recomanar un agent estimulador de la eritropoesi sobre els altres en relació a seguretat i eficàcia i les guies clíniques assumeixen que totes les eritropoetines són iguals de segures i efectives encara que les eritropoetines difereixen en la seva estructura molecular, cost i duració d'acció.

### **Estrès oxidatiu i insuficiència renal crònica**

En el període de 1956-1966, Rebeca Gerschman, com a part de la seva teoria de la toxicitat de l'oxigen, va formular el concepte que: "un augment de la pressió parcial d'oxigen o una disminució de les defenses antioxidants porten igualment a dany cel·lular " (Gershman R, 1964). En base en aquestes idees, el 1985 Helmut Sies va elaborar el concepte d'estrès oxidatiu com una situació de desequilibri amb un augment de oxidants o amb una disminució de antioxidants (Sies H, 1985).

En els pacients amb IRC l'estrès oxidatiu està incrementat con a conseqüència d'un desequilibri amb un augment de l'activitat oxidant i una disminució de la capacitat antioxidant (Kao MP et al., 2010).

Donada la naturalesa comparativa de la situació d'estrès oxidatiu, cal comptar amb valors de referència en subjectes normals. Es va comparar la mostra de pacients amb insuficiència

renal amb una mostra d'una població d'individus sans aparellats per nombre edat i sexe facilitada pel Departament de Farmacologia de la Universitat Rovira i Virgili, on es on realitzar les determinacions d'estrès oxidatiu.

S'objectiven nivells elevats de forma significativa de GSSG eritrocitari; Ràtio GSSG/GSH eritrocitari, GST eritrocitària total GRE, GPX, test hemòlisi en els pacients amb IRC comparats amb la població sana i nivells disminuïts de forma significativa: GSH reduït eritrocitari, GST residual, Malonildialdehid eritrocitari.

S'objectiva una alteració del sistema glutatió en eritròcits però no plasma. En eritròcits es va observar un augment significatiu del GSSG i de la ràtio GSSG/GSH i una disminució GSH cosa que ens va fer pensar en el mal funcionament del sistema de recanvi del GSH en l'eritròcit. En el plasma es va trobar una disminució significativa del GSH però sense alteració de la ràtio GSSG/GSH.

Els canvis en les concentracions del glutatió reduït i oxidat en l'eritròcit sa, respecte l'eritròcit del malalt amb IR, indiquen que el sistema antioxidant està afectat i que, en conseqüència, confirmen l'existència d'un estrès oxidatiu en malalts amb IR.

Ceballos-Picot i col·ls. van proposar el sistema antioxidant del glutatió com a bio marcador de l'estrès oxidatiu en el context de la insuficiència renal (Ceballos-Picot I et al., 1996). El seu estudi va mostrar que el comportament dels biomarcadors GSH, GSSG, GR i GPx era diferent en eritròcits i plasma. En eritròcits, tant la GPx com la GR augmentaven significativament en els malalts, i, en plasma hi havia una disminució del GSH. En el aquest treball, la GPx i la GR també van augmentar a l'eritròcit d'una manera significativa.

L'increment del GSSG eritrocitari és un marcador evident de l'augment de l'oxidació en comparació amb la població sana que també es reflexa en el ràtio GSSG/GSH també indicadora d'estrès oxidatiu. L'augment de GST s'interpreta con a resposta a un excés de

radicals lliure, no obstant l'estrès persisteix a causa de la baixa concentració d'enzim eficient ja que els valors del percentatge de GST residual son més baixos en la població amb IRC com a conseqüència de l'oxidació del d'aquest enzim. L'augment de la GRE es pot explicar per la necessitat de mantenir les concentracions de glutatió reduït (GSH) que principalment està oxidat (GSSG).

L'homeòstasi de l'eritròcit és un excel·lent exemple d'equilibri redox. Els progenitors eritroides acumulen hemoglobina durant el desenvolupament. Els eritròcits transporten grans quantitats d'oxigen, cosa que genera un alt nivell d'estrès oxidatiu (Fruehauf JP et al , 2007). Els eritròcits madurs, com que no tenen nucli, no poden produir noves proteïnes en resposta a l'estrès per la qual cosa depenen de les proteïnes sintetitzades anteriorment en el seu desenvolupament per protegir-se dels danys originats per ROS i així assegurar la seva pròpia supervivència. Els eritròcits disposen d'una una ampla gamma d'antioxidants per contrarestar l'estrès oxidatiu, que inclou oxidoreductases membrana, antioxidants cel·lulars, com ara la catalasa i superòxid dismutasa (SOD), i els enzims que produeixen contínuament agents reductors a través del sistema del glutatió (McMullin MF et al, 1999). L'equilibri redox s'aconsegueix mitjançant diversos sistemes enzimàtics que neutralitzen oxidants tòxics, com ara les ROS. La superòxid dismutasa (SOD) catalitza la conversió de ió superòxid a  $H_2O_2$ , que després es pot convertir en aigua per la catalasa o glutatió peroxidasa acoblada amb glutatió reductasa. Altres "scavengers" rellevants inclouen tioredoxina juntament amb tioredoxina reductasa, i glutarredoxina, que utilitza GSH com un substrat. El GSH exerceix un paper central en el manteniment de l'equilibri redox, i la relació de glutatió oxidat/ reduït ofereix una estimació de la capacitat amortidora redox cel·lular (Schafer FQ et al, 2001). El ratio GSSG/GSH es considera el valor REDOX que

millor determina la capacitat antioxidant de les cèl·lules (El-Rashidy FH et al, 1984).  
L'increment del ràtio GSSG/GSH suggereix un fort efecte prooxidant (Wu G et al, 2004).

### **Tractament amb EPO i l'estrès oxidatiu.**

Alguns autors atribueixen a la EPO propietats antioxidants (Grune T et al, 2000)(Herrera J et al, 2001) i altres li atribueixen propietats prooxidants (Németh I et al, 2000). Hi ha autors que atribueixen a l'EPO efectes antioxidants directes i indirectes (Katavetin P et al., 2007). D'una banda, de forma directa incrementa l'hemoxygenasa-1 i incrementa l'activitat d'enzims antioxidants. L'hemoxygenasa-1 és l'enzim que catalitza el pas limitant del grup hemo a biliverdina, monòxid de carboni i ferro. En una reacció posterior la biliverdina reductasa produeix bilirubina a partir de la biliverdina que té un efecte antioxidant (Platt J et al, 1998)(Abraham N et al, 2005)(Deshane J et al, 2005). L'efecte antioxidant de la EPO és per la degradació del grup hemo i pels seus metabòlits biliverdina i bilirubina. Recentment s'ha demostrat que la hemoxygenasa-1 és regulada en part pel fosfatidilinositol 3 cinasa/ Akt que és una de les senyals intracel·lulars estimulada per l'EPO (Salinas M et al., 2004)(Lee T et al, 2004). Aquesta troballa suggereix que l'EPO pot induir directament l'expressió de hemo oxigenasa 1 mitjançant la via fosfatidilinositol 3-cinasa/Akt (Calò LA et al, 2006). Tantmateix, l'EPO pot incrementar l'activitat d'enzimes antioxidants com SOD, Catalasa i GPX. S'ha vist que l'EPO incrementa l'activitat de GPX en cultius de cèl·lules astroglials murines (Genc S et al, 2002)(Kumral A et al., 2005).

D'altre banda, a l'EPO se li atribueix efectes que són indirectes perquè actuarien sobre les cèl·lules progenitors eritroides i no sobre els eritròcits ja que hematies madurs no tenen la capacitat de síntesi de proteïnes de novo al no disposar de nucli. En primer lloc actuaria disminuint els nivell de ferro corporal. El ferro és el major catalitzador per la producció de

radical lliures especialment durant la reacció de Fenton que produeix el radical hidroxil. La depleció de Fe limitaria la producció de radicals lliures. Per tant L'augment de producció d'eritròcits per l'EPO induiria la depleció de Fe, cosa que disminuiria l'estrès oxidatiu depenent de Ferro.

En segon lloc pot reduir indirectament l'estrès oxidatiu augmentant el nombre de glòbuls vermells joves (Mimic-Oka J et al, 2002) que estan replets d'enzims que anirien disminuint la seva activitat al llarg del temps (Glass GA et al, 1984), Diversos estudis han confirmat que la teràpia amb EPO podria augmentar el nivell d'enzims antioxidants dels eritròcits (Inal M et al, 1999)(Mimic-Oka J et al., 2002)(Delmas-Beauvieux MC et al., 1995)(Canestrari et al., 1995). En aquest estudi només s'observa efecte beneficiós de l'estrès oxidatiu en determinats paràmetres.

### **Estrès oxidatiu, hipertròfia ventricular esquerra i insuficiència renal crònica**

La principal troballa en el present estudi és que el ràtio GSH redox és un factor predictor independent de regressió de la hipertròfia en pacients amb insuficiència renal crònica prediàlisi. Es conegut que l'estrès oxidatiu té un efecte sobre la funció cardiovascular i té un paper important en la progressió de la hipertròfia ventricular esquerra en els pacients amb IRC (Kao MP et al, 2010). Diversos estudis han mostrat que l'estrès oxidatiu estimula la hipertròfia dels cardiomiòcits activant una sèrie de senyals hipertròfiques mitjançant cinases i factors de transcripció. Per altra banda, l'estrès oxidatiu té efectes en la fibrosi i en el remodelació de la matriu estimulando la proliferació dels fibroblasts cardíacs i activando metaloproteïnes en la matriu extracel·lular (Kao MP et al., 2010)(Seddon M et al, 2007)(Annuk M et al, 2001)(Takimoto E et al, 2007)



La IRC és un estat prooxidant que està present en estadis precoços de la IRC. En els pacients amb IRC estan incrementats els nivells de marcadors d'oxidació de lípids, proteïnes i DNA, i hi han diversos defectes en el sistema de defensa antioxidant (Dounousi E et al., 2006)(Locatelli F et al., 2003)(Diepeveen SH et al., 2004)(Massy ZA et al., 2009)(Alhamdani MS et al, 2005)(Shiomi T et al., 2004). En un estudi previ ja havíem reportat que l'oxidació del glutatió i les enzimes relacionades són els mecanismes més importants en l'estrès oxidatiu en aquesta població de pacients (Romeu et al., 2010). Els nivells de GSH i les seves formes redox a sang han estat considerades com un índex de l'estat oxidatiu de tot l'organisme (Dalle-Donne I et al, 2006) i un indicador útil de malaltia cardiovascular (Ashfaq S et al., 2006)(Gu M et al., 1996)(Shimizu H et al., 2004)(Lombardi R et al., 2009). L'estat redox del glutatió és un factor independent de la presència de aterosclerosi precoç mesurat com el gruix íntima-mitja de l'artèria caròtida en la població sana (Ashfaq S et al., 2006). Nivells baixos de GSH a plasma o a eritròcits ha estat associat a malaltia coronària (Gu M et al., 1996), mentre que nivells disminuïts a plasma total de GSH poden ser un factor de risc per el desenvolupament de malaltia cardiovascular especialment de malaltia de petit vas cerebral (Shimizu H et al., 2004). Restaurar els nivells de GSH substituint els nivells de precursors de glutatió N-acetilcisteïna, o sobre expressant glutatió peroxidasa preveu la disfunció cardíaca (Lombardi R et al., 2009)(Shiomi T et al., 2004). Finalment s'ha descrit una relació negativa entre la funció vascular endotelial i el ràtio redox GSH, la qual cosa remarca la importància del paper de d'aquest marcador en la regulació de la disfunció endotelial en aquests pacients (Annuk M et al., 2001). Les observacions d'aquest estudi, juntament amb les troballes d'aquests estudis, proporcionen una addicional evidència que dona suport a la importància dels

sistemes oxidants basats en el GSH en el desenvolupament de complicacions cardiovasculars.

La causa dels nivells elevats del ràtio redox GSH en el grup de pacients “no responedors” d'aquest estudi comparats amb el grup de “responedors” no està clara. L'ús d'inhibidors de l'ECA o ARA II, estatines, suplementes de ferro endovenós., nivells plasmàtics de marcadors de la inflamació, i la severitat de la insuficiència renal són tots factors coneguts que influencien en l'estrès oxidatiu, però van ser similars en els dos grups de pacients. L'estrès oxidatiu i la formació d'espècies reactives d'oxigen estan incrementades en la diabetis mel·litus tipus II, i s'han trobat nivells de glutatió cel·lular deficientes en aquests pacients (Sekhar et al., 2011). En aquest estudi el ràtio redox GSH no difereix entre diabètics i no diabètics suggerint que la DM no està involucrada en els nivells elevats de ràtio GSH en els pacients “no responedors”.

En conclusió, a part de la tensió arterial el ràtio redox GSH plasmàtic és un predictor de regressió de la hipertròfia ventricular esquerra en els pacients anèmics tractats amb EPO. Aquesta observació remarca el possible efecte negatiu de l'estrès oxidatiu associat a la malaltia renal crònica sobre l'efecte beneficiós del tractament amb EPO en la malaltia cardiovascular en aquests pacients.

### **Efecte de l'epo sobre paraoxonasa i LDL oxidada**

S'ha vist que la paraoxonasa té uns efectes antioxidantius mitjançant la disminució de la peroxidació lipídica de les LDL (Mackness MI et al, 1993). La PON circula en el plasma associat a la lipoproteïna d'alta densitat i que degrada els lípids oxidats actius comportant-se com un sistema antioxidant (Watson AD et al., 1995). Una deficiència d'aquest enzim pot originar una major oxidació de les LDL, cosa que augmenta el risc aterogènic. Els

polimorfismes de la PON 1 poden influenciar en l'activitat de la PON1. Hi ha un polimorfisme a l'aminoàcid 55 que produeix un canvi de leucina a metionina (L55M) i un polimorfisme a l'aminoàcid 192 que produeix un canvi de glutamina (Q) a arginina(R): (Q192)) (Adkins S et al, 1993). L'activitat arilesterasa no és polimòrfica. L'activitat de la PON 1 esta disminuïda en els pacients IAM (McElveen J et al., 1986), amb hipercolesterolèmia (Mackness MI et al, 1991), diabetis mel·litus (Mackness MI et al., 1991), i els pacients en hemodiàlisi (Schiavon R et al., 1996)(Dantoine T et al., 1998) i últimament la PON1 s'ha considerat com un factor de risc de malaltia coronària. La concentració de PON-1 es més baixa en els pacients amb malaltia coronària que en la població normal i aquesta associació va ser independent del polimorfisme en la posició 192 (Kujiraoka T et al., 2000). Aquestes troballes indiquen que la PON 1 té un paper important en la malaltia cardiovascular en la població normal però també en els pacients amb IRC. Els nivell d'aquests enzims estan disminuïts en la IRC (Paragh G et al., 1998) (Paragh G et al., 1999)(Suehiro T, 2002) i són un factor de risc cardiovascular independent en aquesta població (Ikeda I et al., 2007).

La concentració PON en sèrum té una forta associació amb l'activitat arilesterasa a sèrum i l'activitat paraoxonasa (Kujiraoka T et al., 2000).

En una cohort de 119 pacients amb insuficiència renal en hemodiàlisi s'ha trobat que hi ha una correlació negativa a entre concentració PON 1 i amb l'índex de massa ventricular esquerra entre els pacients HD i que és el predictor més important de l'índex de MVE (Matsumoto K et al., 2010). Per la qual cosa la concentració PON pot contribuir al desenvolupament de la HVE i pot ser un predictor independent de malaltia cardiovascular en els pacients en hemodiàlisi. Pel contrari, en aquest estudi no s'han trobat correlacions

entre la concentració PON 1 i la massa ventricular esquerra en els pacients amb IRC prediàlisi.

En aquest estudi als 6 mesos de tractament amb EPO es va objectivar un efecte beneficiós en el l'estat oxidatiu amb l'activitat de l'activitat PON i una disminució dels nivells de anticossos antiLDL oxidat, no obstant els nivells d'HDL no es van modificar. La dosi de ferro endovenós administració es va associar a major nivells d'LDL oxidat però no amb l'activitat de la PON. La presència de diabetis, l'ús d'estatines o el grau d'insuficiència renal no es van associar a l'activitat de la PON o als nivells de anticossos anti LDL oxidada.

### **Anèmia, tractament amb EPO, massa ventricular esquerra i inflamació en la IRC:**

S'ha documentat un estat inflamatori augmentat des d'estadis inicials de la IRC que arriba a ser molt més pronunciat en aquells pacients amb IRC en tractament amb hemodiàlisi (Locatelli F et al., 2003). La inflamació juntament amb l'estrès oxidatiu i la disfunció endotelial representa una contribució important en el procés d'aterosclerosi que es considera la baula entre la malaltia renal crònica i la malaltia cardiovascular (Locatelli F et al., 2003). Tanmateix, la presència d'un estat inflamatori en la IRC facilita el deteriorament de la funció renal (Cachofeiro V et al., 2008) i s'associa amb nombrosos efectes clínics adversos com l'anèmia deguda a falta de resposta a EPO i la malnutrició proteicoenergètica (Kalantar-Zadeh K et al, 2003). Diversos factors estan involucrats en el procés inflamatori en la IRC com són: la malaltia de base, la comorbiditat, la urèmia per se, l'estrès oxidatiu, les infeccions, factors genètics i immunològics i factors relacionats amb el tractament amb diàlisi com la biocompatibilitat de la membrana i el líquid de diàlisi.

Estudis de laboratori han mostrat que les citocines inflamatòries promouen la remodelació cardíaca mitjançant la estimulació de proteïnes sarcomèriques activant gens d'expressió fetal i alterant la degradació de la matriu extracel·lular i activant l'apoptosi (Yokoyama T et al., 1997)(Krown KA et al., 1996)(Wollert KC et al, 2001). Malgrat que la majoria de les citocines inflamatòries son segregades pels macròfags i limfòcits activats, altres fonts potencials de citocines inflamatòries són els adipòcits i el múscul esquelètic.(Wing MR et al., 2014)(Raj DSC et al., 2005). Les citocines inflamatòries no estan expressades en el miocardi però són regulades en resposta al dany miocàrdic per la qual cosa poden contribuir als seus nivells circulants (Mann DL et al, 2003).

Hi ha una associació entre la presència de citocines inflamatòries i l'increment de mortalitat cardiovascular en els pacients amb IRC (Rao M et al., 2008)(Rogacev KS et al., 2011). Hi ha un associació entre els elevats nivells de biomarcadors inflamatoris i la HVE i la disfunció diastòlica en els malalts amb IRC després d'ajustar pels factors de risc tradicionals i els nivells de funció renal. De tots els biomarcadors inflamatoris la PCR d'alta sensibilitat i la IL-6 són els que mostren una associació més consistent amb la HVE i la disfunció miocàrdica (Gupta J et al., 2015).

La PCR és un predictor de mortalitat CV en la població general i en els pacients amb IRC (Menon V et al., 2005)(Folsom AR et al, 2002). En una cohort de pacients amb HTA resistent la microalbuminúria i els nivells elevats de PCR es van associar independentment amb l'aparició d'HVE (Salles GF et al, 2007). En un petit estudi de 104 pacients en HD la PCR i la TA van ser predictors d'HVE (Monfared A et al., 2013). No està clar si la PCR és un marcador de l'estat inflamatori o un mediador directe de la HVE.

En aquest estudi després del tractament amb EPO durant sis mesos no s'han observat canvis en els paràmetres inflamatoris com la IL-6 o la PCR. En l'anàlisi univariant no es va trobar cap correlació entre els nivells de PCR i la IL-6 i els paràmetres ecocardiogràfics ni amb l'índex de massa cardíaca. En els malats amb estat inflamatori definit com presentar PCR i/o IL-6 superior a la mitjana no hi ha regressió de la massa cardíaca al 6 mesos de tractament amb EPO. En aquest estudi la inflamació sembla tenir un efecte negatiu en la regressió de la massa ventricular esquerra induïda pel tractament amb EPO beta i contribuir a la progressió de la IRC. No obstant, la inflamació contribueix de forma independent als canvis en la MVE.

#### **NT-proBNP i hipertròfia cardíaca en la malaltia renal crònica:**

En aquest estudi s'objectiva una clara relació entre els nivells de NT-proBNP i la hipertròfia ventricular esquerra cosa que ja s'ha descrit en altres estudis. Els nivells basals i als 6 mesos de NT-proBNP dels pacients es varen relacionar estretament, i de forma independent amb la massa ventricular esquerra. És conegut que el NT-proBNP s'allibera del cor com a resposta a la sobrecàrrega de pressió i/o volum, i s'ha esdevingut una important eina diagnòstica per valorar aquells pacients que presenten dispnea aguda. Els nivells de NT-proBNP manifesten l'estat de la funció diastòlica i sistòlica cardíaca, i tenen un important valor pronòstic en múltiples situacions clíniques, incloent pacients amb malaltia coronària estable i síndromes coronàries agudes. En els pacients en hemodiàlisi existeix una estreta relació entre el NT-proBNP i la massa ventricular esquerra i la funció sistòlica, i aquest pèptid ha demostrat tenir un valor predictiu per la malaltia coronària, la hipervolemia i la mortalitat en aquesta població. En un estudi en pacients amb malaltia renal crònica prediàlisi la elevació dels nivells de NT-proBNP manifestava una malaltia isquèmica subjacent i hipertròfia cardíaca, independent del grau de disfunció renal

(DeFilippi C et al, 2005). En altre estudi. en pacients amb malaltia renal crònica prediàlisi la concentració de NT-proBNP s'associava independentment de la funció renal, amb la sobrecàrrega de volum que presentaven els pacients (Takami Y et al., 2004). En un altre estudi en pacients en hemodiàlisi amb fracció d'ejecció conservada els canvis observats en l'índex de massa ventricular esquerra al cap d'un any de seguiment varen estar relacionats amb les variacions de NT-proBNP (Choi SY et al., 2008). Per això, s'ha suggerit que el NT-proBNP podria tenir un valor predictiu independent com a marcador dels canvis en la massa ventricular dels pacients amb insuficiència renal en hemodiàlisi (Mark MP et al., 2006)(Wang AYM et al, 2008).

#### **Anèmia, tractament amb EPO, massa ventricular esquerra i NT-ProBNP en la IRC:**

En el present estudi, la correcció de la anèmia amb EPO va comportar un descens significatiu de la massa ventricular esquerra, encara que aquest descens només es va observar en la meitat de la població estudiada. Així doncs, en el grup de pacients “responedors”, l'índex de massa ventricular esquerra va descendir un 22 % en relació amb els valors basals, mentre que en els “no responedors” aquest va augmentar un 9 %. Quan analitzem els factors que haguessin pogut influir en la regressió de la massa ventricular esquerra, els únics factors diferencials van ser els nivells de tensió arterial sistòlica, la pressió del pols, i el número de fàrmacs hipotensors, que van ser més elevats en el grup de pacients “no responedors”. De fet la tensió arterial sistòlica va disminuir de forma significativa en el grup de pacients “responedors” mentre que no es va modificar en el grup de pacients no responedors. No obstant els nivells basals i als 6 mesos de NT-ProBNP varen ser similars en els dos grups, i aquest pèptid no va tenir un valor predictiu en la regressió de la massa ventricular esquerra.

### **Anèmia, NT-ProBNP i IRC:**

La presència d'anèmia s'associa a un nivells més elevats de NT-ProBNP en pacients amb insuficiència cardíaca i en la població general i en els pacients amb IRC prediàlisis (Timenstajn-Jankovic B et al, 2013) . Aquesta relació és independent de l'edat, de l'índex de massa corporal, del filtrat glomerular o de la presència d'hipertrofia cardíaca o malaltia valvular. Per altra banda, els pacients amb insuficiència cardíaca, anèmia i IRC estadi 3, la milloria de l'anèmia amb agents estimuladors de l'eritropoesi o amb l'administració de ferro endovenós, comporta una millora en els paràmetres hemodinàmics cardíacs i una disminució dels nivells de NT-ProBNP. En aquest estudi no s'ha trobat cap relació entre els nivells d'hemoglobina basals i als 6 mesos del tractament amb rHu-EPO beta i els nivells de NT-ProBNP, ni tampoc s'ha observat cap relació entre les dosis de rHu-EPO beta ni les dosis de ferro endovenós i els nivells de NT-ProBNP. Per últim, la dada més rellevant va ser que malgrat observar una disminució de la massa ventricular esquerra, els nivells de NT-ProBNP no es varen modificar de forma global ni en el grup de pacients responedors o no responedors. A més, no es va observar cap correlació entre els percentatges de canvi en l'índex de massa ventricular esquerra i els nivells de NT-ProBNP en cap dels dos grups. La causa de la falta de relació en aquest estudi entre el tractament amb EPO i la resposta en els nivells de NT-ProBNP es desconeguda. És possible que el empitjorament de la funció renal als 6 mesos de tractament amb EPO hagués pogut condicionar un augment de la volèmia i de la dilatació ventricular amb una major secreció de NT-ProBNP que d'alguna manera podria distorsionar els resultats obtinguts.



### **Efecte de la regressió de la massa ventricular al llarg del temps**

En aquest estudi el tractament de l'anèmia consegueix la regressió de la massa ventricular esquerra a curt termini, però a mig termini la massa cardíaca no millora més malgrat en control tensional. S'objectiva una tendència a l'augment del volum de ventricle esquerra i un pas a un patró geomètric d'hipertròfia ventricular excèntrica que podria ser explicat per la situació d'hipervolemia. Encara que en petits estudis en pacients voluntaris sans i en pacients en hemodiàlisi indiquen que el volum total sanguini roman estable després del tractament amb eritropoetina com a resultat d'una disminució en el volum plasmàtic compensatori, aquesta reducció adaptativa probablement requereixi d'una funció renal normal i el control del volum plasmàtic està compromès a la IRC avançada. Malgrat l'efecte beneficiós inicial del tractament amb EPO beta sobre l'HVE, els pacients amb IRC mantenen encara una elevada MVE que pot ser explicada per la progressiva dilatació del ventricle esquerra que es produeix al llarg del temps. El control de la hipervolemia pot contribuir a la prevenció, o fins i tot revertir l'HVE en una proporció substancial en aquests pacients.

#### **D.- Limitacions de l'estudi:**

En primer lloc el limitat nombre de pacients ha estat potser una de les causes que no s'hagin pogut determinar com factors predictors els paràmetres inflamatoris i el NT-proBNP.

L'objectiu terapèutic d'Hb en els nostre estudi va ser de 12-13 g/d que és més alt que el que actualment recomanen per les guies arran de recents assaigs clínics publicats investigant objectius terapèutics d'Hb elevats en pacients amb IRC prediàlisi. El present estudi va ser dissenyat abans de la publicació d'aquests estudis.

En aquest estudi s'ha utilitzat com eina diagnòstica la ecocardiografia, que és molt útil en el diagnòstic d'HVE en els pacients amb insuficiència renal crònica. En els últims anys la ressonància magnètica cardíaca ha esdevingut el nou "gold standard" per la seva alta precisió i la seva capacitat de mesurar l'índex de massa cardíaca, no obstant el seu alt cost limita el desplaçament de l'ecocardiografia com eina diagnòstica habitual.

Per la determinació de la disfunció diastòlica s'ha utilitzat el Doppler d'ona pulsada 2D: però és limitada perquè els índex depenen de la precàrrega. Actualment en la pràctica habitual la tècnica que s'utilitza és el Doppler Tisular que és independent de la precàrrega.

En aquest estudi la falta de relacions significatives entre els altres marcadors d'estrès oxidatiu i la regressió de la hipertròfia ventricular esquerra junt amb l'observació que l'efecte beneficiós del tractament amb EPO en l'estrès oxidatiu és sols evident en determinats paràmetres, confirmen l'heterogenicitat del procés oxidatiu en el torrent circulatori versus en els teixits. És probable que es requereixin un conjunt d'altres marcadors per confirmar el valor predictiu de l'estrès oxidatiu en la regressió de la hipertròfia ventricular esquerra (Dotan Y et al, 2004). Recentment s'ha proposat un "score"

para l'estrès oxidatiu basat en l'anàlisi de diversos biomarcadors que avaluin la influència de l'estrès oxidatiu en l'estat clínic dels pacients amb IRC (Romeu M et al., 2010).

També pot haver influït en els resultats obtinguts el anomenat fenomen de “regressió a la mitjana” de les mesures ecocardiogràfiques, que pot comportar majors canvis en la massa ventricular esquerra entre els pacients amb valors més extrems d'aquest paràmetre, degut a que mesures ecocardiogràfiques successives tenen tendència a retornar als valors promig dels nivells de massa ventricular esquerra dins de la distribució de la població estudiada..

## **E.- CONCLUSIONS:**

### **1.- Massa cardíaca i regressió de la HVE:**

1.a- El tractament de l'anèmia amb EPO s'associa a una reducció significativa de l'índex de massa ventricular esquerra en els pacients amb insuficiència renal crònica.

2.a- La correcció de l'anèmia amb EPO regressa la hipertròfia ventricular esquerra en només el 51 % dels pacients amb malaltia renal crònica.

3.a- La tensió arterial es un factor predictiu de regressió de la massa cardíaca , juntament amb la massa cardíaca basal.

### **2.- Estrès oxidatiu, massa cardíaca i regressió de la hipertròfia ventricular esquerra:**

2.a- El tractament amb EPO té un efecte beneficiós en alguns paràmetres d'estrès oxidatiu.

2.b- El ràtio GSH redox, com a marcador d'estrès oxidatiu, és un factor predictor independent de regressió de la hipertròfia ventricular esquerra en els pacients amb insuficiència renal crònica.

### **3.- Inflamació, massa cardíaca i regressió de la hipertròfia ventricular esquerra:**

3.a.-El tractament amb EPO no modifica els nivells de marcadors inflamatoris com la IL-6 i la PCR en aquesta població.

3.b.- La inflamació té un efecte negatiu en la regressió de la MVE induïda pel tractament amb EPO beta i contribueix de forma independent als canvis en la MVE.

### **4.- El NT-proBNP massa cardíaca i regressió de la hipertròfia ventricular esquerra:**

4.a.- El NT-proBNP està estretament relacionat amb la massa cardíaca i la presència d'hipertròfia cardíaca en la malaltia renal crònica;

4.b.- El tractament amb EPO no modifica els nivells de NT-proBNP en aquesta població,

4.c.- Els nivells de proBNP no tenen valor predictiu en la regressió de la massa ventricular esquerra induïda per la correcció de l'anèmia amb EPO.

### **5.- Massa cardíaca i regressió de la HVE. Efectes a mig termini:**

5.a- El tractament de l'anèmia amb EPO produeix una regressió de la massa ventricular esquerra als 6 mesos que es manté als 12 mesos però no s'aconsegueix una millora addicional.

5.b.- Es produeix un tendència a l'augment progressiu del volum ventricular esquerre encara que sense significació estadística.

5.c.- Es produeix un canvi en el patró geomètric a una hipertròfia excèntrica.

## BIBLIOGRAFIA

- Abraham, N. G., & Kappas, A. (2005). Heme oxygenase and the cardiovascular-renal system. *Free Radical Biology & Medicine*, 39(1), 1–25.
- Adkins, S., Gan, K. N., Mody, M., & La Du, B. N. (1993). Molecular basis for the polymorphic forms of human serum paraoxonase/arylesterase: glutamine or arginine at position 191, for the respective A or B allozymes. *American Journal of Human Genetics*, 52(3), 598–608.
- Ahokas, R. A. (2005). Aldosteronism and a Proinflammatory Vascular Phenotype: Role of Mg<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in Peripheral Blood Mononuclear Cells. *Circulation*, 111(1), 51–57.
- Akazawa, H., & Komuro, I. (2003). Roles of cardiac transcription factors in cardiac hypertrophy. *Circulation Research*, 92(10), 1079–1088.
- Alhamdani, M. S. S. (2005). Impairment of glutathione biosynthetic pathway in uraemia and dialysis. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 20(1), 124–128.
- Allan, C. B., Lacourciere, G. M., & Stadtman, T. C. (1999). Responsiveness of selenoproteins to dietary selenium. *Annual Review of Nutrition*, 19, 1–16.
- Alonso, A., Lopez, F., & Matsushita, K. (2012). Chronic Kidney Disease is Associated with the Incidence of Atrial Fibrillation: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Circulation*, 123(25), 2946–2953.
- Anderson, M. E. (1996). Glutathione and Glutathione Delivery Compounds. *Advances in Pharmacology*, 38, 65–78.
- Annuk, M., Zilmer, M., Lind, L., Linde, T., & Fellström, B. (2001). Oxidative stress and endothelial function in chronic renal failure. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, 12(12), 2747–2752.
- Apple, F. S., Murakami, M. M., Pearce, L. a., & Herzog, C. a. (2004). Multi-biomarker risk stratification of N-terminal pro-B-type natriuretic peptide, high-sensitivity C-reactive protein, and cardiac troponin T and I in end-stage renal disease for all-cause death. *Clinical Chemistry*, 50(12), 2279–2285.
- Arthur, J. R. (2000). The glutathione peroxidases. *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS*, 57(13-14), 1825–1835.
- Ashfaq, S., Abramson, J. L., Jones, D. P., Rhodes, S. D., Weintraub, W. S., Hooper, W. C., ... Quyyumi, A. A. (2006). The relationship between plasma levels of oxidized and reduced thiols and early atherosclerosis in healthy adults. *Journal of the American College of Cardiology*, 47(5), 1005–1011.

- Astor, B. C., Coresh, J., Heiss, G., Pettitt, D., & Sarnak, M. J. (2006). Kidney function and anemia as risk factors for coronary heart disease and mortality: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *American Heart Journal*, 151(2), 492–500.
- Astor, B., Muntner, P., Levin, A., Eustace, J., & Coresh, J. (2002). Association of kidney function with anemia: the Third National Health and Nutrition Examination Survey (1988-1994). *Arch Intern Med*, 162(12), 1401–1408.
- Aviram, M. (1993). Modified forms of low density lipoprotein and atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 98(1), 1–9.
- Ayus, J. C., Go, A. S., Valderrabano, F., Verde, E., De Vinuesa, S. G., Achinger, S. G., ... Luño, J. (2005). Effects of erythropoietin on left ventricular hypertrophy in adults with severe chronic renal failure and hemoglobin <10 g/dL. *Kidney International*, 68(2), 788–795.
- Gokce N, Keaney JF, Frei B, Holbrook M, Olesiak M, Zachariah BJ, Leeuwenburgh C, Heinecke JW, Vita JA., (1999). Long-term ascorbic acid administration reverses endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease. *Circulation*, 99, 32–34.
- Yu BP, (1994). Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev*, 74, 139–162.
- Bandyopadhyay, U., Das, D., & Banerjee, R. K. (1999). Reactive oxygen species: Oxidative damage and pathogenesis. *Current Science*, 77(5), 658–666.
- Becker, B. F. (1993). Towards the physiological function of uric acid. *Free Radical Biology and Medicine*, 14(6), 615–631.
- Bendich A, M. L. (1987). The antioxidant role of vitamina C. *Free Radic Biol Med*, 2, 419–444.
- Benzie, I. F. F. (2003). Evolution of dietary antioxidants. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part A, Molecular & Integrative Physiology*, 136(1), 113–126.
- Besarab, a, Bolton, W. K., Browne, J. K., Egrie, J. C., Nissenson, a R., Okamoto, D. M., ... Goodkin, D. a. (1998). The effects of normal as compared with low hematocrit values in patients with cardiac disease who are receiving hemodialysis and epoetin. *The New England Journal of Medicine*, 339(9), 584–590.
- Beusterien, K. M., Nissenson, A. R., Port, F. K., Kelly, M., Steinwald, B., & Ware Jr., J. E. (1996). The effects of recombinant human erythropoietin on functional health and well-being in chronic dialysis patients. *J Am Soc Nephrol*, 7(5), 763–773.
- Brancaccio, M., Fratta, L., Notte, A., Hirsch, E., Poulet, R., Guazzone, S., ... Lembo, G. (2003). Melusin, a muscle-specific integrin beta1-interacting protein, is required to prevent cardiac failure in response to chronic pressure overload. *Nature Medicine*, 9(1), 68–75.

- BRANCACCIO, M., HIRSCH, E., NOTTE, A., SELVETELLA, G., LEMBO, G., & TARONE, G. (2006). Integrin signalling: The tug-of-war in heart hypertrophy. *Cardiovascular Research*, 70(3), 422–433.
- Brilla, C. G., Zhou, G., Matsubara, L., & Weber, K. T. (1994). Collagen Metabolism in Cultured Adult Rat Cardiac Fibroblasts: Response to Angiotensin II and Aldosterone. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 26(7), 809–820.
- Buege JA, A. S. (1978). Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.*, 52., 302–10.
- Burgoyne, J. R., Mongue-Din, H., Eaton, P., & Shah, A. M. (2012). Redox signaling in cardiac physiology and pathology. *Circulation Research*.
- Cabezas, M., Comellas, A., Gómez, J. R., Grillo, L. L., Casal, H., Carrillo, N., & Camero, R. (1996). Comparación de la sensibilidad y especificidad de los criterios electrocardiográficos para la hipertrofia ventricular izquierda según métodos de Romhilt-Estes, Sokolow-Lyon, Cornell y Rodríguez Padial, *Rev Esp Cardiol* 1997; 50: 31–35.
- Cabrera García. (2009). Eritropoyetina: revision de indicaciones. *Inf Ter Sist Nac Salud*, 33, 3–9.
- Cachofeiro, V., Goicochea, M., de Vinuesa, S. G., Oubiña, P., Lahera, V., & Luño, J. (2008). Oxidative stress and inflammation, a link between chronic kidney disease and cardiovascular disease. *Kidney International*, 74, S4–S9.
- Calò, L. a, Davis, P. a, Piccoli, A., & Pessina, A. C. (2006). A role for heme oxygenase-1 in the antioxidant and antiapoptotic effects of erythropoietin: the start of a good news/bad news story? *Nephron. Physiology*, 103(3), p107–11.
- Campos, D. (2010). *Bioquímica del Estrés Oxidativo*. (Lulu.com, Ed.).
- Canestrari, F., Buoncristiani, U., Galli, F., Giorgini, A., Albertini, M. C., Carobi, C., ... Bossù, M. (1995). Redox state, antioxidative activity and lipid peroxidation in erythrocytes and plasma of chronic ambulatory peritoneal dialysis patients. *Clinica Chimica Acta*, 234(1–2), 127–136.
- Castrejón Sosa M. (2007). Radicales libres y sistemas antioxidantes.. pp 611-628. *Bioquímica: Un Enfoque Básico Aplicado a Las Ciencias de La Vida*. Editores: Diaz-Zagoya JC, Juárez Oropeza MA. McGraw-Hill Interamericana, México.
- Catapano AL, Maggi FM, T. E. (2000). Low density lipoprotein oxidation, antioxidants, and atherosclerosis. *Curr Opin Cardiol*, 15, 355–63.
- Ceballos-Picot, I., Witko-Sarsat, V., Merad-Boudia, M., Nguyen, A. T., Thévenin, M., Jaudon, M. C., ... Descamps-Latscha, B. (1996). Glutathione antioxidant system as a marker of oxidative stress in chronic renal failure. *Free Radical Biology and Medicine*, 21(6), 845–853.



- Céspedes T, S. D. (2000). Algunos aspectos sobre el stress oxidativo, el estado antioxidante y la terapia de suplementación. *Rev Cubana Cardiol*, 14(1), 55–60.
- Chaudière J, F.-I. R. (1999). Intracellular antioxidants: from chemical to biochemical mechanisms. *Food Chem Toxicol.*, Sep-Oct;37((9-10)), 949–62.
- Cheng, T.-H., Cheng, P.-Y., Shih, N.-L., Chen, I.-B., Wang, D. L., & Chen, J.-J. (2003). Involvement of reactive oxygen species in angiotensin II-induced endothelin-1 gene expression in rat cardiac fibroblasts. *Journal of the American College of Cardiology*, 42(10), 1845–1854.
- Chien, K. R. (1999). Stress Pathways and Heart Failure. *Cell*, 98(5), 555–558.
- Chirinos, J. A., Segers, P., De Buyzere, M. L., Kronmal, R. A., Raja, M. W., De Bacquer, D., ... Rietzschel, E. R. (2010). Left ventricular mass: allometric scaling, normative values, effect of obesity, and prognostic performance. *Hypertension*, 56(1), 91–8.
- Choi, S. Y., Lee, J. E., Jang, E. H., Kim, M.-O., Baek, H., Ki, C. S., ... Kim, Y.-G. (2008). Association between changes in N-terminal pro-brain natriuretic peptide levels and changes in left ventricular mass index in stable hemodialysis patients. *Nephron. Clinical practice* (Vol. 110).
- Cisneros Prego, E. (1995). La glutation reductasa y su importancia biomédica. *Rev Cubana Invest Bioméd [online]*, 14(1), 0–0.
- Cohen, G., Dembiec, D., & Marcus, J. (1970). Measurement of catalase activity in tissue extracts. *Analytical Biochemistry*, 34(1), 30–38.
- Constantinescu, S. N., Keren, T., Socolovsky, M., Nam, H., Henis, Y. I., & Lodish, H. F. (2001). Ligand-independent oligomerization of cell-surface erythropoietin receptor is mediated by the transmembrane domain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(8), 4379–4384.
- Coresh, J., Astor, B., & Sarnak, M. J. (2004). Evidence for increased cardiovascular disease risk in patients with chronic kidney disease. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*, 13(1), 73–81.
- Cottone, S., Nardi, E., Mulè, G., Vadalà, a, Lorito, M. C., Riccobene, R., ... Cerasola, G. (2007). Association between biomarkers of inflammation and left ventricular hypertrophy in moderate chronic kidney disease. *Clinical Nephrology*, 67(4), 209–216.
- Crabtree, G. R. (1999). Generic Signals and Specific Outcomes. *Cell*, 96(5), 611–614.
- Culleton, B. F., Larson, M. G., Wilson, P. W. F., Evans, J. C., Parfrey, P. S., & Levy, D. (1999). Cardiovascular disease and mortality in a community-based cohort with mild renal insufficiency. *Kidney International*, 56(6), 2214–2219.

- Dalle-Donne, I., Rossi, R., Colombo, R., Giustarini, D., & Milzani, A. (2006). Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clinical Chemistry*.
- Dantoine, T. F., Debord, J., Charmes, J.-P., Merle, L., Marquet, P., Lachatre, G., & Leroux-Robert, C. (1998). Decrease of Serum Paraoxonase Activity in Chronic Renal Failure. *J Am Soc Nephrol*, 9, 2082–2088.
- Dart AM, C.-D. J. (1999). Lipids and the endothelium. *Cardiovasc Res*, 43, 308–322.
- De Francisco, A. L. M. (2010). Individualizing anaemia therapy. *NDT Plus*.
- De Simone, G., Kizer, J. R., Chinali, M., Roman, M. J., Bella, J. N., Best, L. G., ... Devereux, R. B. (2005). Normalization for body size and population-attributable risk of left ventricular hypertrophy: The Strong Heart Study. *American Journal of Hypertension*, 18(2), 191–196.
- De Vriese, A. S., Vandecasteele, S. J., Van den Bergh, B., & De Geeter, F. W. (2012). Should we screen for coronary artery disease in asymptomatic chronic dialysis patients? *Kidney International*, 81(2), 143–51.
- DeFilippi, C. R., Fink, J. C., Nass, C. M., Chen, H., & Christenson, R. (2005). N-Terminal pro-B-type natriuretic peptide for predicting coronary disease and left ventricular hypertrophy in asymptomatic CKD not requiring dialysis. *American Journal of Kidney Diseases*, 46(1), 35–44.
- DeFilippi, C. R., Seliger, S. L., Maynard, S., & Christenson, R. H. (2007). Impact of renal disease on natriuretic peptide testing for diagnosing decompensated heart failure and predicting mortality. *Clinical Chemistry*, 53(8), 1511–1519.
- DeLeve, L. D., & Kaplowitz, N. (1990). Importance and regulation of hepatic glutathione. *Seminars in Liver Disease*, 10(4), 251–266.
- Delmas-Beauvieux, M.-C., Combe, C., Peuchant, E., Carbonneau, M.-A., Dubourg, L., de Précigout, V., ... Clerc, M. (1995). Evaluation of Red Blood Cell Lipoperoxidation in Hemodialysed Patients during Erythropoietin Therapy Supplemented or Not with Iron. *Nephron*, 69(4), 404–410.
- Deshane, J., Wright, M., & Agarwal, A. (2005). Heme oxygenase-1 expression in disease states. *Acta Biochimica Polonica*.
- Devereux, R. B., Lutas, E. M., Casale, P. N., Kligfield, P., Eisenberg, R. R., Hammond, I. W., ... Laragh, J. H. (1984). Standardization of M-mode echocardiographic left ventricular anatomic measurements. *Journal of the American College of Cardiology*, 4(6), 1222–1230.
- Devereux, R. B., & Reichek, N. (1977). Echocardiographic determination of left ventricular mass in man. Anatomic validation of the method. *Circulation*, 55(4), 613–618.

- Devereux RB, Alonso DR, Lutas EM, Gottlieb GJ, Campo E, Sachs I, et al. (1986). Echocardiographic assessment of left ventricular hypertrophy: comparison to necropsy findings. *Am J Cardiol.*, 57(6), 450–458.
- Diepeveen, S. H. A., Verhoeven, G. H. W. E., Van Der Palen, J., Dikkeschei, B. L. D., Van Tits, L. J., Kolsters, G., ... Stalenhoef, A. F. H. (2004). Oxidative stress in patients with end-stage renal disease prior to the start of renal replacement therapy. *Nephron - Clinical Practice*, 98(1).
- Díez, J., Fortuño, M. a, González, a, López, B., & Ardanaz, N. (2001). Respuestas del miocardio al estrés biomecánico. *Myocardial Response to Biomechanical Stress*, 54(Iv), 507–515.
- Ding, B., Price, R. L., Borg, T. K., Weinberg, E. O., Halloran, P. F., & Lorell, B. H. (1999). Pressure overload induces severe hypertrophy in mice treated with cyclosporine, an inhibitor of calcineurin. *Circulation Research*, 84(6), 729–734.
- Dirican, M., Akça, R., Sarandöl, E., & Dilek, K. (2004). Serum paraoxonase activity in uremic predialysis and hemodialysis patients. *Journal of Nephrology*, 17(6), 813–818.
- Dolmetsch, R. E., Lewis, R. S., Goodnow, C. C., & Healy, J. I. (1997). Differential activation of transcription factors induced by Ca<sup>2+</sup> response amplitude and duration. *Nature*, 386(6627), 855–858.
- Dordal, M. S., Wang, F. F., & Goldwasser, E. (1985). The role of carbohydrate in erythropoietin action. *Endocrinology*, 116(6), 2293–9.
- Dorn 2nd, G. W., Force, T., & Ii, G. W. D. (2005). Protein kinase cascades in the regulation of cardiac hypertrophy. *J Clin Invest*, 115(3), 527–537.
- Dotan, Y., Lichtenberg, D., & Pinchuk, I. (2004). Lipid peroxidation cannot be used as a universal criterion of oxidative stress. *Progress in Lipid Research*.
- Dounousi, E., Papavasiliou, E., Makedou, A., Ioannou, K., Katopodis, K. P., Tselepis, A., ... Tsakiris, D. (2006). Oxidative Stress Is Progressively Enhanced With Advancing Stages of CKD. *American Journal of Kidney Diseases*, 48(5), 752–760.
- Drueke, T. B., Locatelli, F., Clyne, N., Eckardt, K. U., Macdougall, I. C., Tsakiris, D., ... Scherhag, A. (2006). Normalization of hemoglobin level in patients with chronic kidney disease and anemia. *N Engl J Med*, 355(20), 2071–2084.
- Drüeke, T. B., Locatelli, F., Clyne, N., Eckardt, K.-U., Macdougall, I. C., Tsakiris, D., ... Scherhag, A. (2006). Normalization of hemoglobin level in patients with chronic kidney disease and anemia. *The New England Journal of Medicine*, 355(20), 2071–2084.
- Eckardt, K. U. (1999). Cardiovascular consequences of renal anaemia and erythropoietin therapy. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 14(5), 1317–1323.

- Eckardt, K.-U., Scherhag, A., Macdougall, I. C., Tsakiris, D., Clyne, N., Locatelli, F., ...  
Druke, T. B. (2009). Left ventricular geometry predicts cardiovascular outcomes  
associated with anemia correction in CKD. *Journal of the American Society of  
Nephrology: JASN*, 20(12), 2651–2660.
- Eguchi, K., Boden-Albala, B., Jin, Z., Rundek, T., Sacco, R. L., Homma, S., & Di Tullio,  
M. R. (2008). Association between diabetes mellitus and left ventricular hypertrophy  
in a multiethnic population. *The American Journal of Cardiology*, 101(12), 1787–  
1791.
- El-Rashidy FH, Al-Turk WA, S. S. (1984). Glutathione, glutathione reductase and  
glutathione S-transferase activities in erythrocytes and lymphocytes in chronic renal  
disease. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*, 44(3), 423–30.
- Ennis, I. L., & Escudero, E. M. (2008). Hipertrofia Cardíaca. *Tratado de Cardiología de La  
Federación Argentina de Cardiología. Editores Dr. Fernando de La Serna- Dr.  
Horacio Cingolani*, (Hipertrofia Cardíaca), 1–29.
- Epshteyn, V., Morrison, K., Krishnaswamy, P., Kazanegra, R., Clopton, P., Mudaliar, S.,  
... Maisel, a. (2003). Utility of B-Type Natriuretic Peptide (BNP) as a Screen for Left  
Ventricular Dysfunction in Patients With Diabetes. *Diabetes Care*, 26(7), 2081–2087.
- Erythropoietin, C., & Group, S. (1990). Association between recombinant human  
erythropoietin and quality of life and exercise capacity of patients receiving  
haemodialysis. Canadian Erythropoietin Study Group. *BMJ (Clinical Research Ed.)*,  
300(6724), 573–578.
- Esper, R. J., Nordaby, R. A., Vilariño, J. O., Paragano, A., Cacharrón, J. L., & Machado, R.  
A. (2006). Endothelial dysfunction: a comprehensive appraisal, 18, 1–18.
- Farquharson CA, Struthers AD. Spironolactone increases nitric oxide bioactivity, improves  
endothelial vasodilator dysfunction, and suppresses vascular angiotensin I/angiotensin II  
conversion in patients with chronic heart failure. *Circulation*. 2000;101:594-597.
- Fassett, R. G., Venuthurupalli, S. K., Gobe, G. C., Coombes, J. S., Cooper, M. a, & Hoy,  
W. E. (2011). Biomarkers in chronic kidney disease: a review. *Kidney International*,  
80(8), 806–821.
- Fink, J., Blahut, S., Reddy, M., & Light, P. (2001). Use of erythropoietin before the  
initiation of dialysis and its impact on mortality. *Am J Kidney Dis*, 37(2), 348–355.
- Flores Allende GA, Pérez HA, G. N. (2011). Prevención de eventos cardiovasculares en la  
insuficiencia renal crónica. Factores de riesgo no tradicionales. *Rev Fed Arg Cardiol*,  
40(4), 335–342.
- Foley, R. N., Parfrey, P. S., Harnett, J. D., Kent, G. M., Martin, C. J., Murray, D. C., &  
Barre, P. E. (1995). Clinical and echocardiographic disease in patients starting end-  
stage renal disease therapy. *Kidney International*, 47(1), 186–192.

- Foley, R. N., Parfrey, P. S., Harnett, J. D., Kent, G. M., Murray, D. C., & Barre, P. E. (1996). The impact of anemia on cardiomyopathy, morbidity, and mortality in end-stage renal disease. *American Journal of Kidney Diseases: The Official Journal of the National Kidney Foundation*, 28(1), 53–61.
- Foley, R. N., Parfrey, P. S., Hefferton, D., Singh, I., Simms, A., & Barrett, B. J. (1994). Advance prediction of early death in patients starting maintenance dialysis. *Am J Kidney Dis*, 23(6), 836–845.
- Foley, R. N., Parfrey, P. S., Kent, G. M., Harnett, J. D., Murray, D. C., & Barre, P. E. (1998). Long-term evolution of cardiomyopathy in dialysis patients. *Kidney International*, 54(5), 1720–1725.
- Foley, R. N., Parfrey, P. S., Kent, G. M., Harnett, J. D., Murray, D. C., & Barre, P. E. (2000). Serial change in echocardiographic parameters and cardiac failure in end-stage renal disease. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, 11(5), 912–916.
- Foley, R. N., Parfrey, P. S., Morgan, J., Barre, P. E., Campbell, P., Cartier, P., ... Wells, G. A. (2000). Effect of hemoglobin levels in hemodialysis patients with asymptomatic cardiomyopathy. *Kidney International*, 58(3), 1325–1335.
- Foley, R. N., Parfrey, P. S., & Sarnak, M. J. (1998). Epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *J Am Soc Nephrol*, 9(12 Suppl), S16–23.
- Foley, R., Parfrey, P., & Sarnak, M. (1998). Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *American Journal of Kidney Diseases*, 32(5), S112–S119.
- Folsom, A. R., Aleksic, N., Catellier, D., Juneja, H. S., & Wu, K. K. (2002). C-reactive protein and incident coronary heart disease in the Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) study. *American Heart Journal*, 144(2), 233–238.
- Forman, H. J., Fukuto, J. M., & Torres, M. (2004). Redox signaling: thiol chemistry defines which reactive oxygen and nitrogen species can act as second messengers. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, 287(2), C246–C256.
- Fox, C. S., Chalmers, J., & Lee, B. J. (2013). Associations of kidney disease measures with mortality and end-stage renal disease in individuals with and without diabetes: a meta-analysis. *NIH Public Acces*, 380(9854), 1662–1673.
- Franchini, K. G., Torsoni, A. S., Soares, P. H. A., & Saad, M. J. A. (2000). Early Activation of the Multicomponent Signaling Complex Associated With Focal Adhesion Kinase Induced by Pressure Overload in the Rat Heart. *Circulation Research*, 87(7), 558–565.
- Frey, N., Katus, H. a., Olson, E. N., & Hill, J. a. (2004). Hypertrophy of the Heart: A New Therapeutic Target? *Circulation*, 109(13), 1580–1589.

- Frey, N., McKinsey, T. a, & Olson, E. N. (2000). Decoding calcium signals involved in cardiac growth and function. *Nature Medicine*, 6(11), 1221–1227.
- Frohlich, E. D., Apstein, C., Chobanian, A. V, Devereux, R. B., Dustan, H. P., Dzau, V., ... Shub, C. (1992). The Heart in Hypertension. *New England Journal of Medicine*, 327(14), 998–1008.
- Fruehauf, J. P., & Meyskens, F. L. (2007). Reactive Oxygen Species: A Breath of Life or Death? *Clinical Cancer Research*, 13(3), 789–794.
- Funder, J. V, Pearce, P. T., Smith, R., & Campbell, J. (1989). Vascular type i aldosterone binding sites are physiological mineralocorticoid receptors. *Endocrinology*, 125(4), 2224–2226.
- Galcerán, J. M., Felip, Á., Tovillas, X., Sociedad, D., Nefrología, C. De, Medicina, C. De, ... De, A. C. (2015). Documento de consenso sobre atención a la enfermedad renal crónica Consensus document on attention to chronic kidney disease, *Hipertens Riesgo Vasc.* 2013;30(3):107---114.
- Ganau, a, Devereux, R. B., Roman, M. J., de Simone, G., Pickering, T. G., Saba, P. S., ... Laragh, J. H. (1992). Patterns of left ventricular hypertrophy and geometric remodeling in essential hypertension. *Journal of the American College of Cardiology*, 19(7), 1550–1558.
- Garcia, J. A. D., & Incerpi, E. K. (2008). Factors and mechanisms involved in left ventricular hypertrophy and the anti-hypertrophic role of nitric oxide. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 90, 409–416.
- Gaziano JM. (2000). Dietary antioxidants and cardiovascular disease. *Vit Horm* 2000;58:299-320. *Vit Horm*, 58, 299–320.
- Genc, S., Akhisaroglu, M., Kuralay, F., & Genc, K. (2002). Erythropoietin restores glutathione peroxidase activity in 1-methyl-4-phenyl-1,2,5,6-tetrahydropyridine-induced neurotoxicity in C57BL mice and stimulates murine astroglial glutathione peroxidase production in vitro. *Neuroscience Letters*, 321(1-2), 73–76.
- Genovesi, S., Rossi, E., Nava, M., Riva, H., De Franceschi, S., Fabbrini, P., ... Stramba-Badiale, M. (2013). A case series of chronic haemodialysis patients: Mortality, sudden death, and QT interval. *Europace*, 15(7), 1025–1033.
- Gershman R. (1964). Biological effects of oxygen. *Dickens,Neil (Eds.) Oxygen in the Animal Organism*, Macmillan, New York, 475–494.
- Giordano, F. J. (2005). Oxygen, oxidative stress, hypoxia, and heart failure. *Journal of Clinical Investigation*, 115(3), 500–508.

- Glass, G. a, & Gershon, D. (1984). Decreased enzymic protection and increased sensitivity to oxidative damage in erythrocytes as a function of cell and donor aging. *The Biochemical Journal*, 218(2), 531–537.
- Glasscock, R. J., Pecoits-Filho, R., & Barberato, S. H. (2009). Left ventricular mass in chronic kidney disease and ESRD. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology: CJASN*, 4 Suppl 1(7), S79–S91.
- Go, A. S., Chertow, G. M., Fan, D., McCulloch, C. E., & Hsu, C. (2004). Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *The New England Journal of Medicine*, 351(13), 1296–1305.
- Gómez, J. M. L., & Carrera, F. (2002). What should the optimal target hemoglobin be? *Kidney International. Supplement*, 61(80), 39–43.
- Gounopoulos P., Merki E., Hansen L. F., Choi S.-H., T. S. (2007). Antibodies to oxidized low density lipoprotein: epidemiological studies and potential clinical applications in cardiovascular disease. *Minerva Cardioangiologica*, 55(6), 821–837.
- Grune, T., Sommerburg, O., & Siems, W. G. (2000). Oxidative stress in anemia. *Clinical Nephrology*, 53(1 Suppl), S18–S22.
- Gu, M., Love, H., Schofield, D., Turkie, W., Odom, N., & Braganza, J. M. (1996). A pilot study of blood antioxidant and free radical marker profiles in patients awaiting coronary artery bypass grafting. *Clin Chim Acta*, 252(2), 181–195.
- Gupta, J., Dominic, E. a., Fink, J. C., Ojo, A. O., Barrows, I. R., Reilly, M. P., ... Raj, D. S. (2015). Association between Inflammation and Cardiac Geometry in Chronic Kidney Disease: Findings from the CRIC Study. *Plos One*, 10(4), e0124772.
- Habig WH, Pabst MJ, J. W. (1974). Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem*, Nov 25;249(22), 7130–7140.
- Harnett, J. D., Foley, R. N., Kent, G. M., Barre, P. E., Murray, D., & Parfrey, P. S. (1995). *Congestive heart failure in dialysis patients: prevalence, incidence, prognosis and risk factors. Kidney international* (Vol. 47).
- Hayashi, T., Suzuki, A., Shoji, T., Togawa, M., Okada, N., Tsubakihara, Y., ... Hori, M. (2000). *Cardiovascular effect of normalizing the hematocrit level during erythropoietin therapy in predialysis patients with chronic renal failure. American journal of kidney diseases: the official journal of the National Kidney Foundation* (Vol. 35).
- Henrique, S. (2008). Review Article Echocardiographic Alterations in Patients with Chronic Kidney Failure Undergoing Hemodialysis, 131–137.
- Henry, R. M. a, Kostense, P. J., Bos, G., Dekker, J. M., Nijpels, G., Heine, R. J., ... Stehouwer, C. D. a. (2002). Mild renal insufficiency is associated with increased cardiovascular mortality: The Hoorn Study. *Kidney International*, 62(4), 1402–7.

- Herrera, J., Nava, M., Romero, F., & Rodríguez-Iturbe, B. (2001). *Melatonin prevents oxidative stress resulting from iron and erythropoietin administration. American journal of kidney diseases: the official journal of the National Kidney Foundation* (Vol. 37).
- Herzog, C. A., Asinger, R. W., Berger, A. K., Charytan, D. M., Díez, J., Hart, R. G., ... Ritz, E. (2011). Cardiovascular disease in chronic kidney disease. A clinical update from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney International*, 80(6), 572–586.
- Herzog, C. A., Ma, J. Z., & Collins, A. J. (1998). Poor long-term survival after acute myocardial infarction among patients on long-term dialysis. *N Engl J Med*, 339(12), 799–805.
- Hijazi, Z., Oldgren, J., Andersson, U., Connolly, S. J., Ezekowitz, M. D., Hohnloser, S. H., ... Wallentin, L. (2012). Cardiac biomarkers are associated with an increased risk of stroke and death in patients with atrial fibrillation: a Randomized Evaluation of Long-term Anticoagulation Therapy (RE-LY) substudy. *Circulation*, 125(13), 1605–16.
- Hirose, S., Hagiwara, H., & Takei, Y. (2001). Comparative molecular biology of natriuretic peptide receptors. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 79(8), 665–672.
- Hissin, P. J., & Hilf, R. (1976). A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. *Analytical Biochemistry*, 74(1), 214–226.
- Hogan, P. G., Hogan, P. G., Chen, L., & Chen, L. (2003). Transcriptional regulation by calcium, calcineurin. *And NFAT. Genes Dev.*, 17(18), 2205–2232.
- Holben, D. H., & Smith, A. M. (1999). The diverse role of selenium within selenoproteins: A review. *Journal of the American Dietetic Association*.
- Hunter, J. J., & Chien, K. R. (1999). Signaling pathways for cardiac hypertrophy and failure. *The New England Journal of Medicine*, 341, 1276–1283.
- Iemitsu, M., Maeda, S., Miyauchi, T., Matsuda, M., & Tanaka, H. (2005). Gene expression profiling of exercise-induced cardiac hypertrophy in rats. *Acta Physiologica Scandinavica*, 185(4), 259–270.
- Ikeda, Y., Suehiro, T., Itahara, T., Inui, Y., Chikazawa, H., Inoue, M., ... Hashimoto, K. (2007). Human serum paraoxonase concentration predicts cardiovascular mortality in hemodialysis patients. *Clinical Nephrology*, 67(6), 358–365.
- Inal, M., Kanbak, G., Sen, S., Akyüz, F., & Sunal, E. (1999). Antioxidant status and lipid peroxidation in hemodialysis patients undergoing erythropoietin and erythropoietin-vitamin E combined therapy. *Free Radical Research*, 31(3), 211–6.
- Iseki, K., Tozawa, M., Yoshi, S., & Fukiyama, K. (1999). Serum C-reactive protein (CRP) and risk of death in chronic dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*, 14(8), 1956–1960.



- Ishizaka, Y., Yamamoto, Y., Tanaka, M., Kato, F., Ishizaka, Y., Yokota, N., ... Kangawa, K. (1995). Molecular forms of human brain natriuretic peptide (BNP) in plasma of patients on hemodialysis (HD). *Clinical Nephrology*, 43(4), 237–242.
- Iwanaga, Y., & Miyazaki, S. (2010). Heart failure, chronic kidney disease, and biomarkers--an integrated viewpoint--. *Circulation Journal: Official Journal of the Japanese Circulation Society*, 74(7), 1274–1282.
- Iwanaga, Y., Nishi, I., Furuichi, S., Noguchi, T., Sase, K., Kihara, Y., ... Nonogi, H. (2006). B-type natriuretic peptide strongly reflects diastolic wall stress in patients with chronic heart failure: comparison between systolic and diastolic heart failure. *Journal of the American College of Cardiology*, 47(4), 742–8.
- Jelkmann, W. (2002). The enigma of the metabolic fate of circulating erythropoietin (Epo) in view of the pharmacokinetics of the recombinant drugs rhEpo and NESP. *European Journal of Haematology*, 69(5-6), 265–74.
- Jelkmann, W. (2004). Molecular biology of erythropoietin. *Internal Medicine (Tokyo, Japan)*, 43(8), 649–659.
- Jofré, R., Rodríguez-Benitez, P., López-Gómez, J. M., & Pérez-García, R. (2006). Inflammatory syndrome in patients on hemodialysis. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, 17(12 Suppl 3), S274–S280.
- Juretić, D., Tadijanović, M., Rekić, B., Simeon-Rudolf, V., Reiner, E., & Baricić, M. (2001). Serum paraoxonase activities in hemodialyzed uremic patients: cohort study. *Croatian Medical Journal*, 42(2), 146–150.
- Kaffer Kara, Amir A. Mahabadi, Marie H. Geisel, Nils Lehmann, Hagen Kälsch, Marcus Bauer, Till Neumann, Nico Dragano, Susanne Moebus, Stefan Möhlenkamp, Karl-Heinz Jöckel, R. E. (2014). B-type natriuretic peptide: distribution in the general population and the association with major cardiovascular and coronary events—The Heinz Nixdorf Recall Study. *Clinical Research in Cardiology*, 103(2), 125–132.
- Kalantar-Zadeh, K., Stenvinkel, P., Pillon, L., & Kopple, J. D. (2003). Inflammation and nutrition in renal insufficiency. *Advances in Renal Replacement Therapy*, 10(3), 155–169.
- Kanda, T., & Takahashi, T. (2004). Interleukin-6 and cardiovascular diseases. *Japanese Heart Journal*, 45, 183–193.
- Kao, M. P. C., Ang, D. S. C., Pall, a, & Struthers, a D. (2010). Oxidative stress in renal dysfunction: mechanisms, clinical sequelae and therapeutic options. *Journal of Human Hypertension*, 24(1), 1–8.
- Kara, K., Lehmann, N., Neumann, T., Kälsch, H., Möhlenkamp, S., Dykun, I., ... Mahabadi, A. A. (2015). NT-proBNP is superior to BNP for predicting first cardiovascular events in the general population: the Heinz Nixdorf Recall Study. *International Journal of Cardiology*, 183, 155–61.

- Katavetin, P., Tungsanga, K., Eiam-Ong, S., & Nangaku, M. (2007). Antioxidative effects of erythropoietin. *Kidney International. Supplement*, (107), S10–S15.
- Kayes-Wandover, K. M., & White, P. C. (2000). Steroidogenic enzyme gene expression in the human heart. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 85(7), 2519–2525.
- Keith, D., Nichols, G., Gullion, C., Brown, J., & Smith, D. (2004). Longitudinal follow-up and outcomes among a population with chronic kidney disease in a large managed care organization. *Archives of Internal Medicine*, 164(6), 659–663.
- Kidd, P. M. (1997). Glutathione: Systemic protectant against oxidative and free radical damage. *Alternative Medicine Review*, 2(3), 155–176.
- Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. (2013). KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney International Supplements*, 3(1), 4–4.
- Klee, C. B., Ren, H., & Wang, X. (1998). Regulation of the calmodulin- stimulated protein phosphatase, calcineurin. *Journal of Biochemistry*, 273(22), 13367–11370.
- Komuro, I., Kaida, T., Shibazaki, Y., Kurabayashi, M., Katoh, Y., Hoh, E., ... Yazaki, Y. (1990). Stretching cardiac myocytes stimulates protooncogene expression. *The Journal of Biological Chemistry*, 265(7), 3595–3598.
- Koren, M. J., Devereux, R. B., Casale, P. N., Savage, D. D., & Laragh, J. H. (1991). Relation of Left Ventricular Mass and Geometry to Morbidity and Mortality in Uncomplicated Essential Hypertension. *Annals of Internal Medicine*, 114(5), 345–352.
- Kosower, N. S., & Kosower, E. M. (1978). The Glutathione Status of Cells. *International Review of Cytology*, 54, 109–160.
- Kottgen, A., Russell, S. D., Loehr, L. R., Crainiceanu, C. M., Rosamond, W. D., Chang, P. P., ... Coresh, J. (2007). Reduced Kidney Function as a Risk Factor for Incident Heart Failure: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Journal of the American Society of Nephrology*, 18(4), 1307–1315.
- Krown, K. A., Page, M. T., Nguyen, C., Zechner, D., Gutierrez, V., Comstock, K. L., ... Sabbadini, R. A. (1996). Tumor necrosis factor  $\alpha$ -induced apoptosis in cardiac myocytes. Involvement of the sphingolipid signaling cascade in cardiac cell death. *Journal of Clinical Investigation*, 98(12), 2854–2865.
- Kujiraoka, T., Oka, T., Ishihara, M., Egashira, T., Fujioka, T., Saito, E., ... Hattori, H. (2000). A sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for human serum paraoxonase concentration, 41, 1–6.

- Kumral, A., Gonenc, S., Acikgoz, O., Sonmez, A., Genc, K., Yilmaz, O., ... Ozkan, H. (2005). Erythropoietin Increases Glutathione Peroxidase Enzyme Activity and Decreases Lipid Peroxidation Levels in Hypoxic-Ischemic Brain Injury in Neonatal Rats. *Neonatology*, 87(1), 15–18.
- Kuo, K., & Tarng, D. (2010). Oxidative Stress in Chronic Kidney Disease. *Adaptive Medicine*, 2(2), 87–94.
- Lahera, V., Goicoechea, M., de Vinuesa, S. G., Oubiña, P., Cachofeiro, V., Gómez-Camperá, F., ... Luño, J. (2006). Oxidative stress in uremia: the role of anemia correction. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, 17(12 Suppl 3), S174–S177.
- Lang, R. M., Badano, L. P., Mor-avi, V., Afilalo, J., Armstrong, A., Ernande, L., ... Voigt, J. (n.d.). Recomendaciones para la Cuantificación de las Cavidades Cardíacas por Ecocardiografía en Adultos: Actualización de la Sociedad Americana de Ecocardiografía y de la Asociación Europea de Imagen Cardiovascular, 27560, 1–64.
- LaPointe, M. C., Deschepper, C. F., Wu, J. P., & Gardner, D. G. (1990). Extracellular calcium regulates expression of the gene for atrial natriuretic factor. *Hypertension*, 15(1), 20–28.
- Lee, T. S., Chang, C. C., Zhu, Y., & Shyy, J. Y. J. (2004). Simvastatin induces heme oxygenase-1: A novel mechanism of vessel protection. *Circulation*, 110(10), 1296–1302.
- Levin, A., Djurdjev, O., Thompson, C., Barrett, B., Ethier, J., Carlisle, E., ... Singer, J. (2005). Canadian randomized trial of hemoglobin maintenance to prevent or delay left ventricular mass growth in patients with CKD. *American Journal of Kidney Diseases*, 46(5), 799–811.
- Levin, A., Singer, J., Thompson, C. R., Ross, H., & Lewis, M. (1996). Prevalent left ventricular hypertrophy in the predialysis population: identifying opportunities for intervention. *American Journal of Kidney Diseases: The Official Journal of the National Kidney Foundation*, 27(3), 347–354.
- Levin, A., Thompson, C. R., Ethier, J., Carlisle, E. J., Tobe, S., Mendelssohn, D., ... Djurdjev, O. (1999). Left ventricular mass index increase in early renal disease: impact of decline in hemoglobin. *American Journal of Kidney Diseases: The Official Journal of the National Kidney Foundation*, 34(1), 125–134.
- Levy, D., Garrison, R. J., Savage, D. D., Kannel, W. B., & Castelli, W. P. (1990). Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham Heart Study. *The New England Journal of Medicine*, 322(22), 1561–1566.
- Liang, F., & Gardner, D. G. (1999). Mechanical strain activates BNP gene transcription through a p38/NF-kappaB-dependent mechanism. *The Journal of Clinical Investigation*, 104(11), 1603–1612.

- Liuzzo, G., Biasucci, L. M., Gallimore, J. R., Grillo, R. L., Rebuffi, A. G., Pepys, M. B., & Maseri, A. (1994). The prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid a protein in severe unstable angina. *N Engl J Med*, *331*(7), 417–424.
- Locatelli, F. (2004). Foreword. *Nephrology Dialysis Transplantation*, *19*(suppl\_2), ii1–ii1.
- Locatelli, F., Aljama, P., Canaud, B., Covic, A., De Francisco, A., MacDougall, I. C., ... Vanholder, R. (2010). Target haemoglobin to aim for with erythropoiesis-stimulating agents: A position statement by ERBP following publication of the Trial to Reduce Cardiovascular Events with Aranesp® Therapy (TREAT) Study. *Nephrology Dialysis Transplantation*.
- Locatelli, F., Canaud, B., Eckardt, K.-U., Stenvinkel, P., Wanner, C., & Zoccali, C. (2003). Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to patient outcome. *Nephrology, Dialysis, Transplantation: Official Publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, *18*(7), 1272–1280.
- Lombardi, R., Rodriguez, G., Chen, S. N., Ripplinger, C. M., Li, W., Chen, J., ... Marian, A. J. (2009). Resolution of established cardiac hypertrophy and fibrosis and prevention of systolic dysfunction in a transgenic rabbit model of human cardiomyopathy through thiol-sensitive mechanisms. *Circulation*, *119*(10), 1398–1407.
- Lombès, M., Oblin, M. E., Gasc, J. M., Baulieu, E. E., Farman, N., & Bonvalet, J. P. (1992). Immunohistochemical and biochemical evidence for a cardiovascular mineralocorticoid receptor. *Circulation Research*, *71*, 503–510.
- London, G. M., Pannier, B., Guerin, A. P., Blacher, J., Marchais, S. J., Darne, B., ... Safar, M. E. (2001). Alterations of left ventricular hypertrophy in and survival of patients receiving hemodialysis: follow-up of an interventional study. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, *12*(12), 2759–2767.
- Longenecker, J. C. (2002). Traditional Cardiovascular Disease Risk Factors in Dialysis Patients Compared with the General Population: The CHOICE Study. *Journal of the American Society of Nephrology*, *13*(7), 1918–1927.
- López-Miranda J, Gómez P, Castro P, Marin C, Paz E, Bravo MD, B. J., & Jiménez-Perepérez J, Fuentes F, P.-J. F. (2000). La dieta mediterránea mejora la resistencia a la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL). *Med Clin (Bar)*, *115*, 361–365.
- Lupu, F., Terwilliger, J. D., Lee, K., Segre, G. V., & Efstratiadis, A. (2001). Roles of growth hormone and insulin-like growth factor 1 in mouse postnatal growth. *Developmental Biology*, *229*(1), 141–62.
- Levine M. (1986). New concepts in the biology and biochemistry of ascorbic acid. *N Engl J Med*, *314*(14), 892–902.
- Macfadyen, R. J., Barr, C. S., & Struthers, A. D. (1997). Aldosterone blockade reduces vascular collagen turnover, improves heart rate variability and reduces early morning rise in heart rate in heart failure patients, 30–34.

- Mackness, M. I., Arrol, S., Abbott, C., & Durrington, P. N. (1993). Protection of low-density lipoprotein against oxidative modification by high-density lipoprotein associated paraoxonase. *Atherosclerosis*, *104*(1-2), 129–135.
- Mackness, M. I., Tames, F. J., Arrol, S., Laing, I., & Durrington, P. N. (1991). Nonenzymatic glycation of apolipoprotein B in diabetic and non-diabetic subjects. *Atherosclerosis*, *90*(2–3), 224.
- Maggi, E., Bellazzi, R., Gazo, A., Seccia, M., & Bellomo, G. (1994). Autoantibodies against oxidatively-modified LDL in uremic patients undergoing dialysis. *Kidney Int*, *46*(3), 869–876.
- Mahmoodi, B. K., Matsushita, K., Woodward, M., Blankestijn, J., Cirillo, M., Ohkubo, T., ... Tonelli, A. M. (2014). Associations of kidney disease measures with mortality and end-stage renal disease in individuals with and without hypertension: a meta-analysis. *NIH Public Access*, *380*(9854), 1649–1661.
- Maisel, a S., Krishnaswamy, P., Nowak, R. M., McCord, J., Hollander, J. E., Duc, P., ... McCullough, P. a. (2002). Rapid measurement of B-type natriuretic peptide in the emergency diagnosis of heart failure. *N Engl J Med*, *347*(3), 161–167.
- Mancia, G., De Backer, G., Dominiczak, A., Cifkova, R., Fagard, R., Germano, G., ... Zanchetti, A. (2007). 2007 Guidelines for the Management of Arterial Hypertension. *Journal of Hypertension*, *25*(6), 1105–1187.
- Mann, D. L. (2003). Stress-activated cytokines and the heart: from adaptation to maladaptation. *Annual Review of Physiology*, *65*(Figure 1), 81–101.
- Mann, D. L., Kent, R. L., & Cooper, G. (1989). Load regulation of the properties of adult feline cardiocytes: growth induction by cellular deformation. *Circ Res*, *64*(6), 1079–1090.
- Mark, P. B., Stewart, G. A., Gansevoort, R. T., Petrie, C. J., McDonagh, T. A., Dargie, H. J., ... Jardine, A. G. (2006). Diagnostic potential of circulating natriuretic peptides in chronic kidney disease. *Nephrology, Dialysis, Transplantation: Official Publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, *21*(2), 402–410.
- Marsillach, J., Martínez-Vea, A., Marcas, L., Mackness, B., Mackness, M., Ferré, N., ... Camps, J. (2007). Administration of exogenous erythropoietin  $\beta$  affects lipid peroxidation and serum paraoxonase-1 activity and concentration in predialysis patients with chronic renal disease and anaemia. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, *34*(4), 347–349.
- Marwick, T. H., Gillebert, T. C., Aurigemma, G., Chirinos, J., Derumeaux, G., Galderisi, M., ... Zamorano, J. L. (2015). Recommendations on the use of echocardiography in adult hypertension: a report from the European Association of Cardiovascular Imaging ( EACVI ) and the American Society of Echocardiography ( ASE ) † Pathophysiology of cardiac, 577–605.

- Massy, Z. A., Stenvinkel, P., & Drueke, T. B. (2009). The role of oxidative stress in chronic kidney disease. *Seminars in Dialysis*, 22(4), 405–408.
- Matsumoto, K., Watanabe, M., Omori, M., Honda, H., Hattori, H., & Akizawa, T. (2010). Serum Paraoxonase 1 (PON1) Concentration as a Marker of Left Ventricular Mass Index (LVMI) and Atherosclerosis in Hemodialysis Patients. *The Showa University Journal of Medical Sciences*, 22(4), 199–209.
- Maxwell, P. H., Ferguson, D. J. P., Nicholls, L. G., Iredale, J. P., Pugh, C. W., Johnson, M. H., & Ratcliffe, P. J. (1997). Sites of erythropoietin production, *51*, 393–401.
- McCullough, P. A. ., Omland, T. ., & Maisel, A. S. . (2003). B-type natriuretic peptides: A diagnostic breakthrough for clinicians (Review). *Reviews in Cardiovascular Medicine*, 4(2), 72–80.
- McCullough, P. a., Nowak, R. M., McCord, J., Hollander, J. E., Herrmann, H. C., Steg, P. G., ... Maisel, A. S. (2002). B-type natriuretic peptide and clinical judgment in emergency diagnosis of heart failure: Analysis from Breathing Not Properly (BNP) Multinational Study. *Circulation*, 106(4), 416–422.
- McElveen, J., Macknees, M. I., Covey, C. M., Peard, T., Warner, S., & Cohn, H. (1986). Distribution of ParaoxonHydrolytic Activityin the Serum of Patientsafter MyocardialInfarction, 32(4), 1985–1987.
- McKinsey, T. a, & Olson, E. N. (1999). Cardiac hypertrophy: sorting out the circuitry. *Current Opinion in Genetics & Development*, 9(3), 267–74.
- McMullin, M. F. (1999). The molecular basis of disorders of red cell enzymes. *Journal of Clinical Pathology*, 52(4), 241–244.
- Meguro, T., Hong, C., Asai, K., Takagi, G., McKinsey, T. a, Olson, E. N., & Vatner, S. F. (1999). Cyclosporine attenuates pressure-overload hypertrophy in mice while enhancing susceptibility to decompensation and heart failure. *Circulation Research*, 84(6), 735–740.
- Menon, V., Greene, T., Wang, X., Pereira, A. A., Marcovina, S. M., Beck, G. J., ... Sarnak, M. J. (2005). C-reactive protein and albumin as predictors of all-cause and cardiovascular mortality in chronic kidney disease. *Kidney International*, 68(2), 766–772.
- Menon, V.; Wang, X.; Greene, T.; Beck, G.L.; Kusek, J. W. ., & Marcovina, S.M.; Levey, A.S.; Sarnak, M. J. (2003). Relationship between C-reactive protein, albumin and cardiovascular disease in patients with chronic kidney disease. *Am. J. Kidney Dis.*, 42, 44–52.
- Metivier, F., Marchais, S. J., Guerin, a P., Pannier, B., & London, G. M. (2000). Pathophysiology of anaemia: focus on the heart and blood vessels. *Nephrology, Dialysis, Transplantation: Official Publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 15 Suppl 3, 14–18.

- Michaud DS, Feskanich D, Rimm EB, Colditz GA, Speizer FE, W. W., & E., G. (2000). Intake of specific carotenoids and risk of lung cancer in 2 prospective US cohorts. *Am J Clin Nutr*, 72, 990–997.
- Michea, L., Villagrán, A., Urzúa, A., Kuntsmann, S., Venegas, P., Carrasco, L., ... Marusic, E. T. (2008). Mineralocorticoid receptor antagonism attenuates cardiac hypertrophy and prevents oxidative stress in uremic rats. *Hypertension*, 52(2), 295–300.
- Mimic-Oka, J., Simic, T., & Djukanovic, L. (2002). Epoetin Treatment Improves Red Blood Cell and Plasma Antioxidant Capacity in Hemodialysis Patients. *Renal Failure*, 24(1), 77–87.
- Miranti, C. K., & Brugge, J. S. (2002). Sensing the environment: a historical perspective on integrin signal transduction. *Nat Cell Biol*, 4(4), E83–E90.
- Misra, H. P., & Fridovich, I. (1972). The Role of Superoxide Anion in the Autoxidation of Epinephrine and a Simple Assay for Superoxide Dismutase The Role of Superoxide Anion in the Epinephrine and a Simple Assay for Superoxide Dismutase. *J. Biol. Chem*, 247(10), 3170–3175.
- Molkentin, J. D., & Dorn, G. W. (2001). Cytoplasmic signaling pathways that regulate cardiac hypertrophy. *Annual Review of Physiology*, 63, 391–426.
- Monfared, A., Salari, A., Kazemnezhad, E., Lebadi, M., Khosravi, M., Mehrjardi, N. K., ... Amini, N. (2013). Association of left ventricular hypertrophy with high-sensitive C-reactive protein in hemodialysis patients. *International Urology and Nephrology*, 45(6), 1679–86.
- Mudd, J. O., & Kass, D. A. (2008). Tackling heart failure in the twenty-first century. *Nature*, 451(7181), 919–928.
- Nardi, E., Palermo, A., Mule, G., Cusimano, P., Cottone, S., & Cerasola, G. (2009). Left ventricular hypertrophy and geometry in hypertensive patients with chronic kidney disease. *J Hypertens*, 27(3), 633–641.
- Németh, I., Túri, S., Haszon, I., & Bereczki, C. (2000). Vitamin E alleviates the oxidative stress of erythropoietin in uremic children on hemodialysis. *Pediatric Nephrology*, 14(1), 13–17.
- Nishikimi, T., Maeda, N., & Matsuoka, H. (2006). The role of natriuretic peptides in cardioprotection. *Cardiovascular Research*, 69(2), 318–328.
- Nolly, M. B., Irene, D., & Ennis, L. (2012). “HIPERTROFIA CARDÍACA PATOLÓGICA: ESTUDIO EXPERIMENTAL DE SU MODIFICACIÓN CON EL EJERCICIO – VÍAS DE SEÑALIZACIÓN. *Tesis Doctoral*.
- Nurko, S. (2006). Anemia in chronic kidney disease: Causes, diagnosis, treatment. *Cleveland Clinic Journal of Medicine*.

- Oberg BP, McMenamin E, Lucas FL, McMonagle E, M., & J, Ikizler TA, H. J. (2004). Increased prevalence of oxidant stress and inflammation in patients with moderate to severe chronic kidney disease. *Kidney Int*, 65, 1009–1016.
- Oie, E., Bjørnerheim, R., Clausen, O. P., & Attramadal, H. (2000). Cyclosporin A inhibits cardiac hypertrophy and enhances cardiac dysfunction during postinfarction failure in rats. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 278(6), H2115–H2123.
- Ortega, L. M., & Contreras, G. (2009). El impacto clínico de los efectos fisiológicos de la eritropoyetina y de los agentes estimulantes de la eritropoyetina en la incidencia de malignidad, trombosis e hipertensión: Más allá de la anemia. *Nefrología*, 29, 288–294.
- Otero, A., de Francisco, A., Gayoso, P., & García, F. (2010). Prevalence of chronic renal disease in Spain: results of the EPIRCE study. *Nefrología: Publicación Oficial de La Sociedad Española Nefrología*, 30(1), 78–86.
- Pacher, P., Schulz, R., Liaudet, L., & Szabó, C. (2005). Nitrosative stress and pharmacological modulation of heart failure. *Trends in Pharmacological Sciences*, 26(6), 302–310.
- Palmer, S. C., Salanti, G., Craig, J. C., Mavridis, D., & Strippoli Giovanni, F. M. (2013). Erythropoiesis stimulating agents for anaemia in adults with chronic kidney disease: a network meta-analysis. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (12), -.
- Paniagua, R., Ventura, M. D. J., Ávila-Díaz, M., Hinojosa-Heredia, H., Méndez-Durán, A., Cueto-Manzano, A., ... Amato, D. (2010). NT-proBNP, fluid volume overload and dialysis modality are independent predictors of mortality in ESRD patients. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 25(2), 551–557.
- Paoletti, E., Bellino, D., Cassottana, P., Rolla, D., & Cannella, G. (2005). Left ventricular hypertrophy in nondiabetic predialysis CKD. *American Journal of Kidney Diseases*, 46(2), 320–327.
- Paragh, G., Asztalos, L., Seres, I., Balogh, Z., Lócsey, L., Kárpáti, I., ... Kakuk, G. (1999). Serum Paraoxonase Activity Changes in Uremic and Kidney-Transplanted Patients. *Nephron*, 83(2), 126–131.
- Paragh, G., Seres, I., Balogh, Z., Varga, Z., Kárpáti, I., Mátyus, J., ... Kakuk, G. (1998). The Serum Paraoxonase Activity in Patients with Chronic Renal Failure and Hyperlipidemia. *Nephron*, 80(2), 166–170.
- Parfrey, P. S., & Foley, R. N. (1999). The clinical epidemiology of cardiac disease in chronic renal failure. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, 10(7), 1606–1615.
- Parfrey, P. S., Foley, R. N., Wittreich, B. H., Sullivan, D. J., Zagari, M. J., & Frei, D. (2005). Double-blind comparison of full and partial anemia correction in incident hemodialysis patients without symptomatic heart disease. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN* (Vol. 16).



- Parfrey, P. S., Lauve, M., Latremouille-Viau, D., & Lefebvre, P. (2009). Erythropoietin therapy and left ventricular mass index in CKD and ESRD patients: a meta-analysis. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology: CJASN*, 4(4), 755–762.
- Passier, R., Zeng, H., Frey, N., Naya, F. J., Nicol, R. L., McKinsey, T. a., ... Olson, E. N. (2000). CaM kinase signaling induces cardiac hypertrophy and activates the MEF2 transcription factor in vivo. *Journal of Clinical Investigation*, 105(10), 1395–1406.
- Patel, R. K., Oliver, S., Mark, P. B., Powell, J. R., McQuarrie, E. P., Traynor, J. P., ... Jardine, A. G. (2009). Determinants of left ventricular mass and hypertrophy in hemodialysis patients assessed by cardiac magnetic resonance imaging. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology: CJASN*, 4(9), 1477–1483.
- Paul J. Lijnen, J. S. P. (2012). Sirtuins, oxidative stress and angiotensin-II mediated cardiac hypertrophy: evidence from animal studies. *Oxidants and Antioxidants in Medical Science*, 1(1), 15–20.
- Pencak, P., Czerwieńska, B., Ficek, R., Wyskida, K., Kujawa-Szewieczek, A., Olszanecka-Glinianowicz, M., ... Chudek, J. (2013). Calcification of coronary arteries and abdominal aorta in relation to traditional and novel risk factors of atherosclerosis in hemodialysis patients. *BMC Nephrology*, 14, 10.
- Pfeffer, M. A., Burdmann, E. A., Chen, C. Y., Cooper, M. E., de Zeeuw, D., Eckardt, K. U., ... Toto, R. (2009). A trial of darbepoetin alfa in type 2 diabetes and chronic kidney disease. *N Engl J Med*, 361(21), 2019–2032.
- Pitt, B., Reichek, N., Willenbrock, R., Zannad, F., Phillips, R. a., Roniker, B., ... Williams, G. H. (2003). Effects of Eplerenone, Enalapril, and Eplerenone/Enalapril in Patients With Essential Hypertension and Left Ventricular Hypertrophy: The 4E-Left Ventricular Hypertrophy Study. *Circulation*, 108, 1831–1838.
- Platt, J. L., & Nath, K. A. (1998). Heme oxygenase: Protective gene or Trojan horse. *Nat Med*, 4(12), 1364–1365.
- Portoles, J. (2001). The beneficial effects of intervention in early renal disease. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 16(suppl 2), 12–15.
- Portoles, J., Torralbo, A., Martin, P., Rodrigo, J., Herrero, J. A., & Barrientos, A. (1997). Cardiovascular effects of recombinant human erythropoietin in predialysis patients. *Am J Kidney Dis*, 29(4), 541–548.
- Powers, S. K., & Lennon, S. L. (1999). Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 58(4), 1025–1033.
- Radermacher, J., & Koch, K. M. (1995). Treatment of renal anemia by erythropoietin substitution. The effects on the cardiovascular system. *Clinical Nephrology*, 44 Suppl 1, S56–S60.

- Rahman, M., Pressel, S., Davis, B. R., Nwachuku, C., Wright Jr., J. T., Whelton, P. K., ... Group, A. C. R. (2006). Cardiovascular outcomes in high-risk hypertensive patients stratified by baseline glomerular filtration rate.[Summary for patients in *Ann Intern Med*. 2006 Feb 7;144(3):133; PMID: 16461958]. *Annals of Internal Medicine*, 144, 172–180.
- Raj, D. S., Dominic, E. A., Pai, A., Osman, F., Morgan, M., Pickett, G., ... Moseley, P. (2005). Skeletal muscle, cytokines, and oxidative stress in end-stage renal disease. *Kidney International*, 68(5), 2338–2344.
- Rao, M., Li, L., Tighiouart, H., Jaber, B. L., Pereira, B. J. G., & Balakrishnan, V. S. (2008). Plasma adiponectin levels and clinical outcomes among haemodialysis patients. *Nephrology, Dialysis, Transplantation: Official Publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 23(8), 2619–28.
- Reichek, N., & Devereux, R. B. (1982). Reliable estimation of peak left ventricular systolic pressure by M-mode echographic-determined end-diastolic relative wall thickness: Identification of severe valvular aortic stenosis in adult patients. *American Heart Journal*, 103(2), 202–209.
- Remy, I., Wilson, I. a, & Michnick, S. W. (1999). Erythropoietin receptor activation by a ligand-induced conformation change. *Science (New York, N.Y.)*, 283(5404), 990–993.
- Rice-Evans CA, M. N. (1996). Antioxidant activities of flavonoids bioactive components of food. *Biochem Soc Trans*, 24, 790–795.
- Rice-Evans CA, Miller NJ, Bolwell PG, Bramley PM, P. J. (1995). The relative antioxidant activities plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radic Res*, 22(4), 375–383.
- Rigatto, C., Foley, R., Jeffery, J., Negrijn, C., Tribula, C., & Parfrey, P. (2003). Electrocardiographic left ventricular hypertrophy in renal transplant recipients: prognostic value and impact of blood pressure and anemia. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, 14(2), 462–468.
- Rigatto, C., Levin, A., House, A. a, Barrett, B., Carlisle, E., & Fine, A. (2009). Atheroma progression in chronic kidney disease. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology: CJASN*, 4(2), 291–8.
- Rigatto, C., Parfrey, P., Foley, R., Negrijn, C., Tribula, C., & Jeffery, J. (2002). Congestive heart failure in renal transplant recipients: risk factors, outcomes, and relationship with ischemic heart disease. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, 13(4), 1084–1090.
- Ritz, E., Laville, M., Bilous, R. W., O'Donoghue, D., Scherhag, A., Burger, U., & de Alvaro, F. (2007). Target level for hemoglobin correction in patients with diabetes and CKD: primary results of the Anemia Correction in Diabetes (ACORD) Study. *American Journal of Kidney Diseases: The Official Journal of the National Kidney Foundation*, 49(2), 194–207.

- Rogacev, K. S., Seiler, S., Zawada, A. M., Reichart, B., Herath, E., Roth, D., ... Heine, G. H. (2011). CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup> monocytes and cardiovascular outcome in patients with chronic kidney disease. *European Heart Journal*, 32(1), 84–92.
- Romeu, M., Nogues, R., Marcas, L., Sánchez-Martos, V., Mulero, M., Martínez-Vea, A., ... Giralt, M. (2010). Evaluation of oxidative stress biomarkers in patients with chronic renal failure: a case control study. *BMC Research Notes*, 3, 20.
- Sadoshima, J. I., Jahn, L., Takahashi, T., Kulik, T. J., & Izumo, S. (1992). Molecular characterization of the stretch-induced adaptation of cultured cardiac cells: An in vitro model of load-induced cardiac hypertrophy. *Journal of Biological Chemistry*, 267(15), 10551–10560.
- Sadoshima, J., & Izumo, S. (1997). The cellular and molecular response of cardiac myocytes to mechanical stress. *Annual Review of Physiology*, 59(56), 551–71.
- Saeed, S. A., Elsharkawy, M., Elsaed, K., & Foda, O. (2008). Paraoxonase-1 (PON1) activity as a risk factor for atherosclerosis in chronic renal failure patients. *Hemodialysis International. International Symposium on Home Hemodialysis*, 12(4), 471–479.
- Sahn, D. J., DeMaria, A., Kisslo, J., & Weyman, A. (1978). Recommendations regarding quantitation in M-mode echocardiography: results of a survey of echocardiographic measurements. *Circulation*, 58(6), 1072–1083.
- Sakata, Y., Masuyama, T., Yamamoto, K., Nishikawa, N., Yamamoto, H., Kondo, H., ... Hori, M. (2000). Calcineurin inhibitor attenuates left ventricular hypertrophy, leading to prevention of heart failure in hypertensive rats. *Circulation*, 102(18), 2269–75.
- Salinas, M., Wang, J., Rosa de Sagarra, M., Martín, D., Rojo, A. I., Martín-Perez, J., ... Cuadrado, A. (2004). Protein kinase Akt/PKB phosphorylates heme oxygenase-1 in vitro and in vivo. *FEBS Letters*, 578(1-2), 90–4.
- Salles, G. F., Fiszman, R., Cardoso, C. R., & Muxfeldt, E. S. (2007). Relation of left ventricular hypertrophy with systemic inflammation and endothelial damage in resistant hypertension. *Hypertension*, 50(4), 723–728.
- Sano, M., Fukuda, K., Kodama, H., Pan, J., Saito, M., Matsuzaki, J., ... Ogawa, S. (2000). Interleukin-6 family of cytokines mediate angiotensin II-induced cardiac hypertrophy in rodent cardiomyocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 275(38), 29717–29723.
- Sano, M., Fukuda, K., Sato, T., Kawaguchi, H., Suematsu, M., Matsuda, S., ... Ogawa, S. (2001). ERK and p38 MAPK, but not NF-kappaB, are critically involved in reactive oxygen species-mediated induction of IL-6 by angiotensin II in cardiac fibroblasts. *Circulation Research*, 89(8), 661–9.
- Santos, C. X. C., Anilkumar, N., Zhang, M., Brewer, A. C., & Shah, A. M. (2011). Redox signaling in cardiac myocytes. *Free Radical Biology & Medicine*, 50(7), 777–793.

- Sarnak, M. J., Coronado, B. E., Greene, T., Wang, S. R., Kusek, J. W., Beck, G. J., & Levey, A. S. (2002). Cardiovascular disease risk factors in chronic renal insufficiency. *Clinical Nephrology*, *57*(5), 327–335.
- Sarnak, M. J., Levey, A. S., Schoolwerth, A. C., Coresh, J., Culleton, B., Hamm, L. L., ... Wilson, P. W. (2003). Kidney Disease as a Risk Factor for Development of Cardiovascular Disease: A Statement from the American Heart Association Councils on Kidney in Cardiovascular Disease, High Blood Pressure Research, Clinical Cardiology, and Epidemiology and Prevention. *Hypertension*, *42*(5), 1050–1065.
- Schafer, F. Q., & Buettner, G. R. (2001). Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. *Free Radical Biology and Medicine*, *30*(11), 1191–1212.
- Schiavon, R., De Fanti, E., Giavarina, D., Biasioli, S., Cavalcanti, G., & Guidi, G. (1996). Serum paraoxonase activity is decreased in uremic patients. *Clinica Chimica Acta*, *247*(1–2), 71–80.
- Schiffrin, E. L., Lipman, M. L., & Mann, J. F. (2007). Chronic kidney disease: effects on the cardiovascular system. *Circulation*, *116*(1), 85–97.
- Seddon, M., Looi, Y. H., & Shah, A. M. (2007). Oxidative stress and redox signalling in cardiac hypertrophy and heart failure. *Heart (British Cardiac Society)*, *93*(8), 903–907.
- Sei, C. A., Irons, C. E., Sprenkle, A. B., Mcdonough, P. M., Brown, J. H., & Glembotski, C. C. (1991). The Alpha-Adrenergic Stimulation of Atrial-Natriuretic-Factor Expression in Cardiac Myocytes Requires Calcium Influx, Protein-Kinase-C, and Calmodulin-Regulated Pathways. *Journal of Biological Chemistry*, *266*(24), 15910–15916.
- Sekhar, R. V., Mckay, S. V., Patel, S. G., Guthikonda, A. P., Reddy, V. T., Balasubramanyam, A., & Jahoor, F. (2011). Glutathione synthesis is diminished in patients with uncontrolled diabetes and restored by dietary supplementation with cysteine and glycine. *Diabetes Care*, *34*(1), 162–167.
- Shah, A. M., & Mann, D. L. (2011). In search of new therapeutic targets and strategies for heart failure: recent advances in basic science. *Lancet (London, England)*, *378*(9792), 704–12.
- Shimizu, H., Kiyohara, Y., Kato, I., Kitazono, T., Tanizaki, Y., Kubo, M., ... Iida, M. (2004). Relationship between plasma glutathione levels and cardiovascular disease in a defined population: The Hisayama study. *Stroke*, *35*(9), 2072–2077.
- Shiojima, I., Sato, K., Izumiya, Y., Schiekofer, S., Ito, M., Liao, R., ... Walsh, K. (2005). Disruption of coordinated cardiac hypertrophy and angiogenesis contributes to the transition to heart failure. *Journal of Clinical Investigation*, *115*(8), 2108–2118.

- Shiomi, T., Tsutsui, H., Matsusaka, H., Murakami, K., Hayashidani, S., Ikeuchi, M., ... Takeshita, A. (2004). Overexpression of Glutathione Peroxidase Prevents Left Ventricular Remodeling and Failure after Myocardial Infarction in Mice. *Circulation*, 109(4), 544–549.
- Shlipak, M. G., Heidenreich, P. A., Noguchi, H., Chertow, G. M., Browner, W. S., & McClellan, M. B. (2002). Association of renal insufficiency with treatment and outcomes after myocardial infarction in elderly patients. *Annals of Internal Medicine*, 137(7), 555–562.
- Shoenfeld, Y. (2004). Are Anti-Oxidized Low-Density Lipoprotein Antibodies Pathogenic or Protective? *Circulation*, 110(17), 2552–2558.
- Shoji, T., Fukumoto, M., Kimoto, E., Shinohara, K., Emoto, M., Tahara, H., ... Nishizawa, Y. (2002). Antibody to oxidized low-density lipoprotein and cardiovascular mortality in end-stage renal disease. *Kidney International*, 62(6), 2230–7.
- Sies H. (1985). Oxidative Stress. *Academic Press, London*, 1–8.
- Silverberg, D. S., Wexler, D., Iaina, A., Steinbruch, S., Wollman, Y., & Schwartz, D. (2006). Anemia, chronic renal disease and congestive heart failure - The cardio renal anemia syndrome: The need for cooperation between cardiologists and nephrologists. *International Urology and Nephrology*.
- Silvestre, J. S., Robert, V., Heymes, C., Aupetit-Faisant, B., Mouas, C., Moalic, J. M., ... Delcayre, C. (1998). Myocardial production of aldosterone and corticosterone in the rat: Physiological regulation. *Journal of Biological Chemistry*, 273(9), 4883–4891.
- Singh, A. K., Szczech, L., Tang, K. L., Barnhart, H., Sapp, S., Wolfson, M., & Reddan, D. (2006). Correction of anemia with epoetin alfa in chronic kidney disease (CHOIR trial). *N Engl J Med*, 355(20), 2085–98.
- Siwik, D. A., Pagano, P. J., & Colucci, W. S. (2001). Oxidative stress regulates collagen synthesis and matrix metalloproteinase activity in cardiac fibroblasts. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, 280(1), C53–C60.
- Sonnenberg, H. (1986). Mechanisms of release and renal tubular action of atrial natriuretic factor. *Federation Proceedings*, 45(7), 2106–2110.
- Sorescu, D., & Griendling, K. K. (2002). Reactive oxygen species, mitochondria, and NAD(P)H oxidases in the development and progression of heart failure. *Congestive Heart Failure (Greenwich, Conn.)*, 8(3), 132–40. Souders, C. A., Bowers, S. L. K., & Baudino, T. A. (2009). Cardiac Fibroblast: The Renaissance Cell. *Circulation Research*, 105(12), 1164–1176.
- Spinale, F. G. (2007). Myocardial matrix remodeling and the matrix metalloproteinases: influence on cardiac form and function. *Physiological Reviews*, 87(4), 1285–342.
- Stenvinkel, P. (2002). Inflammation in end-stage renal disease: could it be treated? *Nephrol. Dial. Transplant.*, 17, 33–38.

- Stocker R, K. J. J. (2004). Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiol Rev* 2004; 84(4): 1381–1478., 84(4), 1381–1478.
- Stone, W. J., Graber, S. E., Krantz, S. B., Dessypris, E. N., O'Neil, V. L., Olsen, N. J., & Pincus, T. P. (1988). *Treatment of the anemia of predialysis patients with recombinant human erythropoietin: a randomized, placebo-controlled trial. The American journal of the medical sciences* (Vol. 296).
- Suehiro T, et al. (2002). Serum paraoxonase (PON!) concentration in patients Undergoinig Hemodialysis.
- Svensson, M., Gorst-Rasmussen, A., Schmidt, E. B., Jorgensen, K. A., & Christensen, J. H. (2009). NT-pro-BNP is an independent predictor of mortality in patients with end-stage renal disease. *Clinical Nephrology*, 71(4), 380–386.
- Sztanek, F., Seres, I., Harangi, M., Lócsey, L., Padra, J., Paragh, G. J. R., ... Parah, G. (2012). Decreased paraoxonase 1 (PON1) lactonase activity in hemodialyzed and renal transplanted patients. A novel cardiovascular biomarker in end-stage renal disease. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 27(7), 2866–2872.
- Takami, Y., Horio, T., Iwashima, Y., Takiuchi, S., Kamide, K., Yoshihara, F., ... Kawano, Y. (2004). Diagnostic and prognostic value of plasma brain natriuretic peptide in non-dialysis-dependent CRF. *American Journal of Kidney Diseases*, 44(3), 420–428.
- Takimoto, E., & Kass, D. A. (2007). Role of oxidative stress in cardiac hypertrophy and remodeling. *Hypertension*.
- Tan, L.-G., Xiao, J.-H., Yu, D.-L., Zhang, L., Zheng, F., Guo, L.-Y., ... Wang, J.-N. (2015). PEP-1-SOD1 fusion proteins block cardiac myofibroblast activation and angiotensin II-induced collagen production. *BMC Cardiovascular Disorders*, 15(1), 116.
- Tanaka, N., Ryoike, T., Hongo, M., Mao, L., Rockman, H. a, Clark, R. G., & Ross, J. (1998). Effects of growth hormone and IGF-I on cardiac hypertrophy and gene expression in mice. *The American Journal of Physiology*, 275(2 Pt 2), H393–9.
- Terrell, A. M., Crisostomo, P. R., Wairiuko, G. M., Wang, M., Morrell, E. D., & Meldrum, D. R. (2006). Jak/STAT/SOCS signaling circuits and associated cytokine-mediated inflammation and hypertrophy in the heart. *Shock (Augusta, Ga.)*, 26(3), 226–234.
- Tonelli, M., Wiebe, N., Culleton, B., House, A., Rabbat, C., Fok, M., ... Garg, A. X. (2006). Chronic kidney disease and mortality risk: a systematic review. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, 17(7), 2034–2047.
- Valderrábano, F. (2000). Efecto de la corrección de la anemia con Eritropoyetina sobre la hipertensión e hipertrofia ventricular izquierda en pacientes con insuficiencia renal crónica en situación pre-diálisis. *Nefrologia: Publicacion Oficial de La Sociedad Espanola Nefrologia*, XX, 81–82.

- van Empel, V. P. M., Bertrand, A. T., van Oort, R. J., van der Nagel, R., Engelen, M., van Rijen, H. V., ... De Windt, L. J. (2006). EUK-8, a superoxide dismutase and catalase mimetic, reduces cardiac oxidative stress and ameliorates pressure overload-induced heart failure in the harlequin mouse mutant. *Journal of the American College of Cardiology*, 48(4), 824–32.
- Van Empel, V. P. M., & De Windt, L. J. (2004). Myocyte hypertrophy and apoptosis: A balancing act. *Cardiovascular Research*, 63, 487–499.
- Vickery, S., Webb, M. C., Price, C. P., John, R. I., Abbas, N. A., & Lamb, E. J. (2008). Prognostic value of cardiac biomarkers for death in a non-dialysis chronic kidney disease population. *Nephrology, Dialysis, Transplantation: Official Publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 23(11), 3546–53.
- Vlagopoulos, P. T., & Sarnak, M. J. (2005). Traditional and nontraditional cardiovascular risk factors in chronic kidney disease. *Med Clin North Am*, 89(3), 587–611.
- Vlagopoulos, P. T., Tighiouart, H., Weiner, D. E., Griffith, J., Pettitt, D., Salem, D. N., ... Sarnak, M. J. (2005). Anemia as a risk factor for cardiovascular disease and all-cause mortality in diabetes: the impact of chronic kidney disease. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, 16(11), 3403–3410.
- Wahl, H. G. (2004). Elimination of the Cardiac Natriuretic Peptides B-Type Natriuretic Peptide (BNP) and N-Terminal proBNP by Hemodialysis. *Clinical Chemistry*, 50(6), 1071–1074.
- Walker, A. M., Schneider, G., Yeaw, J., Nordstrom, B., Robbins, S., & Pettitt, D. (2006). Anemia as a predictor of cardiovascular events in patients with elevated serum creatinine. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, 17(8), 2293–2298.
- Wang, A. Y.-M., & Lai, K.-N. (2008). Use of cardiac biomarkers in end-stage renal disease. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, 19(9), 1643–1652.
- Wang, W. (1994). Chronic administration of aldosterone depresses baroreceptor reflex function in the dog. *Hypertension*, 24, 571–575.
- Watson, a D., Berliner, J. a, Hama, S. Y., La Du, B. N., Faull, K. F., Fogelman, a M., & Navab, M. (1995). Protective effect of high density lipoprotein associated paraoxonase. Inhibition of the biological activity of minimally oxidized low density lipoprotein. *The Journal of Clinical Investigation*, 96(6), 2882–2891.
- Wattanakit, K., Folsom, A. R., Selvin, E., Coresh, J., Hirsch, A. T., & Weatherley, B. D. (2007). Kidney Function and Risk of Peripheral Arterial Disease: Results from the Atherosclerosis Risk in Communities.
- Weber KT. (2000). Aldosterone in congestive heart failure. *N Engl J Med*, 345, 1689–1697.

- Weiner, D. E., Tighiouart, H., Vlagopoulos, P. T., Griffith, J. L., Salem, D. N., Levey, A. S., & Sarnak, M. J. (2005). Effects of anemia and left ventricular hypertrophy on cardiovascular disease in patients with chronic kidney disease. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, 16(6), 1803–1810.
- Weiner, D.E.; Tighiouart, H.; Elsayed, E.F.; Griffith, J. L. . S., & D.N.; Levey, A.S.; Sarnak, M. J. (2008). Inflammation and cardiovascular events in individuals with and without chronic kidney disease. *Kidney Int.*, 73, 1406–1412.
- Wen, D., Boissel, J. P., Showers, M., Ruch, B. C., & Bunn, H. F. (1994). Erythropoietin structure-function relationships. Identification of functionally important domains. *The Journal of Biological Chemistry*, 269(36), 22839–22846.
- Wheeler, C. R., Salzman, J. A., Elsayed, N. M., Omaye, S. T., & Korte, D. W. (1990). Automated assays for superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, and glutathione reductase activity. *Analytical Biochemistry*, 184(2), 193–199.
- Wide, L., Bengtsson, C., & Birgegård, G. (1989). Circadian rhythm of erythropoietin in human serum. *British Journal of Haematology*, 72(1), 85–90.
- Wilkins, B. J., & Molkentin, J. D. (2004). Calcium-calcineurin signaling in the regulation of cardiac hypertrophy. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 322(4), 1178–1191.
- Wing, M. R., Yang, W., Teal, V., Navaneethan, S., Tao, K., Ojo, A., ... Raj, D. S. (2014). Race modifies the association between adiposity and inflammation in patients with chronic kidney disease: Findings from the CRIC study. *Obesity (Silver Spring, Md.)*.
- Wollert, K. C., & Drexler, H. (2001). The role of interleukin-6 in the failing heart. *Heart Failure Reviews*, 6(2), 95–103.
- Wu, G., Fang, Y., Yang, S., Lupton, J. R., & Turner, N. D. (2004). Recent Advances in Nutritional Sciences Glutathione Metabolism and Its Implications for Health 1. *Environmental Health*, 134(December 2003), 489–492.
- Wu, X., Zhang, T., Bossuyt, J., Li, X., McKinsey, T. A., Dedman, J. R., ... Bers, D. M. (2006). Local InsP3-dependent perinuclear Ca<sup>2+</sup> signaling in cardiac myocyte excitation-transcription coupling. *Journal of Clinical Investigation*, 116(3), 675–682.
- Xu, R., Ye, P., Luo, L., Sheng, L., Wu, H., Xiao, W., ... Xiao, T. (2014). Association between high-sensitivity cardiac troponin T and N-terminal pro-brain natriuretic peptide in a community based population. *Chinese Medical Journal*, 127(4), 638—644.
- Xue, J. L., St. Peter, W. L., Ebben, J. P., Everson, S. E., & Collins, A. J. (2002). Anemia treatment in the pre-ESRD period and associated mortality in elderly patients. *American Journal of Kidney Diseases*, 40(6), 1153–1161.



- Yokoyama, T., Nakano, M., Bednarczyk, J. L., McIntyre, B. W., Entman, M., & Mann, D. L. (1997). Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  Provokes a Hypertrophic Growth Response in Adult Cardiac Myocytes. *Circulation*, 95 (5), 1247–1252.
- Young, M., Head, G., & Funder, J. (1995). Determinants of cardiac fibrosis in experimental hypermineralocorticoid states. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, 269(4), E657–E662.
- Yu, B. P. (1994). Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev*, 74(1), 139–162.
- Zannad, F., Alla, F., Dousset, B., Perez, a, & Pitt, B. (2000). Limitation of excessive extracellular matrix turnover may contribute to survival benefit of spironolactone therapy in patients with congestive heart failure: insights from the randomized aldactone evaluation study (RALES). Rales Investigators. *Circulation*, 102, 2700–2706.
- Zehnder, C., Zuber, M., Sulzer, M., Meyer, B., Straumann, E., Jenzer, H. R., & Blumberg, A. (1992). Influence of long-term amelioration of anemia and blood pressure control on left ventricular hypertrophy in hemodialyzed patients. *Nephron*, 61(1), 21–25.
- Zhai, P., Galeotti, J., Liu, J., Holle, E., Yu, X., Wagner, T., & Sadoshima, J. (2006). An angiotensin II type 1 receptor mutant lacking epidermal growth factor receptor transactivation does not induce angiotensin II-mediated cardiac hypertrophy. *Circulation Research*, 99(5), 528–36.
- Zhang, W., Kowal, R. C., Rusnak, F., Sikkink, R. a, Olson, E. N., & Victor, R. G. (1999). Failure of calcineurin inhibitors to prevent pressure-overload left ventricular hypertrophy in rats. *Circulation Research*, 84(6), 722–8.
- Zhao, W. (2006). ANG II-induced cardiac molecular and cellular events: role of aldosterone. *AJP: Heart and Circulatory Physiology*, 291(1), H336–H343.