

TEMAS DE ACTUALIZACIÓN

Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas "Victoria de Girón"
Cibiomed

EL ESTRÉS OXIDATIVO EN LA FISIOPATOLOGÍA DEL TRASPLANTE RENAL

Dr. Alberto Saldaña Bernabeu, Dra. Bárbara Elena García Triana, Dr. Antonio Enamorado Casanova y Dr. José Carlos García Piñeiro

RESUMEN

Se recopilaron las principales evidencias aparecidas en la literatura de los últimos años que vinculan a las especies reactivas del oxígeno con los mecanismos fisiopatológicos que se presentan como resultado del trasplante de riñón. Estos hallazgos demostraron que la acción deletérea de los metabolitos tóxicos derivados del oxígeno se encontraba implicada tanto en el fenómeno de isquemia-reperfusión propio de cualquier tipo de trasplante, como en los episodios de rechazo agudo al injerto. Se analizó también la posible relación entre la generación de especies reactivas del oxígeno y la terapia inmunosupresora o los cambios vasculares tardíos que atentan contra la supervivencia del injerto.

Descriptores DeCS: TRASPLANTACION DE RIÑON. TRAUMATISMO POR REPERFUSIÓN/fisiopatología; ESPECIES DE OXIGENO REACTIVO/metabolismo; ESTRÉS OXIDATIVO; SUPERVIVENCIA DE INJERTO

Los resultados de los trasplantes han mejorado notablemente en los últimos 20 años. El progreso que se ha producido en este campo se manifiesta en el incremento de los índices de supervivencia registrados en diferentes países en el primer año.¹ Los avances recientes en inmunobiología e inmunofarmacología han desempeñado un papel esencial en el incremento de estas tasas, pues han conducido a una mejor comprensión de las acciones de las drogas inmunosupresoras y por esta razón han

generado diseños más racionales de los esquemas de inmunosupresión.² A pesar de ello se discute con un enfoque multilateral sobre los desafíos que aún enfrenta el trasplante, que van más allá de la respuesta inmunológica al tejido trasplantado. Se han convertido también en importantes líneas de investigación en esta rama del conocimiento, las técnicas de conservación del órgano a trasplantar,³ el fenómeno del daño tisular por isquemia-reperfusión,⁴ la sepsis,⁵ y los cambios

vasculares que originan la disfunción tardía del injerto.⁶

Existen evidencias de que el daño celular oxidativo está implicado en todos estos procesos.⁷ Este tipo de alteración tisular, que se ha estudiado en múltiples enfermedades en las últimas décadas,⁸ puede constituir un punto de contacto entre diferentes aristas fisiopatológicas del cuadro del paciente sometido al reemplazo de un órgano sólido, y en particular el riñón. El análisis de estos hallazgos abre la posibilidad de nuevas perspectivas terapéuticas dirigidas a enfrentar la sobrecarga de especies reactivas del oxígeno (ERO) con un esquema antioxidante equilibrado.

FENÓMENO DE ISQUEMIA-REPERFUSIÓN

Al extraer un riñón para trasplante se somete a un período variable de hipoperfusión e isquemia. La depleción energética es la responsable de una cascada de eventos bioquímicos que conducen a la disfunción celular, al daño subletal y eventualmente a la muerte. Las consecuencias fundamentales derivan de la disminución del transporte activo dependiente de adenosintrifosfato (ATP) con pérdida de los gradientes iónicos que determinan la polaridad del epitelio tubular, la activación no regulada de sistemas enzimáticos nocivos como las fosfolipasas y las proteasas, el daño oxidativo causado por el incremento de especies reactivas del oxígeno (ERO), y las alteraciones del citoesqueleto. Se ha demostrado que el incremento del calcio intracelular se asocia con un aumento en la producción de ERO. La acumulación de este ion en el interior de la mitocondria y el estrés oxidativo, pueden disparar la organización y apertura de un poro de alta conductancia en su membrana interna. Este fenómeno conocido como transición de la

permeabilidad mitocondrial (TPM) detiene la producción de ATP y desencadena la producción de ERO. En el caso del trasplante estos eventos adquieren una mayor relevancia, si se tiene en cuenta que la ciclosporina A (CsA), una droga muy usada en la inmunosupresión, es un inhibidor específico de la TPM.⁹

Durante la isquemia el ATP se degrada en las células endoteliales y parenquimatosas a ADP y AMP. Las células epiteliales son relativamente impermeables a estos nucleótidos. Si la falta de oxígeno se prolonga el AMP se metaboliza a nucleósidos e hipoxantina. Estas purinas sí pueden difundir al exterior de las células renales isquémicas. Esto provoca una pérdida de metabolitos de reserva para la resíntesis de ATP. Se han detectado altas concentraciones de hipoxantina tanto en la sangre venosa como en el tejido renal. Además se produce una redistribución del hierro almacenado hacia formas de mayor disponibilidad. El hierro libre en el espacio urinario se considera un importante promotor de la producción de radicales libres, lo que concuerda con la protección que ofrece a las células tubulares el compuesto quelante deferroxamina.¹⁰ Así mismo, se ha reconocido que los eliminadores de ERO que se filtran en el glomérulo o se secretan por los túbulos, como la superóxidación dismutasa (SOD) y el oxipurinol, protegen la función renal; mientras moléculas de elevado peso molecular como la catalasa (CAT), que no se filtran, pueden ser poco efectivas en la protección glomérulo-tubular ante el daño radicalico (Haraldsson G. *Radical production after warm ischaemia. [Thesis]. Goteborg, 1993:14*).

En esta etapa se debilitan los mecanismos de defensa antioxidante en el tejido renal. Disminuye la concentración de glutatión reducido, lo que puede reflejar

una disminución de su síntesis o un aumento de su consumo. También se ha demostrado la disminución de la vitamina E en la corteza en un modelo de riñones de conejo, conservados en una solución Euro-Collins en condiciones de hipotermia.¹¹

La reperfusión garantiza el aporte de oxígeno necesario para restablecer la actividad metabólica normal, pero a su vez es el factor desencadenante de un incremento del daño celular. Así, la llegada del oxígeno completa los requisitos para la producción masiva de ERO, al reperfundir el riñón trasplantado. La formación de ERO se debe a una cadena de reacciones iniciada con la formación del radical superóxido por la xantina oxidasa o los polimorfonucleares (PMN) activados. Como consecuencia de la formación de aniones superóxido por la xantina oxidasa se forman el peróxido de hidrógeno y el radical hidroxilo. Éstos pueden aparecer en diferentes localizaciones en el riñón isquémico. Varias evidencias apuntan a que la mayor parte de las ERO se generan durante la reperfusión en el espacio intravascular, el intersticio o en la orina, donde los sistemas antioxidantes se encuentran más deprimidos.¹¹ Estos metabolitos pueden dañar todas las moléculas biológicas. El ataque radicalico a los lípidos genera su peroxidación. Esto ha sido corroborado por varios autores que han informado un aumento de las concentraciones plasmáticas de malondialdehído.¹²

Estos elementos justifican el empleo de sustancias antioxidantes en las soluciones de conservación de más probada eficacia y las que se encuentran en fase de ensayo.³ De esta manera pueden minimizarse los cambios citados durante el período de conservación.¹³ Por ejemplo, la adición de eliminadores de la formación de ERO a la solución empleada en la Universidad de Wisconsin evita la peroxidación lipídica.^{14,15} Las alteraciones morfofuncionales que se

observan en el tejido renal posisquémico se han logrado atenuar mediante el pretratamiento con alopurinol, SOD o CAT.

Las ERO también constituyen importantes mediadores de la señalización intercelular lo que se manifiesta en el efecto quimiotáctico del anión superóxido. La liberación de ERO por los PMN activados amplifica la señal y causa una activación adicional.¹⁶ Se ha considerado a los neutrófilos como una de las fuentes principales de ERO en el período temprano postrasplante.¹⁷

No sólo están deprimidos los sistemas antioxidantes del riñón isquémico a trasplantar, también se plantea que en la insuficiencia renal crónica terminal que padece el receptor aumenta el estrés oxidativo.¹⁸ El receptor del trasplante tiene una producción incrementada de radicales libres, depleción de los sistemas antioxidantes y cambios en la composición de las lipoproteínas, producto del fallo renal. Esto conduce a un incremento en la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y por lo tanto favorece el desarrollo de aterosclerosis acelerada. Se sospecha que la hemodiálisis exacerba el flujo de ERO y aumenta el daño oxidativo,¹⁹ por lo que al implantar el órgano renal, éste será también blanco del ataque radicalico. Esto puede comprobarse por un incremento en el daño a sus principales macromoléculas.¹⁸

RESPUESTA INMUNE

El daño resultante del fenómeno de isquemia-reperfusión predispone al rechazo agudo y crónico del injerto, al aumentar la inmunogenicidad del tejido trasplantado por un aumento de la expresión de moléculas del sistema principal de histocompatibilidad y moléculas de adhesión.²⁰ Las ERO generadas durante la

reperfusión son importantes inductores de la apoptosis de células tubulares, por lo que este mecanismo también ha sido implicado como consecuencia del fenómeno de isquemia y reperfusión.²¹

Entre las células involucradas en el rechazo agudo se encuentran los leucocitos de la familia monocito/macrófago, que se incrementan en los glomerulos y el intersticio renal y aumentan la expresión de antígenos MHC clase II. Durante la activación fagocítica de estas células manifiestan un intenso incremento de consumo de oxígeno, denominado explosión respiratoria que depende del sistema enzimático NADPH oxidasa, capaz de generar grandes cantidades de ERO.^{21,22} Se ha sugerido también que durante el rechazo agudo la formación del anión peroxinitrito puede ser responsable de la inactivación de la enzima SOD.²³

TRATAMIENTO INMUNOSUPRESOR

La introducción de la CsA para el uso clínico ha favorecido grandemente la evolución de los trasplantes de órganos. Sin embargo, la CsA puede causar nefrotoxicidad. El mecanismo molecular responsable de este efecto no se ha establecido aún, pero se sabe que disminuye la filtración glomerular y el flujo sanguíneo renal. Se ha sugerido que la generación de ERO y la consiguiente peroxidación lipídica pueden contribuir a su potencial nefrotóxico.^{24,25} Esta hipótesis se apoya en que los cambios en el patrón electroforético de las proteínas renales inducidos por la droga pueden evitarse, al menos en parte, mediante la coadministración de los eliminadores de radicales vitamina C y vitamina E.²⁶

El compromiso inmunológico provocado por este medicamento favorece la in-

fección por microorganismos como el citomegalovirus (CMV). El estrés oxidativo estimula su replicación en células endoteliales humanas e incrementa la estimulación de dichas células por las citoquinas, así como la expresión de moléculas del sistema principal de histocompatibilidad y moléculas de adhesión. De esta forma puede contribuir a la diseminación de la infección. Así, las ERO pueden estimular una respuesta inmune específica contra el CMV, que estimularía la inflamación del injerto y consecuentemente generaría un círculo de retroalimentación positiva con un incremento adicional del estrés oxidativo. En este sentido se ha propuesto que la terapéutica antioxidante puede tener un efecto inmunomodulador y antiviral.²⁷

RECHAZO CRÓNICO

Las tasas de supervivencia del injerto después del primer año no han experimentado los adelantos de los índices observados durante el primero. Es por ello que hoy se presta una gran atención a los factores que limitan la supervivencia de los injertos a largo plazo. El rechazo crónico se ha convertido en el mayor desafío en este sentido.²⁸ El desarrollo de hiperplasia de la íntima se reconoce como uno de los impedimentos principales al funcionamiento normal de los injertos.^{28,29} Estudios recientes indican que el daño mediado por la infiltración de PMN y ERO está implicado en el desarrollo temprano de este proceso.³⁰ Por ejemplo los indicadores de estrés oxidativo están incrementados en los receptores de trasplante que sufren rechazo crónico,³¹ y el tratamiento antioxidante con lazaroides es útil en el control del desarrollo de dicho trastorno.³² La hiperplasia puede desencadenar la aterosclerosis acelerada, que se acompaña de alteraciones de la contractilidad de la célula muscular lisa.²⁸

Las ERO tienen efectos mitogénicos potentes y pueden inducir el crecimiento de las células musculares lisas vasculares (CMLV) y las células mesangiales glomerulares (CMG), por la vía de la proteína quinasa activada por mitógeno. El estrés oxidativo activa la vía de señalización que involucra a los receptores del factor de crecimiento derivado de plaquetas, que contribuyen a los efectos mitogénicos de las ERO. También estas especies pueden producir la oxidación de lipoproteínas y dañar las células endoteliales e inducir el crecimiento tanto de CMLV como CMG. El incremento de las lipoproteínas oxidadas, otro efecto de las ERO, se asocia con aterosclerosis y glomeruloesclerosis.³³

CONSIDERACIONES FINALES

Queda clara la participación de las ERO en los principales eventos fisiopatológicos del trasplante como causantes de diferentes mecanismos de daño tisular. Las investigaciones futuras deberán encaminarse a delinear de manera más precisa, el comportamiento cinético del complejo conjunto de componentes del equilibrio prooxidante/antioxidante a lo largo de la evolución del paciente que se le ha realizado un trasplante. Esto permitiría el diseño de estrategias específicas y seguras de intervención con moléculas antioxidantes que garanticen el restablecimiento del balance perdido.

SUMMARY

The main evidences that have appeared in literature during the last years and that link the reactive oxygen species to the physiopathological mechanism that result from kidney transplantation were collected in this paper. These findings showed that the deleterious action of the toxic metabolites derived from oxygen is involved in the ischemia-reperfusion phenomenon that is characteristic of any type of transplantation and in the episodes of acute rejection to graft. It was also analyzed the possible relationship between the generation of reactive oxygen species and the immunosuppressing therapy or the late vascular changes that are against the graft survival.

Subject headings: KIDNEY TRANSPLANTATION; REPERFUSION INJURY/physiopathology; REACTIVE OXYGEN SPECIES/metabolism; OXIDATIVE STRESS; GRAFT SURVIVAL.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cecka M. Clinical outcome of renal transplantation. *Surg Clin North Am* 1998;78(1):133-48.
2. First MR. Clinical application of immunosuppressive agents in renal transplantation. *Surg Clin North Am* 1998;78(1):61-76.
3. Sellke FW, Richter HW, Dunphy G, Azodi M, Ely DL. Twenty-four-hour heart preservation using continuous cold perfusion and copper (II) complexes. *J Surg Res* 1998;80(2):171-6.
4. Grinyó JM. Reperfusion injury. *Transplant Proc* 1997;29(1-2):59-62.
5. Heemann UW, Azuma H, Tullius SG, Schmid C, Philipp T, Tilney NL. Infections and reduced functioning kidney mass induce chronic rejection in rat kidney allografts. *Clin Nephrol* 1996;46(1):34-8.
6. Simicogrivic S. Markers of oxidative stress after renal transplantation. *Transpl Int* 1998;11(suppl 1):S125-9.
7. Halloran PF. The "injury response": a concept linking nonspecific injury, acute rejection and long term transplant outcomes. *Transplant Proc* 1997;29(1-2):79-81.
8. Singh K. Oxidants, antioxidants and diseases a brief review. *Indian J Med Sci* 1997;51(7):226-30.
9. Kristian T, Siesjo BK. Calcium in ischemic cell death. *Stroke* 1998;29(3):705-18.

10. Gower JD, Healing G, Fuller BJ, Green CJ. Iron redistribution and lipid peroxidation in cold ischaemic kidney. En: Emerit. Antioxidant in therapy and preventive medicine. New York:Plenum,1990:393-6.
11. Defraigne JO, Pincemail J, Detry O, Franssen C, Meurisse M, Limet R. Variations of glutathione and vitamin E concentrations after hypothermic storage in Euro-Collins solution and reperfusion of rabbit kidney. *Transplant Proc* 1995;27(5):2783-5.
12. Auer T, Khoschsorur GA, Rabl H, Iberer F, Petutschnigg B, Wasler E, *et al.* Detection of lipid peroxidation products by malondialdehyde in organ transplantation. *Transplant Proc* 1995;27(5):2749-51.
13. Schwalb H, Grinberg L, Yaroslavsky Houminer E, Lazarovici G, Von oppel U, Worthington M *et al.* New solution for prolonged myocardial preservation for transplantation. *J Heart Lung Transplant* 1998;17(2):222-9.
14. Peters SM, Rauhen U, Tijssen MJ, Bindels RJ, Os CH van, De Groot H. *et al.* Cold preservation of isolated rabbit proximal tubules induces radical-mediated cell injury. *Transplantation* 1998;65(5):625-32.
15. Chiang CH, Wu K, Yu CP, Perng WC, Yan HC, Wu CP, *et al.* Protective agents used as additive in University of Wisconsin solution to promote protection against ischaemia reperfusion injury in rat lung. *Clin Sci Colch* 1998;95(3):369-76.
16. Linas SL, Whittenburg D, Parson PE, Repine JE. Ischemia increases neutrophil retention and worsens acute renal failure: role of oxygen metabolites and ICAM 1. *Kidney Int* 1995;48:1584.
17. Lojek A. Phagocyte-induced oxidative stress in patients with haemodialysis treatment and organ transplantation. *Biofactors* 1998;8(1-2):165-8.
18. Hasselwander O, Young IS. Oxidative stress in chronic renal failure. *Free Radic Res* 1998;29(1):1-11.
19. Odetti P, Garibaldi S, Gurreri G, Aragno I, Dapino D, Pronzato MA, *et al.* Protein oxidation in hemodialysis and kidney transplantation. *Metabolism* 1996;45(11):1319-22.
20. Suthanthiran M, Strom TB. Mechanisms and management of acute renal allograft rejection. *Surg Clin North Am* 1998;78(1):77-94.
21. Burns AT, Davies DR, McLaren AJ, Cerundolo L, Morris PJ, Fuggle SV. Apoptosis in ischemia/reperfusion injury of human renal allografts. *Transplantation* 1998;66(7):872-6.
22. Andersen CB. Acute kidney graft rejection morphology and immunology. *APMIS* 1997;67(Suppl):1-35.
23. MacMillan-Crow LA. Peroxynitrite-mediated inactivation of manganese superoxide dismutase involves nitration and oxidation of critical tyrosine residues. *Biochemistry* 1998;37(6):1613-22.
24. Wolf A, Trendelenburg CF, Diez-Fernández C, Prieto P, Houy S, Trommer WE, *et al.* Cyclosporine A-induced oxidative stress in rat hepatocytes. *J Pharmacol Exp Ther* 1997;280:1328-34.
25. Parra T. Cyclosporine increases local glomerular synthesis of reactive oxygen species in rats: effect of vitamin E on cyclosporine nephrotoxicity. *Transplantation* 1998;66(10):1325-9.
26. Benito B, Wühl D, Steudel N, Cordier A, Steiner S. Effects of cyclosporine A on the rat liver and kidney protein pattern, and the influence of vitamin E and C coadministration. *Electrophoresis* 1995;16:1273-83.
27. Scholz M, Cinalt J, Gross V, Vogel J, Blaheta RA, Freisleben HJ, *et al.* Impact of oxidative stress on human cytomegalovirus replication and on cytokine-mediated stimulation of endothelial cells. *Transplantation* 1996;61(12):1763-70.
28. Hayry P. Pathophysiology of chronic rejection. *Transplant Proc* 1996;28(6 suppl 1):7-10.
29. Gullestad L, Nordal KP, Forfang K, Ihlen H, Hostmark A, Berg KJ, *et al.* Post-transplant hyperlipidaemia: Low-dose lovastatin lowers atherogenic lipids without plasma accumulation of lovastatin. *J Int Med* 1997;242:483-90.
30. Davies MG, Hagen PO. Pathophysiology of vein graft failure. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1995;9:7.
31. Cristol JP, Vela C, Maggi MF, Descomps B, Mourand G. Oxidative stress and lipid abnormalities in renal transplant recipient with or without chronic rejection. *Transplantation* 1998;65(10):1322-8.
32. Davies MG, Dalen H, Hagen PO. Lazaroid therapy (methylaminochroman:U83836E) reduces vein graft intimal hyperplasia. *J Surg Res* 1996;63:128-36.
33. Dubey RK, Jackson EK, Rupprecht HD, Sterzel RB. Factors controlling growth and matrix production in vascular smooth muscle and glomerular mesangial cells. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1997;6(1):88-105.

Recibido: 12 de mayo de 1999. Aprobado: 21 de mayo de 1999.

Dr. *Alberto Saldaña Bernabeu*. Instituto Superior de Medicina Militar "Dr. Luis Díaz Soto". Avenida Monumental. Habana del Este. Ciudad de La Habana.