



Disfunción endotelial en la insuficiencia renal crónica

A. Cases^{*,***}, E. Bragulat^{***}, M. Serradell^{**}, M. Vera^{*}, A. de la Sierra^{***} y G. Escoler^{**}

*Servicios de Nefrología y **Hemoterapia y Hemostasia y ***Unidad de Hipertensión Arterial. Hospital Clínic. IDIBAPS. Universidad de Barcelona. Barcelona.

INTRODUCCIÓN

A pesar de los avances recientes en el tratamiento sustitutivo renal, la mortalidad en los pacientes con insuficiencia renal crónica terminal es muy elevada. Los registros de pacientes en tratamiento sustitutivo renal en distintas poblaciones (USA, Europa, Australia, Japón), incluyendo nuestro país, coinciden en indicar que alrededor del 50% de las muertes son debidas a complicaciones cardiovasculares¹⁻⁵. La patología cardiovascular es la principal causa de muerte en los pacientes urémicos, con una incidencia entre 10 y 20 veces superior a la de la población general^{1,5}. En una era en la que la mortalidad cardiovascular disminuye en la población general del mundo occidental, no se ha observado esta reducción en los pacientes con insuficiencia renal crónica terminal.

La prevalencia aproximada de enfermedad coronaria, hipertrofia ventricular izquierda e insuficiencia cardíaca en pacientes en diálisis es de 40, 75 y 40%, respectivamente, muy superior a la población general⁵. El riesgo de eventos cardíacos, tales como infarto de miocardio, en pacientes en tratamiento sustitutivo renal es 3,5-50 veces superior a la población general, según datos de los registros europeo y americano^{2,6}. Este elevado riesgo cardiovascular afecta tanto a pacientes en tratamiento sustitutivo renal (hemodiálisis y diálisis peritoneal)⁷, como a pacientes en tratamiento conservador⁸. Por ello, el riesgo cardiovascular en los pacientes urémicos debe contemplarse como un continuo que se inicia precozmente, ya en las primeras fases de la insuficiencia renal, y que va progresando cuando el paciente está en tratamiento sustitutivo. La mayor morbi-mortalidad cardiovascular en los pacientes urémicos llevó a proponer, ya en los años 70, la existencia de una «aterogénesis acelerada» en los

pacientes en diálisis⁹, y durante años se postuló que ello era debido a la acumulación de un «factor urémico». Aunque esta hipótesis es todavía motivo de controversia, la elevada mortalidad cardiovascular se mantiene a pesar de los avances tecnológicos conseguidos en diálisis durante los últimos años.

La insuficiencia renal crónica se asocia con una mayor prevalencia de factores de riesgo cardiovascular «clásicos» (Framingham): edad, historia familiar de enfermedad cardiovascular, hipertensión arterial, diabetes, tabaquismo, hiperlipemia, hipertrofia ventricular izquierda o sedentarismo. Sin embargo, basado en el análisis convencional de factores de riesgo cardiovascular para la población general, estos factores no explican totalmente el extraordinario aumento de morbi-mortalidad cardiovascular en estos pacientes. Por ello, se ha postulado que factores de riesgo cardiovascular alternativos estarían implicados en el elevado riesgo cardiovascular que presentan estos pacientes. La prevalencia de «nuevos» factores de riesgo cardiovascular [lipoproteína (a), hiperhomocisteinemia; hiperfibrinogenemia, proteína C reactiva, etc.] es elevada en los pacientes urémicos. Asimismo, situaciones propias de la insuficiencia renal crónica terminal favorecerían el aumento de riesgo cardiovascular: la hipervolemia, la anemia, el estado hiperdinámico inducido por el acceso vascular, las alteraciones del metabolismo calcio-fósforo y el hiperparatiroidismo; la acumulación de productos metabólicos, como los productos finales de glicosilación avanzada (AGEs) o de inhibidores endógenos de la síntesis de óxido nítrico, como la dimetil-arginina asimétrica (ADMA) o simétrica (SDMA), etc.

El endotelio vascular es la diana más probable de los factores aterogénicos. La disfunción endotelial es considerada el evento inicial en el desarrollo de aterosclerosis¹⁰. Además, el endotelio modula las propiedades mecánicas y geométricas de las grandes arterias y la remoción del endotelio produce un aumento del diámetro arterial. Por ello, la disfunción endotelial podría estar implicada no sólo en el desarrollo de la aterosclerosis, sino también en el remodelado vascular (arteriosclerosis) y, en definitiva, en el elevado riesgo cardiovascular descrito en los

Correspondencia: Aleix Cases
Servicio de Nefrología
Hospital Clínic
C/ Villarroel, 170
08036 Barcelona
E-mail: acases@clinic.ub.es

pacientes urémicos¹¹. Patologías asociadas con un riesgo cardiovascular aumentado en la población general, tales como diabetes, hipertensión, hipercolesterolemia, o tabaquismo se asocian con una disfunción endotelial¹². En esta revisión se discutirá brevemente las propiedades fisiológicas del endotelio sano y se analizarán las evidencias de la existencia de una disfunción endotelial en la uremia.

FISIOLOGÍA DEL ENDOTELIO VASCULAR

En los últimos años se ha demostrado que el endotelio es algo más que una simple barrera inerte entre la sangre y la pared vascular. Es un elemento activo que participa en la regulación del tono vascular, del crecimiento y migración de la fibra muscular lisa vascular subyacente y del mantenimiento de la arquitectura vascular, en la regulación la composición de la matriz subendotelial, de la permeabilidad a sustancias, de fenómenos inflamatorios (reclutamiento y transmigración de leucocitos y plaquetas), y del balance entre coagulación y fibrinólisis. Ello requiere la participación de distintos mediadores que tienen como núcleo central la célula endotelial, requiriendo de su integridad tanto funcional como estructural, para su buen funcionamiento^{12,13}.

Control del tono vascular

El endotelio regula el tono vascular mediante la liberación de distintos agentes vasoactivos en respuesta a cambios de la presión arterial, estrés de cizallamiento o niveles de mediadores circulantes. El óxido nítrico (NO), sintetizado a nivel de la célula endotelial, constituye uno de los factores vasodilatadores más estudiados en los últimos años. Es producido por la transformación de la L-arginina a L-citrulina mediante la participación de la enzima NO sintasa. La isoforma que se encuentra a nivel de las células endoteliales es el tipo III (eNOS), que se expresa de forma constitutiva, y se activa en respuesta a estímulos mecánicos —fuerza de rozamiento—, a través de receptores específicos (p.ej.: acetilcolina) o tras estimulación de canales de calcio. La NOS precisa un cofactor, la tetrahidrobiopterina (BH₄), que es esencial para conseguir un flujo adecuado de electrones para oxidar la L-arginina, por lo que la producción endotelial de NO precisa de concentraciones adecuadas de este agente. Además, las citoquinas pueden estimular la forma inducible de la NO sintasa (iNOS). El óxido nítrico producido por las células endoteliales alcanza las células muscula-

res lisas de la capa subyacente, donde, a través de la activación de la guanilatoclasa soluble aumenta los niveles de GMP cíclico intracelulares, lo que conlleva una relajación de las células musculares y vasodilatación. El NO también inhibe la adhesión, activación y secreción plaquetarias, la adhesión de leucocitos al subendotelio y la expresión de moléculas de adhesión, así como la migración y proliferación de la fibra muscular lisa vascular, entre otros efectos¹².

Además del NO, la célula endotelial produce otros agentes vasodilatadores, tales como el factor hiperpolarizante dependiente de endotelio (EDHF), que abre los canales de K⁺^{12,13}; el péptido natriurético atrial tipo C¹⁴, la adrenomedulina¹⁵, o la prostaciclina¹² (PGI₂). Esta última es sintetizada a nivel de la célula endotelial a partir del ácido araquidónico y tiene un papel en la relajación de las células musculares lisas e inhibición de la agregación plaquetaria aumentando la producción de AMP cíclico¹⁶.

Los mediadores endoteliales que participan en la vasoconstricción son: la angiotensina II, la endotelina, productos derivados del metabolismo del ácido araquidónico (tromboxano A₂ o endoperóxidos), o los radicales libres de oxígeno. La angiotensina II se produce localmente mediante la participación de la enzima convertidora de la angiotensina I que se encuentra expresada en la superficie de las células endoteliales¹⁷. La angiotensina II a través de la activación de los receptores AT₁ induce vasoconstricción, favorece la proliferación celular, induce fenómenos de inflamación y un estado protrombótico. La endotelina es el vasoconstrictor más potente sintetizado por la célula endotelial, actúa induciendo la vasoconstricción de la fibra muscular lisa vascular a través del receptor ET_A de forma autocrina/paracrina. Estudios utilizando antagonistas de endotelina han demostrado que la producción basal de endotelina contribuye al tono vascular basal en el hombre. Además, este péptido favorece la proliferación de la fibra muscular lisa vascular¹⁸.

Así pues el endotelio vascular regula el tono vascular a través de la producción de sustancias vasodilatadoras y vasoconstrictoras, de las que las más importantes son el óxido nítrico, la angiotensina II y la endotelina.

Regulación de la proliferación de la fibra muscular lisa vascular

En presencia de un endotelio normal, la fibra muscular lisa vascular permanece en un estado estable, pero cuando desaparece el endotelio existe una pro-

liferación de la fibra muscular lisa vascular para formar una neointima. La célula endotelial produce una serie de sustancias que inhiben la proliferación de la fibra muscular lisa vascular, como la heparina, heparan sulfato, el NO o el «transforming growth factor beta» (TGF β). Pero también puede producir varios factores que favorecen su crecimiento, como la angiotensina II, endotelina o factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF). Cuando el endotelio se activa se rompe el balance en favor de los factores que promueven el crecimiento^{12,13}.

Regulación de la hemostasia

El endotelio vascular ejerce un papel importante en la regulación de la hemostasia. La integridad tanto funcional como estructural del endotelio es fundamental para el mantenimiento del equilibrio entre los mecanismos de coagulación y los de fibrinólisis. Las células endoteliales proporcionan una superficie no trombogénica, ello es debido en parte a la expresión de glicosaminoglicanos, que inactivan el factor X y la trombina; la trombosmodulina que se liga a la trombina, la producción del factor inhibidor de la vía del factor tisular (TFPI), o de factor activador del plasminógeno (t-PA), que activa la fibrinólisis. Sin embargo, en determinadas circunstancias el endotelio puede favorecer la trombosis mediante la expresión de factor tisular que acelera la activación de factor X dependiente de FVIIa o la producción del inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1 (PAI-1), que inhibe la fibrinólisis.

El endotelio produce NO y prostaciclina que inducen vasodilatación e inhiben la agregación plaquetaria. Por el contrario, la angiotensina II favorece la trombosis al aumentar la liberación de PAI-1 o la expresión de factor tisular. El tromboxano A₂ a su vez tiene un efecto proagregante plaquetario.

Alteraciones como las que ocurren en zonas de inflamación o por un estrés de cizallamiento elevado disrumen el equilibrio e inducen a las células endoteliales a crear un ambiente protrombótico y antifibrinolítico^{12,19}.

Control de la permeabilidad y la inflamación

Una de las funciones del endotelio es controlar el paso de agua, solutos, lípidos y células sanguíneas del espacio vascular hacia los tejidos. La permeabilidad selectiva del endotelio es regulada por proteínas de las uniones intercelulares, receptores endocíticos y el glicocáliz de la superficie celular. La regulación del tamaño de los poros intercelulares a través del

sistema de filamentos de actina asociados a la unión (JAF) por diversos factores permite el control del paso desde el espacio vascular. En este sentido, la célula endotelial tiene un papel importante en la regulación de los fenómenos inflamatorios. Cuando existe activación endotelial hay un aumento de la expresión de selectinas (E-selectina), moléculas de adhesión intracelular (ICAM) y de moléculas de adhesión vascular (VCAM). Estas moléculas actuarían como puntos de anclaje de los leucocitos y plaquetas que participan en los procesos inflamatorios, y permiten el paso de monocitos hacia el espacio subendotelial que formarán las células espumosas, iniciando la formación de la placa de ateroma. Además, el endotelio produce quimoquinas/activadores, como la IL-8, MCP-1, o el factor activante plaquetario (PAF), expresado en la superficie de la célula endotelial, que se une y activa los receptores leucocitarios y actúa en concierto con las selectinas para favorecer la adhesión leucocitaria. El NO tiene un efecto inhibitor sobre la expresión de moléculas de adhesión, adhesión de leucocitos al endotelio, inhibiendo la quimiotaxis de los monocitos hacia el espacio subendotelial, la permeabilidad microvascular o la producción de matriz subendotelial. Por el contrario, la angiotensina II tiene efectos opuestos al NO^{12,13}.

DISFUNCIÓN ENDOTELIAL EN LA INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA: ESTUDIOS *IN VIVO*

La activación endotelial es un mecanismo de respuesta a un insulto que cursa con una alteración de la vasodilatación dependiente de endotelio, aumento de la adhesividad de leucocitos y plaquetas por aumento de la expresión de moléculas de adhesión, trans migración de monocitos/macrófagos y deposición de lípidos en el espacio subendotelial, aumento de su trombogenicidad y cambios en la modulación del crecimiento y migración de la fibra muscular lisa vascular subyacente²⁰.

Desde hace años se ha descrito la existencia de una lesión endotelial crónica en la uremia, como se demuestra por un patrón típico de elevación de los niveles de diversas glicoproteínas derivadas del endotelio en el suero de pacientes urémicos, tales como factor von Willebrand, PAI-1, trombosmodulina, etc.²¹⁻²⁸; de factores vasoactivos liberados por el endotelio (endotelina)²⁹, así como por la liberación disminuida de estos factores tras la estimulación del endotelio (FvW, t-PA); por el aumento de los niveles circulantes de moléculas de adhesión (ICAM 1, VCAM 1, E-selectina)^{28,30,54}, o el aumento de niveles de citoquinas proinflamatorias²⁸. Más recientemente se ha demostrado que la vasodilatación dependiente de en-

dotelio está disminuida en estos pacientes, como se analiza a continuación. Esta última técnica es actualmente considerada, como el *gold standard*, para evaluar la función endotelial *in vivo*.

La función endotelial *in vivo* está alterada en la insuficiencia renal crónica preterminal y terminal, como se demuestra por la respuesta vasodilatadora disminuida a varios estímulos, como la isquemia, hipertermia o acetilcolina²⁸. La mayoría de estudios que han evaluado la función endotelial mediante estudio de la vasodilatación endotelio-dependiente en estos pacientes se han realizado utilizando técnicas no invasivas, como medir la vasodilatación en arterias de conductancia tras una isquemia (endotelio-dependiente) o tras la administración sublingual de trinitrato de glicerina (endotelio-independiente). En estos estudios se ha demostrado que la vasodilatación endotelio-dependiente está disminuida en pacientes en hemodiálisis^{28,29,31-33}, diálisis peritoneal^{28,34}, así como en pacientes prediálisis^{28,35,36}, aunque no todos los autores están de acuerdo³⁷. Asimismo, Hand y cols. describieron una alteración de la vasodilatación endotelio-dependiente a nivel venoso en los pacientes en hemodiálisis³⁸. Más recientemente, Passauer y cols., confirmaron que la vasodilatación inducida por la administración intraarterial de acetilcolina en la arteria braquial (que mide la vasodilatación endotelio-dependiente a nivel de arterias de resistencia) estaba disminuida en pacientes hemodializados normotensos, confirmando la existencia de una disfunción endotelial, también en los vasos de resistencia en la uremia³⁹. Resultados análogos se han descrito recientemente en pacientes urémicos prediálisis o en diálisis peritoneal^{40,41}. Además, en el estudio de Annuk y cols. se observó una correlación inversa entre vasodilatación endotelio-dependiente y aclaramiento de creatinina, indicando que la disfunción endotelial progresaba con el deterioro de la función renal⁴¹. Nuestro grupo ha estudiado 10 pacientes afectados de IRC terminal en hemodiálisis. Ninguno de los pacientes urémicos era hipertenso, fumador, dislipémico o diabético. Nuestros resultados indican que la vasodilatación endotelio-dependiente ($3,47 \pm 0,56$ vs $6,41 \pm 1,1\%$, $p < 0,05$) y endotelio-independiente ($3,45 \pm 0,23$ vs $4,95 \pm 0,51\%$, $p < 0,05$) están disminuidas en estos pacientes. Asimismo, la inhibición de la vasodilatación inducida por acetilcolina, mediante co-administración del inhibidor de la NOS L-NMMA, también estaba disminuida ($2,76 \pm 0,29\%$ vs $4,3 \pm 0,68\%$) en estos pacientes, sugiriendo que la alteración de la vasodilatación endotelio-dependiente era debida a una inhibición de la producción de endotelial de NO.

Recientemente se ha descrito que la vasodilatación endotelio-dependiente a nivel de la microcir-

culación cutánea, medida como la respuesta hiperémica cutánea a la administración de acetilcolina, está preservada en pacientes urémicos normotensos⁴². Sin embargo, los propios autores sugieren que las discrepancias en sus resultados con los estudios anteriores podrían explicarse porque la respuesta vasodilatadora a nivel cutáneo parece estar mediada principalmente por prostanoïdes, más que por la producción de óxido nítrico⁴³. Finalmente, muy recientemente se ha descrito que la vasodilatación endotelio-dependiente está disminuida en arterias de resistencia aisladas, obtenidas mediante biopsia de tejido subcutáneo en pacientes urémicos⁴⁴.

Existe una importante controversia respecto a si la producción de óxido nítrico está aumentada o no en la uremia. Para conciliar las discrepancias, se ha postulado que la producción de óxido nítrico en la uremia sería inapropiada para compensar la disfunción endotelial (revisado en ⁴⁵).

Nuestro grupo y otros autores hemos observado que la vasodilatación endotelio independiente parece estar afectada en los pacientes urémicos^{31,33,37,39}, aunque no todos los autores observan esta alteración^{27,32,34-36,38,41,42}, sugiriendo que la respuesta vascular al NO estaría también alterada en la uremia.

DISFUNCIÓN ENDOTELIAL EN LA UREMIA: ESTUDIOS *IN VITRO*

Se ha demostrado que cuando las células endoteliales son cultivadas en presencia de un medio urémico presentan un crecimiento más acelerado, así como alteraciones morfológicas. Sin embargo, su adhesión al subendotelio en condiciones de flujo es inferior a las células endoteliales cultivadas en presencia de suero control^{46,47}. Asimismo, las matrices subendoteliales generadas por estas células endoteliales, el equivalente al subendotelio vascular, eran más pobres y desorganizadas⁴⁶, aunque son más trombogénicas y muestran una expresión aumentada de factor tisular y factor von Willebrand^{47,48}. Ello es debido a un aumento de la expresión de RNAm para factor tisular y factor von Willebrand en estas células endoteliales urémicas. Sin embargo, otro estudio no observó cambios en la actividad de factor tisular en lisados de células endoteliales incubadas durante 4 horas⁴⁹. El factor tisular es un importante modulador de la activación de la vía extrínseca de la coagulación, generación trombina y deposición de fibrina. Las células endoteliales quiescentes no expresan factor tisular, pero las citoquinas inducen su expresión por células endoteliales⁵⁰. Otro estudio describió que las células endoteliales incubadas en presencia de un medio urémico mostraban una secreción de PAI-1 estimulada

por citoquinas aumentada, mientras que la secreción de activador del plasminógeno tisular era similar a las células endoteliales control⁵¹. Es decir, que en estudios *in vitro* se ha demostrado la combinación de una mayor trombogenicidad e hipercoagulabilidad y la alteración de la respuesta fibrinolítica endotelial en la uremia. Si los cambios descritos *in vitro* también ocurren *in vivo* ello favorecería el desarrollo de un estado protrombótico en la uremia, lo que podría estar implicado en el aumento del riesgo cardiovascular y de sufrir fenómenos trombóticos que presentan los pacientes con insuficiencia renal crónica.

Noris y cols. demostró así mismo que la producción de NO estaba aumentada en plaquetas y células endoteliales expuestas a plasma urémico⁵². Respecto al papel del tratamiento sustitutivo se ha demostrado en un modelo de diálisis *in vitro* que las muestras de sangre obtenida de sujetos sanos expuesta a membranas de cuprophan activaban la producción de RNAm y la actividad enzimática de la NO-sintasa en un modelo de célula endotelial murino, mientras que la sangre expuesta a membranas de polimetilmetacrilato no inducía activación de la NO-sintasa⁵³. Finalmente, se ha descrito recientemente que las LDL nativas y oxidadas de los pacientes en diálisis inducen una mayor adhesión de leucocitos al endotelio, sugiriendo que las LDL de estos pacientes son más aterogénicas⁵⁴.

DISFUNCIÓN ENDOTELIAL EN LA UREMIA: POSIBLES MECANISMOS IMPLICADOS

La disfunción endotelial descrita en la uremia podría deberse a la frecuente presencia de factores que alteran la función endotelial en la población general, como la hipertensión arterial, la hiperlipemia, la diabetes o el tabaquismo. Aunque otros factores podrían estar también implicados²⁰.

La hiperhomocisteinemia, frecuente en estos pacientes, se ha asociado con aumento de patología cardiovascular en la población general. Los mecanismos por los que la homocisteína afecta la función vascular incluyen la disminución de la biodisponibilidad de óxido nítrico, aumento del estrés oxidativo, aumento de la proliferación de la fibra muscular lisa vascular o la alteración de las propiedades elásticas de la pared vascular⁵⁵. Sin embargo, aunque la administración de suplementos de ácido fólico y vitamina reducen los niveles plasmáticos de homocisteína en estos pacientes, ello no se asocia con una mejora de la disfunción endotelial⁵⁶⁻⁵⁸.

Los pacientes urémicos presentan con frecuencia una resistencia a la insulina⁵⁹. Estudios recientes en la población general indican que la vasodilatación

dependiente de endotelio se correlaciona con la sensibilidad a la misma en sujetos normales y pacientes diabéticos tipo 2^{60,61}. Ello sugiere que la resistencia a la insulina y la hiperinsulinemia favorecen la disfunción endotelial. Los mecanismos por los cuales la hiperinsulinemia altera la función endotelial son desconocidos, pero se ha demostrado que la insulina produce endotelina 1⁶² y que es un factor facilitador de la activación del factor de transcripción NF- κ B⁶³. Además, en la hiperinsulinemia existe una resistencia del territorio vascular a la activación de la síntesis de NO o de la Na-K-ATPasa, probablemente secundario a la activación de la protein quinasa C⁶⁴.

La síntesis de NO por la NO sintasa puede ser inhibida de forma competitiva por análogos endógenos de la L-arginina, como L-NMMA, ADMA, SDMA u otros metabolitos que se acumulan en presencia de insuficiencia renal⁶⁵⁻⁶⁷. La acumulación de los mismos en la uremia podría pues jugar un papel en la disfunción endotelial en la uremia. En este sentido los pacientes urémicos con aterosclerosis presentan unos niveles de ADMA superiores a los pacientes sin aterosclerosis⁶⁸, aunque el papel patogénico de estos inhibidores endógenos de la NO sintasa en la disfunción endotelial en la uremia precisa ser confirmado. Sin embargo, los estudios *in vitro* sugieren que los factores circulantes no son enteramente responsables de la disfunción endotelial en la uremia⁴⁴.

Los pacientes urémicos presentan un estrés oxidativo aumentado. La LDL-oxidada altera la vasodilatación endotelio-dependiente en animales de experimentación, altera el metabolismo de NO inhibiendo su formación y sus acciones, así mismo aumenta la liberación de endotelina y de moléculas de adhesión solubles en células endoteliales en cultivo, favorece su apoptosis, y favorece un estado protrombogénico. Además, la LDL-oxidada y su derivado peróxido lisofosfatidilcolina estimulan la protein quinasa C, el turn-over de fosfoinositoles y el aumento de calcio intracelular⁶⁹. Sin embargo, un estudio reciente no observó una relación entre disfunción endotelial y niveles de LDL-oxidada en pacientes urémicos, sugiriendo que no jugaría un papel relevante en la disfunción endotelial en la uremia²⁷. Los radicales libres de oxígeno favorecen la formación de AGEs. Los radicales libres alteran la biosíntesis de BH₄ vía depleción de NADPH, inhibiendo su reciclado y a través de la formación de peroxinitrito favoreciendo su oxidación a dihidrobiopterina. El déficit de BH₄ induce desacoplamiento de la NOS, lo que conduce a que la NOS produzca aniones superóxido en lugar de NO⁷⁰. Estudios recientes indican también que el anión superóxido inhibe la actividad de la guanilatociclasa soluble, lo que explicaría la resistencia vascular a la ac-

ción de NO⁷¹. Por otro lado, productos derivados de la oxidación de proteínas estarían implicados en el desarrollo de fenómenos inflamatorios⁷². Finalmente la generación de radicales libres media la apoptosis de varias líneas celulares, entre ellas las células endoteliales.

Los AGEs quelan el NO y aumentan la susceptibilidad de la LDL a ser oxidada. Además, la activación de su receptor (RAGE) activa la generación de radicales libres de oxígeno, aumenta la traslocación del factor nuclear NF-κB, aumenta la expresión de genes proinflamatorios, la expresión de moléculas de adhesión, de la permeabilidad endotelial y de la generación de factor tisular⁷³.

El estado microinflamatorio crónico presente en los pacientes urémicos podría contribuir a la disfunción endotelial⁷⁴. La disfunción endotelial es un hallazgo constante en situaciones de inflamación. La respuesta inflamatoria está orquestada por citoquinas tales como IL-1 o TNF-α que inducen la producción de radicales libres de oxígeno en células endoteliales y estimulan el factor de transcripción NF-κB aumentando la transcripción de moléculas de adhesión como VCAM-1¹². Un estudio reciente demostró una relación entre vasodilatación endotelio-dependiente y marcadores de inflamación en pacientes urémicos, sugiriendo el papel patogénico de la inflamación en la disfunción endotelial asociada a la uremia²⁷.

Respecto a la técnica de tratamiento sustitutivo parece que la hemodiálisis con membranas celulósicas agrava la disfunción endotelial de forma aguda⁷⁵, efecto atribuido al estrés oxidativo generado durante la técnica⁷⁶, aunque por otra parte no parecen existir diferencias en cuanto a la función endotelial entre pacientes en hemodiálisis y pacientes en diálisis peritoneal³⁷.

Finalmente, estudios en animales de experimentación sugieren que el tratamiento con eritropoyetina recombinante altera la función endotelial⁷⁷. Mientras que estudios *in vitro* indican que la rhuEPO reduce la expresión de eNOS en células endoteliales⁷⁸. Aunque no hay estudios que demuestran el efecto crónico del tratamiento en pacientes urémicos existen discrepancias sobre si el tratamiento con rhuEPO aumenta o no los niveles de diversos marcadores de disfunción endotelial en estos pacientes^{28,79,80}.

DISFUNCIÓN ENDOTELIAL EN LA UREMIA: CONSECUENCIAS

Aunque la significación clínica de la alteración de la vasodilatación endotelio-dependiente en la uremia es todavía desconocida, un estudio reciente ha de-

mostrado que la disfunción endotelial *per se* es un marcador de eventos cardiovasculares futuros en pacientes hipertensos⁸¹. Además, Pannier y cols. han demostrado que existe una relación entre vasodilatación endotelio-dependiente y los parámetros de remodelado cardiovascular en pacientes urémicos, sugiriendo que la disfunción endotelial estaría implicada en el remodelado cardiovascular (arteriosclerosis, hipertrofia ventricular izquierda) urémico²¹. El mismo grupo observó una correlación entre niveles de endotelina y el grosor de la capa íntima-media arterial o el grado de aterosclerosis, sugiriendo la implicación de este péptido de origen endotelial en el remodelado cardiovascular urémico²⁹.

LA DISFUNCIÓN ENDOTELIAL COMO OBJETIVO TERAPÉUTICO

Aunque existen pocos estudios que hayan analizado el efecto de diversas intervenciones sobre la función endotelial en la uremia, existen evidencias en otras situaciones clínicas que pueden ser extrapolables a la población urémica, a falta de estudios que validen estas intervenciones en los pacientes con insuficiencia renal. En primer lugar, deberán tratarse aquellos factores que inducen disfunción endotelial *per se* (hipertensión, dislipemia, tabaquismo, diabetes, etc.).

Cambios en el estilo de vida: El abandono del tabaquismo y el ejercicio se asocian con un aumento de la vasodilatación endotelio-dependiente en pacientes no urémicos⁸², por lo que es razonable que también mejoren la misma en los pacientes urémicos.

L-arginina u otros cofactores de la eNOS: La L-arginina es el sustrato que precisa la NOS para producir NO. Existen discrepancias en la literatura sobre si la uremia es un estado deficitario en L-arginina, y por otro lado, se ha postulado que diversos antagonistas endógenos de la misma que se acumulan en la insuficiencia renal podrían competir por la eNOS. En este sentido los efectos de la administración de L-arginina sobre la función endotelial en estos pacientes son contradictorios^{38,39}. La administración de BH₄ mejora la disfunción endotelial en animales de experimentación y en diversas patologías humanas, como la diabetes mellitus o la enfermedad coronaria⁸³, pero no hay estudios sobre los efectos de la suplementación con este cofactor en pacientes con insuficiencia renal.

Reducción de los niveles de homocisteína: La suplementación de la dieta con ácido fólico disminuye significativamente los niveles de homocisteína en los pacientes urémicos, pero los estudios realizados hasta la fecha no han demostrado que esta medida

mejore la vasodilatación endotelio-dependiente en los mismos⁵⁶⁻⁵⁸. Curiosamente estudios recientes demuestran que la administración de ácido fólico mejora la disfunción endotelial en pacientes coronarios, efecto que es independiente de la reducción de los niveles de homocisteína, y atribuido a la disminución de anión superóxido intracelular^{83bis}.

Antioxidantes: Estudios en pacientes diabéticos o con hiperhomocistinemia han demostrado una mejoría de la vasodilatación endotelio-dependiente con vitamina C. Resultados similares se han descrito con suplementos de vitamina E o la combinación de los dos en pacientes diabéticos⁸⁴. Aunque no hay estudios sobre la suplementación con antioxidantes sobre la función endotelial en la uremia, existen resultados sugestivos de su efecto beneficioso sobre la misma en estos pacientes^{85,86}. En este sentido el efecto beneficioso sobre la prevención secundaria de eventos cardiovasculares inducida por vitamina E en pacientes en hemodiálisis⁸⁷, sugiere también un efecto beneficioso del tratamiento antioxidante sobre la función endotelial en la uremia.

Estatinas: El tratamiento con estatinas mejora la disfunción endotelial en pacientes hipercolesterolémicos y en pacientes diabéticos⁸⁴. Evidencias experimentales recientes sugieren que estos efectos son independientes de su efecto hipolipemiente aumentando la producción de NO (revisado en⁸⁴) o reduciendo la inflamación⁸⁸. En estos momentos hay estudios en marcha que están analizando este aspecto en pacientes urémicos.

Inhibidores de la enzima de conversión de angiotensina (IECAs)/ Antagonistas del receptor de angiotensina II (ARA II). Los IECAs han demostrado que mejoran la disfunción endotelial en pacientes diabéticos y pacientes coronarios⁸⁴. Estudios recientes también han demostrado que los ARA II también mejoran la disfunción endotelial en diversas patologías no urémicas⁸⁹, por lo que la inhibición de la formación o del efecto de angiotensina II es un enfoque esperanzador para mejorar la disfunción endotelial en los pacientes urémicos.

Calcioantagonistas: Los calcioantagonistas mejoran la disfunción endotelial en pacientes no urémicos^{84,89}. Este efecto beneficioso parece ser debido a un aumento de la biodisponibilidad de NO a través de su efecto antioxidante⁸⁹.

Antagonistas del receptor de endotelina: Dado que la endotelina tiene muchos efectos opuestos al NO, la inhibición de sus efectos deletéreos sobre la función endotelial mediante antagonistas específicos es un campo prometedor. Estudios en diversos modelos experimentales indican un efecto positivo de los antagonistas de endotelina sobre la función endotelial⁹⁰.

Hemodiálisis: Parece que la hemodiálisis con membranas celulósicas agrava la disfunción endotelial de forma aguda, efecto que se previene con membranas no celulósicas⁷⁵. La utilización de membranas celulósicas recubiertas con vitamina E mejora la disfunción endotelial a largo plazo en estos pacientes, sugiriendo que el estrés oxidativo que ocurre durante la sesión de hemodiálisis afecta de forma crónica a la función endotelial⁸⁶.

CONCLUSIONES

El endotelio vascular ya no se considera una capa inerte de los vasos sanguíneos, sino que es un órgano metabólicamente activo que regula función muy importantes, como el control de la presión arterial y del desarrollo de aterosclerosis. Los pacientes urémicos presentan una disfunción endotelial, ya presente en la etapa de prediálisis, que podría estar implicada en el elevado riesgo cardiovascular que presentan estos pacientes. En esta revisión se han analizado los posibles mecanismos implicados en esta disfunción, aunque desconocemos hasta la fecha la importancia relativa o si alguna toxina urémica está implicada de forma más significativa en la disfunción endotelial asociada a la insuficiencia renal. Aunque estudios en pacientes no urémicos han demostrado que se puede modular la función endotelial mediante estrategias farmacológicas y no farmacológicas, no disponemos de este tipo de estudios todavía en pacientes urémicos. Por ello, el estudio de los mecanismos implicados en la disfunción endotelial de la uremia y las estrategias para mejorar la misma en estos pacientes es un área de investigación muy prometedora para intentar reducir el riesgo cardiovascular en nuestros pacientes.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado en parte gracias a una beca del Fondo de Investigaciones Sanitarias de la Seguridad Social (FISS 00/0551) y de la Sociedad Española de Nefrología (PI 1/98).

BIBLIOGRAFÍA

1. Raine AEG, Margreiter R, Brunner FP y cols.: Report on management of renal failure in Europe, XXII, 1991. *Nephrol Dial Transplant* 7 (Supl. 2): 7-35, 1992.
2. USRDS US Renal Data System 1999. Annual Data Report. The National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. Bethesda, MD.
3. Disney APS (ed.). ANZDATA report 1996. Australia and New Zealand Dialysis and Transplant Registry, Adelaide, 1996.

4. Japanese Society for Dialysis Therapy: An overview of regular dialysis treatment in Japan. *J Jpn Soc Dial Ther* 32: 1-17, 1999.
5. Foley RN, Parfrey PS, Sarnak MJ: Cardiovascular disease in chronic renal disease: clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *Am J Kidney Dis* 32 (Supl. 3): S112-S119, 1998.
6. Valderrábano F, Berthoux FC, Jones EHP, Mehls O: Report on management of renal failure in Europe, XXV, 1994: End-stage renal disease and dialysis report. *Nephrol Dial Transplant* 11 (Supl. 1): 2-21, 1996.
7. Lameire N, Bernaert P, Lambert M, Vijt D: Cardiovascular risk factors and their management in patients on continuous peritoneal dialysis. *Kidney Int* 46: 31-38, 1994.
8. Jungers P, Khoa TN, Massy ZA, Zingraff J, Labrunie M, Descamps-Latscha B, Man NK: Incidence of atherosclerotic arterial occlusive accidents in predialysis and dialysis patients. A multicentric study in the Ile de France district. *Nephrol Dial Transplant* 14: 898-902, 1999.
9. Lindner A, Charra B, Sherrard DJ, Scribner BH: Accelerated atherosclerosis in prolonged maintenance hemodialysis. *N Engl J Med* 290: 697-701, 1974.
10. Mombouli JV, Vanhoutte PM: Endothelial dysfunction: from physiology to therapy. *J Mol Cell Cardiol* 31: 61-74, 1999.
11. Luke RG: Chronic renal failure –a vasculopathic state–. *N Engl J Med* 339: 841-843, 1998.
12. Cines DB, Pollak ES, Buck A y cols.: Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders. *Blood* 91: 3527-61, 1998.
13. Lüscher TF, Vanhoutte PM: The endothelium: modulator of cardiovascular function. CRC Press. *Boca Raton* 1: 228, 1990.
14. Chen HH, Burnett JC Jr: C-type natriuretic peptide: the endothelial component of the natriuretic peptide system. *J Cardiovasc Pharmacol* 32 (Supl. 3): S22-S28, 1998.
15. Cases A, Mora-Maciá J: Adrenomedulina un nuevo péptido vasoactivo. *Nefrología* 21: 16-25, 2001.
16. Moncada S, Vane JR: Pharmacology and endogenous roles of prostaglandins, endoperoxides, thromboxane A2 and prostacyclin. *Pharmacol Rev* 30: 293-331, 1979.
17. Adam A, Raij L: Nitric oxide - angiotensin II axis in renal and cardiovascular injury. *J Nephrol* 13: 211-220, 2000.
18. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S y cols.: A novel potent vasoconstrictor peptide produced by endothelial cells. *Nature* 332: 411-415, 1988.
19. Pearson JD: The control of production and release of haemostatic factors in the endothelial cell. *Baillieres Clin Haematol* 6: 629-651, 1993.
20. De Caterina R: Endothelial dysfunctions: common denominators in vascular disease. *Curr Opin Lipidol* 11: 9-23, 2000.
21. Pannier B, Guerin P, Marchais SJ, Metivier F, Safar ME, London GM: Postischemic vasodilation, endothelial activation and cardiovascular remodeling in end-stage renal disease. *Kidney Int* 57: 1091-1099, 2000.
22. Gris JC, Branger B, Vecina F, Al Sabadani B, Fourcade J, Schved JF: Increased cardiovascular risk factors and features of endothelial activation and dysfunction in dialyzed uremic patients. *Kidney Int* 46: 807-813, 1994.
23. Takagi M, Wada H, Mukai K y cols.: Increased vascular endothelial cell markers in patients with chronic renal failure on maintenance haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2: 14-18, 1997.
24. Mezzano D, Tagle R, Pais E, Panes O, Pérez M, Downey P, Muñoz B, Aranda E, Barja P, Thambo S, González F, Mezzano S, Pereira J. Endothelial cell markers in chronic uremia: relationship with hemostatic defects and severity of renal failure. *Thromb Res* 88: 465-472, 1997.
25. Nakayama M, Yamada K, Yamamoto Y, Yokoyama K, Nakano H, Kubo H, Shigematsu T, Kawaguchi Y, Sakai O: Vascular endothelial dysfunction in patients on regular dialysis treatment. *Clin Nephrol* 42: 117-120, 1994.
26. Haaber AB, Eidemak I, Jensen T, Feldt-Rasmussen B, Strandgaard S: Vascular endothelial cell function and cardiovascular risk factors in patients with chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol* 5: 1581-1584, 1995.
27. Bolton CH, Downs LG, Victory JGG, Dwight JF, Tomson CRV, Mackness MI, Pinkney JH: Endothelial dysfunction in chronic renal failure: roles of lipoprotein oxidation and pro-inflammatory cytokines. *Nephrol Dial Transplant* 16: 1189-1197, 2001.
28. Borawski J, Naumnik B, Pawlak K, Mysliwiec M: Endothelial dysfunction marker von Willebrand factor antigen in haemodialysis patients: associations with pre-dialysis blood pressure and the acute phase response. *Nephrol Dial Transplant* 16: 1442-1447, 2001.
29. Demuth K, Blacher J, Guerin AP, Benoit MO, Moatti N, Safar ME, London GM: Endothelin and cardiovascular remodelling in end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 13: 375-383, 1998.
30. Bonomini M, Reale M, Santarelli P, Stuard S, Settefratti N, Albertazzi A: Serum levels of soluble adhesion molecules in chronic renal failure and dialysis patients. *Nephron* 79: 399-407, 1998.
31. Joannides R, Bakkali EH, Le Roy F, Rivault O, Godin M, Moore N, Fillastre JP, Thuillez C: Altered flow-dependent vasodilation of conduit arteries in maintenance hemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 12: 2623-2628, 1997.
32. Van Guldener C, Lambert J, Janssen MJ, Donker AJ, Stehouwer CD: Endothelium-dependent vasodilation and distensibility of large arteries in chronic hemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 12 (Supl. 2): 14-18, 1997.
33. Takamitsu Y, Nakanishi T: Association of endothelial dysfunction with sulfur aminoacid metabolism in chronic renal failure. *Am J Kidney Dis* 38 (Supl. 1): S95-S99, 2001.
34. Van Guldener C, Janssen MJFM, Lambert J, Steyn M, Donker AJM, Stehouwer CDA: Endothelium-dependent vasodilation is impaired in peritoneal dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 13: 1782-1786, 1998.
35. Thambyrajah L, Landray M, McGlynn F, Jones H, Wheeler D: Abnormalities of endothelial function in patients with pre-dialysis. *Heart* 83: 205-209, 2000.
36. Kari JA, Donald AE, Vallance Dt, Bruckdorfer KR, Leone A, Mullen MJ, Bunce T, Dorado B, Deanfield JE, Rees L: Physiology and biochemistry of endothelial function in children with chronic renal failure. *Kidney Int* 32: 468-472, 1997.
37. Kennedy R, Case C, Fathi R, Johnson D, Isbel N, Marwick TH: Does renal failure cause an atherosclerotic milieu in patients with end-stage renal disease? *Am J Med* 110: 198-204, 2001.
38. Hand MF, Haynes WG, Webb DJ: Hemodialysis, and L-Arginine, but not D-arginine, correct renal failure-associated endothelial dysfunction. *Kidney Int* 33: 1068-1077, 1998.
39. Passauer J, Büsselmeier E, Range U, Plug M, Gross P: Evidence *in vivo* showing increase of baseline nitric oxide generation and impairment of endothelium-dependent vasodilation in normotensive patients on chronic hemodialysis. *J Am Soc Nephrol* 11: 1726-1734, 2000.
40. Morris ST, McMurray JJ, Rodger RS, Jardine AG: Impaired endothelium-dependent vasodilation in uraemia. *Nephrol Dial Transplant* 15: 1194-1200, 2000.
41. Annuk M, Lind L, Linde T, Fellström B: Impaired endothelium-dependent vasodilation in renal failure in humans. *Nephrol Dial Transplant* 16: 302-306, 2001.

A. CASES y cols.

42. Cupisti A, Rossi M, Placidi S, Fabbri A, Morelli E, Vagheggnini G, Meola M, Barsotti G: Responses of the skin microcirculation to acetylcholine in patients with essential hypertension and in normotensive patients with chronic renal failure. *Nephron* 85: 114-119, 2000.
43. Noon JP, Walker BR, Hand MF, Webb DJ: Studies with iontophoretic administration of drugs to human dermal vessels *in vivo*: cholinergic vasodilation is mediated by dilator prostanooids rather than nitric oxide. *Br J Clin Pharmacol* 45: 545-550, 1998.
44. Morris ST, McMurray JJ, Spiers A, Jardine AG: Impaired endothelial function in isolated human uremic resistance arteries. *Kidney Int* 60: 1077-1082, 2001.
45. Mendes Ribeiro AC, Brunini TMC, Ellory JC, Mann GE: Abnormalities in L-arginine transport and nitric oxide biosynthesis in chronic renal and heart failure. *Cardiovasc Res* 49: 697-712, 2001.
46. Aznar-Salatti J, Escolar G, Cases A, Gómez-Ortiz G, Antón P, Castillo R, Revert L, Ordinas A: Uraemic medium causes endothelial cell dysfunction characterized by an alteration of the properties of its subendothelial matrix. *Nephrol Dial Transplant* 10: 2199-2204, 1995.
47. Serradell M, Díaz-Ricart M, Cases A, Zurbano MJ, Aznar-Salatti J, López-Pedret J, Ordinas A, Escolar G. Uremic medium disturbs the hemostatic balance of cultured human endothelial cells. *Thromb Haemost* 2001 (en prensa).
48. Serradell M, Díaz-Ricart M, Zurbano MJ, López-Pedret J, Ordinas A, Escolar G, Cases A: El medio urémico altera la función endotelial y aumenta la trombogenicidad de la matriz subendotelial. *Nefrología* 2001 (en prensa).
49. Madera P, Coleman P, Godson C, O'Meara YM, Brady HR: Serum from hemodialysis patients inhibits basal and cytokine-stimulated tissue factor expression *in vitro*. *J Am Soc Nephrol* 10: 2403-2406, 1999.
50. Semeraro N, Colucci M: Tissue factor in health and disease. *Thromb Haemost* 78: 759-764.
51. Sagripanti A, Morganti M, Carpi A, Cupisti A, Nicolini A, Barsotti M, Camici M, Mittermayer C, Barsotti G: Uremic medium increases cytokine-induced PAI-1 secretion by cultured endothelial cells. *Biomed Pharmacother* 52(7-8): 298-302, 1998.
52. Noris M, Benigni A, Boccardo P, Aiello S, Gaspari F, Todeschini M, Figliuzzi M, Remuzzi G: Enhanced nitric oxide synthesis in uremia: implications for platelet dysfunction and dialysis hypotension. *Kidney Int* 44: 445-450, 1993.
53. Amore A, Bonaudo R, Ghigo D, Arese M, Costamagna C, Cirina P, Gianoglio B, Perugini L, Coppo R: Enhanced production of nitric oxide by blood-dialysis membrane interaction. *J Am Soc Nephrol* 6: 1278-1283, 1995.
54. O'Byrne D, Devaraj S, Islam KN, Collazo R, McDonald L, Grundy S, Jialal I: Low-density lipoprotein (LDL)-induced monocyte-endothelial cell adhesion, soluble cell adhesion molecules, and autoantibodies to oxidized-LDL in chronic renal failure patients on dialysis therapy. *Metabolism* 50: 207-215, 2001.
55. Van Guldener C, Stehouwer CDA: Hyperhomocysteinemia, vascular pathology, and endothelial dysfunction. *Sem Thromb Haemost* 26: 281-289, 2000.
56. Van Guldener C, Janssen MJ, Lambert J, Ter Wee PM, Jakobs C, Donker AJ, Stehouwer CD: No change in impaired endothelial function after long-term folic acid therapy of hyperhomocysteinemia in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 13: 106-112, 1998.
57. Van Guldener C, Janssen MJ, Lambert J, Ter Wee PM, Jakobs C, Donker AJM, Stehouwer CD: Folic acid treatment of hyperhomocysteinemia in peritoneal dialysis patients. No change in endothelial function after long-term therapy. *Perit Dial Transplant* 18: 282-289, 1998.
58. Thambyrajah J, Landray MJ, McGlynn FJ, Jones HJ, Wheeler DC, Townend JN: Does folic acid decrease plasma homocysteine and improve endothelial function in patients with predialysis renal failure? *Circulation* 22: 102: 871-875, 2000.
59. Hager SR: Insulin resistance of uremia. *Am J Kidney Dis* 14: 272-276, 1989.
60. Fossum E, Hoiegggen A, Moan A, Rsostrup M, Nordby G, Kjeldsen SE: Relationship between insulin sensitivity and maximal forearm blood flow in young men. *Hypertension* 45: 105-109, 1998.
61. Avogaro A, Piarulli F, Valerio A y cols.: Forearm nitric oxide balance, vascular relaxation, and glucose metabolism in NIDDM patients. *Diabetes* 46: 1040-1046, 1997.
62. Hu RM, Levin ER, Pedram A, Frank H. Insulin stimulates production and secretion of endothelin from bovine endothelial cells. *Diabetes* 42: 351-358, 1993.
63. Schmidt AM, Stern DM: Hyperinsulinemia and vascular dysfunction: the role of nuclear factor- κ B, yet again. *Circ Res* 87: 722-724, 2000.
64. Kirpichnikov D, Sowers JR: Diabetes mellitus and diabetes associated vascular disease. *Trends Pharmacol Sci* 12: 225-230, 2001.
65. Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S: Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 339: 572-575, 1992.
66. Fleck C, Janz A, Schweitzer F, Karge E, Schwertfeger M, Stein G: Serum concentrations of asymmetric (ADMA) and symmetric (SDMA) dimethylarginine in renal failure patients. *Kidney Int* 59 (Supl. 78): S14-S18, 2001.
67. Sorrentino R, Sorrentino L, Pinto A: Effect of some products of protein catabolism on the endothelium-dependent and independent relaxation of rabbit aorta rings. *J Pharmacol Exp Ther* 266: 626-633, 1993.
68. Kielstein JT, Bode-Boger SM, Frölich JC, Haller H, Böger RH: Relationship of asymmetric dimethylarginine to dialysis treatment and atherosclerotic disease. *Kidney Int* 59 (Supl. 78): S9-S13, 2001.
69. Wanner C, Quaschnig T: Dyslipidemia and renal disease: pathogenesis and clinical consequences. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 10: 195-201, 2001.
70. Xia Y, Tsai AL, Berka V, Zweier JL: Superoxide generation by endothelial nitric oxide synthase: the influence of cofactors. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 9229-9225, 1998.
71. Mulsch A, Bauersachs J, Schafer A, Stasch JP, Kast R, Busse F: Effect of YC-1, an NO-independent, superoxide-sensitive stimulator of soluble guanylyl cyclase, on smooth muscle cell responsiveness to nitrovasodilators. *Br J Pharmacol* 120: 681-689, 1997.
72. Descamps-Latscha B, Witko-Sarsat V. Importance of oxidatively modified proteins in chronic renal failure. *Kidney Int* Supl. 78: S108-113, 2001.
73. Wautier MP, Chappey O, Corde S, Stern DM, Schmidt AM, Wautier JL: Activation of NADPH oxidase by AGE links oxidative stress to altered gene expression via RAGE. *Am J Physiol* 280: E685-694, 2001.
74. Schomig M, Eisenhardt A, Ritz E: The microinflammatory state of uremia. *Blood Purif* 18: 327-332, 2000.
- 74bis. Hingorani AD, Cross J, Kharbada RK, Mullen MJ, Bhagat K, Taylor M, Donald AE, Palacios M, Griffin GE, Deanfield JE, MacAllister RJ, Vallance P: Acute systemic inflammation impairs endothelium-dependent dilatation in humans. *Circulation* 102: 994-999, 2000.
75. Miyazaki H, Matsuoka H, Itabe H, Usui M, Ueda S, Okuda S, Imaizumi T: Hemodialysis impairs endothelial function via oxidative stress: effects of vitamin E-coated dialyzer. *Circulation* 7; 101: 1002-1006, 2000.

76. Descamps-Latscha B, Druke T, Witko-Sarsat V: Dialysis-induced oxidative stress: biological aspects, clinical consequences, and therapy. *Semin Dial* 14(3): 193-199, 2001.
77. Noguchi K, Yamashiro S, Matsuzaki T, Sakanashi M, Nakasone J, Miyagi K, Sakanashi M. Effect of 1-week treatment with erythropoietin on the vascular endothelial function in anaesthetized rabbits. *Br J Pharmacol* 133: 395-405, 2001.
78. Wang XQ, Vaziri ND: Erythropoietin Depresses Nitric Oxide Synthase Expression by Human Endothelial Cells. *Hypertension* 33: 894-899, 1999.
79. Aguilera A, Selgas R, Ruiz-Caravaca ML, Bajo MA, Cuesta MV, Plaza MA, Hernanz A. Effects of recombinant human erythropoietin on functional and injury endothelial markers in peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int* 19 (Supl. 2): S161-166, 1999.
80. Borawski J, Naumnik B, Pawlak K, Mysliwiec M: Soluble thrombomodulin is associated with viral hepatitis, blood pressure, and medications in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 16: 787-792, 2001.
81. Perticone F, Ceravolo R, Pujia A, Ventura G, Iacopino S, Scozzafava A, Ferraro A, Chello M, Mastroroberto P, Verdecchia P, Schillaci G. Prognostic significance of endothelial dysfunction in hypertensive patients. *Circulation* 104: 191-196, 2001.
82. Born G, Rabelink T, Smith T: Clinician's manual on endothelium and cardiovascular disease. Science Press, London 1998.
83. Katusic ZS. Vascular endothelial dysfunction: does tetrahydrobiopterin play a role? *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 281: H981-986, 2001.
- 83bis. Doshi SN, McDowell IF, Moat SJ, Lang D, Newcombe RG, Kredan MB, Lewis MJ, Goodfellow J: Folate improves endothelial function in coronary artery disease: an effect mediated by reduction of intracellular superoxide? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 21: 1196-1202, 2001.
84. Guerci B, Böhme P, Kearney-Schwartz A, Zannad F, Drouin P: Endothelial dysfunction and type 2 diabetes. *Diabetes Metab* 27: 436-447, 2001.
85. Islam KN, O'Byrne D, Devaraj S, Palmer B, Grundy SM, Jialal I: Alpha-tocopherol supplementation decreases the oxidative susceptibility of LDL in renal failure patients on dialysis therapy. *Atherosclerosis* 150: 217-224, 2000.
86. Schleck G, Gwinner W, Radermacher J, Bahlmann J, Lonemann G: Long-term effects of vitamine E-bonded dialysis membrane on mononuclear cell activation, malondialdehyde generation and endothelial function in ESRD patients. *Contrib Nephrol* 1999; 127: 243-250, 1999.
87. Boaz M, Smetana S, Weinstein T, Atas Z, Gaftor U, Iaina A, Knecht A, Weissgarten D, Brunner D, Fainarua M, Green MS: Secondary prevention with antioxidants of cardiovascular disease in end-stage renal disease (SPACE): randomized placebo-controlled trial. *Lancet* 356: 1213-1218, 2000.
88. Ridker PM, Rifai N, Pfeffer MA y cols.: Long-term effects of pravastatin on plasma concentrations of C-reactive protein. *Circulation* 100: 230-235, 1999.
89. Taddei S, Virdis A, Ghiadoni L, Sudano I, Salvetti A: Antihypertensive drugs and reversing endothelial dysfunction in hypertension. *Curr Hypertens Rep* 2: 64-70, 2000.
90. Barton M: Endothelial dysfunction and atherosclerosis: endothelin receptor antagonists as novel therapeutics. *Curr Hypertens Rep* 2: 84-91, 2000.