



VNiVERSiDAD  
D SALAMANCA

Biomarcadores de daño renal temprano  
asociados al consumo de tabaco

TESIS DOCTORAL

2016

Francisco José Sanz Parras





VNiVERSiDAD  
D SALAMANCA

**Departamento de Fisiología y Farmacología**

LA DRA. DÑA. MARÍA JESÚS MONTE RÍO, DIRECTORA DEL DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA Y FARMACOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SALAMANCA

**CERTIFICA:**

Que el presente trabajo, elaborado por el Ldo. en Medicina Francisco José Sanz Parras para optar al Grado de Doctor, con el título “**BIOMARCADORES DE DAÑO RENAL TEMPRANO ASOCIADOS AL CONSUMO DE TABACO**”, ha sido realizado bajo la dirección de las Doctoras Dña. Ana Isabel Morales Martín, Dña. Laura Vicente Vicente y Dña. Marta Prieto Vicente, en el Departamento de Fisiología y Farmacología de la Universidad de Salamanca.

Y para que así conste, expide y firma el presente certificado en Salamanca, a 18 de diciembre de 2015.

Fdo.: Dra. Dña. María Jesús Monte Río





VNIVERSIDAD  
D SALAMANCA

**Departamento de Fisiología y Farmacología**

LA DRA. DÑA. ANA ISABEL MORALES MARTÍN, TITULAR DE TOXICOLOGÍA; LA DRA. DÑA. LAURA VICENTE VICENTE, AYUDANTE DOCTORA DE TOXICOLOGÍA; Y LA DRA. DÑA. MARTA PRIETO VICENTE, CONTRATADA DOCTORA DE TOXICOLOGÍA, PERTENECIENTES AL DEPARTAMENTO DE FISIOLOGÍA Y FARMACOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SALAMANCA

**CERTIFICAN:**

Que el presente trabajo, elaborado por el Ldo. en Medicina Francisco José Sanz Parras para optar al Grado de Doctor, con el título “**BIOMARCADORES DE DAÑO RENAL TEMPRANO ASOCIADOS AL CONSUMO DE TABACO**”, ha sido realizado bajo su dirección en el Área de Toxicología del Departamento de Fisiología y Farmacología de la Universidad de Salamanca, y consideran que cumple las condiciones necesarias, por lo que autorizan su presentación con el fin de que pueda ser defendido ante el tribunal correspondiente.

Y para que así conste, expide y firma el presente certificado en Salamanca, a 18 de diciembre de 2015.

Dra. Ana Isabel Morales Martín    Dra. Laura Vicente Vicente    Dra. Marta Prieto Vicente



*"Comienza haciendo lo que es necesario, después lo que es posible,  
y de repente estarás haciendo lo imposible"*

*San Francisco de Asís*





*A Ana*

*A mis padres y hermanos*



Es un honor para mí haber podido realizar la Tesis Doctoral en la Universidad de Salamanca, donde cursé mis estudios de Licenciatura de Medicina.

Esta Tesis Doctoral no hubiera sido posible sin el asesoramiento, dedicación y ayuda de mis directoras de tesis, a las que deseo expresar mi más sincero agradecimiento. A la Dra. Ana Isabel Morales por estimularme a empezar, por apoyarme en el camino y por su inmensa paciencia en el final. A la Dra. Marta Prieto por su esfuerzo y compromiso en cualquier circunstancia, sus sugerencias y correcciones, sin duda, han enriquecido este trabajo. A la Dra. Laura Vicente quiero agradecerla especialmente su inquietud e interés en esta tesis y sobre todo, el tiempo que ha invertido en ayudarme en cada una de las fases de la misma.

Un trabajo de investigación es siempre fruto de ideas, proyectos y esfuerzos previos que corresponden a otras personas, por eso también quiero agradecer a todo el Grupo de Investigación de Toxicología su contribución a esta tesis. A María Teresa Hernández, por su inestimable ayuda en la parte analítica. A Alfredo Casanova, por su incondicional disponibilidad. Al Dr. Moisés Pescador, por su experiencia y orientación en la parte estadística.

No puedo olvidar en mis agradecimientos a los pacientes que han colaborado desinteresadamente para que pudiera realizar este trabajo, especialmente a los de mi consulta del Centro de Salud de Coria.

Pero un trabajo de estas características es también fruto del apoyo vital que nos ofrecen las personas que nos estiman, sin el cual no tendríamos la fuerza y energía que nos anima a crecer como personas y como profesionales.

Desde esos primeros días en los que comenzó mi inquietud por la Medicina, mis padres fueron siempre los que con su paciencia, apoyo y esfuerzo, lograron que todo llegara a buen puerto. Ellos son los responsables de que hoy este aquí y de que sea tal como soy, nunca les podre agradecer tanto. Gracias también a mi familia, a mis hermanos y sobrinos, por su cariño.

## AGRADECIMIENTOS

---

De mis profesores de la Facultad, quiero agradecer especialmente al Profesor Francisco Collía la ayuda y amistad que siempre me prestó.

Pero, sobre todo, gracias a Ana, mi mujer, mi directora, mi sentido en la vida en muchos momentos, mi salvavidas en otros, sin ti, ni la Tesis, ni muchas otras cosas serían lo que son hoy.

AAS: Ácido Acetil Salicílico

ABTS\*: 2,2'-Azino-di-[3-etilbenzotiazolina sulfonato]

ADN: ácido desoxirribonucleico

AINES: antiinflamatorios no esteroideos

Al: Aluminio

ARA II: Antagonistas de los Receptores de Angiotensina II

As: Arsénico

Be: Berilio

C-G: Crockoft Gault

Cd: Cadmio

CO: Monóxido de Carbono

CO<sub>2</sub>: Dióxido de Carbono

CH<sub>3</sub>(CO)CH<sub>3</sub>: Acetona

C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>N: Acetonitrilo

C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>: Acetileno

Clcr: Aclaramiento de creatinina

Cr: Cromo

Crp: creatinina plasmática

Cru: creatinina urinaria

DPP-4: Inhibidores de la Dipeptil Peptidasa

EEM: Error Estándar de la Media

ELISA: Enzyme-linked Immunosorbent Assay

EPOC: Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica

## ABREVIATURAS

---

FR: factor de riesgo

FRA: fracaso renal agudo

G6PDH: glucosa-6-fosfato deshidrogenasa

HAP: Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos

HTA: Hipertensión Arterial

HCN: Ácido Cianhídrico

HDL: Lipoproteína de alta densidad

IAM: Infarto Agudo de Miocardio

IECA: Inhibidores de la Enzima Convertidora de Angiotensina

IL-18: Interleuquina 18

IMC: Índice de Masa Corporal

INE: Instituto Nacional de Estadística

IRC: Insuficiencia Renal Crónica

KIM-1: Molécula de daño renal 1

LDL: Lipoproteína de baja densidad

MDA: malonildialdehido

MDRD: Modification Diet in Renal Disease

MNP-GlcNAc: 2-metoxi-4-(2'nitrovinil)-fenil 2-acetamido-2-deoxi-D-glucopiranososa

NAD: nicotinamida adenina dinucleótido

NADH: nicotinamida adenina dinucleótido hidrogenasa

NAG: N-Acetil-Glucosaminidasa

Ni: Níquel

NO<sub>2</sub>: Dióxido de Nitrógeno

NGAL: Lipocalina Asociada a la Gelatinasa Neutrófilos

NH<sub>3</sub>: Amoníaco

NKK: Nitrosamina derivada del humo del tabaco

OMS: Organización Mundial de la Salud

ONOO<sup>-</sup>: anión peroxinitrilo

PAI-1: Inhibidor 1 del Activador del Plasminógeno 1

Po-210: Polonio 210

RBP: Proteína Unida al Retinol

RLOs: Radicales Libres de Oxígeno

SGLT1: cotransportador sodio-glucosa tipo 1

SGLT2: cotransportador sodio-glucosa tipo 2

SNC: Sistema Nervioso Central

TBA: Ácido Tiobarbitúrico

TCA: Ácido Tricloroacético

TFG: Tasa de Filtración Glomerular

TFG-β1: Factor de Crecimiento Transformante β1

TMB: tetrametilbenzidina





<b>INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>1. EL TABAQUISMO</b>	2
1.1. Concepto	2
1.2. Historia del tabaquismo	2
Ley de prohibición en lugares públicos	6
1.3. Epidemiología	7
1.4. La planta del tabaco	11
Componentes del humo del cigarrillo	12
Nicotina	14
Alquitranes	17
Monóxido de Carbono	17
Sustancias irritantes	19
Agentes cancerígenos	20
Radicales libres y oxidantes	21
Metales pesados y elementos radioactivos	21
Aditivos	23
1.5. Efectos tóxicos del tabaco	24
Cáncer	25
Enfermedades pulmonares	29
Enfermedades cardiovasculares	31
Toxicidad en la reproducción	33
Diabetes	33
Alergias	34
Alteración del estado nutricional	35
Otros	35
1.6. Dependencia a la nicotina. Adicción al tabaco	36
1.7. Diagnóstico del tabaquismo	39
Diagnóstico psicológico	39
Marcadores biológicos y funcionales	41

<b>2. ASOCIACIÓN ENTRE TABACO Y DAÑO RENAL</b>	45
2.1. Introducción	45
2.2. Efectos del tabaco en la función renal de individuos sanos	46
2.3. Efectos del tabaco en la función renal de individuos con patologías	46
Efectos del tabaco sobre la función renal en diabéticos	46
Efectos del tabaco sobre la función renal de hipertensos	47
Riesgo cardiovascular asociado a la enfermedad renal crónica	48
Efectos del tabaco sobre nefropatías primarias y secundarias	49
2.4. Posibles mecanismos implicados en el daño renal producido por el tabaco	50
Mecanismos hemodinámicos	51
Mecanismos no hemodinámicos	52
Principales mecanismos de acción implicados en el daño renal inducido por el tabaco	53
2.5. Histopatología del daño renal producido por el tabaco	55
<b>3. EVALUACIÓN DEL DAÑO RENAL</b>	57
3.1. Biomarcadores clásicos	57
Creatinina plasmática (crp)	57
Otros marcadores	59
3.2. Biomarcadores tempranos	59
N-acetil- $\beta$ -D-gluosaminidasa (NAG)	59
Lipocalina asociada a gelatinasa de neutrófilos (NGAL)	60
Molécula de daño renal 1 (KIM-1)	60
3.3. Diagnóstico de la predisposición adquirida al daño renal	61
Utilidad de los biomarcadores de predisposición	62
<b>HIPÓTESIS Y OBJETIVOS</b>	63
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	67
<b>1. CARACTERÍSTICAS DEL CENTRO DE SALUD</b>	69
<b>2. RECLUTAMIENTO DE PACIENTES EN EL ESTUDIO</b>	69
<b>3. DISEÑO Y PROCEDIMIENTO</b>	70
3.1. Recogida de datos de los pacientes	70

3.2. Distribución de los pacientes en los grupos de estudio	71
3.3. Realización del test de Fagerström	72
3.4. Recogida de muestras de orina	72
3.5. Conservación y procesamiento de las muestras	73
<b>4. DIAGNÓSTICO CONVENCIONAL DEL DAÑO RENAL</b>	<b>73</b>
4.1. Determinaciones plasmáticas	74
4.2. Determinaciones urinarias	74
Proteinuria	74
Glucosuria	74
Creatinina urinaria	75
Albuminuria	76
4.3. Estimación de la tasa de filtración glomerular	76
<b>5. TÉCNICAS ANALÍTICAS DE CUANTIFICACIÓN DE MARCADORES TEMPRANOS DE DAÑO RENAL, ESTRÉS OXIDATIVO Y CONSUMO DE TABACO</b>	<b>77</b>
5.1. Actividad urinaria de la enzima N-acetil-β-D-glucosaminidasa (NAG)	77
5.2. Lipocalina asociada a gelatinasa de neutrófilos (NGAL)	78
5.3. Molécula de daño renal 1 (KIM-1)	79
5.4. Malonildialdehído (MDA)	80
5.5. Capacidad antioxidante	81
5.6. Excreción urinaria de cotinina	82
<b>6. BIOESTADÍSTICA</b>	<b>83</b>
6.1. Eliminación de resultados anómalos	83
6.2. Comparación de grupos	84
6.3. Correlaciones	84
6.4. Frecuencias	85
<b>RESULTADOS</b>	<b>87</b>
<b>1. PARTICIPACIÓN DE PACIENTES EN EL ESTUDIO</b>	<b>89</b>
<b>2. VARIABLES EPIDEMIOLÓGICAS</b>	<b>89</b>
2.1. Sexo	89

2.2. Edad	90
2.3. Variables antropométricas: peso, talla e IMC	91
<b>3. CONSUMO DE TABACO</b>	<b>92</b>
3.1. Consumo diario de tabaco	92
3.2. Adicción a la nicotina	93
<b>4. FACTORES DE RIESGO</b>	<b>95</b>
<b>5. DIAGNÓSTICO CONVENCIONAL DEL DAÑO RENAL</b>	<b>98</b>
5.1. Creatinina plasmática	99
5.2. Cálculo de la TFG	100
5.3. Urea plasmática	101
5.4. Proteinuria	101
5.5. Albuminuria	108
5.6. Glucosuria	113
<b>6. BIOMARCADORES TEMPRANOS DE DAÑO RENAL</b>	<b>115</b>
6.1. N-acetil- $\beta$ -D-glucosaminidasa (NAG)	115
6.2. Lipocalina asociada a gelatinasa de neutrófilos (NGAL)	117
6.3. Molécula de daño renal 1 (KIM-1)	119
<b>7. BIOMARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO</b>	<b>122</b>
7.1. Malonildialdehido (MDA)	122
7.2. Antioxidantes totales	124
<b>DISCUSIÓN</b>	<b>131</b>
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>145</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>149</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>155</b>





# INTRODUCCIÓN

---





## 1. EL TABAQUISMO

### 1.1. CONCEPTO

El tabaquismo es una enfermedad adictiva y crónica que es la primera causa de muerte evitable en los países desarrollados (WHO, 1992). La edad de inicio en el consumo del tabaco se estima que es en torno a los 20 años de edad, se mantiene debido a la dependencia que produce la nicotina y las principales manifestaciones clínicas que produce son: trastornos cardiovasculares, trastornos respiratorios y aparición de tumores en diversas localizaciones. Tiene una alta prevalencia que varía en los diferentes países de acuerdo a criterios sociales, económicos y culturales. Es responsable de unos 5,5 millones muertes anuales; en el 2030 la cifra prevista será de 8 millones al año, ocurriendo más del 75% de éstas muertes en los países en desarrollo. La Organización Mundial de la Salud (OMS) considera al consumo de tabaco una de sus líneas prioritarias de actuación, ya que, si no se consiguen cambiar las tendencias, a lo largo del siglo XXI el tabaco será responsable de la muerte prematura de unas 1000 millones de personas (OMS, 2008).

### 1.2. HISTORIA DEL TABAQUISMO

Aunque hay autores que aseguran que el tabaco era ya conocido por los persas y egipcios desde antes del descubrimiento de América, no existe constancia escrita de este hecho. Las primeras noticias sobre el tabaco en el mundo Occidental provienen de 1492 cuando Cristóbal Colón llegó a la isla Guanahani, en el continente americano. Este hecho se constató en el diario de viaje del almirante y aparece reflejado en el libro *Historia de las Indias*. También se encuentra plasmado en diferentes obras de arte (Figura 1).

Los pueblos conquistados denominaban a esta planta de diferentes formas según el lugar: *cohiva* o *covija* por los caribeños; *kuts* o *sillar* por los mayas; *pycielt* o *yelt* por los aztecas; *saiti* por los incas; *vuri* por los colombianos, *petum* por los brasileños, *upawoc* en Florida y *ypponoc* en Virginia. Cada uno de estos pueblos tenía un ritual de consumo, asociando connotaciones medicinales, místicas o sociales. Los

conquistadores del Nuevo Mundo se iniciaron también en este hábito y se llevaron hojas y semillas de la planta a sus países.



Figura 1: Pintura de José Garnelo y Alda. Cuadro que representa la llegada de Cristóbal Colón a la isla Guanahani y cómo los habitantes indígenas lo reciben con ofrendas entre las que se encuentran hojas secas de tabaco.

En Europa el tabaco se comenzó a sembrar como planta ornamental. Las propiedades terapéuticas de esta planta se describieron por primera vez en 1535 por el madrileño Gonzalo Fernández de Oviedo y Valdés (Jiménez-Ruíz y Fagerström, 2012). En la segunda mitad del siglo XVI el tabaco se extendió a través de Portugal, los Balcanes, Persia, India, China, Japón y África y rápidamente fue conocido también en Turquía y Rusia. En el siglo XVII su cultivo ya era universal y comienza a adquirir categoría económica en el comercio internacional y en las agriculturas americanas y europeas. La Habana llegó a ser centro de difusión del tabaco indiano, existe constancia de que por aquella época la venta de tabaco en la Habana era negocio (Ortiz, 1973). Los gobiernos comenzaron a darse cuenta de que el comercio del tabaco podría suponer una notable fuente de ingreso a través de los impuestos. El monopolio del comercio del tabaco en España comenzó en 1634 con el establecimiento del estanco en Castilla y León, ampliándose en 1707 al resto del reino. Durante los siglos XVII y XVIII hubo médicos que se declararon en contra del consumo de esta planta como medicamento. En 1628, Pedro Ponce de León notificó efectos adversos observados en cadáveres de personas que habían fumado tabaco como problemas hepáticos y cerebrales. En esta época la iglesia comenzó a luchar

contra el uso del tabaco. A pesar de los detractores, las indicaciones terapéuticas del tabaco continuaron, se inventó un método de tratamiento de la asfixia por ahogamiento mediante una máquina fumigatoria; se utilizaba la vía rectal mediante enemas de disolución acuosa (Sauret Valet, 1996).

A principios del siglo XIX se aisló la nicotina por Gaspar Cerioli de Cremona (1807), pero no la obtuvo pura. El verdadero descubridor de ésta fue Reimann, en 1828 quien no sólo la aisló, sino que además especificó sus características físicas y químicas reconociendo que se trataba de una base orgánica (Folch Andreu, 1950). En este siglo se generalizó el uso del cigarrillo como forma de consumo de tabaco, que hasta entonces se realizaba principalmente en pipa.

La mejora en las técnicas de cultivo y procesado del tabaco que se producen a lo largo del siglo XIX originó una superproducción que hizo que las compañías tabaqueras iniciaran campañas agresivas de venta de tal modo que el hábito de fumar se convirtió en una costumbre. A principios del siglo XX se dispara el consumo en todos los países occidentales. Cabe resaltar el protagonismo que la Primera Guerra Mundial le otorgó al cigarrillo, entre los soldados el tabaco era considerado indispensable, esto se consiguió con ayuda de las compañías tabaqueras que lo regalaron al ejército. Durante la Segunda Guerra Mundial el consumo era masivo, de tal forma que fue considerado bien de primera necesidad y por lo tanto suministrado regularmente a las tropas. En esta guerra las mujeres se unieron al ejército lo que supuso la incorporación del género femenino al consumo masivo del tabaco. En España, durante la Guerra Civil se distribuyeron entre los combatientes grandes cantidades de tabaco, por lo que al final de la contienda la tasa de fumadores aumentó significativamente. En 1928 comienzan los estudios científicos que asocian una elevada mortalidad al consumo del tabaco (Pearl, 1928). A pesar de que en ese momento no se tomó en serio esta investigación, otros científicos comenzaron estudios epidemiológicos y se comienza a demostrar la posible carcinogenicidad de esta droga (Wynder, 1954). También se establece la relación entre tabaco e infarto agudo de miocardio. Comienzan a aparecer

legislaciones más restrictivas que inciden en los medios de comunicación de masas y en la venta de cigarrillos a menores.

A principios de los años ochenta aparecen informes científicos que ponen de manifiesto que no sólo es peligroso para los consumidores sino también para aquellos que se ven sometidos al humo del tabaco ambiental. Surge el concepto de fumador pasivo. La regulación del consumo del tabaco en los lugares públicos es una de las medidas de prevención que comenzó a implantarse tras conocerse este hecho. A finales del siglo XX se han desarrollado otra serie de actuaciones encaminadas a reducir el consumo y a evitar el inicio del hábito tabáquico en jóvenes (Jiménez-Ruíz y Fagerström, 2012).

### **Ley de la prohibición del tabaco en lugares públicos**

El 1 de enero de 2006 entró en vigor la Ley española 28/2005, de 26 de diciembre, conocida como Ley antitabaco. Algunos aspectos de la ley no entraron en vigor hasta septiembre de 2006 y enero de 2007. La medida más importante de esta ley fue la prohibición de fumar en lugares en los que hasta esa fecha estaba permitido, como los lugares de trabajo (tanto públicos como privados) o los centros culturales. Además se distingue entre zonas en las que está "totalmente prohibido fumar", y espacios en los que se puede fumar si se habilita una sala especial de fumadores.

Posteriormente en el 2010 se aplicó la Ley 42/2010, de 30 de diciembre de 2010, por la que se modificaba la Ley 28/2005, de 26 de diciembre. Esta nueva regulación establece medidas sanitarias frente al tabaquismo y regula la venta, el suministro, el consumo y la publicidad de los productos del tabaco. Es más conocida como nueva ley antitabaco la ley española que entró en vigor el 2 de enero de 2011, como modificación de la anterior ley antitabaco de 2006, y cuyas medidas de mayor repercusión social fueron la extensión de la prohibición de fumar a cualquier tipo espacio de uso colectivo, local abierto al público, que no esté al aire libre, con una única excepción otorgada a centros de internamiento penitenciario y psiquiátrico y en zonas y habitaciones delimitadas en centros residenciales de mayores.

La modificación legislativa introdujo, entre otros, cambios dirigidos a la lucha contra el tabaquismo (deshabitación tabáquica), y a la protección de los ciudadanos, particularmente de los menores, y de los no fumadores

### 1.3. EPIDEMIOLOGÍA

En la década de 1980, Richard Peto (Peto y cols., 1992) determinó la distribución de la epidemia del tabaco en el mundo (Figura 2). Suponiendo que el año 0 se corresponde con los primeros años del siglo XX y que el año 100 lo hace con los últimos del siglo XX y los primeros del XXI, se puede ver cómo la prevalencia del tabaquismo en los varones se incrementa de forma exponencial en el período de entreguerras en los diferentes países y alcanza su culmen aproximadamente 50 años después. Desde ese momento se observa una disminución progresiva de dicha prevalencia. También se puede apreciar cómo, paralelamente al incremento de la prevalencia entre los varones, pero con un periodo de latencia de 20-25 años, aparece un incremento en la mortalidad de los mismos por enfermedades debidas al consumo de tabaco. En el caso de las mujeres fumadoras se observa cómo la prevalencia del consumo comienza a aumentar 20 años después que la de los varones. Dicho incremento es progresivo hasta que, pasados 50 años del inicio del ascenso en la prevalencia, este alcanza su punto álgido y el ascenso se detiene. La curva de mortalidad por enfermedades asociadas con el consumo del tabaco en las mujeres sigue un trazado similar a la curva de prevalencia, pero con un periodo de latencia de alrededor de 25-30 años. Teniendo en cuenta este modelo, se identifican hasta cuatro fases que dependen de los índices de prevalencia y mortalidad en hombres y mujeres. En España nos encontramos en plena fase 4. Es decir, la prevalencia en hombres ha comenzado a disminuir, la prevalencia en mujeres está entrando en un periodo de meseta, la mortalidad en hombres está comenzando a disminuir y la mortalidad en mujeres, aunque todavía es baja, está comenzando a aumentar (Banegas y cols., 2010). En cifras, la OMS ha estimado que en la actualidad el tabaquismo al año causa 3500000 muertes en el mundo, lo que supone 10000 muertes diarias. Basándose en las tendencias actuales se estima que las cifras aumentarán a 10000000 de personas anualmente entre 2020 y 2030.

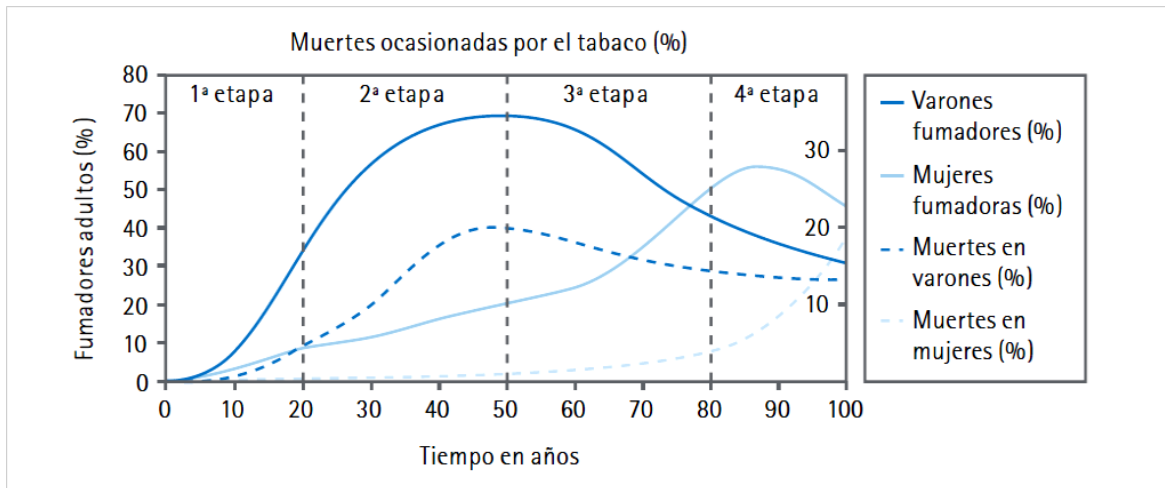


Figura 2. Modelo estándar para el patrón de diseminación de la epidemia tabáquica, el comportamiento del tabaquismo y sus efectos sobre la mortalidad. Adaptado de Jiménez-Ruiz y Fagerström (2012).

Las estadísticas sanitarias son las herramientas más utilizadas para conocer el estado de la salud en una población. En el caso del tabaquismo en España, el Instituto Nacional de Estadística (INE) realiza cada cierto periodo de tiempo encuestas dirigidas a evaluar el consumo de tabaco. El último boletín emitido por esta institución fue en el año 2009. Los datos obtenidos reflejaban que en España, uno de cada cuatro adultos se considera fumador diario (26,2%). La proporción era mayor entre los hombres que entre las mujeres y el grupo de edad con mayor tasa estaba entre los 45-54 años (34,0%) (Figura 3).

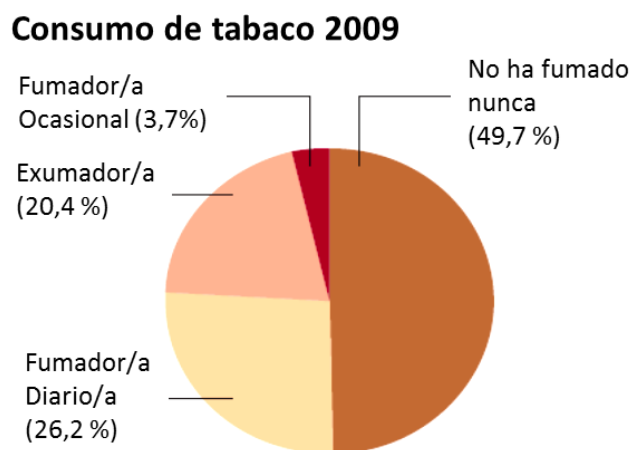


Figura 3. Consumo del tabaco en Europa en 2009. Datos procedentes del Instituto Nacional de Estadística (INE) y de la Encuesta Europea de Salud 2009.

Estos datos son muy similares a los que muestra la OMS a finales de diciembre de 2014 en su boletín de datos de consumo de tabaco en España (Tabla 1):

	Consumo en jóvenes		Consumo en adultos		Consumo en adultos	
	Ocasional (%)	Diario (%)	Ocasional (%)	Diario (%)	Ocasional (%)	Diario (%)
Masculino	28,1	...	31,4	27,9	...	26,9
Femenino	36,4	...	22,8	20,2	...	20,2
Ambos sexos	32,4	...	27,0	24,0	...	23,5

Tabla 1. Consumo de tabaco en España en población joven (14-18 años) o adulta (>15 años). Realizada con los datos obtenidos en la Encuesta Europea de Salud (WHO, 2014).

En cuanto a la distribución de consumo en España por Comunidades Autónomas, las que presentan mayor porcentaje de fumadores diarios son La Rioja (29,4%) y Castilla-La Mancha (29,0%), mientras que Galicia y Cataluña son las que menos proporción tienen (22,2% y 24,2%, respectivamente), según datos de la Encuesta Europea de Salud (WHO, 2014) (Figura 4).

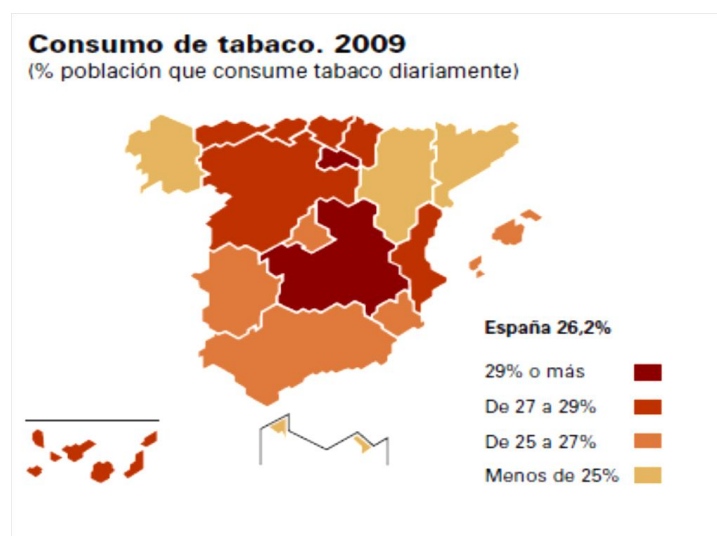


Figura 4. Consumo del tabaco en España, por comunidad autónoma. Imagen adaptada de la Encuesta Europea de Salud (WHO, 2014).



## INTRODUCCIÓN

Con estos datos de consumo, España se sitúa en el séptimo lugar de los países Europeos con más fumadores diarios (Figura 5).

**Fumadores diarios de cigarrillos en algunos países de la UE. 2006-2009**  
(% población de 15 años o más)

Grecia	31,8
Bulgaria	29,2
Letonia	27,9
Hungría	26,1
Estonia	25,9
Chipre	25,9
<b>España</b>	<b>25,2</b>
República Checa	24,3
Polonia	23,8
Austria	22,9
Alemania	22,8
Rumanía	20,5
Eslovaquia	19,3
Malta	19,2
Bélgica	18,9
Eslovenia	18,7

Fuente: Eurostat




Figura 5. Porcentaje de población fumadora mayor de 15 años, en diferentes países europeos. Datos obtenidos de la Encuesta Europea de Salud (WHO, 2014).

En lo que refiere a la mortalidad asociada al consumo de tabaco, los datos estimados en España son los siguientes (Tabla 2):

<b>ESTILOS DE VIDA</b>		
<b>Mortalidad atribuible al consumo de tabaco. Hombres y Mujeres</b>		
<b>COMUNIDADES AUTÓNOMAS</b>	<b>Tasa ajustada por edad por 100.000 HOMBRES</b>	<b>Tasa ajustada por edad por 100.000 MUJERES</b>
Andalucía	327,1	22,1
Aragón	241,9	10,3
Asturias	313,8	14,5
Baleares	319,0	30,9
Canarias	292,3	26,9
Cantabria	299,6	19,3
Castilla y León	218,7	12,5
Castilla - La Mancha	239,4	8,7
Cataluña	272,6	15,3
Comunidad Valenciana	310,6	18,1
Extremadura	285,4	8,6
Galicia	251,2	15,9
Madrid	234,7	23,7
Murcia	290,6	18,3
Navarra	223,3	19,6
País Vasco	281,9	28,5
La Rioja	218,7	15,4
Ceuta y Melilla	271,7	28,0

Tabla 2: Mortalidad atribuible al tabaco por Comunidades Autónomas. Datos obtenidos de la Asociación Española Contra el Cáncer (AECC).



En general, la muerte atribuida al tabaquismo se está viendo incrementada en los últimos años, sobre todo en mujeres y se estima que este incremento sea mayor en el futuro (Figura 6).

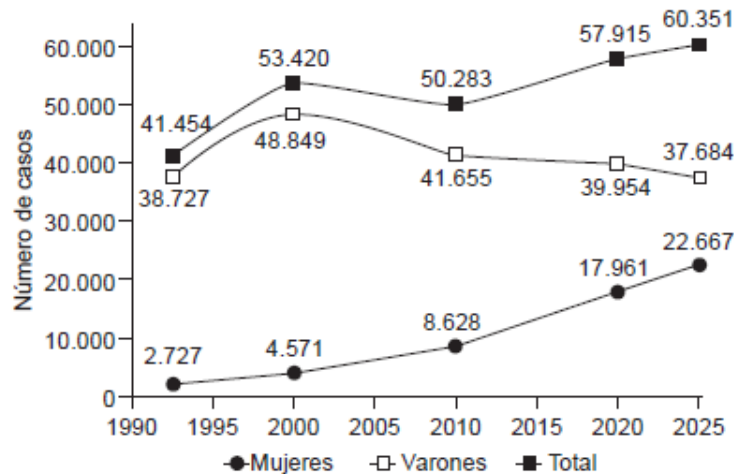


Figura 6: Número total de muertes atribuidas al tabaco en España (Datos obtenidos de Banegas y cols., 2010).

#### 1.4. LA PLANTA DEL TABACO

El tabaco procede de la hoja de la planta *Nicotiana tabacum* de la que se conocen cuatro variedades diferentes: *brasilensis*, *havanensis*, *virginica* y *purpurea* (Zaragoza y Llanos, 1980). Es una planta solanácea originaria de América, crece a temperaturas que oscilan entre los 12-18°C. El cultivo del tabaco está muy extendido en todo el mundo siendo China, Brasil, India y Estados Unidos los países con mayor producción.

Una vez recolectada la hoja del tabaco, se mezcla con sustancias aromatizantes y aditivos para mejorar sus características y se trocea. Esta mezcla puede envasarse dentro de un cilindro de papel al que se le coloca un filtro de celulosa en un extremo y pasa a denominarse cigarrillo (Zaragoza y Llanos, 1980). Esta hoja también puede ser utilizada para la elaboración de puros, pipas, tabaco para liar, tabaco para pipas de agua, tabaco para masticar, *stricks*, *kreteks*, *moist snuff* y *dry snuff*. De todas estas modalidades de consumo, el cigarrillo, el puro y la pipa son las

más utilizadas. En concreto los cigarrillos constituyen casi el 90% del tabaco que es consumido en los países desarrollados. El consumo del tabaco, en cualquiera de sus formas es perjudicial para la salud (Jiménez-Ruiz y Fagerström, 2012).

### **Componentes del humo del cigarrillo**

Cuando un sujeto da una calada a un cigarrillo encendido, se inicia una corriente de humo en el extremo distal del mismo. Esta corriente atraviesa toda la columna del cigarro y pasa al interior del fumador activo a través del filtro del cigarrillo. Esta corriente de humo es denominada corriente primaria o principal. Pero como consecuencia del consumo del cigarrillo, también se liberan otras corrientes de humo: la que se produce en el propio cono de ignición del cigarrillo, la que se escapa a través de los poros del papel e incluso la que se le escapa al sujeto antes de inhalar la corriente primaria. A la suma de todas estas corrientes se le llama corriente secundaria. Aproximadamente el 75% del humo que produce un cigarrillo es corriente secundaria y el resto es corriente primaria (Jiménez-Ruiz y Fagerström, 2012).

La corriente primaria es la que alcanza el interior del fumador activo y por lo tanto es la responsable de la patología que se asocia al consumo del tabaco (Jiménez-Ruiz y Fagerström, 2012). La toxicidad del acto de fumar se va incrementando a medida que avanza el proceso de pirolisis. El primer tercio del cigarrillo es menos nocivo (Figura 7); los tercios segundo y tercero van acumulando, por efectos de la dirección de la columna y el humo y el depósito de las sustancias, todos los productos volatilizados y transformados en el momento de la combustión, condensándolos y almacenándolos, determinando que la parte más distal del cigarrillo sea la más tóxica, fundamentalmente en el contenido de alquitranes. El hecho de que el tabaco tenga filtros ayuda a disminuir las sustancias que componen el humo de combustión tabáquica, ya que pueden disminuir la velocidad de la columna de humo, disminuir la temperatura de la columna de humo, retener alquitranes (20-40%), retener nicotina (10-20%), así como retener otros componentes del tabaco fácilmente depositables (Moreno Arnedillo y cols., 2003).

La corriente secundaria es la que alcanza al medio ambiente, donde conviven los fumadores y los no fumadores. Es, pues, la responsable de toda la patología que se asocia con el consumo pasivo del tabaco.

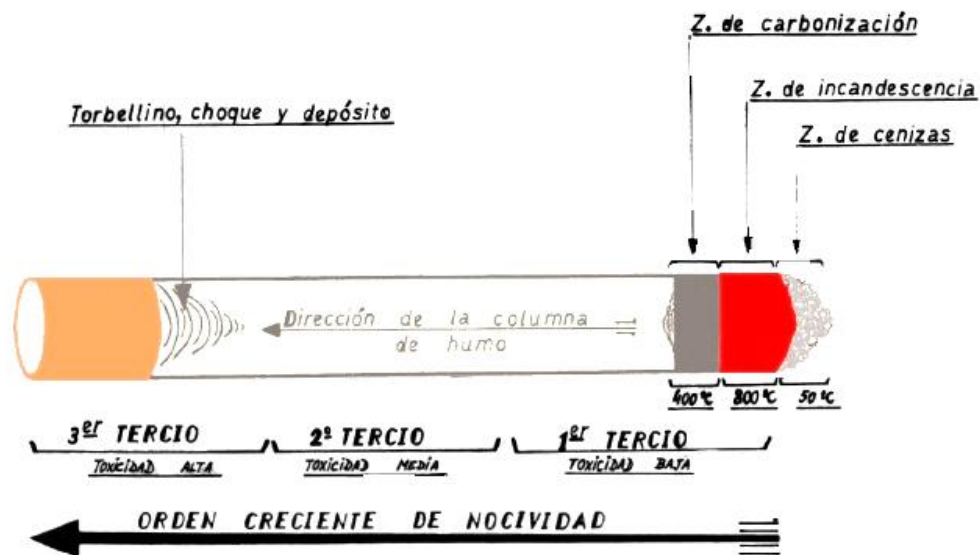


Figura 7. Partes del cigarrillo encendido. Modificado de Moreno-Arnedillo (2003).

Tanto en la corriente primaria como la secundaria se han detectado hasta 4500 sustancias tóxicas. Estos productos nocivos proceden tanto de las sustancias químicas que contienen las hojas del tabaco como de las que se añaden con los aromatizantes y aditivos (Martín Ruiz y cols., 2004).

Estas sustancias químicas que aparecen en el humo de la combustión se dividen en dos fases: fase gaseosa y fase sólida (Martín Ruiz y cols., 2004). La separación de las fases se realiza haciendo pasar el humo del cigarrillo a través de un filtro, que retendrá las partículas de la fase sólida y dejará pasar la fase gaseosa. Dichas sustancias, posteriormente, se identifican con diversas técnicas, entre las que destacan cromatografía de gases, espectrometría de masas, etc.

Dentro de los componentes que identificamos en la fase gaseosa se encuentran: el monóxido de carbono (CO), dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), acetona (CH<sub>3</sub>(CO)CH<sub>3</sub>), acetonitrilo (C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>N), acetileno (C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>), amoníaco (NH<sub>3</sub>), ácido cianhídrico (HCN);

## INTRODUCCIÓN

---

dimetilnitrosamina, metano, propano, piridina, metil-clorhidrato, nitrospirrolidina, propionaldehído, 2-butano, 3-picolina, 3-binilpiridina, etc.

Por su parte, en la fase sólida se han aislado: nicotina, anilina, benzopireno, hidracina, naftalina, metil-naftalina, metil-quinolinas, NKK (nitrosamina derivada del humo del tabaco), fenol, pireno, quinolona, stigmasterol, tolueno, “brea”, 2-naftilamina, 4-amino-p-fenil, etc.

Hay que tener en cuenta que, dependiendo del tipo de cigarrillo, estas sustancias tienen valores cuantitativos diferentes, debido a características del propio cigarro, tipo de filtro, factores de producción, etc.

La absorción de los componentes va a depender tanto del pH como de la solubilidad, así los elementos más solubles se absorberán en vías aéreas superiores y los de baja solubilidad se absorberán a nivel alveolar. Una vez absorbidos pasan a circulación sistémica ejerciendo su efecto en los diversos tejidos. Muchos de estos componentes no permanecen como tal en el organismo, sino que dan lugar a diversas sustancias intermedias o metabolitos, los cuales reaccionan con otros componentes del organismo o con componentes externos.

A continuación, se detalla la cinética de algunos de los componentes más importantes, así como sus efectos tóxicos:

### **Nicotina:**

Es el agente farmacológico presente en el humo del tabaco con mayor acción aguda, con actividad psiocoactiva. Es uno de los escasos alcaloides que de forma natural es líquida. Su estructura química está formada por un anillo piridínico y otro pirrolidínico (Figura 8). De los dos isómeros que tiene, la L-nicotina es la forma activa y es la que se encuentra en el tabaco (Jiménez-Ruiz y Fagerström, 2012). Es la responsable de la dependencia física del fumador también conocida con el nombre de adicción. La mayoría de los cigarrillos del mercado contienen 10 mg o más de nicotina, de la cual se inhala entre 1 y 2 mg/cigarrillo (Leshner, 2001).

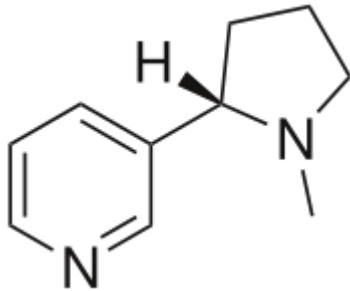


Figura 8. Estructura química de la nicotina

En el humo del cigarrillo se encuentra presente en forma de sales ácidas por lo que la absorción de la misma en la mucosa bucal es mínima y por ello el fumador requiere realizar inhalaciones profundas para absorber la nicotina a nivel pulmonar, lo que hace que arrastre consigo todas las sustancias tóxicas presentes en el cigarrillo (Martín Ruiz y cols. 2004). Desde el pulmón a través de la circulación pulmonar, pasa a la circulación arterial por lo que puede acceder al cerebro rápidamente (9-10 segundos) donde se une a los receptores nicotínicos, lo que produce un efecto placentero y gratificante para el fumador (dependencia a la nicotina). Por otra parte, el humo de los puros y pipas tiene un pH alcalino, lo que hace que la nicotina que liberan se absorba en la cavidad orofaríngea, lo que explica que de este modo los niveles de nicotina en sangre sean más bajos que con los cigarrillos pero que el consumo en pipa o puro produzca más irritación local (Jiménez-Ruiz y Fagurström, 2012).

Una vez en sangre, la nicotina se distribuye por todo el organismo, el 30% de la nicotina presente en circulación sistémica está en forma libre lo que facilita el transporte hacia el interior de las células y su unión a receptores específicos (Jiménez-Ruiz y Fagerström, 2012). Por su alta liposolubilidad, la nicotina atraviesa la barrera hematoencefálica sin dificultad, también puede atravesar la barrera placentaria. En líquido amniótico se observan concentraciones muy superiores a las plasmáticas tanto de nicotina como de su metabolito cotinina. Aunque la nicotina se elimina en la leche de las madres fumadoras, ésta parece carecer de relevancia toxicológica (Jiménez-Ruiz y Fagerström, 2012).

## INTRODUCCIÓN

---

En el hígado más del 90% de la nicotina se metaboliza mediante un proceso oxidativo, en el cual intervienen monooxigenasas del citocromo P-450. El 80% de los metabolitos que se obtienen no poseen capacidad adictiva, entre ellos destacan la cotinina y la nicotina 1-N-óxido (Leshner, 2001). La cotinina a su vez puede ser transformada en 3'-hidroxicotinina por la enzima CYP2A6. La cotinina puede detectarse en sangre, saliva y orina de los fumadores tanto activos como pasivos, por lo cual es un buen marcador biológico de exposición al tabaco (Martín-Ruiz y cols., 2004)

Como se puede deducir de la información anterior, la eliminación de la nicotina no metabolizada y de sus metabolitos se produce fundamentalmente a través de la orina. Otras vías de eliminación son la saliva, el sudor o la leche materna (Zaragoza y Llanos, 1980)

La nicotina produce una serie de efectos en el organismo entre los que destacan:

- Sistema Nervioso Central: produce estimulación central, induce la liberación de acetilcolina y, en menor cantidad de noradrenalina, dopamina y  $\beta$ -endorfinas.
- Aparato circulatorio: incremento de la tensión arterial; incremento de la frecuencia cardíaca (taquicardia); disminución del aporte sanguíneo distal, lo que lleva a una disminución de la temperatura corporal de manos y pies; incrementa la adhesión y la agregación plaquetaria; favorece la formación de trombos.
- Sistema gastrointestinal: reducción de las contracciones de la pared gástrica; incremento de las secreciones ácidas del estómago (mayor probabilidad de gastritis o de úlceras gástricas); disminución de la liberación de insulina en el páncreas.

- Sistema respiratorio: aumento de la frecuencia respiratoria, lo que reduce la función inmunitaria del pulmón y favorece la aparición de infecciones y el desarrollo de neoplasias. Dosis altas de nicotina (40-60 mg) causan la muerte en pocos minutos debido a un fallo respiratorio.
- Metabolismo: Incrementa el metabolismo basal; incrementa los niveles de colesterol-lipoproteínas de baja densidad y de muy baja densidad; interacciona con sustancias, incluidos fármacos, que son metabolizadas por el citocromo P-450.

### **Alquitranes**

Los alquitranes son una mezcla de diversas sustancias que se producen tras la combustión del cigarrillo. Está compuesto por una gran variedad de productos químicos y en él reside gran parte de la toxicidad del tabaco. Es un residuo sólido una vez depositado el agua y la nicotina. Es una sustancia untuosa de color oscuro, fuerte olor y que tiñe los dedos y el tejido pulmonar de un color amarillento. Un fumador de 20 cigarrillos al día durante un año, acumula en los pulmones un residuo de 840 cm<sup>3</sup> que, en su mayoría se eliminan por acción de los cilios respiratorios (Martín-Ruiz y cols., 2004). Está suficientemente probado que existe una relación directa entre el alquitrán y la aparición de tumores malignos, fundamentalmente del tracto respiratorio (Jiménez-Ruiz y Fagerström, 2012).

### **Monóxido de carbono**

El CO es un gas tóxico que se desprende en la combustión del tabaco. Se trata de un gas incoloro, inodoro, no irritante, de densidad ligeramente inferior al aire, siendo un auténtico asfixiante químico. En el caso de los cigarrillos, la concentración de CO es del 1,9 al 6,3% (Solano Reina y cols., 2002). Al CO producido por la combustión del tabaco hay que añadirle el producido por la combustión de su papel de envoltura.

El CO se absorbe en los pulmones y pasa rápidamente al aparato circulatorio. Cuando llega a la sangre, se une a la hemoglobina formando carboxihemoglobina, esta unión se produce ya que su afinidad es 270 veces superior a la del oxígeno y por ello es desplazado. Esto hace que se bloquee el aporte de oxígeno a los tejidos y, por lo tanto, la sangre de las personas fumadoras está menos oxigenada (hipoxemia). Como consecuencia, los diferentes tejidos y órganos del cuerpo estén menos oxigenados (hipoxia). El CO también puede producir alteraciones de la actividad mitocondrial y de la fosforilación oxidativa, formación de radicales libres en la fase de re-oxigenación, degradación de ácidos grasos, desmielinización reversible del sistema nervioso central (Solano Reina y cols., 2002). Estos mecanismos están involucrados en la generación de efectos tóxicos por parte del CO que principalmente son:

- Aparato circulatorio: cuando la hipoxia se produce en la pared de las arterias, se favorece la formación de depósitos de grasa y por lo tanto la generación de placas de ateroma, cuando esto sucede en los vasos del corazón puede producirse angina de pecho o infarto de miocardio.
- En general la hipoxia tisular y la lesión tisular directa del propio gas pueden verse incrementados por diversos factores como disminución de la presión barométrica, incremento de la ventilación alveolar, la preexistencia de enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares, anemia, hipovolemia, etc (Ellenhorn y cols., 1997).
- La exposición a esta sustancia durante el embarazo hace que el feto se desarrolle con mayor dificultad. Como consecuencia el peso del recién nacido es menor al esperado y por ello aumenta la susceptibilidad a padecer enfermedades durante los primeros meses de vida.



### Sustancias irritantes

Ciertos gases tóxicos se encuentran presentes en el humo del tabaco, estas sustancias son las responsables de las patologías respiratorias (no cancerosas), que están englobadas bajo el término de EPOC (enfermedad pulmonar obstructiva crónica), donde se incluyen la bronquitis crónica y el enfisema pulmonar.

La acción de las sustancias irritantes se produce por contacto directo del humo con las paredes del árbol respiratorio. Sobre las células mucosas (productoras de moco), las sustancias irritantes provocan una excesiva producción de moco que es difícil de expulsar, por lo que se precisan fuertes golpes de tos para eliminarlo (tos típica del fumador) y que poco a poco va dificultando la respiración.

Sobre las células ciliadas, cuya misión es movilizar el moco y las pequeñas partículas que puedan entrar a los pulmones, provoca una parálisis y posterior muerte de los filamentos, dificultándose cada vez más la expulsión de moco y de los agentes nocivos.

Entre las sustancias irritantes que se encuentran presentes en el tabaco las más tóxicas son:

- El formaldehído, es un gas que se libera durante la pirolisis, es irritante de la piel, ojos y vías respiratorias. Además se considera cancerígeno para el humano.
- El dióxido de nitrógeno (NO<sub>2</sub>): es una sustancia oxidante que induce la liperperoxidación de las membranas alveolares. Exposiciones crónicas a bajas concentraciones de esta sustancia favorece la aparición de enfermedades pulmonares (San-Gallen y Corbella, 1995).
- La acroleína: la inhalación de esta sustancia daña a los pulmones pudiendo producir edema agudo de pulmón y reducción en el ritmo respiratorio. Otros

efectos observados han sido excitabilidad miocárdica y crisis hipertensivas (San-Gallen y Corbella, 1995).

- El ácido cianhídrico: a bajas concentraciones puede producir irritación en los ojos y mucosas de vías respiratorias superiores. A mayores concentraciones se ve afectado el aparato respiratorio y el sistema nervioso (García Ariño, 1996).

### **Agentes cancerígenos**

Son los responsables de la formación de los procesos cancerígenos en distintas localizaciones (pulmón, laringe, cavidad oral, vejiga, riñón, etc.).

Entre los cancerígenos más potentes aislados del humo del tabaco se encuentran los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) y las nitrosaminas. Más del 90% de los HAP inhalados en el humo del tabaco son retenidos en el tracto respiratorio donde actúan como carcinógenos de contacto. Se activan metabólicamente (intervienen sobre las monooxigenasas microsomales), formando carcinógenos definitivos. Un derivado de los HAP, el benzopireno, puede metabolizarse por acción de isoenzimas P-450 y epóxido hidrolasas dando lugar a metabolitos reactivos que pueden unirse mediante enlaces covalentes a la molécula del ADN formando aductos, los cuales pueden dar lugar a mutaciones puntuales (To-Figuerras, 1999).

Las N-Nitrosaminas se forman durante la elaboración del tabaco, son también procarcinógenos y necesitan activación metabólica, en este caso requieren de un activación metabólica por parte del citocromo P-450, produciendo un carcinógeno definitivo llamado alquildiazonio. Las aminas aromáticas, presentes en el humo del tabaco, también usan este citocromo para su activación biohepática.

Otro componente cancerígeno, la  $\beta$ -naftilamina, se activa por la acción de la glucuronidasa urinaria.

También son carcinógenos importantes los derivados fenólicos. La mayor o menor toxicidad de estos compuestos depende de su interacción con otros componentes presentes en el tabaco así como de la susceptibilidad individual, del metabolismo y del tipo de inhalaciones que realice el fumador. Se han descrito 253 estructuras fenólicas diferentes, entre los que destacan por su toxicidad el 2-(dimetilamino)-fenol, 2-etil-6-metil-1,4-bencenodiol, 2-metoxi-1,4-bencenodiol y 4-etilmetoxi-6-metilfenol (Smith y cols., 2002).

### **Radicales libres y oxidantes**

Durante el proceso de la combustión se generan gran cantidad de radicales libres de oxígeno (RLOs), como el NO. Cuando el humo del tabaco entra en contacto con los alveolos pulmonares se activan los macrófagos alveolares, lo que da lugar a la generación de más RLOs que contribuyen a la inflamación. Estos RLOs provocan broncoconstricción o hiperactividad de estas vías. Los más tóxicos son el anión superóxido, el peróxido de hidrógeno y el radical hidroxilo. Estas sustancias producen un desequilibrio en el balance oxidante-antioxidante por diversos mecanismos:

- Incremento de producción de superóxido y peróxido de hidrógeno por parte de los macrófagos alveolares.
- Mayor grado de activación de los macrófagos productores de RLOs.
- Incremento de algunas enzimas antioxidantes (superóxido dismutasa y catalasa).
- Incremento del contenido de ácido ascórbico en los macrófagos de los fumadores.
- Disminución del sistema antioxidante celular.

### **Metales pesados y elementos radioactivos (Cd, Be, As, Ni, Cr, Al y Po-210)**

Entre los componentes del humo del tabaco se ha detectado la presencia de gran variedad de metales pesados e incluso de un compuesto radioactivo. Estas sustancias son cancerígenas para el humano aunque su principal mecanismo de

acción es comutagénico, es decir, interfieren en los procesos de reparación del ADN (Hartwig y cols., 2002)

- Cadmio (Cd): la cantidad de este metal presente en un cigarrillo se estima que está en torno a 1-2 µg, del cual se llega a inhalar el 10%. El Cd produce irritación local (mucosa nasal, árbol respiratorio y tubo digestivo), pero además es un tóxico general; inhibe la absorción intestinal de calcio e impide su depósito en el tejido óseo; se fija a la hemoglobina y a la metalotioneína, y posee acción inhibitoria de los grupos sulfhidrilo, por lo que bloquea muchos procesos enzimáticos esenciales de nuestro organismo. Por exposición crónica se acumula en diversos órganos como riñones, pulmón hígado, páncreas, glándulas tiroideas, testículos y glándulas salivales (Klaasen y Watkins, 2001). Debido a esta acumulación pueden observarse diferentes efectos tóxicos:
  - Daño renal, aparición en la orina de proteínas de bajo peso molecular y alteración glomerular.
  - Pérdida de peso, anemia e hiperglobulinemia.
  - Rinitis, bronquitis y enfisema pulmonar.
  - Lesiones óseas por la pérdida de fosfato cálcico.
  - Cáncer de próstata.
  - Pigmentación amarilla en los dientes.
  - Posible acción hipertensiva.
- Berilio (Be): una parte de este metal puede quedar retenido en el pulmón donde puede producir irritación o formar un complejo antigénico con proteínas del tejido pulmonar. Otra parte accede a la circulación sanguínea donde se une a proteínas plasmáticas y se distribuye a diferentes zonas como los ganglios linfáticos, el riñón, el hígado, el bazo, la médula ósea, el músculo esquelético, el miocardio y la piel. Se excreta principalmente por orina, pero una pequeña parte puede acumularse en el hígado y en el

pulmón. El Be compite con el Mg por la enzima desoxi-timidincinasa, impidiendo la síntesis de ADN.

- Arsénico (As): aparece en sangre y orina y se acumula en las uñas y el pelo. Puede afectar a la piel, al sistema nervioso, al aparato respiratorio, al sistema cardiovascular y al hígado.
- Níquel (Ni): Afecta al aparato respiratorio produciendo rinitis, sinusitis, perforación del tabique nasal, asma alérgico y diferentes tipos de cáncer.
- Cromo (Cr): puede producir ulceración de la mucosa nasal, perforación del tabique nasal, faringitis, tos, asma y favorece la aparición de cáncer de pulmón (García Ariño, 1996).
- Aluminio (Al): se han observado elevadas concentraciones de este metal (699-1200 µg/g tabaco) en cigarrillos (Iskander y cols., 1986). El Al se relaciona con la enfermedad de Alzheimer.
- Polonio 210: diversos investigadores han encontrado trazas de este elemento en el tabaco y en el humo del tabaco. El Po-210 presente en el humo del tabaco se combina con el polvo del hogar, se deposita sobre las superficies y sobre la ropa y contribuye a incrementar la radiactividad alfa en el hogar (Chiba y Masironi, 1992). Este tipo de radiactividad está involucrada en la carcinogenicidad del tabaco.

### **Aditivos**

Componen aproximadamente el 10% del peso de un cigarrillo. Se utilizan principalmente para realzar el aroma y el sabor. Se dividen en: a) salsas o *casings*: son saborizantes naturales que ayudan a conservar la humedad del cigarrillo y b) sabores: se introducen al término del procesado del tabaco. Actualmente la

utilización de salsas ha sido sustituida por el denominado *topping* que consiste en añadir al tabaco un aroma artificial en cámaras de vacío.

Los objetivos de la utilización de estas sustancias son los siguientes: ocultar el olor y la visibilidad de la corriente lateral; facilitar la liberación de nicotina, con lo que se potencia el efecto adictivo (el amoníaco desempeña un papel fundamental al incrementar la alcalinidad del humo); mejorar cualquier aspecto relacionado con el gusto; intensificar el aroma mediante adición de menta, madera, especias, frutas y esencias florales.

Algunos de los aditivos pueden ser tóxicos, solos o bien en combinación con otros, formando sustancias farmacológicamente activas y/o tóxicas al producirse la combustión. Los más importantes son: azúcares, regaliz, cacao, acetadehído, hidróxido cálcico y humectantes como glicerol (Jiménez-Ruiz y Fagerström, 2012).

### **1.5. EFECTOS TÓXICOS DEL TABACO**

Como se puede deducir del apartado anterior, la exposición al humo del tabaco está relacionada con la aparición de varias patologías (Figura 9). La intensidad de los efectos tóxicos va a depender de una serie de factores como son el número de cigarrillos fumados al día, el número de inhalaciones, la profundidad de las inhalaciones, el tipo de cigarrillo y la antigüedad del hábito. Es importante tener en cuenta también los diferentes patrones de la toxicocinética de la nicotina y del resto de componentes químicos (Fowler y cols., 2003).

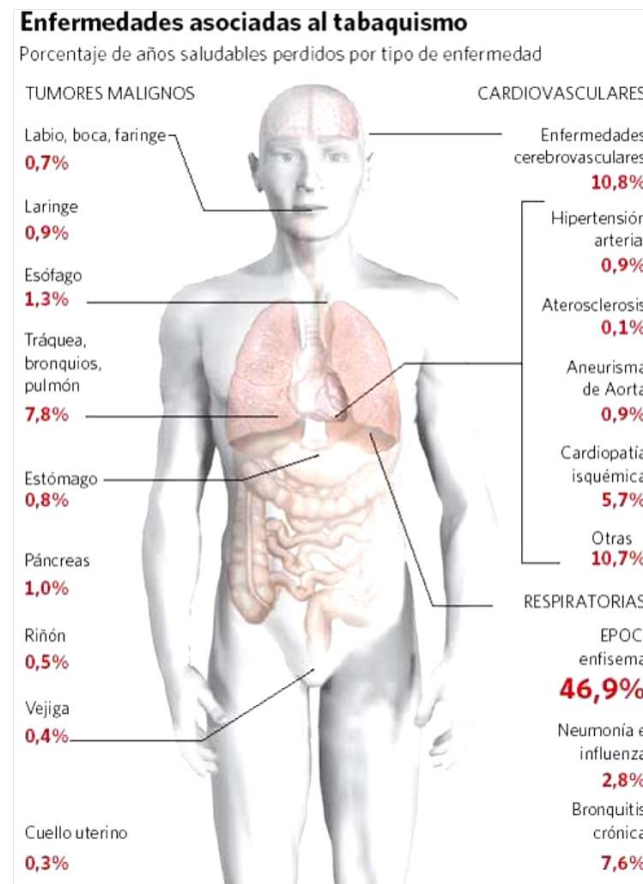


Figura 9. Enfermedades asociadas al tabaquismo. Extraído de Action on Smoking and Health (ASH, 2015).

Los efectos adversos más comunes derivados del consumo de tabaco son los siguientes:

### Cáncer

Es importante tener en cuenta que no existe un nivel de exposición al tabaco que sea seguro, es decir, no hay una dosis umbral. Esto es debido a que el humo del tabaco tiene sustancias con propiedades cancerígenas. La combustión genera una temperatura de 900°C en el cono de ignición del cigarrillo, provocando la transformación de algunos componentes del tabaco que se encuentran en la fase de partículas del humo de dicha combustión. Concretamente, la combustión de componentes orgánicos produce radicales libres, que actúan como precursores de los hidrocarburos aromáticos policíclicos. Uno de los más conocidos es el 3-4 benzopireno, que se origina por la combustión de la celulosa del tabaco. Otras

sustancias presentes en el tabaco con actividad cancerígena reconocida son por ejemplo las nitrosaminas, el óxido de etileno, el polonio, etc, así hasta más de 50. Estas sustancias no actúan todas de la misma forma ya que pueden ser carcinógenos directos, carcinógenos iniciadores, co-carcinógenos, promotores o sustancias aceleradoras. Se admite, por lo tanto, que la acción del humo del tabaco es el resultado del conjunto de la acción de múltiples sustancias que se potencian por diversos mecanismos como son: la alteración de la inmunidad, la acción celular directa y la alteración enzimática (Jiménez-Ruiz y Fagerström, 2012).

Diversos tipos de cáncer se relacionan con el consumo de tabaco:

- Cáncer de pulmón: el riesgo de desarrollar cáncer de pulmón varía en función del número de cigarrillos consumidos diariamente. La edad de inicio también tiene una marcada influencia, así como el tipo de cigarrillo (menor riesgo cuando llevan filtro). Los fumadores que realizan inhalaciones profundas tienen mayor riesgo que los que no inhalan el humo y el tiempo de permanencia en la boca, así como apurar al máximo la longitud del cigarrillo consumido, también incrementa la incidencia. Parece que el tabaco negro tiene más riesgo que el tabaco rubio. La relación entre cáncer de pulmón y tabaco ha sido descrita en todos los tipos, tanto el no microcítico (epidermoide, adenocarcinoma y carcinoma de células grandes) como el microcítico (*oat-cell*); esta relación es mayor para el epidermoide en varones y para el *oat-cell* en mujeres, pero en los últimos años se está observando un incremento en el adenocarcinoma (Khuder y cols., 2001), que podría justificarse por la modificación en la composición del tabaco producida en las últimas décadas, con un incremento en los nitratos, lo que provoca la mayor formación de carcinógenos tipo nitrosaminas. El riesgo desciende cuando se deja de fumar.
- Cáncer de la cavidad nasal, cáncer de nasofaringe, cáncer de la cavidad oral, orofaringe e hipofaringe: se ha observado una mayor prevalencia de estos tipos de cáncer en fumadores. Existe una relación dosis-respuesta en



todos ellos y además se ha demostrado que dejar de fumar puede disminuir el riesgo a padecerlos (Silverman y cols., 1984).

- Cáncer de laringe: más del 80% de las personas que padecen este cáncer son fumadores activos o han sido fumadores. Tiene sinergia con el alcohol, multiplicando por 40 el riesgo a padecerlo si se dan las dos circunstancias. Tiene una relación directa con la cantidad de tabaco consumida, la edad de inicio, la profundidad de la inhalación, el utilizar cigarrillos sin filtro y el tiempo de consumo. El riesgo comienza a disminuir cuando se deja de fumar, pasados al menos 4-5 años (Silverman y cols., 1984).
- Cáncer de esófago: es un tumor claramente asociado al tabaco, hasta en un 80% de los casos, también presenta sinergia con el alcohol multiplicando por 17 el riesgo. El tipo histológico más relacionado con ambos tóxicos es el escamoso, pero parece que también existe una relación con el adenocarcinoma (Daniels y cols., 1992).
- Cáncer gástrico: el lugar donde más frecuentemente se produce el cáncer gástrico relacionado con el tabaco es la parte distal del estómago por lesiones displásicas en la mucosa gástrica. El posible mecanismo de este tipo de cáncer podría estar relacionado con la vasoconstricción producida por la nicotina lo que hace que incremente la secreción ácida y la motilidad gástrica permitiendo el reflujo de sales biliares hacia el estómago, lo que provocaría lesiones en el revestimiento de la mucosa, con mayores posibilidades de inducir úlcera péptica y lesiones displásicas, así como de carcinoma gástrico. También se incrementa el riesgo si se consume alcohol conjuntamente con tabaco y este riesgo se disminuye si se deja de fumar (Jiménez-Ruiz y Fagerström, 2012).
- Cáncer hepático: el riesgo parece estar relacionado con el número de cigarrillos diarios y el tiempo de consumo e independientemente de otros

factores como el consumo de alcohol. Se ha demostrado que es más frecuente en exfumadores que en los que nunca han fumado (Jiménez-Ruiz y Fagerström, 2012).

- Cáncer de páncreas: el tabaco es el principal factor de riesgo para desarrollar esta enfermedad y puede ser responsable de la tercera parte de los casos. El pronóstico de éste cáncer es pésimo, cuenta con una supervivencia de 5 años (Talamini y cols., 2010).
- Cáncer colorrectal: se ha postulado que este tipo de cáncer se produce por depósito en el colon de los carcinógenos inhalados y digeridos, que inicialmente podrían provocar la aparición de pólipos (Leufkens y cols., 2011).
- Cánceres de tracto urinario: el tabaco es la causa más frecuente del cáncer de vejiga, uréter y pelvis renal, el vesical es el segundo más frecuente del tracto urogenital, después del de próstata. La causa es la exposición a metabolitos de anilinas y otras aminas aromáticas (De Braud y cols., 2002).
- Cáncer genital: el cáncer de células escamosas del cuello de útero guarda una relación con el tabaco, las fumadoras tienen dos veces más riesgo que las no fumadoras a padecerlo. En el moco cervical de la mujer fumadora se han encontrado subproductos del tabaco, como nicotina, cotinina y otros que pueden disminuir la inmunidad local y que probablemente son los responsables del daño del ADN y la mutación en las células de revestimiento del cuello uterino. En cambio el tabaco parece ejercer un efecto protector en el cáncer de endometrio. Otros cánceres genitales como el de vulva en la mujer y el de pene en el varón parecen estar relacionados con el consumo del tabaco, pero esta asociación no está claramente definida (Matsumoto y cols., 2010).

- Cáncer de mama: el tabaco es un factor de riesgo para el desarrollo de esta enfermedad en mujeres postmenopáusicas, siendo más llamativo en las que han fumado intensamente y posiblemente el riesgo está incrementado en las fumadoras pasivas (Luo y cols., 2011).
- Cánceres hematológicos: el consumo de cigarrillos puede incrementar un 50% el riesgo a desarrollar una leucemia principalmente mieloide. Se desconoce el mecanismo por el que se produce, no obstante, en la composición del tabaco hay muchos productos que están descritos como responsables de este riesgo, tales como bencenos y componentes radioactivos. Posiblemente otros carcinógenos presentes en el humo del tabaco podrían actuar produciendo efectos cromosómicos (Chelghoum y cols., 2002).

### **Enfermedades pulmonares**

El consumo de tabaco se relaciona con numerosas enfermedades respiratorias. Las más frecuentes son la EPOC y el cáncer de pulmón, pero también existe evidencia científica para relacionarlo con otras patologías como el asma, infecciones pulmonares y enfermedades intersticiales.

El tabaco es el principal factor causal y de riesgo para el desarrollo de EPOC en los países desarrollados, incluso por exposición pasiva. En la patogenia de esta enfermedad intervienen dos mecanismos principales, la inflamación crónica de las vías respiratorias y la destrucción gradual de los alveolos. En la vía aérea se desarrolla una inflamación como respuesta a la inhalación de los tóxicos del tabaco, con activación de neutrófilos y macrófagos que liberan proteasas, desencadenan una situación de estrés oxidativo, respuesta inmune e innata y liberación de abundantes citoquinas que ponen en marcha la respuesta inmune adaptada (Noras y cols., 2007).

No existe una clara evidencia de que el humo del tabaco sea factor causal del desarrollo de asma, pero se sabe que favorece la sensibilización alérgica, agrava el pronóstico del asma y hace que el tratamiento sea menos eficaz. Los fumadores tienen mayor frecuencia de hiperreactividad bronquial inespecífica que los no fumadores (Jiménez-Ruiz y Fagerström, 2012). En niños, la exposición al humo del tabaco provoca una mayor incidencia de alergias y de bronquitis debido a un aumento en la permeabilidad del epitelio bronquial a los aeroalérgenos y que interacciona con algunos factores genéticos para el desarrollo del asma. También se ha comprobado que el tabaco reduce la eficacia de los corticoides inhalados.

Los fumadores desarrollan con más probabilidad algunas infecciones respiratorias. Los mecanismos implicados parecen ser la lesión estructural y la alteración del sistema inmune. El tabaco origina disminución del aclaramiento mucociliar, aumento de la permeabilidad epitelial y endotelial, aumento del volumen del moco así como engrosamiento del intersticio alveolo-capilar. Las infecciones más frecuentemente relacionadas son: resfriados comunes, gripe, neumonitis por varicela, tuberculosis y neumonía. Los fumadores tienden a presentar cuadros clínicos más severos y prolongados (Murin y Bilello, 2005). Los niños expuestos al humo del tabaco también sufren infecciones con más frecuencia y más graves.

En cuanto a las enfermedades pulmonares intersticiales, la evidencia sugiere que la mayoría de los casos de histiocitosis X, bronquiolitis respiratoria asociada con enfermedades intersticiales y neumonía intersticial desquamativa están causadas por la exposición al humo del tabaco en individuos susceptibles, donde el mecanismo parece ser una inflamación, tanto del intersticio pulmonar como del bronquiolar. La exposición al humo del tabaco también influye en el curso clínico de la fibrosis pulmonar idiopática, y puede desencadenar en algunos individuos formas de presentación aguda como la neumonía eosinófila aguda. Paradójicamente, parece tener un papel protector en el desarrollo de otras enfermedades como la sarcoidosis y la neumonitis por hipersensibilidad (Patel y cols., 2008).

El ronquido y el síndrome de apneas-hipopneas durante el sueño son dos enfermedades con elevada prevalencia en la población en las que el tabaco puede constituir un factor de riesgo para su desarrollo.

### **Enfermedades cardiovasculares**

A diferencia del cáncer de pulmón y la EPOC, donde el tabaco es la principal etiología, en la enfermedad cardiovascular se conocen múltiples causas, siendo el tabaco uno de los principales factores de riesgo junto con la hipertensión o la hipercolesterolemia. Sorprendentemente el impacto del tabaco sobre la mortalidad cardiovascular es similar al de la mortalidad por cáncer de pulmón, resultando en un número muy similar de muertes atribuibles al tabaco en ambos grupos de patologías, ya que la prevalencia de enfermedades cardiovasculares es muy superior al cáncer de pulmón. Aun así, es probable que el peso del consumo del tabaco sobre las enfermedades cardiovasculares esté infravalorado en comparación con otros factores de riesgo, ya que, ninguno de los estudios realizados en este sentido, han tenido en cuenta el impacto del tabaquismo pasivo. Las personas no fumadoras que conviven con fumadores tienen un riesgo 25% superior en comparación con aquellos no fumadores que no están expuestos al humo del tabaco (He y cols., 1999).

El mecanismo por el que el tabaco afecta al sistema cardiovascular no está aclarado y seguramente es múltiple. El efecto pernicioso del tabaco podría deberse en gran medida a su combustión y la producción de humo de tabaco, pero tal como se ha demostrado previamente, el tabaco en sí mismo y las diferentes sustancias que contiene, parecen ejercer un efecto perjudicial sobre el sistema cardiovascular independientemente de si es inhalado o no.

- Efectos directos cardiovasculares: varios trabajos han relacionado el tabaco inhalado con un incremento medio de la frecuencia cardiaca media de unos 10 latidos por minuto y un incremento en la presión arterial sistólica, diastólica y presión arterial media de entre 5-10 mm de Hg (Blank y cols., 2011). Además la nicotina podría estar implicada en la inducción de

arritmias cardíacas como consecuencia de una activación del sistema nervioso simpático, produciendo la liberación de adrenalina y noradrenalina, aunque se ha postulado que este efecto también podría ser debido al incremento de CO sanguíneo.

- Efectos vasomotores: el NO actúa localmente como mensajero paracrino y autocrino en la dilatación del músculo liso. Se han relacionado los cambios sistémicos en las concentraciones plasmáticas de NO con los cambios en el tono vascular. También se ha demostrado que el tabaco produce disfunción endotelial incluso con el consumo de un solo cigarrillo. La vasodilatación dependiente del endotelio está alterada en los fumadores. Esta alteración podría estar implicada en el efecto vasoconstrictor del tabaquismo sobre las arterias coronarias de pacientes con enfermedad coronaria establecida.
- Efectos sobre la homeostasis: las plaquetas desempeñan un papel fundamental en las manifestaciones clínicas de la aterosclerosis, no solo en la fase inicial de la aterogénesis sino también en la progresión y crecimiento de la placa aterosclerótica. Especialmente están implicadas directamente en los síndromes coronarios agudos y en el ictus isquémico. En los fumadores activos la adhesión y agregación plaquetaria está incrementada y este efecto es reversible tras la supresión del tabaco (Morita y cols., 2005). Además se sabe que las plaquetas de los fumadores son más trombogénicas, pero se desconoce el mecanismo por el que se incrementa la agregación plaquetaria, aunque posiblemente el tromboxano A2 es crucial en este hecho (Burghuber y cols., 1986). Existen también otros factores relacionados con el consumo del tabaco que influyen en la trombogenicidad, como son un incremento de la viscosidad sanguínea, debida al aumento del hematocrito por hipoxia o la posible enfermedad pulmonar asociada.
- Efectos sobre otros factores de riesgo: los fumadores generalmente presentan mayores niveles de colesterol total, LDL y triglicéridos, mientras

que muestran niveles más bajos de HDL y apolipoproteína A1 que los no fumadores.

### **Toxicidad en la reproducción**

En hombres fumadores se ha detectado una elevada tasa de infertilidad por disminución de la calidad del semen, en concreto debido a disminución de la densidad, de la cantidad total de espermatozoides, de la movilidad de los mismos y de la concentración de citrato (Kunzle y cols., 2003).

En mujeres fumadoras se ha observado un mayor riesgo de infertilidad, retraso en la concepción y adelanto en la menopausia (Martín Ruiz y cols., 2004).

La exposición al humo del tabaco durante el embarazo puede producir diferentes efectos adversos: parto prematuro (Jané y cols., 2002), incremento de la mortalidad intrauterina, placenta previa, alteraciones en el desarrollo fetal debido a una acción directa de la nicotina y el CO<sub>2</sub> (Gressens y cols., 2003) y malnutrición fetal por disminución de la vascularización de la placenta (Larsen y cols., 2002). En el feto también pueden influir los efectos directos que el tabaco produce sobre la madre (trastornos de la circulación, taquicardia, aumento de la presión sanguínea).

Los hijos de madres fumadoras tienen un mayor riesgo de padecer muerte súbita o de enfermedades respiratorias como el asma infantil (Martín Ruíz y cols., 2004). También pueden tener retraso en el crecimiento postnatal y en el desarrollo cognitivo a más largo plazo (Jané y cols., 2002).

En la lactancia, la nicotina pasa a través de la leche materna pudiendo provocar náuseas (debido al mal sabor) e incluso diarreas (Zaragoza y Llanos, 1980).

### **Diabetes**

El consumo de tabaco predispone a la aparición de intolerancia a la glucosa en fumadores, ex fumadores y fumadores pasivos. La intolerancia a la glucosa se denomina "prediabetes", pues de no ser controlada puede convertirse en diabetes. El mecanismo propuesto involucra el efecto tóxico que tienen los componentes del

humo de tabaco en el páncreas. El riesgo de desarrollar diabetes tipo II en fumadores es dosis dependiente y permanece a pesar de dejar de fumar, en concreto, se ha estimado que los fumadores tienen entre 30-40% más de probabilidades de sufrir diabetes mellitus tipo 2 que los no fumadores. En ex fumadores el riesgo disminuye con el tiempo pero, es siempre mayor que en personas que no han fumado.

Por otro lado, las personas diabéticas que fuman tienen problemas con la dosificación de insulina para poder controlar su enfermedad (US, D.H.H.S., 2014). Este hecho podría ser debido a la capacidad de la nicotina para inducir un aumento sostenido en los niveles plasmáticos de hormonas que antagonizan con las funciones hipoglucemiante e hipolipemiante de la insulina por distintos mecanismos, incluyendo catecolaminas, cortisol y hormona de crecimiento (Wilkins y cols., 1982). Además, los fumadores diabéticos tienen mayor posibilidad de sufrir complicaciones graves como enfermedades cardíacas y renales; mala circulación sanguínea en las piernas y en los pies, que puede producir infecciones, llagas y posibles amputaciones; neuropatía periférica.

### **Alergias**

La exposición mantenida al humo del tabaco, superior a diez cigarrillos diarios es un factor de riesgo asociado en el desarrollo del asma, independientemente de otros factores conocidos. Además el humo del tabaco es un desencadenante de crisis asmáticas. El tabaquismo materno altera tanto la inmunidad innata como la adaptada del recién nacido.

El humo del tabaco provoca en el individuo expuesto una serie de alteraciones en su inmunidad innata y adquirida. En cuanto a la afectación de la inmunidad innata, el humo del tabaco contiene más de 1000 radicales libres que dañan las células epiteliales del pulmón por inducción de estrés oxidativo. También provoca una importante alteración de la homeostasis del glutatión, facilitando la penetración de los agentes contenidos en el humo. Además este humo produce un aumento de neutrófilos y macrófagos que liberan más radicales libres, perpetuando el proceso.



La inmunidad innata produce un daño tisular con liberación de nuevos productos procedentes de células o de la matriz, que contribuyen a la activación de la inmunidad adquirida mediante la activación de linfocitos T y de la proliferación tisular (Peré-Rial y cols., 2010). La afectación de la inmunidad adquirida por el tabaco abarca tanto a la inmunidad humoral como a la inmunidad celular.

El tabaco no solo se ha relacionado con el desarrollo de asma sino también con la rinitis alérgica. Según diversos estudios, el tabaco causaría obstrucción nasal y alteraciones del aclaramiento mucociliar.

### **Alteración del estado nutricional**

En fumadores se ha observado alteración del sentido del gusto y del olfato, disminución de la absorción de vitaminas, nutrientes inorgánicos (Fe, Zn, Cu), así como atenuación de la sensación del hambre, este último efecto debido a una disminución de las contracciones estomacales (Martín Ruiz y cols., 2004). Se sabe que la nicotina aumenta hasta en un 10% más el gasto energético (Pfeffer y Kaufer-Horwitz, 2001).

Se aconseja el consumo de antioxidantes para contrarrestar los efectos de los RLOs producidos por el humo del tabaco, pero este aporte se ha de realizar con precaución puesto que en el estudio de se ha puesto de manifiesto que el consumo excesivo de antioxidantes como el  $\beta$ -caroteno junto con la exposición a tabaco podía producir efectos carcinogénicos (Wolf, 2002).

### **Otros**

El humo del tabaco en la cavidad bucal puede producir enfermedad periodontal, caries y neoplasias. Se ha demostrado que después de fumar disminuye la actividad de algunas enzimas presentes en la saliva, se cree que esto es debido a la interacción de los aldehídos presentes en el humo con los grupos tioles de las enzimas moleculares (Zappacosta y cols., 2002).

La disminución de la absorción gastrointestinal de la vitamina B puede afectar al nervio óptico, y producir alteraciones en la visión. En fases avanzadas puede provocar atrofia parcial de este nervio (Zaragoza y Llanos, 1980). En personas de edad avanzadas y fumadoras existe un mayor riesgo a padecer cataratas y degeneración macular.

En el oído pueden aparecer vértigos por afectación del sistema coclear (Zaragoza y Llanos, 1980).

### **6. DEPENDENCIA A LA NICOTINA. ADICCIÓN AL TABACO**

La adicción a una droga se define como la necesidad compulsiva de volver a consumirla con el fin de experimentar la recompensa que produce, siendo droga cualquier sustancia natural o sintética que genera adicción (Granda Orive, 2007).

Aunque el tabaco contiene miles de sustancias, la nicotina es la que más frecuentemente se asocia con la dependencia puesto que es un componente psicoactivo y causa efectos observables sobre el comportamiento, como cambios en el estado de ánimo, reducción del estrés y mejoras en el rendimiento. Los efectos conductuales asociados con la nicotina incluyen estimulación, mayor atención y concentración, aumento de la memoria, reducción de la ansiedad y supresión del apetito (Jiménez-Ruiz y Fagerström, 2012). La nicotina cumple todos los criterios que una droga debe tener para ser considerada como adictiva: el consumo es más prolongado en el tiempo o en mayor cantidad de lo que inicialmente fue previsto, existe el deseo de abandonar el consumo e incluso se ha intentado en varias ocasiones, empleo a diario de muchos procesos relacionados con el consumo de la sustancia, incluso limitando las actividades diarias, mantenimiento del consumo aun cuando se conocen los efectos nocivos de la misma y el desencadenamiento del síndrome de abstinencia tras dejarlo.

Para la nicotina se ha descrito el fenómeno de tolerancia, definida como “La respuesta inferior ante la misma dosis de sustancia farmacológicamente activa o lo que es lo mismo, la necesidad de aumentar progresivamente la dosis para conseguir

al menos una misma respuesta” (Kendler y cols., 1999). El fumador persistente y adicto es capaz de metabolizar la nicotina con mayor rapidez que el fumador debutante. De forma que se ha descrito para esta sustancia un fenómeno de inducción-tolerancia-dependencia con el paso del tiempo. Puede ser que tanto la nicotina como la cotinina actúen como agentes reforzantes en la habituación hacia el tabaco, actuando sobre todo en el estado de ánimo del sujeto, lo que se ha relacionado con el estado de abstinencia nicotínica.

En el SNC, actúa sobre el córtex cerebral promoviendo la liberación de epinefrina y nor-epinefrina, vasopresina y de beta-endorfinas. Su acción más interesante a nivel del SNC es la que realiza sobre el sistema dopaminérgico mesolímbico que es el sistema encargado de regular las sensaciones placenteras de nuestro organismo. La administración de una sustancia que estimule este sistema es capaz de producir placer y condicionará en el individuo el deseo de ingerir de nuevo esa sustancia.

La nicotina actúa compitiendo con los neurotransmisores sobre todo en la transmisión colinérgica (Pérez Trullén, 1995). Los receptores colinérgicos son de dos tipos: 1.- Nicotínicos. Presentes en las neuronas de los ganglios parasimpáticos y simpáticos, en las glándulas suprarrenales y en algunas neuronas y fibras del SNC. 2.- Muscarínicos. Localizados en los órganos efectores que reciben terminaciones nerviosas postganglionares colinérgicas. La acción farmacológica de la nicotina ocurre por su competitividad con alguno de los receptores colinérgicos nicotínicos (Figura 10) a nivel cerebral y sistémico. Su acción es predominantemente a nivel presináptico estimulando la descarga de neurotransmisores como acetilcolina, noradrenalina, dopamina y serotonina. Parece ser que primero estimula y luego bloquea los receptores colinérgicos de tipo nicotínico, lo cual depende fundamentalmente de la dosis. La nicotina atraviesa sin dificultad la barrera hematoencefálica, estimulando y bloqueando también los receptores nicotínicos en el SNC. Son estos efectos de carácter contrapuestos los que caracterizan las respuestas de acción farmacológica de la nicotina (Pérez Trullén, 1995).

La acción de fumar obedece a la necesidad de obtener una cantidad de nicotina suficiente para vencer el síndrome de abstinencia (Cabezas Peña, 1997). Sin embargo los efectos producidos en los primeros contactos con el tabaco, incluyen sensaciones desagradables de tipo vegetativo: náuseas, vómitos, visión borrosa y vértigos producidos generalmente por una intoxicación nicotínica menor. A pesar de que los primeros cigarrillos suelen representar una experiencia desagradable, la presión social y otros factores del entorno hace que se repita el consumo, y se llegue a la habituación.

La dependencia se define como un estado en el cual el individuo continúa haciendo uso o ingiriendo alguna sustancia, no por la satisfacción que ésta le produce sino porque el no hacerlo le resulta altamente insatisfactorio (Pérez Trullén, 1995). No todos los fumadores aceptan la existencia de esta dependencia aunque adviertan diversos síntomas que les obligan a buscar un nuevo cigarrillo. Estos síntomas son los que identifican al síndrome de abstinencia del fumador:

- Intranquilidad, excitación, nerviosismo.
- Manifestaciones de tipo vegetativo: sudoración, sensación de latido cardiaco, etc.
- Agresividad, depresión, crisis de humor inestable.
- Insomnio, despertar poco placentero.
- Aumento de la tos y expectoración.
- Aumento del peso corporal.

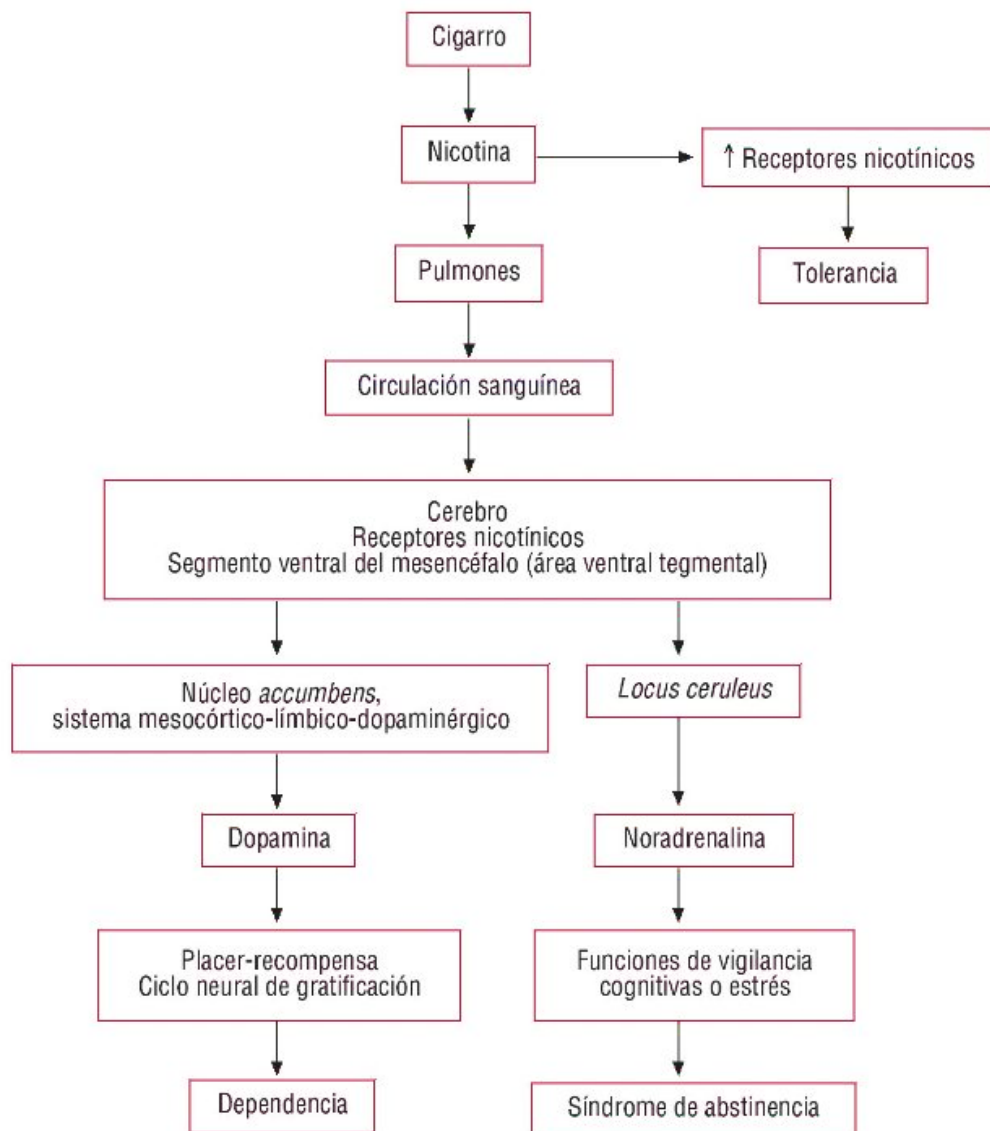


Figura 10. Esquema explicativo de las alteraciones neurobiológicas producidas por la nicotina en el cerebro, que conducen a la adicción. Modificado de Lekuona Goya y cols. (2009).

## 7. DIAGNÓSTICO DEL TABAQUISMO

### 7.1. Diagnóstico psicológico

Es fundamental que se establezca un diagnóstico lo más correcto posible, con el fin de instaurar las medidas terapéuticas oportunas en cada fumador. Al igual que en otras conductas adictivas, la evaluación en tabaquismo es un proceso indispensable antes, durante y al final del tratamiento. Para este cometido, además de la historia clínica, se suelen utilizar cuestionarios de motivación, escalas de autoeficacia...

## INTRODUCCIÓN

---

En primer lugar se realiza un diagnóstico de la dependencia a la nicotina, para lo que se recomienda utilizar el test de Fagerström (Fagerström y cols., 1996) con este test se puede conocer el grado de adicción mediante la realización de 8 preguntas enfocadas a la necesidad psicológica de consumir tabaco (Tabla 3).

PREGUNTA	RESPUESTA		
	0	1	2
1. ¿Cuánto tiempo transcurre desde que se levanta hasta el primer cigarrillo? Menos de 30 minutos: 1 Más de 30 minutos: 0			
2. ¿Tiene problemas para no fumar en lugares prohibidos (hospitales, cines...)? Sí: 1 No: 0			
3. ¿Qué cigarrillo le costaría más suprimir? El primero de la mañana: 1 Cualquier otro: 0			
4. ¿Cuántos cigarrillos fuma al día? 15 o menos: 0 16 a 25: 1 26 o más: 2			
5. ¿Fuma más durante las primeras horas del día que el resto del día? Sí: 1 No: 0			
6. ¿Fuma cuando está enfermo en la cama? Sí: 1 No: 0			
7. ¿Cuál es el nivel de nicotina de su marca de cigarrillos? 0,9 mg o menos: 0 1,0 – 1,2 mg: 1 1,3 mg o más: 2			
8. ¿Inhala el humo? Nunca: 0 A veces: 1 Siempre: 2			

Tabla 3. Test de Fagerström de dependencia a la nicotina, adaptado de Fagerström y cols. (1996).

Otra herramienta utilizada frecuentemente son las escalas de autoeficacia en las que el individuo puede expresar la percepción de su capacidad para afrontar futuras situaciones de riesgo. Se han desarrollado diferentes escalas de autoeficacia, en todas ellas se presentan una serie de descripciones de situaciones específicas que el paciente puntúa, en términos de la dificultad que le supondría experimentar dicha situación (Condiotte y Lichtenstein, 1981).

Es imprescindible realizar un análisis funcional de la conducta, ya que de esta manera se puede conocer cuáles son los estímulos, antecedentes, variables del organismo, conductas o respuestas, en sus tres niveles (cognitivo, motor y psicofisiológico). Esto permite desarrollar la mejor forma para actuar sobre la conducta problema.

### **7.2. Marcadores biológicos y funcionales**

- Marcadores de susceptibilidad genética: La dependencia del tabaco tiene una base orgánica que justifica la facilidad o dificultad de las personas no solo para abandonar el hábito, sino para comenzar el mismo. Desde el punto de vista genético, es un trastorno complejo con alteraciones en varios genes (Nashmi y cols., 2003). En la actualidad se están desarrollando diferentes estudios en los que se intenta encontrar una asociación entre polimorfismos de distintos tipos de genes que codifican proteínas implicadas en el metabolismo de la nicotina o en los mecanismos de neurotransmisión. Los factores genéticos también podrían estar involucrados en el riesgo a padecer determinadas enfermedades asociadas con el tabaco como la EPOC o el cáncer de pulmón. En el primer caso se ha observado una relación entre la alteración de determinados genes en los cromosomas 2p, 3q, 10q y 19p y un elevado riesgo a padecer EPOC. En el caso del cáncer de pulmón, se ha observado una gran variabilidad interindividual sobre la capacidad de activar sustancias procarcinógenas o enzimas de Fase I como el citocromo P450, que comportan un riesgo incrementado de cáncer en relación con la metabolización de hidrocarburos aromáticos policíclicos tipo benzopireno, o

sobre la capacidad de metabolizar sustancias carcinógenas o enzimas de Fase II. En muchas ocasiones, el riesgo a padecer cáncer tiene carácter pleiotrópico, es decir, está definido por la acción de múltiples genes simultáneos (Celedon y cols., 2004).

- Marcadores de exposición al humo de tabaco: En la actualidad es posible medir el CO en el aire espirado o parámetros de la combustión del tabaco (nicotina, cotinina, tiocianatos...) en líquidos biológicos. Diversos autores han destacado que medidas como el número de cigarrillos/día o el número de años de consumo no son medidas fiables de exposición y que puede infravalorar a los que consumen menores cantidades de tabaco o subestimar la exposición de los grandes fumadores (Joseph y cols., 2005), por lo que se proponen una serie de biomarcadores:

- CO en aire espirado y carboxihemoglobina: se trata de un marcador económico, sencillo, inocuo y de resultados inmediatos que puede utilizarse como medida de la fase de abstinencia, como método fisiológico para verificar la afirmación verbal de abstinencia y como mecanismo de refuerzo positivo. Además, la evaluación del CO en aire espirado es un marcador indirecto de los niveles de carboxihemoglobina ya que existe una relación lineal entre ambas. El inconveniente de este marcador es su corta semivida, el CO se elimina tras un día sin consumo de tabaco en fumadores ligeros o esporádicos. La determinación se realiza con coxímetros que constan de un sensor electroquímico interno que detecta los valores de CO (Janzon y cols. 1981).

- Nicotina: este alcaloide puede medirse en diferentes fluidos y tejidos. Los niveles plasmáticos de nicotina son los que mejor se relacionan con los efectos farmacológicos del tabaco. Puesto que se elimina por orina, es posible utilizarla para su determinación. El aclaramiento renal de la nicotina está influenciado por el pH (Jiménez-Ruiz y Fagerstöm, 2012). No se recomienda su



determinación si desde el consumo del último cigarrillo han transcurrido más de 8-12 horas. La especificidad es muy alta. En cuanto a la saliva, las concentraciones de nicotina se ven modificadas por la exposición en la boca al humo del tabaco, por ello no se considera este fluido. Se puede realizar la medida de nicotina en pelo de la cabeza o en uña del pie, ya que de este modo es posible estudiar los cambios en los niveles de nicotina en la persona analizada a largo tiempo y con menor variabilidad (Al-Delaimy y cols., 2002). Para su determinación se recomienda la combinación de cromatografía de gases y la espectrometría de masas (Jiménez-Ruiz y Fagerstöm, 2012).

➤ Cotinina: es un metabolito de la nicotina. Aparece en la sangre de los fumadores a los pocos minutos de fumar un cigarrillo, en cantidades suficientes para poder ser medida. Alcanza niveles sanguíneos entre 10-15 veces superiores a la nicotina ya que posee una semivida superior. A pesar de que esta sustancia se metaboliza, aproximadamente un 10% se elimina por orina sin ser metabolizada, también influida por el pH de la misma (Jacob y cols., 2011). Se recomienda para su determinación la combinación de cromatografía de gases y la espectrometría de masas. También es posible la detección de esta sustancia en saliva, en pelo o incluso en lavado bronquial. La cotinina es uno de los mejores marcadores, con una elevada especificidad (Jiménez-Ruiz y Fagerstöm, 2012).

- Marcadores de los efectos adversos de la exposición: Representan el efecto de alguno de los componentes del humo de la combustión del tabaco:

➤ Marcadores psicológicos: mediante una evaluación del fumador se puede conocer el problema por el que acude a la consulta de deshabituación. Se toman datos de su estado de ánimo (marcadores de ansiedad, marcadores de depresión y marcadores de ira), mediante la aplicación de determinadas encuestas. También se

evalúa el autocontrol, la autoeficacia y la dependencia a la nicotina (Jiménez-Ruiz y Fagerstöm, 2012).

➤ Marcadores funcionales: valoran funcionalmente las consecuencias de la exposición. Entre ellos destacan la exploración funcional respiratoria y los test de calidad de vida. Los parámetros funcionales respiratorios informan sobre el deterioro de la función como consecuencia de la exposición al humo del tabaco y permiten valorar resultados de la abstinencia tabáquica. La calidad de vida se define como un concepto multidimensional que se refiere al bienestar social de una persona, incluyendo aspectos físicos, psicológicos y sociales. Para mediar esta calidad se usan cuestionarios (Jiménez-Ruiz y Fagerstöm, 2012).

➤ Marcadores biológicos: También se evalúan marcadores biológicos como son los parámetros analíticos sanguíneos, marcadores de inflamación o remodelado, aductos de ADN y/o cambios citohistopatológicos. El principal parámetro analítico en sangre es la carboxihemoglobina, también se realiza un recuento leucocitario y de hematíes, puesto que el consumo de tabaco puede aumentar estos dos parámetros. Por otro lado, es característico el aumento de la agregación plaquetaria, de la adhesividad y cambios en la composición lipídica. En cuanto a la inflamación, el humo del tabaco produce esta alteración en las vías aéreas, parénquima y circulación pulmonar. Los fumadores además presentan aductos de ADN en diferentes tejidos. El aumento de éstos está asociado al incremento del riesgo de cáncer. El tabaco también puede producir trastornos en el transporte mucociliar por ausencia de cilios e hiperproducción de moco con la consecuente dificultad de eliminación, células con presencia de atipia en el núcleo y cambios hiperplásicos (Jiménez-Ruiz y Fagerstöm, 2012).

## 2. ASOCIACIÓN ENTRE TABACO Y DAÑO RENAL

### 2.1. INTRODUCCIÓN

A pesar de que las primeras observaciones sobre el nexo entre tabaquismo y enfermedad renal datan de inicios del siglo pasado, el problema ha sido ignorado por los nefrólogos. Sin embargo, en los últimos veinte años se han acumulado evidencias sobre el riesgo de desarrollo de enfermedad renal en fumadores, aceleración de la progresión de la insuficiencia renal crónica inducida por el tabaco, y aumento del riesgo cardiovascular en pacientes renales fumadores.

El aumento en la prevalencia mundial de la enfermedad renal crónica y el notable incremento en la incidencia de pacientes que alcanzan la etapa final de la misma (Stegmayr, 1990), han puesto en alerta a los sistemas de salud y han determinado que los nefrólogos se enfoquen más en la identificación de factores de prevención potencialmente modificables (Rocco y cols., 1996). Por otra parte, la identificación de la enfermedad renal como factor de riesgo cardiovascular y la elevada morbimortalidad dependiente de la misma, se suman a la necesidad de generar estrategias preventivas (Owen y cols., 1996).

Ya en 1907 se comenzó a cuestionar si a los enfermos renales se les debía permitir fumar (Hesse y cols., 1907), pero hasta 1978 (Christiansen, 1978) no se publicó la primera evidencia de que el tabaco podía ser un factor de riesgo renal. Posteriormente otros estudios han identificado los efectos nefrotóxicos del tabaco en diversas patologías como hipertensión arterial, diabetes y enfermedades renales primarias (Mühlhauser, 1994; Pinto-Sietsma y cols., 2000; Klag y cols., 1996). En la década de los 90 este tema comenzó a cobrar importancia gracias a las publicaciones del nefrólogo Dr. Orth que en las que se reconoce al tabaco como uno de los principales riesgos de daño renal, siendo éste el único evitable y modificable (Orth, y cols., 1997; Orth, 2000b; Orth, y cols., 2001b; Orth, y cols., 2001c; Orth, y cols., 2002a; Orth, 2002b).

### 2.2. EFECTOS DEL TABACO EN LA FUNCIÓN RENAL DE INDIVIDUOS SANOS

Un estudio científico puso de manifiesto que podría existir una relación entre la cantidad de cigarrillos consumidos por día y la cantidad de albúmina urinaria (Pinto-Sietsma y cols, 2000), de tal modo que aquellas personas que fumaban más de 20 cigarrillos al día presentaban elevados niveles de microalbuminuria, en población que no presentaba factores de riesgo como diabetes mellitus o hipertensión arterial. La cuestión que se planteó posteriormente fue si este incremento estaba asociado o no con una mayor probabilidad de sufrir daño renal.

Los fumadores no parecen tener disminuido el aclaramiento de creatinina en comparación con personas que nunca han fumado, se han detectado incluso niveles ligeramente superiores de este parámetro en hombres normotensos fumadores (Halimi y cols., 2000). Este hecho podría ser debido a que en fumadores se ha observado una hiperfiltración temprana.

Por otro lado, en un estudio prospectivo, “The Multiple Risk Factor Intervention Trial”, se ha puesto de manifiesto un incremento del riesgo relativo a sufrir enfermedad renal en la etapa terminal de forma dosis dependiente al consumo de tabaco (Whelton y cols., 1996). En este caso parece que sí hay una disminución del aclaramiento de creatinina en fumadores.

A pesar de las contradicciones encontradas en los estudios, se puede pensar que el tabaco incrementa el riesgo a padecer daño renal en la población general (Orth, 2002).

### 2.3. EFECTOS DEL TABACO EN LA FUNCIÓN RENAL DE INDIVIDUOS CON PATOLOGÍAS

#### **Efectos del tabaco sobre la función renal en diabéticos**

La nefropatía diabética es una de las principales causas de insuficiencia renal terminal. Así, el impacto del tabaquismo sobre la progresión de la enfermedad renal

diabética es de extrema importancia para limitar la epidemia mundial de Insuficiencia Renal Crónica (IRC).

El primer documento que relaciona el incremento del daño renal en fumadores se realizó en pacientes con diabetes tipo 1. Los fumadores presentaban mayor riesgo a sufrir nefropatía diabética que los no fumadores (Christiansen, 1987; Telmer y cols., 1984), además esta prevalencia era superior en las personas que consumían mayor cantidad de tabaco. Otros estudios han confirmado este hecho también en pacientes con diabetes tipo 2. En ambos tipos de diabetes parece que este riesgo está relacionado con un incremento en la microalbuminuria, que a su vez produce un incremento en el riesgo de padecer proteinuria y de acelerar la progresión del daño renal (Biesenbach y cols., 1994).

Se han publicado numerosos trabajos que muestran que fumar promueve la progresión de la nefropatía diabética en ambos tipos de diabetes, además de un descenso del filtrado glomerular. Inicialmente hay un aumento del filtrado inducido por la estimulación de factores de crecimiento pero posteriormente, cuando se instala el daño vascular, se produce la caída del filtrado. La Tasa de Filtración Glomerular (TFG) media basal de los pacientes fumadores de un estudio fue de  $95 + 26$  ml/min y disminuyó a  $83 + 22$  ml/min tras 3 años, de forma independiente a la proteinuria, lo que sugiere un mecanismo distinto al daño glomerular y podría más bien relacionarse con daño vascular (Keller y cols., 1996). Además, mediante estudio de biopsias renales se han recogido datos de efectos adversos del tabaco sobre la estructura glomerular, o de estrechamiento de la luz arterial.

### **Efectos del tabaco sobre la función renal de hipertensos**

La hipertensión arterial (HTA) esencial es la segunda causa de IRC tras diabetes. El riesgo de desarrollo de insuficiencia renal aumenta con la severidad de la hipertensión y disminuye con un apropiado control de la misma. Sin embargo, la función renal se deteriora en algunos enfermos incluso con un adecuado control de las cifras de presión arterial.

La prevalencia de microalbuminuria es casi el doble en fumadores respecto a no fumadores con HTA primaria. Un estudio de 2002 (Orth, 2002b) muestra que enfermos hipertensos que fuman más de 20 cigarrillos/día tienen una prevalencia 1,6 veces mayor de microalbuminuria y 3,7 veces mayor de macroalbuminuria que los no fumadores.

En 2005, en otro estudio prospectivo con 7 años de seguimiento (Regalado y cols., 2000) se comparó la función renal de hipertensos moderados con la de hipertensos severos, observándose una caída más veloz de la TFG en ambos grupos de fumadores.

De los datos disponibles podemos concluir que el tabaquismo en hipertensos aumenta el riesgo de desarrollo de micro y macro albuminuria y el índice de deterioro de la funcional renal.

### **Riesgo cardiovascular asociado a la enfermedad renal crónica**

Aunque el tabaco es un factor de riesgo cardiovascular en la población general, ha recibido poca atención como contribuyente al riesgo de este grupo específico, probablemente debido a que pocos estudios han abordado el tema y por ello hay menos datos disponibles. Cheung y cols. (2000) efectuaron un seguimiento durante dos años a enfermos que iniciaban tratamiento dialítico, y observaron que los fumadores tenían mayor incidencia de fallo cardíaco congestivo, enfermedad vascular periférica y sobrevida acortada que los no fumadores.

En lo que respecta al paciente en diálisis, fumar aumenta el riesgo de fibrilación auricular, disfunción sistólica y enfermedad coronaria. También incrementa la mortalidad en los primeros 90 días tras el ingreso para diálisis, el riesgo de accidente cerebro vascular y la probabilidad de fallo de la fístula aurículo-ventricular, empeorando asimismo la evolución tras el trasplante renal (Leavey y cols., 2000).

### **Efectos del tabaco sobre nefropatías primarias y secundarias**

En la literatura no hay evidencias que permitan realizar una asociación entre el consumo de tabaco y la inducción de ningún tipo de glomerulonefritis o daños sistémicos que involucren al riñón. Sin embargo, existe información contrastada que indica que el tabaco es un potencial factor de riesgo en la progresión del daño renal, en pacientes con enfermedades primarias renales (Yaqoob y cols., 1992; Merkel y cols., 1994; Wakai y cols., 1999; Hogan y cols., 2001). En pacientes fumadores con enfermedad renal poliquística autosómica dominante se ha observado mayor proteinuria que en pacientes no fumadores que presentan esta misma patología (Chapman y cols., 1994). Estos datos se reconfirmaron en otros estudios en los que además se evaluaron pacientes con glomerulonefritis por Ig-A (Stengel y cols., 2000). En el caso de enfermedades sistémicas que afectan al riñón, como la nefritis por lupus, existe muy poca información sobre este tema, pero se ha propuesto la hipótesis de que las personas que consumen elevadas cantidades de tabaco podrían tener un mayor riesgo en la progresión de glomerulonefritis extracapilar, como consecuencia de los efectos del tabaco en el endotelio vascular (Michael-Pittilo, 2000).

En cuanto al efecto del tabaco en la estenosis renal aterosclerótica, se ha observado un incremento de la misma en pacientes fumadores de elevada edad. La concentración plasmática total de homocisteína, un predictor de riesgo aterogénico, aparece incrementado de forma dosis-dependiente relacionado con la cantidad de cigarrillos consumidos (Jacques y cols., 2001).

Los pacientes con terapia renal sustitutiva (hemodiálisis, diálisis peritoneal, hemofiltración, hemodiafiltración y trasplante renal), son especialmente susceptibles a los efectos del tabaco en su función renal (Owen y cols., 1996). En cuanto a los pacientes con diálisis peritoneal continua, hay muy poca información sobre los efectos del consumo de tabaco. Solamente se ha detectado un elevado riesgo de cambio a hemodiálisis permanente (Gokal y cols., 1996). En lo que refiere a los pacientes con trasplante renal, de forma contraria a lo esperado, se ha

documentado que el tabaco no parece incrementar el riesgo de microalbuminuria (Halimi y cols., 2001). La mayoría de los estudios publicados hasta la fecha indican una falta de correlación entre el consumo de tabaco tras la realización del trasplante y el desarrollo de disfunción progresiva del injerto (Hegeman y cols., 1995; Cho y cols., 1995). Por otro lado, se ha propuesto que los pacientes que han sido fumadores antes del trasplante, tienen mayores probabilidades de perder el injerto que los no fumadores (Sung y cols., 2001). Este dato se ha corroborado tras la realización de un análisis retrospectivo en el que se ha documentado que el tabaquismo es un factor de riesgo en la disminución de la supervivencia del injerto en receptores mayores de 60 años que son trasplantados por primera vez (Doyle y cols., 2000).

### 2.4. POSIBLES MECANISMOS IMPLICADOS EN EL DAÑO RENAL PRODUCIDO POR EL TABACO

Los mecanismos patológicos por los que el humo del tabaco ejerce sus efectos adversos aún no están bien establecidos. Resulta muy complicado definir cuál o cuáles componentes del humo del tabaco son los responsables de este efecto.

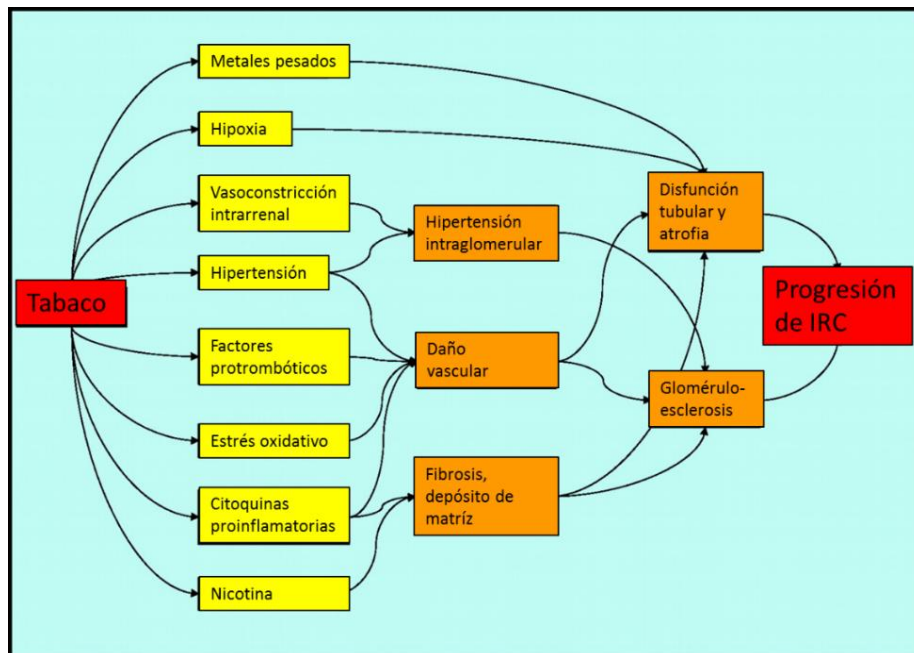


Figura 11: Algunos mecanismos potenciales de daño renal inducido por tabaco (Adaptado de Orth y Hallan., 2008).



Los mecanismos que parecen estar implicados en el daño renal inducido por el tabaco se pueden dividir en dos grupos (Figura 11): hemodinámicos y no hemodinámicos (Orth, 2002a,b).

### Mecanismos hemodinámicos

Entre estos mecanismos, se han de tener en cuenta tanto los cambios producidos en la hemodinámica sistémica, como en la renal (Figura 12). Algunos de los efectos observados son los siguientes (Orth y cols., 2002):

- Aumento de la presión arterial (entre 3 y 12 mm Hg en la PA media) con alteración del ritmo circadiano, estos efectos están mediados por una activación simpática y liberación de vasopresina.
- Aumento de la resistencia vascular renal con caída del flujo plasmático renal y la TFG. Este efecto es anulado por  $\beta$ -bloqueantes e inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina, por lo que se cree que está mediado por el sistema renina-angiotensina.
- Hipertensión de los capilares glomerulares: observable en pacientes con enfermedad renal, como consecuencia de la pérdida de la capacidad de autorregulación del riñón. En personas sanas, la vasoconstricción renal inducida por tabaco, es un mecanismo “fisiológico” que protege al glomérulo del aumento de la presión arterial sistémica.

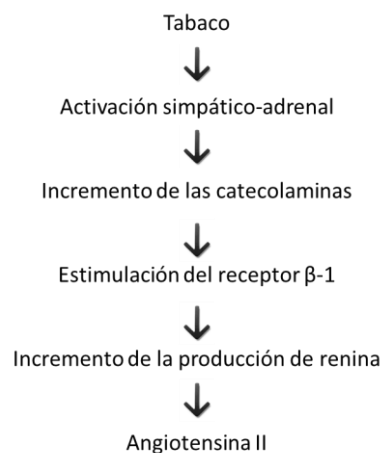


Figura 12. Secuencia hipotética de la activación del sistema renina-angiotensina producida por el tabaco. (Adaptado de Orth y cols., 2002).

### Mecanismos no hemodinámicos

Dentro de éstos destacan:

- Activación de factores de crecimiento (Angiotensina II, endotelina y TGF- $\beta$ 1) mediado por estimulación de receptores nicotínicos de acetilcolina presentes en las células mesangiales (Von der Leyen y cols., 1995; Shears y cols., 1997), esta activación conduce a una hipertrofia glomerular y posteriormente a la progresión de la IRC.
- Daño de células endoteliales: el número de células endoteliales liberadas a la circulación aumenta significativamente tras fumar un solo cigarrillo. El tabaco inhibe la vasodilatación inducida por NO, lo que juega un rol crítico en el incremento del tono vascular renal, promueve la proliferación de células musculares lisas vasculares y la proliferación mesangial.
- Toxicidad tubular: el humo del tabaco contiene cantidades significativas de cadmio y plomo que se acumulan en el parénquima renal, donde inducen disfunción tubular así como una alteración del sistema de transporte de cationes orgánicos.
- Secreción aumentada de vasopresina: ha sido propuesto como un factor de progresión de la IRC.
- Incremento de agregación plaquetaria: las plaquetas de los fumadores son más “activas”, induciendo un estado trombogénico.
- Metabolismo alterado de lipoproteínas y glicosaminoglicanos: con mayor prevalencia de dislipemia entre fumadores.
- Estrés oxidativo: evidenciable por la extrusión del glutatión de las células endoteliales y la activación de la hexosa monofosfato, necesario para mantener el glutatión reducido.
- Incremento de la resistencia a la insulina: fumar aumenta el riesgo de desarrollo de diabetes y glucemia alterada en ayunas.

### **Principales mecanismos de acción implicados en el daño renal producido por el tabaco:**

De todos los mecanismos propuestos de daño renal, los que parecen tener más importancia en el desarrollo de la nefrotoxicidad por el tabaco se encuentran detallados a continuación:

- Incremento de la actividad simpática y de la presión arterial: El tabaco induce un incremento transitorio de la presión arterial y del ritmo cardíaco (Hesse, 1907) y este efecto es producido por la nicotina (Aronow y cols., 1971). Estos cambios hemodinámicos son debidos a una activación simpática y a una liberación de vasopresina (Orth, 2000a). Esta activación simpática puede acelerar la progresión del daño renal (Orth y cols., 2001a) por dos mecanismos, por un lado, como consecuencia indirecta de la elevación de la presión arterial y por otro, como resultado directo de una activación del sistema simpático. Además se ha observado que el tabaco puede alterar el ritmo circadiano de la presión arterial (Hansen y cols., 1994). A corto plazo, el consumo de cigarrillos disminuye el efecto beneficioso del amlodipino sobre la rigidez arterial (Matsui y cols., 2005).
- Alteración de la hemodinámica intrarrenal: Ritz y cols. (2000) estudiaron el efecto del tabaco en la TFG de individuos sanos, observando una disminución de la misma en fumadores con un consumo de más de 10 cigarrillos por día. Se cree que este efecto es debido a un defecto en la autorregulación renal, al menos en pacientes con daño renal (Orth, 2004). En individuos sanos se ha observado un incremento en la resistencia renovascular (Orth, 2004). Estos resultados fueron confirmados por otro autor, pero en población no fumadora que consumía chicles de nicotina (Halimi y cols., 1998), por lo que se achacó este efecto a la nicotina. Este incremento de la resistencia podría ser fisiológico cuya finalidad sería la protección del glomérulo frente al incremento de la presión sistémica, con lo que la presión intraglomerular no varía. El uso de  $\beta$ -bloqueantes inhibe este

incremento fisiológico, lo que da lugar a la hipótesis de que el sistema renina angiotensina podría estar implicado en este efecto (Orth, 2004).

- Estrés oxidativo: Este mecanismo es posiblemente otro de los más implicados en la producción de daño renal por el tabaco. Como se ha comentado en el apartado 1.4. (La planta del tabaco), el humo del tabaco es una mezcla compleja de alrededor de 5000 compuestos químicos. Muchos de estos compuestos generan radicales libres y otros oxidantes, que están involucrados en gran parte en los daños funcionales y morfológicos que acompañan el hábito de fumar (Michael-Pittilo, 2000). Entre los componentes que producen estos efectos destaca la nicotina, sustancia orgánica más abundante en el humo del tabaco, con una producción elevada de radicales libres, particularmente del radical hidroxilo y del superóxido. Además, en la fase gaseosa del humo del tabaco se han detectado especies reactivas: superóxido, radicales hidroxilo y peróxido, peróxido de hidrógeno, óxido nítrico y peroxinitrito. Sin embargo, la principal fuente de superóxido y peróxido de hidrógeno en el humo del tabaco, es debida a los polifenoles de la fase sólida, la que contiene cientos de compuestos orgánicos. Entre estos se encuentran las quinonas, que son una mezcla en equilibrio entre semiquinonas, hidroquinonas y quinonas, y que probablemente están muy involucradas en la toxicidad del hábito de fumar ya que este sistema produce gran cantidad de ROS como superóxido, peróxido de hidrógeno y el radical hidroxilo.

El óxido nítrico de la fase gaseosa junto con el producido en los pulmones por la enzima óxido nítrico sintetasa, al reaccionar con el superóxido originado por la autoxidación de los compuestos polifenólicos de la fase sólida, forma rápidamente el anión peroxinitrilo ( $\text{ONOO}^-$ ), un fuerte agente oxidante y nitrante que junto a otras especies reactivas de oxígeno y nitrógeno ( $\text{NO}$  y  $\text{NO}_2$ ) puede desempeñar un papel clave en las

enfermedades relacionadas con el tabaco (Kodama y cols., 1997; Yamaguchi y cols., 2000; Yoshie y Ohshima, 1997).

En el humo del tabaco también están presentes los metales de transición, que juegan un importante papel en el daño celular inducido por ROS, dada su función en la producción de especies muy agresivas mediante la reacción de Fenton.

Al fumar, se forman hidrocarburos policíclicos aromáticos, carcinógenos tipificados por el benzo (a) pireno. Estos y otros carcinógenos son lipofílicos, por lo que son metabolizados a metabolitos hidrofílicos para facilitar su excreción mediante la adición de grupos funcionales polares lo que se realiza por reacciones de oxidación llevadas a cabo por monoxigenasas, como las del citocromo P450. Todas estas reacciones oxidativas también pueden generar RLOs, las cuales son capaces, junto a las originadas en el propio humo, de provocar mutaciones, así como favorecer procesos de peroxidación lipídica que explican en parte los trastornos derivados del humo del tabaco (Van Klaveren y cols., 1999).

El humo del tabaco no sólo deposita RLOs directamente en los pulmones y tracto aéreo, sino que también genera daños a los tejidos por el consumo de sus antioxidantes, los deja vulnerables a la acción de los radicales libres, que de otra forma serían neutralizados por los niveles normales de antioxidantes.

### **2.5. HISTOPATOLOGÍA DEL DAÑO RENAL INDUCIDO POR TABACO**

Aunque la alteración renal parece ser principalmente por daño vascular, también hay evidencias de afectación glomerular y túbulo-intersticial. En individuos fumadores sin evidencias de enfermedad renal, el hallazgo más frecuente es la hiperplasia miointimal de las arteriolas intrarrenales, lo que se observa también en trasplantados renales que fuman. Así, la figura histopatológica más común en fumadores es la nefroesclerosis secundaria a isquemia renal (Orth, 2002a).

En biopsias renales de fumadores crónicos se han observado las siguientes lesiones (Orth, 2002a):

- Lesiones glomerulares:
  - Glomerulomegalia.
  - Glomeruloesclerosis focal segmentaria o global.
  - Glomeruloesclerosis nodular.
  - Cambios isquémicos con engrosamiento y retracción de membranas basales glomerulares.
  - Segmentos de doble contorno en paredes capilares.
- Lesiones intersticiales:
  - Fibrosis intersticial y atrofia tubular.
- Lesiones vasculares:
  - Esclerosis arterial e hiperplasia miointimal.
  - Hialinosis arteriolar.

### 3. EVALUACIÓN DEL DAÑO RENAL

Existen diversos procedimientos para evaluar el daño renal, que van desde sencillos análisis cualitativos y ensayos bioquímicos hasta estudios anatómo-patológicos más complejos. A continuación se describen los más comúnmente utilizados.

#### 3.1. BIOMARCADORES CLÁSICOS

##### **Creatinina plasmática (Crp)**

Actualmente, el diagnóstico del daño renal se basa fundamentalmente en la determinación del valor de creatinina sérica (Crp). La creatinina es un compuesto aminoacídico derivado principalmente del metabolismo del músculo esquelético y de la ingesta de carne. Su peso molecular es de 113 Da y es liberada al plasma a un ritmo relativamente constante, tras lo cual, se filtra en el glomérulo y no es reabsorbida ni metabolizada por el riñón (Bagsaw y cols., 2007). Por estas razones, el valor de creatinina en plasma se utiliza como estimador de la TFG, asumiendo una relación inversa entre ambos parámetros (Stevens y cols., 2005), de manera que un aumento en el valor de Crp se asocia con un descenso en la TFG y viceversa.

No obstante, existen limitaciones a la hora de utilizar la Crp como estimador de la TFG. En primer lugar, entre el 10% y el 40% del aclaramiento de creatinina tiene lugar mediante secreción tubular (Shemesh y cols., 1985), esta situación puede enmascarar el descenso inicial en la TFG, especialmente en aquellos casos en los que la TFG decae y la porción de Crp que no es filtrada pasa a los capilares, en los que tiene lugar la secreción ya citada. En segundo lugar, existen fármacos capaces de alterar los niveles normales de Crp, tales como la cimetidina o el trimetoprim (Bagshaw y cols., 2007). En tercer lugar, los niveles basales de Crp en cada individuo pueden presentar gran variabilidad en función del sexo, la edad, la dieta, la masa muscular, los procesos patológicos ajenos al daño renal como la cetoacidosis o las alteraciones neuromusculares (Dirkes, 2011) o el estado de hidratación (Lane, 2013). Por último y como limitación principal de la Crp en el diagnóstico del daño renal, hay que considerar el hecho de que, ante un descenso agudo en la TFG, los

## INTRODUCCIÓN

valores de creatinina sérica no se elevan hasta alcanzarse un estado de equilibrio que permita su acumulación, lo que requiere varios días (Devarajan, 2008; Nguyen y Devarajan, 2008; Lameire y cols., 2005) y una pérdida de función renal superior al 50%, puesto que, de no ser así, la elevada reserva renal es capaz de mantener la filtración que las nefronas dañadas no pueden efectuar y el valor de Crp permanece cercano a la normalidad. Por lo tanto, a corto plazo, la Crp muestra escasa sensibilidad y especificidad en la detección de la enfermedad renal (Star, 1998). Esta última limitación aparece reflejada en la figura 13.

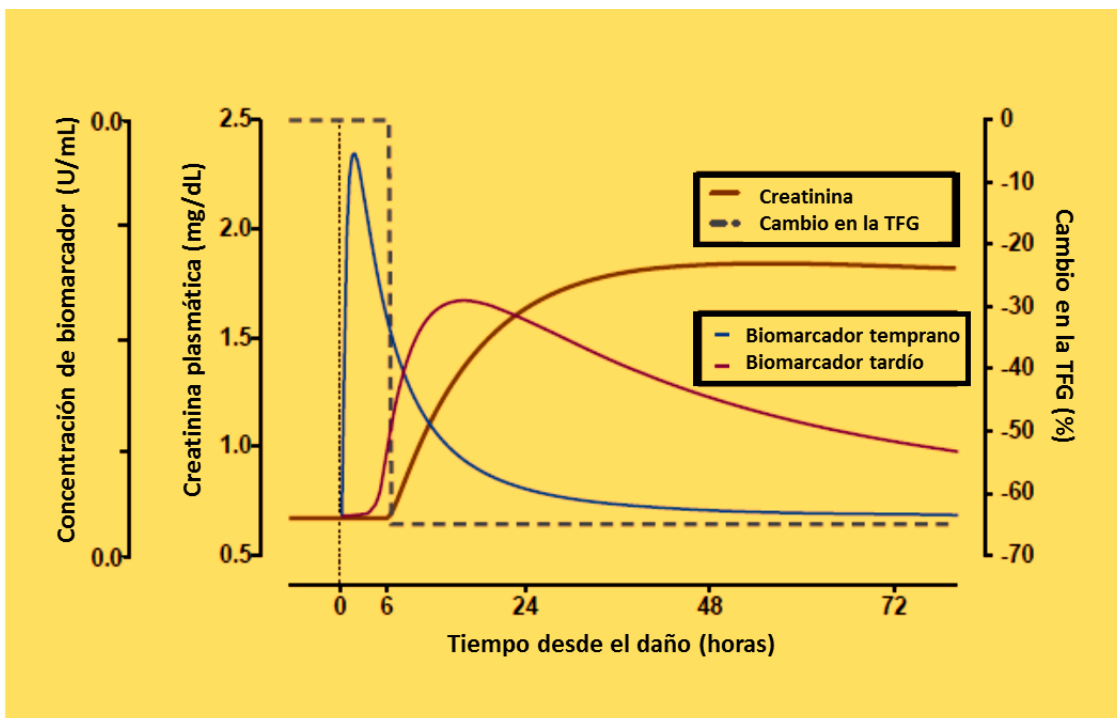


Figura 13. Representación esquemática del desfase existente en el tiempo de disminución de la tasa de filtración glomerular (TFG) tras la agresión o exposición al tóxico y el tiempo que tarda en detectarse niveles elevados de creatinina plasmática. Además aparecen reflejados los picos que corresponderían a biomarcadores ideales de enfermedad renal (biomarcadores tempranos), cuya aparición se anticiparía al aumento de creatinina plasmática. Adaptado de Pickering y Endre, 2012.

En la práctica clínica, la estimación de la TFG permite obtener una medida aproximada del número de nefronas funcionales (Urbschat y cols., 2011). Estas estimaciones se hacen fundamentalmente aplicando dos ecuaciones: la ecuación de Crockett y Gault (C-G) (Crockett y Gault., 1976) y la de Levey o fórmula MDRD, “Modification of Diet in Renal Disease” (Levey y cols., 1999). Estas fórmulas combinan diversos parámetros tales como edad, talla, peso y Crp. Pero estas



ecuaciones tienen algunas limitaciones, se ha descrito que no funcionan correctamente en el caso de adultos sanos o con función ligeramente disminuida.

### **Otros marcadores**

Otro marcador utilizado frecuentemente en el diagnóstico del daño renal, es la concentración plasmática de urea. Esta molécula presenta los mismos inconvenientes que la Crp, por lo que también diagnostica de forma tardía el daño renal. También se determinan en clínica la excreción fraccional de sodio y la proteinuria (Nguyen, 2008). La presencia de proteínas en orina se produce cuando la permeabilidad de la barrera de filtración glomerular está alterada o cuando hay afectaciones tubulares que impiden la reabsorción de las mismas a lo largo de la nefrona (Cohen, 1991).

### **3.2. BIOMARCADORES TEMPRANOS**

A la vista de la problemática existente con los biomarcadores que se utilizan actualmente en la práctica clínica, resulta evidente la necesidad de utilizar marcadores que proporcionen un diagnóstico más rápido y eficiente. En la actualidad se han estudiado más de 20 biomarcadores, muchos de ellos incluso han llegado a probarse en escenarios clínicos (Sirota y cols., 2011). Los más destacados son: la molécula de daño renal 1 (KIM-1, de sus siglas en inglés *Kidney Injury Molecule-1*), la lipocalina asociada a la gelatinasa de neutrófilos (NGAL, de sus siglas en inglés *Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin*), la N-Acetil-Glucosaminidasa (NAG), la Cistatina-C, el inhibidor 1 del activador del plasminógeno (PAI-1, por sus siglas en inglés *plasminogen activator inhibitor 1*), la interleuquina 18 (IL-18), la proteína unida al retinol (RBP, por sus siglas en inglés, *retinol binding protein*). De todos ellos, NAG, NGAL y KIM-1 son los más empleados en estudios clínicos (Bonventre y cols., 2010).

#### **N-Acetil-Glucosaminidasa (NAG)**

Es una enzima lisosomal del túbulo proximal. La detección en orina de esta enzima permite diagnosticar daño tubular de un modo temprano, además es una técnica

sensible para el daño leve. Otra ventaja de esta enzima urinaria es que tiene mayor estabilidad que otras, por lo que se ha evaluado en varios estudios, tanto preclínicos como clínicos (Vaidya y cols., 2008; Taub y cols., 2012; Bonventre y cols., 2010). Sin embargo, presenta un inconveniente, la urea endógena puede inhibir su actividad, al igual que numerosos nefrotóxicos y metales pesados (Bonventre y cols., 2010).

### **Lipocalina asociada a la gelatinasa de neutrófilos (NGAL)**

Se trata de una proteína propia de la respuesta inmune innata que está presente en células del sistema inmune, hepatocitos y células renales (especialmente en las del túbulo proximal). Tiene un peso molecular de 25 KDa y pertenece a la familia de las lipocalinas, especializadas en la unión y transporte de pequeñas moléculas hidrofóbicas (Clerico y cols., 2012). Se sintetiza rápidamente en el epitelio dañado, se detecta en la orina y en el plasma tras el inicio del daño renal (Devarajan, 2008) independientemente del mecanismo de daño (Nickolas y cols., 2008), y de forma sustancial es detectado antes que otros marcadores (Devarajan, 2008). Hasta el momento, diferentes estudios de cohortes de tamaño medio en pacientes, no sólo han corroborado la utilidad de NGAL como una herramienta de diagnóstico y pronóstico, sino también como uno de los mejores marcadores predictivos de daño renal agudo (Nickolas y cols., 2008). No obstante, en casos de estrés isquémico puede presentar origen extrarrenal en ausencia de daño renal, lo que puede limitar su utilidad (Barrera-Chimal y Bobadilla, 2012).

### **Molécula de daño renal 1 (KIM-1)**

Es una glicoproteína de membrana de tipo I con un peso de aproximadamente 70 KDa. En su porción extracelular presenta un dominio del tipo de las inmunoglobulinas con seis cisteínas y una zona rica en serina, prolina y treonina, propia de las células tipo mucina o-glicosiladas (Bonventre y cols., 2010), lo que sugiere una posible implicación en las interacciones célula-célula y célula-matriz extracelular. En el riñón, esta proteína se asocia especialmente con células del túbulo proximal (Hawkins, 2011). El ectodominio de KIM-1 aparece antes que la

NAG en la progresión del daño renal agudo, como resultado de una gran variedad de daños (Ichimura, 2004, Waikar y Bonventre, 2008), incluyendo el tratamiento con la gentamicina (Zhou y cols., 2008), tanto en animales de experimentación como en humanos (Van Timmeren y cols., 2007). Un análisis de 31 estudios publicados sobre la capacidad de diagnóstico de varios marcadores de última generación en la orina humana, ha puesto de manifiesto que KIM-1 es un buen marcador para diferenciar el daño renal agudo (especialmente asociado a la necrosis tubular aguda) y otros tipos de daño renal, como la enfermedad renal crónica (Coca y cols., 2008).

Estos marcadores disponen ya de kits comerciales para analizadores automáticos, que permiten utilizarlos en la escala del análisis poblacional, aunque todavía deben consolidarse en la práctica clínica habitual para la detección precoz del daño renal.

### **3.3. DIAGNÓSTICO DE LA PREDISPOSICIÓN ADQUIRIDA AL DAÑO RENAL**

La exposición crónica a sustancias medioambientales, como puede ser el caso de los metales pesados, o a contaminantes, como podría ser el humo del tabaco constituye un factor de riesgo en la aparición del daño renal cuando se requiere la administración de fármacos potencialmente nefrotóxicos. En general, esta circunstancia se ha considerado tradicionalmente como la suma de dos elementos que desencadenan un daño renal. Sin embargo, resultados previos obtenidos en nuestro grupo de investigación (Quirós y cols., 2010) han demostrado que el tratamiento con un fármaco nefrotóxico (la gentamicina), a dosis que no producen ningún síntoma de daño renal, predispone al fracaso renal agudo (FRA) cuando el individuo se somete a un segundo nefrotóxico. Este modelo no se trata de un caso aislado, actualmente disponemos de modelos de predisposición al FRA por exposición crónica a metales pesados como el uranio (Vicente-Vicente y cols., 2013) o por administración sub-aguda de otros fármacos como el cisplatino (Vicente-Vicente y cols., 2015).

Así, más que de sumación de efectos, debemos hablar de una sinergia entre los dos agentes, que tiene consecuencias farmacológicas, clínicas y socioeconómicas de

gran importancia. Por ejemplo, un 0,6-2,3% de los pacientes sometidos a una radiografía de contraste, sin historia previa de enfermedad renal, desarrollan algún grado de FRA (Mehran y cols., 2006). Algunos de estos pacientes podrían cursar silenciosamente con un incremento del riesgo al FRA debido a un tratamiento previo con un nefrotóxico como la gentamicina, el cisplatino o por la exposición a un tóxico ambiental (como el tabaco, el cadmio o el uranio) sin ninguna evidencia clínica, ni síntomas de lesiones renales, donde la TFG y los niveles urinarios de marcadores sensibles al daño renal (por ejemplo, KIM-1, NGAL) se mantienen en los valores normales. Así, estos pacientes tendrían un riesgo teórico incrementado, pero difícil de evaluar individualmente.

Por este motivo, la identificación de marcadores o sistemas de diagnóstico que sean capaces de detectar la predisposición al daño renal adquirida mediante agentes potencialmente nefrotóxicos o tratamientos farmacológicos, podrían ser de gran utilidad para identificar los pacientes de riesgo y estratificar su condición de una manera personalizada, antes de someterlos a nuevas intervenciones, procesos o tratamientos que puedan desencadenar el daño.

Algunos de los marcadores de predisposición obtenidos en los modelos citados previamente, han sido patentados. Entre ellos, los más importantes son la proteína activadora de gangliósido M2 (GM2-AP), la transferrina y la Fumarilacetoacetasa (FAA).

### **Utilidad de los biomarcadores de predisposición**

Desde un punto de vista clínico y socioeconómico, la posibilidad de detectar una predisposición adquirida a desarrollar daño renal puede tener una gran relevancia. Tras los estudios anteriormente expuestos, se plantea la posibilidad de que las personas expuestas de forma continua a algún agente tóxico, como puede ser el humo del tabaco, puedan adquirir una predisposición a desarrollar daño renal, que se manifiesta cuando éstas son tratadas con fármacos potencialmente nefrotóxicos. Por lo tanto, la identificación de estos marcadores de predisposición en orina de fumadores podría indicar un riesgo elevado a padecer daño renal.

## **HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

---



### HIPÓTESIS DE TRABAJO

La hipótesis de nuestro trabajo está basada en que el consumo de tabaco puede suponer un factor de riesgo en el desarrollo del daño renal. Dicho daño, en pacientes fumadores, no es detectado mediante los marcadores convencionales utilizados en la práctica clínica habitual, pero sin embargo, pudiera evidenciarse con la utilización de marcadores que aparecen en fases más tempranas del daño renal como son KIM-1, NGAL, NAG, entre otros.

### OBJETIVOS

Teniendo en cuenta la asociación entre consumo de tabaco y el desarrollo de enfermedad renal, con este trabajo nos proponemos los siguientes objetivos:

- **OBJETIVO 1**, evaluar la utilidad de marcadores tempranos (NAG, NGAL y KIM-1) en el diagnóstico del daño renal asociado al consumo de tabaco.

- **OBJETIVO 2**, evaluar la utilidad de marcadores tempranos (NAG, NGAL y KIM-1) en el diagnóstico del daño renal asociado al consumo de tabaco en pacientes con otros factores de riesgo renal (Diabetes Mellitus, HTA y/o consumo frecuente de AINEs).

- **OBJETIVO 3**, evaluar marcadores de estrés oxidativo como mecanismo patológico implicado en la toxicidad renal inducida por el consumo de tabaco.

- **OBJETIVO 4**, relacionar el grado de adicción, consumo de tabaco y daño renal.





# MATERIALES Y MÉTODOS

---



## 1. CARACTERÍSTICAS DEL CENTRO DE SALUD

Este proyecto de investigación se ha realizado con pacientes procedentes del Centro de Salud de Coria (Cáceres).

Se trata de un centro moderno, de inauguración reciente (Noviembre de 2010), y con unas instalaciones óptimas para el desarrollo de la actividad sanitaria. Posee unas consultadas amplias y bien equipadas, sala de urgencias, observación, rehabilitación, sala de cirugía menor, sala de ecografía...

En este Centro de Salud se cuenta con 7 consultas de Atención Primaria y 2 de Pediatría. Dispone también de la colaboración de Unidades de apoyo de Salud Mental, Cedex, Planificación Familiar, Matrona, Unidad de Salud Bucodental, Pediatría y Unidad 112.

Atiende a unos 13.000 usuarios en las consultas de Coria ciudad, y 9 pueblos aledaños que pertenecen a este centro de Salud, teniendo consultorios locales en sus propios pueblos, lo que en total hacen posible que el Centro de Salud atienda en jornada de Atención Continuada a unos 20.000 usuarios y tenga 9 localidades alrededor a las que prestar asistencia primaria durante las horas de dicha atención continuada.

## 2. RECLUTAMIENTO DE PACIENTES EN EL ESTUDIO

Se elaboró un estudio prospectivo observacional con pacientes mayores de 18 años que acudían a la consulta de Atención Primaria (Centro de Salud de Coria).

Previo a la realización del estudio se elaboraron los siguientes documentos:

- Un protocolo normalizado de recogida de muestras y datos de los pacientes.
- Una hoja de información y consentimiento informado del estudio.

Ambos documentos fueron aprobados por el Comité Ético de Investigación Clínica

del Complejo Hospitalario de Cáceres (Hospital Nuestra Señora de la Montaña). Este estudio se ha realizado de acuerdo a los principios de la Declaración de Helsinki.

Antes de su inclusión, los pacientes fueron informados verbalmente del estudio que se estaba realizando, y además se les proporcionó una “Hoja de Información al Paciente” (Anexo I).

Los criterios de exclusión y de inclusión establecidos para la participación en este trabajo fueron los siguientes:

- Criterios de inclusión:
  - Que sea mayor de edad.
  - Que firme el consentimiento informado.
  - Que se haya realizado una analítica sanguínea en los últimos 6 meses.
- Criterios de exclusión:
  - Que tenga Insuficiencia Renal previa.
  - Que una semana anterior a la recogida de muestra, o en el momento de la misma, el paciente haya sido tratado con alguno de los siguientes fármacos: aminoglucósidos, cefalosporinas, tetraciclinas, anfotericina B, cisplatino, ciclosporina, foscarnet, aciclovir, cidofovir, contrastes radiológicos o cualquier otro fármaco potencialmente nefrotóxico.
  - Que tenga cualquier trastorno que impida al paciente firmar el consentimiento informado.
  - Que haya realizado un tratamiento experimental en los 30 días previos a la entrada en el estudio.

### 3. DISEÑO Y PROCEDIMIENTO

#### 3.1. RECOGIDA DE DATOS DE LOS PACIENTES

Se rellenó una hoja de recogida de datos (Anexo II) por cada uno de los pacientes incluidos en el estudio. En la hoja de datos se recopilaba la siguiente información:

- Fecha de recogida de muestra.
- Datos de consumo de tabaco: fumador, no fumador o exfumador.
- Factores de riesgo: Diabetes Mellitus, Hipertensión arterial y/o uso frecuente de AINES.
- Datos antropométricos: edad, sexo, peso, talla e índice de masa corporal (IMC).
- Bioquímica analítica: Crp y urea plasmática.
- Observaciones: número de cigarrillos o puros consumidos al día.

### 3.2. DISTRIBUCIÓN DE LOS PACIENTES EN LOS GRUPOS DE ESTUDIO

Los pacientes se dividieron en cuatro grupos, según la información aportada de consumo de tabaco y de factores de riesgo asociados:

1. No Fumadores sin factores de riesgo.
2. No Fumadores con factores de riesgo.
3. Fumadores sin factores de riesgo.
4. Fumadores con factores de riesgo.

	No Fumadores	Sí Fumadores
Sin factores de riesgo	Grupo 1	Grupo 3
Con factores de riesgo	Grupo 2	Grupo 4

Tabla 4. Distribución de pacientes en cada grupo según datos de tabaquismo y factores de riesgo.

Los criterios de distribución de los pacientes en los diferentes grupos fueron los siguientes:

- Se consideró fumador a toda persona que consumía habitualmente tabaco en el momento de la consulta o lo hubiera dejado en los últimos 6 meses (OMS, 2008).

- Se consideró paciente con factores de riesgo, a aquellas personas que sufrían alguna de las siguientes circunstancias implicadas en el desarrollo de la enfermedad renal: Diabetes Mellitus, HTA y/o si consumía frecuentemente algún AINE.
- Se consideró paciente que consumía frecuentemente AINES, aquel que los tomaba en el momento del estudio con una frecuencia de más de tres días a la semana durante los últimos tres meses anteriores al estudio.

### 3.3. REALIZACIÓN DEL TEST DE FAGERSTRÖM.

A los fumadores (grupos 3 y 4) además se les realizó el test Fagerström (Tabla 3). Se trata de un cuestionario breve y sencillo que permite conocer el grado de dependencia física o adicción a la nicotina mediante la realización de 8 preguntas. Cada respuesta tiene una puntuación diferente, de tal modo que la suma de todas las contestaciones nos indicará:

- 0-4: poca dependencia.
- 5-6: dependencia media.
- 7-10: dependencia muy elevada.

### 3.4. RECOGIDA DE MUESTRAS DE ORINA.

Se recogió una muestra de orina en el momento de la consulta. A los pacientes se les entregó un vaso para orina con unidad de muestra integrada con sistema de vacío (Deltalab, Barcelona). De este vaso se pasaron 9 mL a un tubo de recogida de orina adaptado al sistema de vacío, que se etiquetó con el código correspondiente (específico para cada paciente) y la fecha de recogida (Figura 14).



Figura 14. Bote de recogida de orina con sistema de vacío

### 3.5. CONSERVACIÓN Y PROCESAMIENTO DE MUESTRAS.

Las muestras se congelaron inmediatamente a  $-20^{\circ}\text{C}$  y se transportaron hasta el laboratorio de la Unidad de Toxicología de la Universidad de Salamanca, manteniendo en todo momento la cadena de frío. Una vez en el laboratorio, las muestras se descongelaron lentamente mediante incremento gradual de la temperatura. Posteriormente se centrifugaron a 2000 g durante 9 minutos y se alicuotaron del siguiente modo: 2 eppendorfs de 2 mL: uno de ellos se guardó a  $-20^{\circ}\text{C}$  para realizar estudios de funcionalidad renal y otro a  $-80^{\circ}\text{C}$  como reserva. Los 5 mL restantes se congelaron a  $-80^{\circ}\text{C}$ , en un tubo de ensayo, para posteriormente realizar la determinación de cotinina (Figura 15).

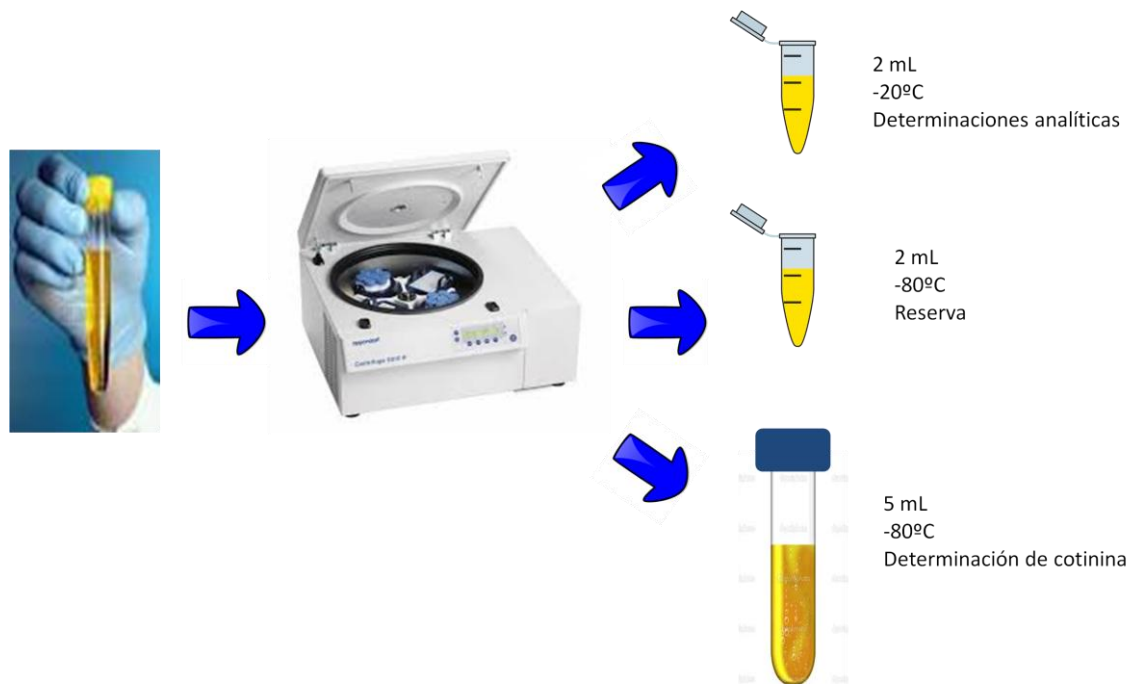


Figura 15. Esquema representativo del procesamiento de la muestra y alicuotado tras su llegada al laboratorio.

## 4. DIAGNÓSTICO CONVENCIONAL DEL DAÑO RENAL

Para la evaluación de la función renal en los cuatro grupos de pacientes se realizaron determinaciones tanto en plasma como en orina y además se estimó la Tasa de Filtración Glomerular (TFG), mediante el uso de ecuaciones matemáticas.

### 4.1. DETERMINACIONES PLASMÁTICAS

Las determinaciones plasmáticas fueron obtenidas a través de la analítica que figuraba en la Historia Clínica del paciente, siempre que hubiera sido realizada en los seis meses previos al estudio. Dichas determinaciones fueron realizadas mediante el analizador Cobas C 311/501 de Roche/Hitachi®.

### 4.2. DETERMINACIONES URINARIAS

#### Proteinuria

La cantidad de proteínas en orina excretadas por cada paciente, se determinó mediante el método colorimétrico de Bradford (Bradford, 1976). Éste se basa en la formación de un complejo entre el Azul de Coomassie G-250, presente en el reactivo Bradford (formado por Azul de Coomassie, etanol al 95% y ácido ortofosfórico), y las proteínas presentes en la muestra, resultando un color azul intenso que tiene un máximo de absorbancia a 595 nm. La absorbancia obtenida es directamente proporcional a la cantidad de proteínas de la muestra. Los datos de absorbancia se interpolaron en una recta patrón realizada con albumina sérica bovina (BSA de sus siglas en inglés “Bovine Serum Albumin”).

Para realizar la determinación, se pipetearon 4 µL de muestra o recta patrón en una placa de 96 pocillos, y se añadieron 196 µL del reactivo de Bradford. También se realizó un blanco con 4 µL de agua destilada. Tras 10-15 minutos de incubación a temperatura ambiente, la placa se midió en el espectrofotómetro a 595 nm. Con los datos obtenidos de absorbancias, se generó la recta patrón, a partir de la cual se calculó la cantidad de proteínas que había en la muestra de orina. Se utilizó el lector de placas *Multiskan FC (Thermo Scientific)*.

#### Glucosuria

Se utilizó el método de la o-toluidina (Dubowsky, 1962), se trata de una amina aromática primaria que, en contacto con el ácido tricloroacético (TCA) reacciona con la glucosa, dando lugar a glucosamina y a la correspondiente base de Schiff.



Este producto azul-verdoso obedece a la ley de Lambert Beer en un amplio rango de concentraciones. El procedimiento es el siguiente: en un eppendorf se añaden 25  $\mu\text{L}$  de muestra, 125  $\mu\text{L}$  de TCA y 1350  $\mu\text{L}$  de o-toluidina. Los eppendorfs se hierven a 80°C durante 15 minutos. Transcurrido este tiempo se pipetea 300  $\mu\text{L}$  de la reacción sobre una placa de 96 pocillos y se lee la absorbancia a 630 nm en un lector de placas *Multiskan FC (Thermo Scientific)*.

La concentración de glucosa en la muestra de orina se calcula en función de una recta patrón realizada con concentraciones conocidas de glucosa.

### **Creatinina urinaria**

La cuantificación de la concentración urinaria de creatinina no proporciona información sobre la funcionalidad del riñón, pero es útil para conocer, de forma indirecta, el volumen de orina. Por lo tanto, este parámetro es necesario para corregir todos los marcadores explicados anteriormente mediante la división de la concentración del biomarcador entre la concentración de creatinina urinaria (Figura 16), de tal modo que se obtienen datos de excreción urinaria de cada uno de los biomarcadores en función de la excreción de creatinina.

$$\text{Excreción urinaria del biomarcador} = \frac{\text{concentración urinaria del biomarcador (unidades/mL)}}{\text{concentración urinaria de creatinina (mg/mL)}} \text{ (unidades/ mg cru)}$$

Figura 16. Fórmula utilizada para el cálculo de la excreción urinaria de cada biomarcador.

Para la determinación de creatinina en orina se utilizó el kit QuantiChrom™ de BioAssay Systems. Esta técnica se fundamenta en el método de Jaffe (Jaffé, 1886), que se basa en la reacción de la creatinina con el picrato, formándose un complejo coloreado que se puede medir mediante espectrofotometría a una longitud de onda de entre 490-530 nm. El picrato se obtiene al mezclar los reactivos A y B del kit, que son hidróxido de sodio y ácido pícrico respectivamente, y que al reaccionar forman el picrato. La intensidad del color será directamente proporcional a la cantidad de creatinina en la muestra.

### Albuminuria

La albuminuria fue obtenida de la analítica que figuraba en la Historia Clínica del paciente, siempre que hubiera sido realizada en los seis meses previos al estudio. La determinación fue realizada mediante el analizador Cobas C 311/501 de Roche/Hitachi®.

### 4.3. ESTIMACIÓN DE LA TASA DE FILTRACIÓN GLOMERULAR

Se estimó la TFG mediante el uso de dos ecuaciones: la fórmula de Cockcroft-Gault (C-G) (Figura 17) y la fórmula Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) (Figura 18).

Ambas fórmulas se han calculado a partir de datos de pacientes, concretamente la C-G se desarrolló en el año 1973 con los valores de aclaramientos de creatinina de 249 varones y tiene en cuenta la edad, la masa corporal, el sexo y la creatinina sérica (Inal y cols., 2006).

$$\text{TFG} = \frac{[140 - \text{Edad(años)}] \times \text{peso (Kg)} (\times 0,85 \text{ si mujer})}{\text{Crp} \times 72}$$

Figura 17. Fórmula matemática de Cockcroft -Gault para la estimación del filtrado glomerular. TFG es tasa de filtración glomerular; Crp es creatinina plasmática.

La fórmula MDRD se creó en 1999, para lo que se utilizaron datos de 1628 pacientes diagnosticados de insuficiencia renal crónica. En todos ellos se había estimado el filtrado glomerular mediante el aclaramiento de creatinina e isótopos (Levey y cols., 1999). Esta fórmula se basa en la edad, la creatinina sérica, el sexo, la raza y la superficie corporal.

$$\text{TFG} = 186 \times [\text{Crp}]^{-1,154} \times [\text{edad}]^{-0,203} \times [0,742 \text{ si mujer}] \times [1,142 \text{ si afroamericano}]$$

Figura 18. Fórmula matemática Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) para la estimación del filtrado glomerular. TFG es tasa de filtración glomerular; Crp es creatinina plasmática.

## 5. TÉCNICAS ANALÍTICAS DE CUANTIFICACIÓN DE MARCADORES TEMPRANOS DE DAÑO RENAL, ESTRÉS OXIDATIVO Y CONSUMO DE TABACO

Los biomarcadores determinados en las muestras de orina y las técnicas utilizadas se encuentran resumidos en la siguiente tabla (Tabla 5):

Tipo de biomarcador	Nombre del biomarcador	Técnica
Daño renal temprano	NAG	Prueba colorimétrica
	NGAL	ELISA
	KIM-1	ELISA
Estrés oxidativo	MDA	Prueba colorimétrica
	Antioxidantes totales	Prueba colorimétrica
Consumo de tabaco	Cotina	ELISA

Tabla 5. Biomarcadores determinados en las muestras de orina. Donde NAG es N-acetil- $\beta$ -D-glucosaminidasa; NGAL es lipocalina asociada a gelatinasa de neutrófilos, KIM-1 es molécula de daño renal 1, MDA es malonildialdehído y ELISA es ensayo inmunoenzimático.

### 5.1. ACTIVIDAD URINARIA DE LA ENZIMA N-ACETIL-B-D-GLUCOSAMINIDASA (NAG).

La actividad de la enzima NAG en orina se midió mediante un kit comercial colorimétrico de Laboratorios Dia Zyme® que se basa en la medida espectrofotométrica de la aparición del producto resultante de la reacción de

escisión enzimática directa de un sustrato sintético de NAG. Concretamente el 2-metoxi-4-(2'-nitrovinil)-fenil 2-acetamido-2-deoxi-D-glucopiranososa (MNP-GlcNAc) es hidrolizado por la NAG liberando 2-metoxi-4-(2'-nitrovinil)-fenol. El producto obtenido produce color amarillo en presencia de tampón alcalino (Figura 19).

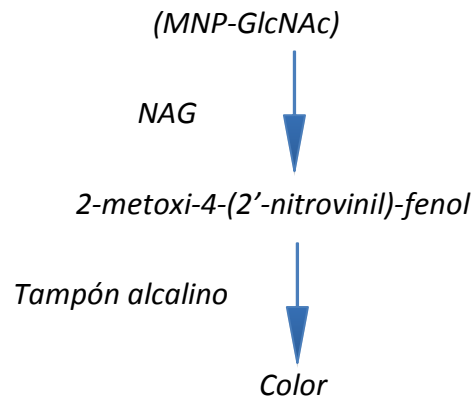


Figura 19. Reacción de escisión enzimática de un sustrato colorimétrico de N-acetil-β-D-glucosaminidasa (NAG). 2-metoxi-4-(2'-nitrovinil)-fenil 2-acetamido-2-deoxi-D-glucopiranososa (MNP-GlcNAc)

El producto obtenido de esta reacción absorbe a una longitud de onda de 505 nm. Para llevar a cabo esta determinación, en una placa de 96 pocillos se pipetearon 10 μL de muestra de orina o de las soluciones patrón. Se añadieron 150 μL de sustrato comercial en cada pocillo (compuesto por MNP-GlcNAc, ácido clorhídrico, ácido cítrico y fosfato potásico) y la placa se incubó durante 5 minutos a 37°C en una estufa. Pasado este tiempo se paró la reacción con 50 μL de carbonato de sodio a pH 10 (proporcionado también por el fabricante) y se midió la absorbancia a 505nm. Se utilizó el lector de placas *Multiskan FC (Thermo Scientific)*.

La concentración de NAG presente en las muestras se interpola a una recta de calibración previamente realizada a partir de patrones de concentración conocida de NAG.

### 5.2. LIPOCALINA ASOCIADA A GELATINASA DE NEUTRÓFILOS (NGAL)

El análisis de NGAL se hizo mediante el uso de un kit rápido de Bioporto Diagnostics® consistente en un ELISA (“*Enzyme-linked Immunosorbent Assay*”) comercial que contiene placas de 96 pocillos pre-incubados con un anticuerpo

monoclonal contra la proteína NGAL humana. La NGAL presente en la muestra de orina se une al anticuerpo primario. Tras lavar la placa, la NGAL unida al recubrimiento se detecta mediante un anticuerpo monoclonal conjugado con peroxidasa de rábano (HRP, del inglés *Horse Radish Peroxidase*), y finalmente se incubó con un sustrato formador de color. La reacción enzimática se detuvo químicamente con ácido clorhídrico y se leyó la intensidad de color en cada pocillo a 450nm utilizando el lector de placas *Multiskan FC (Thermo Scientific)*. Los resultados obtenidos con los calibradores se emplearon para dibujar una curva de calibración en la que se leyeron las concentraciones de NGAL en las muestras problema.

### **5.3. MOLÉCULA DE DAÑO RENAL 1 (KIM-1)**

Para determinar KIM-1 se utilizó un kit comercial de ELISA, de Enzo Life Sciences®. (Figura 20). El kit usa un anticuerpo monoclonal para inmovilizar, en una placa de microtitulación, el KIM-1 unido a las muestras. Después de un periodo corto de incubación el exceso de muestras se lavó y se añadió un anticuerpo monoclonal conjugado con biotina. Este anticuerpo se unió al KIM-1 que se había depositado en el pocillo. Después de otro periodo corto de incubación el exceso de anticuerpo se lavó y se añadió HRP conjugada con estreptavidina, que unió la biotina al anticuerpo monoclonal. Una vez que la incubación fue completa, el exceso de conjugado se lavó y se añadió solución de TMB (tetrametilbenzidina). Se produjo una reacción que cataliza HRP y generó un color azul en la solución. Posteriormente se añadió una solución paralizante para detener la reacción. La cantidad de señal que mostraba fue directamente proporcional al nivel de KIM-1 en la muestra. Posteriormente se calculó la curva de absorbancia según el software del lector de placas *Multiskan FC (Thermo Scientific)*, lo que permitió obtener los valores de concentración de KIM-1 en las muestras problema.

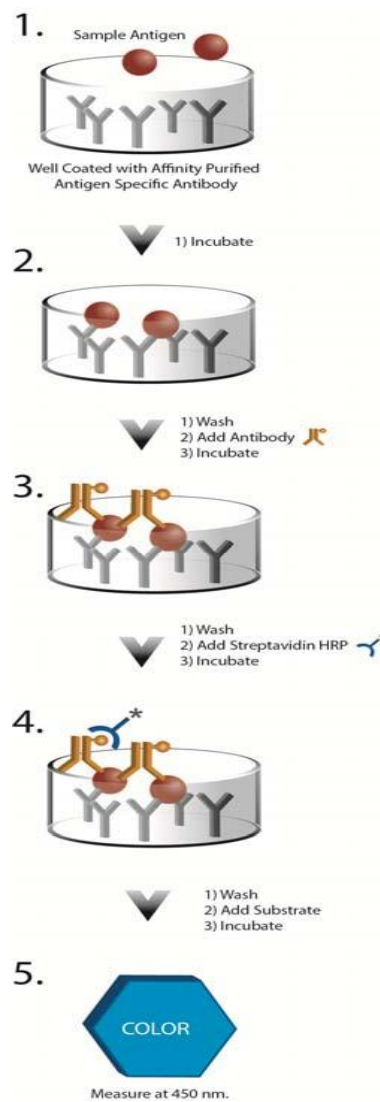


Figura 20. Resumen esquemático de la determinación de KIM-1.

### 5.4. MALONILDIALDEHIDO (MDA)

Los radicales libres pueden interactuar con los lípidos séricos y tisulares provocando su peroxidación. Dada la naturaleza inestable de los productos de la peroxidación lipídica, resulta dificultoso determinar la magnitud de dicha peroxidación. Es, sin embargo, más accesible determinar los productos de su degradación metabólica, constituidos fundamentalmente por aldehídos de alta capacidad reactiva, de los cuales el más significativo es el malondialdehído (MDA).

La determinación del MDA se trata de un método indirecto en el que se detectan

los productos de degradación de los lípidos (aldehídos y MDA), basado en que dos moléculas de ácido tiobarbitúrico (TBA) reaccionan con una molécula de MDA para generar un cromóforo de color rosado que absorbe a 523-535 nm (Figura 21). Los datos de absorbancia se interpolan en una recta patrón, previamente realizada con concentraciones conocidas de MDA.

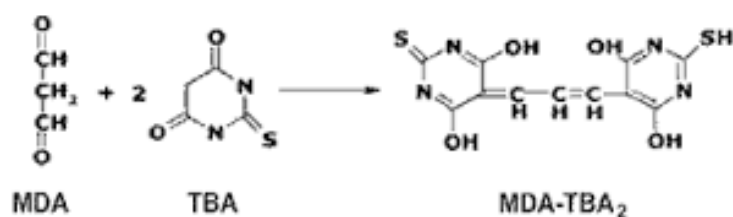


Figura 21. Reacción química entre MDA y TBA. MDA: malonildialdehído TBA: tiobarbitúrico

Para determinar este marcador, en tubos tipo eppendorf de 2 mL correctamente identificados se añadieron 50  $\mu$ L de estándar o de muestra. A cada estándar o muestra se añadieron 125  $\mu$ L de TCA al 20% y 250  $\mu$ L de TBA al 0,67% y se mezcló con vortex. En un baño húmedo, los tubos se incubaron durante 20 minutos a 80°C. Posteriormente los tubos se centrifugaron a 9000 g durante 5 minutos. En una placa de 96 pocillos, se pipetearon 250  $\mu$ L del sobrenadante de cada uno de los estándares o muestras, por triplicado. La absorbancia se midió en un espectrofotómetro de placa *Multiskan FC (Thermo Scientific)*, a 595 nm. La concentración de MDA se calculó mediante la ecuación de la recta patrón obtenida.

## 5.5. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

Se determinó mediante el uso de un kit comercial “Antioxidant Assay Kit” de Cayman Chemical (Ann Arbor, Michigan, USA), que se basa en el método “Trolox Equivalent Antioxidant Capacity” (TEAC). En el protocolo de este kit no se separan los diferentes tipos de antioxidantes, por lo tanto se determinan las actividades antioxidantes combinadas de todos ellos (vitaminas, proteínas, lípidos, glutatión, ácido úrico, etc). El kit se basa en la capacidad de los antioxidantes en la muestra de inhibir la oxidación de ABTS\* (2,2'-Azino-di-[3-etilbenzotiazolina sulfonato]) en ABTS<sup>•+</sup> por la metmioglobina. La cantidad de ABTS<sup>•+</sup> producida puede ser

monitorizada mediante la lectura de la absorbancia a 405 nm. Bajo las condiciones de la reacción, los antioxidantes en la muestra suprimen la absorbancia en un grado que es proporcional a su concentración. La capacidad de los antioxidantes en la muestra para prevenir la oxidación de ABTS se compara con la del Trolox, un análogo de tocofenol soluble en agua, y se cuantifica como equivalentes milimolares de Trolox.

Siguiendo las instrucciones del kit, se pipetearon 10  $\mu\text{L}$  de muestra o de estándar sobre una placa de 96 pocillos, posteriormente se añadieron 10  $\mu\text{L}$  de metmioglobina y 150  $\mu\text{L}$  de cromógeno. La reacción se inició mediante la adición de 40  $\mu\text{L}$  de la solución de trabajo consistente en peróxido de hidrógeno. Tras 5 minutos de incubación a temperatura ambiente, en agitación, se midió la absorbancia a 405 nm. Los resultados se expresaron como valores antioxidantes totales, mediante la construcción de una curva patrón usando como antioxidante Trolox®.

### **5.6. EXCRECIÓN URINARIA DE COTININA**

La cotinina es el principal metabolito de la nicotina. Se elimina por vía urinaria por lo que puede detectarse en la orina de los fumadores incluso varios días después de dejar de fumar. Es un parámetro comúnmente utilizado para detectar el grado de tabaquismo.

Para el análisis de cotinina las muestras se enviaron a un laboratorio especializado en esta técnica (Reference Laboratory; Barcelona) y que cuenta con un sistema automatizado de medida.

El análisis de cotinina se realizó mediante el uso de un ELISA competitivo. La muestra se añade sobre una placa de 96 pocillos recubiertos con anticuerpos anticotinina. Durante el primer período de incubación, la cotinina marcada con la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH) compete con la cotinina libre en la muestra del paciente para alcanzar los sitios de unión de los anticuerpos anticotinina que se encuentran en los pocillos. Posteriormente se lavan la cotinina



libre y el conjugado enzimático de cotinina. Se añade el sustrato nicotinamida adenina dinucleótido (NAD). La actividad de la enzima G6PDH se determina mediante espectrofotometría a 340 nm, midiendo su capacidad para convertir el sustrato en sustrato nicotinamida adenina dinucleótido hidrogenasa (NADH). La intensidad de color es inversamente proporcional a la concentración de cotinina en las muestras.

## 6. BIOESTADÍSTICA

Los datos de los pacientes y de los biomarcadores analizados se incluyeron en una base de datos diseñada “ad hoc” para ello se utilizó el software de Microsoft Office Professional 2010 para Windows®. La información recogida se analizó mediante el uso de programas informáticos, siguiendo las regulaciones españolas sobre el manejo de datos computarizados (Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal y el Real Decreto 1720/2007 de 21 de diciembre). Concretamente, para el análisis estadístico se aplicó el programa SPSS software, versión 20 (IBM SPSS Statistics 20, Chicago, IL, USA) para Windows®.

Para mantener el anonimato de los pacientes se estableció un sistema de encriptación de muestras, mediante la asignación de un código numérico. Este sistema permitió asegurar el manejo de los datos de los pacientes, así como de sus muestras, de un modo totalmente confidencial.

### 6.1. ELIMINACIÓN DE RESULTADOS ANÓMALOS

Con el objetivo de descartar valores anómalos (outliers) que pudieran deberse a errores de las técnicas analíticas, se aplicó el test de Grubbs [recomendado por la Organización internacional de normalización (ISO)]. Con esta prueba se identifican los valores que no se adaptan a la población normal.

El fundamento de este test se basa en la diferencia entre la media del grupo y los datos más extremos, teniendo en cuenta la desviación estándar (Grubbs, 1969)

### 6.2. COMPARACIÓN DE GRUPOS

En primer lugar se estudió si los datos presentaban una distribución normal mediante el test de Kolmogórov-Smirnov. Las variables cuantitativas se expresan como medias  $\pm$  error estándar de la media (EEM).

Las comparaciones entre 2 grupos de variables se realizaron mediante la t de Student para distribuciones normales o mediante la U de Mann-Whitney en el caso de que no siguieran una distribución normal. Para comparar 2 o más grupos de variables, cuando los datos presentaban una distribución normal, se aplicó el test de Levene para detectar la homogeneidad de las varianzas, y en caso de que estas resultaran ser homogéneas, se utilizó el análisis de la varianza (ANOVA). En los casos en que los datos no presentaban distribución normal o las varianzas eran heterogéneas, se utilizó el test de Kruskal-Wallis.

La significación estadística en todas las pruebas se consideró para una  $p < 0.05$  y el análisis se hizo con prueba bilateral o de dos colas.

### 6.3. CORRELACIONES

Se establecieron correlaciones entre los datos para determinar el grado de variación conjunta existente entre las variables marcador en fumador y el nivel de consumo de tabaco, medido cuantitativamente mediante los valores de cotinina en orina.

Se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson para establecer el grado de relación lineal entre dos variables cuantitativas.

Para establecer el tipo de relación entre variables se realizaron diagramas de dispersión (Figura 22), cuya forma dio una idea sobre la relación existente entre las variables, de tal modo que el valor del índice de correlación varía en el intervalo [-1,1]:

- Si  $r = 1$ , existe una correlación lineal positiva perfecta. El índice indica una dependencia total entre las dos variables denominada *relación directa*: cuando una de ellas aumenta, la otra también lo hace en proporción constante.

- Si  $0 < r < 1$ , existe una correlación lineal positiva.
- Si  $r = 0$ , no existe relación lineal. Pero esto no necesariamente implica que las variables son independientes: pueden existir todavía relaciones no lineales entre las dos variables.
- Si  $-1 < r < 0$ , existe una correlación lineal negativa.
- Si  $r = -1$ , existe una correlación lineal negativa perfecta. El índice indica una dependencia total entre las dos variables llamada *relación inversa*: cuando una de ellas aumenta, la otra disminuye en proporción constante.

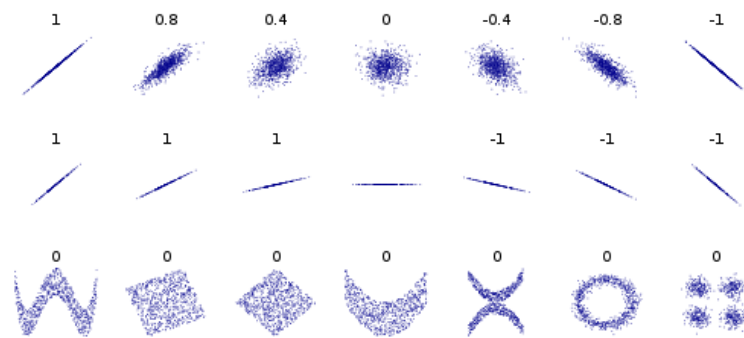


Figura 22. Ejemplos de varios grupos de puntos  $(x, y)$ , con el coeficiente de correlación para cada grupo.

Únicamente se consideraron correlaciones estadísticamente significativas aquellas cuyo p-valor del coeficiente de correlación fuese  $< 0.05$  (para una probabilidad del 95%).

#### 6.4. FRECUENCIAS

Con los datos de los marcadores en orina que habían presentado diferencias estadísticamente significativas, se dividió a los sujetos de estudio según que el nivel de marcador se encontrara por encima o por debajo del percentil 70 y se realizó un análisis de frecuencias a través de tablas de contingencia.

Se representaron las frecuencias observadas (reales) para cada uno de los grupos de estudio, según el percentil del marcador cuantificado (superior o inferior al percentil 70). Como el grado de relación existente entre las variables no puede ser

## MATERIALES Y MÉTODOS

---

establecido simplemente observando las frecuencias de la tabla de contingencia, para determinar la asociación entre nivel de marcador con el grupo de estudio, se determinó la correspondiente prueba de significación Chi cuadrado, considerando un valor significativo si  $p < 0,05$ . Esto contrastó la hipótesis de que las variables grupo de estudio/marcador eran independientes.

## **RESULTADOS**

---



## 1. PARTICIPACIÓN DE PACIENTES EN EL ESTUDIO

Accedieron a formar parte del estudio 216 pacientes que cumplían los requisitos de inclusión y no presentaban ninguno de los inconvenientes determinados en los criterios de exclusión. Estos pacientes se distribuyeron en los grupos, tal y como se ha comentado en el apartado de material y métodos, en función de si eran o no fumadores y de si presentaban o no factores de riesgo (Tabla 4 del apartado de materiales y métodos). En concreto el número de participantes de cada grupo fue el siguiente:

- Grupo 1 (No Fumadores, No factores de riesgo): 83 pacientes.
- Grupo 2 (No Fumadores, Sí factores de riesgo): 44 pacientes.
- Grupo 3 (Sí Fumadores, No factores de riesgo): 61 pacientes.
- Grupo 4 (Sí Fumadores, Sí factores de riesgo): 28 pacientes.

## 2. VARIABLES EPIDEMIOLÓGICAS

### 2.1. SEXO

El porcentaje de hombres y mujeres que participaron en los grupos 1, 2 y 3 fue muy similar, tanto dentro del mismo grupo como entre ellos, siendo en torno al 50%. Algo diferente fue la distribución de pacientes según sexo en el grupo 4, donde el número de varones fue superior (64%) al de mujeres (36%). Estos datos se muestran en la figura 23.

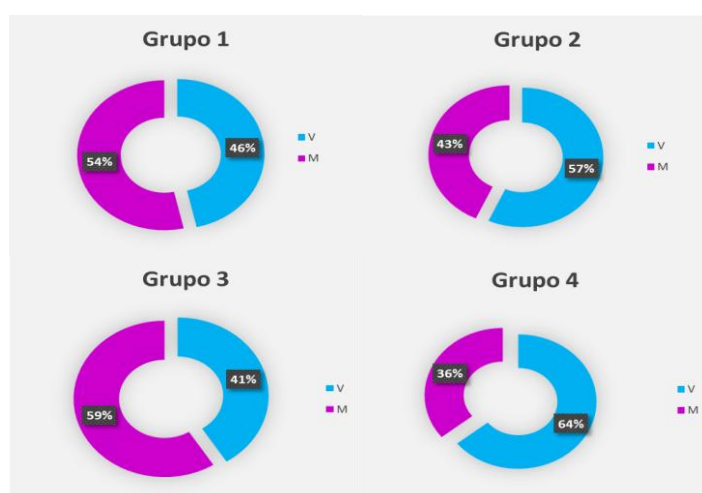
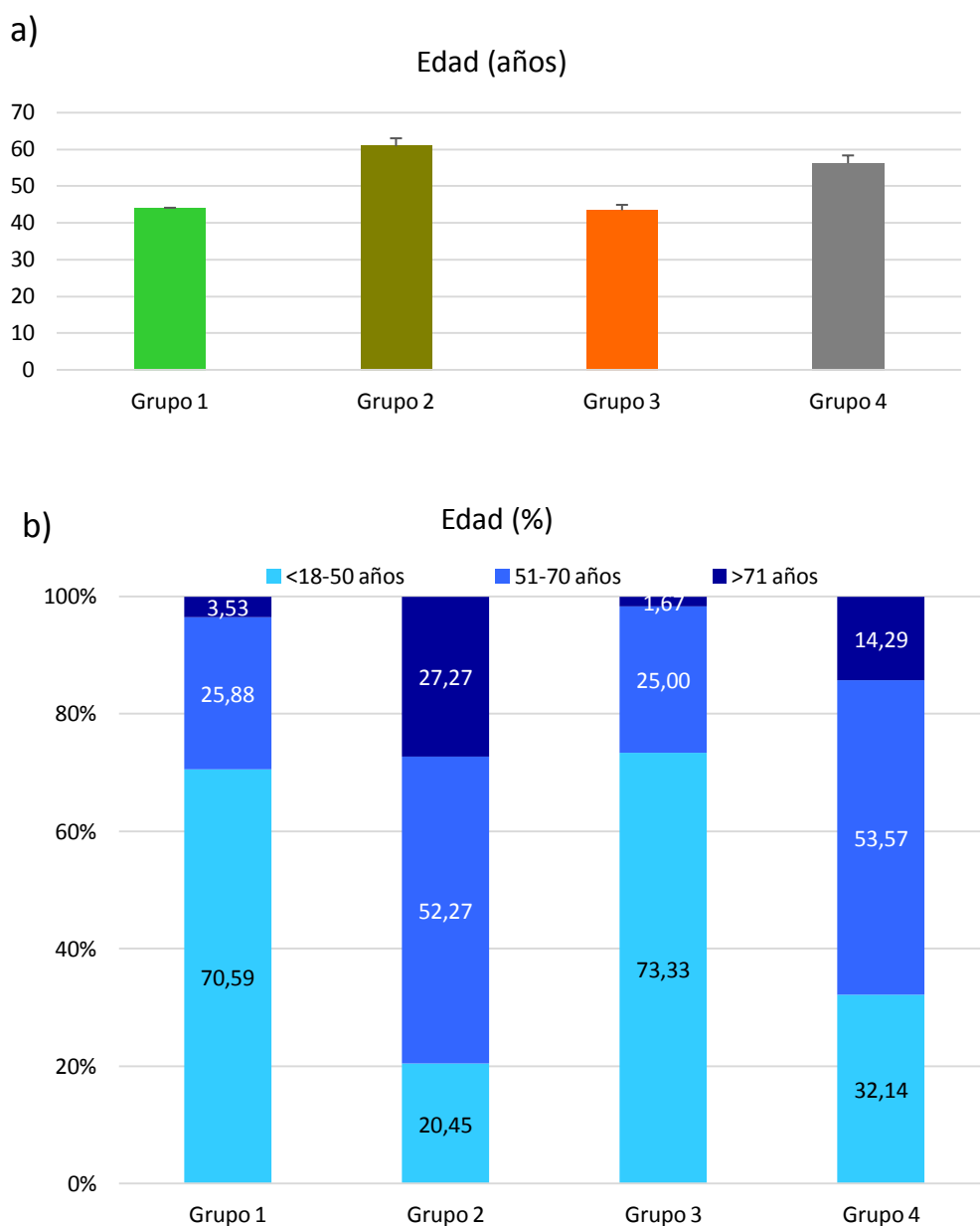


Figura 23. Distribución de pacientes según sexo en cada uno de los grupos. V: varón y M: Mujer. Grupo 1: No fumadores sin factores de riesgo; Grupo 2: No fumadores con factores de riesgo; Grupo 3: Fumadores sin factores de riesgo; Grupo 4: Fumadores con factores de riesgo

## RESULTADOS

### 2.2. EDAD

Se calculó la media de la edad de todos los participantes de cada grupo (Figura 24a), así como la media de edad por sexo dentro de cada grupo (Tabla 6). También se representaron los valores en porcentaje, por franjas de edad (Figura 24b)



Consumo de tabaco	NO	NO	SI	SI
Factores de riesgo	NO	SI	NO	SI

Figura 24. a) Edad media en cada uno de los grupos. Datos expresados como media  $\pm$  EEM. b) Distribución de pacientes según franjas de edad en cada uno de los grupos. Datos expresados en tanto por ciento.



		EDAD años		PESO Kg		TALLA cm		IMC Kg/cm <sup>2</sup>	
		Media	EEM	Media	EEM	Media	EEM	Media	EEM
Grupo 1	mujeres	41,98	± 2,004	64,46	± 1,601	161,89	± 0,723	24,58	± 0,575
	hombres	46,26	± 2,060	82,13	± 2,382	174,77	± 1,103	26,86	± 0,752
Grupo 2	mujeres	61,89	± 3,042	73,29	± 2,806	159,72	± 1,212	29,73	± 1,203
	hombres	59,74	± 3,111	82,45	± 2,081	169,83	± 1,536	28,88	± 0,7896
Grupo 3	mujeres	43,42	± 1,889	63,36	± 1,827	161,69	± 1,080	24,21	± 0,634
	hombres	42,33	± 2,861	79,35	± 2,378	171,00	± 1,642	26,57	± 0,685
Grupo 4	mujeres	53,00	± 2,943	74,06	± 6,829	160,70	± 0,844	28,92	± 2,821
	hombres	58,00	± 2,092	78,26	± 3,202	168,94	± 1,812	27,68	± 0,818

Tabla 6. Valores medios de edad y variables antropométricas: peso, talla e índice de masa corporal (IMC), calculados por sexo, en cada grupo de estudio. Datos expresados como media ± EEM.

Se observó que los pacientes sin factores de riesgo, es decir los grupos 1 y 3, tenían datos similares de edad, siendo la media de los dos grupos de 43 años. En ambos casos, aproximadamente el 70% de pacientes tenían entre 18 y 50 años, el 25% tenían entre 51 y 70 y una minoría correspondían a personas mayores de 71 años. Por otro lado, los grupos de pacientes con factores de riesgo (Grupo 2 y Grupo 4) estaban formados por individuos de edades superiores, pero en este caso la media de ambos grupos era algo diferente, 61 años para los no fumadores (Grupo 2) y 56 para los fumadores (Grupo 4). En ambos grupos, la mayor parte de los pacientes (53%) tenían edades comprendidas entre 51 y 70 años, pero el resto de pacientes se distribuyeron de manera desigual entre las otras franjas de edad evaluadas. En el caso del grupo 2 (no fumadores con factores de riesgo) la segunda franja de edad con mayor porcentaje de pacientes fue la de mayores de 71 años (27%), lo que explica que la media de edad de este grupo sea mayor. Por último, el 20% de los pacientes tenían edades entre 18 y 50 años. Sin embargo, en el grupo 4 (fumadores con factores de riesgo) los pacientes más jóvenes (18-50 años) representaban el 32% del total del grupo y los mayores de 71 solamente el 14%.

### 2.3. VARIABLES ANTROPOMÉTRICAS: PESO, TALLA E IMC

Las variables antropométricas medidas en el estudio (peso, talla y por lo tanto, IMC) fueron superiores en los varones que en las mujeres (Tabla 6). A pesar de que los valores observados de cada uno de estos parámetros para cada sexo, fueron muy parecidos en todos los grupos, se observó mayor similitud entre los pacientes sin

## RESULTADOS

factores de riesgo (Grupos 1 y 3) por una parte, y con factores de riesgo (Grupos 2 y 4) por otra, al igual que se había observado anteriormente con los valores de edad.

Los valores medios de IMC en mujeres de los grupos 2 y 4 fueron superiores a los calculados en los grupos 1 y 3, posiblemente debido al mayor peso corporal asociado a la edad. En el resto de los grupos y en ambos sexos, fue similar.

### 3. CONSUMO DE TABACO

Los pacientes considerados fumadores (Grupos 3 y 4), cumplieron el test de Fagerström, que preguntaba acerca de sus hábitos tabáquicos, lo que permitió conocer tanto el consumo diario de tabaco como su grado de dependencia a la nicotina.

#### 3.1. CONSUMO DIARIO DE TABACO

El consumo diario de cigarrillos fue superior en el grupo 4 (Figura 25), es decir, en los pacientes fumadores con factores de riesgo. Esto era debido a que el mayor porcentaje de encuestados (57,63 %) fumaba entre 16 y 25 cigarrillos por día. En cambio, en el grupo 3 (fumadores sin factores de riesgo), el mayor porcentaje de consumo diario de tabaco observado fue en la franja de menos de 15 cigarrillos/día. Aunque también cabe destacar que, el número de pacientes que contestaron que su consumo diario era superior a 26 cigarrillos, fue mayor en el grupo 3 (5,08%) que en el grupo 4 (3,85%).

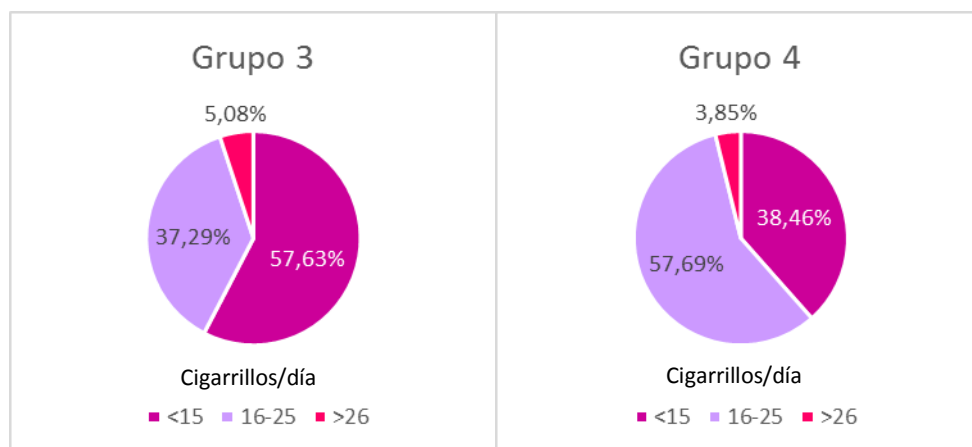


Figura 25. Consumo de cigarrillos por día. Datos expresados como porcentajes. Grupo 3: Fumadores sin factores de riesgo; Grupo 4: Fumadores con factores de riesgo.

Como la información de consumo de tabaco se obtiene mediante una encuesta al paciente, se procedió a utilizar un parámetro cuantificable que estuviese relacionado con el tabaquismo, la medida elegida fue la determinación de cotinina (metabolito de la nicotina) en orina. Debido a que la técnica utilizada para la medición de este marcador es muy costosa, se decidió evaluarlo solamente en el grupo de mayor interés para este estudio, que era el grupo 3 (fumadores sin factores de riesgo). Los valores de cotinina se agruparon en función del número de cigarrillos consumidos por día, como se puede observar en la figura 26. En esta imagen no se encuentra representado el grupo de consumo de más de 26 cigarrillos diarios puesto que el número de pacientes correspondientes a esa franja era muy pequeño y por lo tanto, la interpretación de los datos podría ser errónea. Como puede observarse, no se encontraron diferencias significativas en la excreción urinaria de cotinina entre las franjas de consumo de cigarrillos estimadas (menor a 15 cigarrillos/día y 16 y 25 cigarrillos/día) (Figura 26).

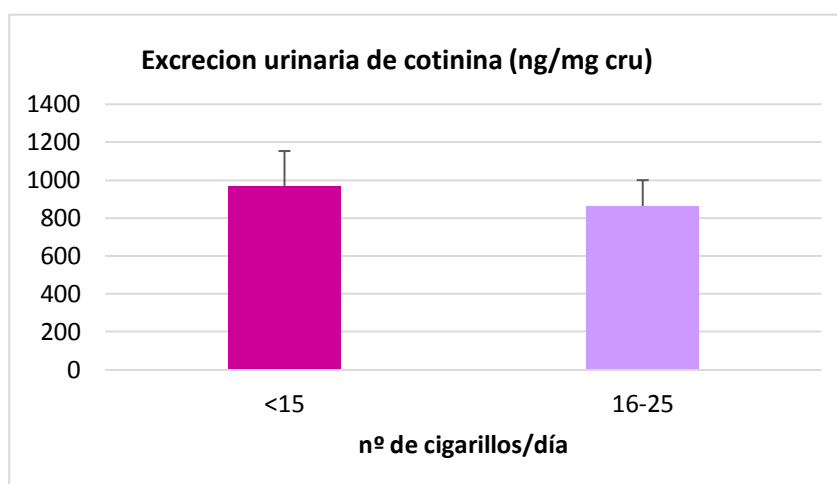


Figura 26. Excreción urinaria de cotinina expresada en ng/mg creatinina urinaria (cru) en el Grupo 3 (fumadores sin factores de riesgo). Datos agrupados en función del número de cigarrillos consumidos por día y expresados como media  $\pm$  EEM.

### 3.2. ADICIÓN A LA NICOTINA

Como se ha comentado previamente en el apartado de materiales y métodos, la puntuación obtenida en el Test de Fagerström indica el grado de dependencia a la nicotina. En concreto, se ha establecido que las puntuaciones menores o iguales a 4 corresponden a personas con poca adicción a la nicotina, de 5 a 6 a personas con

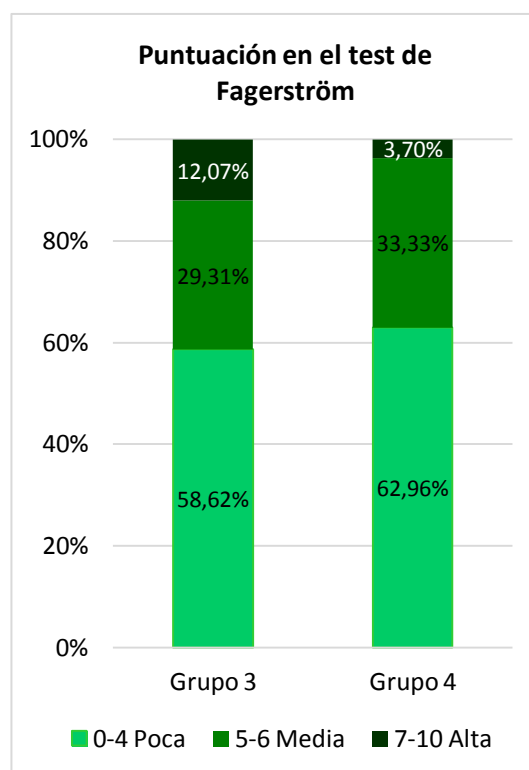
## RESULTADOS

dependencia media y aquellos cuya puntuación supera el 7 tienen una elevada dependencia. En este estudio la puntuación media obtenida en ambos grupos de fumadores (Grupos 3 y 4) se encontraba en el límite entre poca adicción y adicción media, ya que las puntuaciones superaban por décimas el valor 4 (Figura 27a).

El porcentaje de pacientes que correspondían a cada grado de adicción (baja, media o alta), según la puntuación del test, se encuentra representado en la figura 27b. La distribución es muy similar entre ambos grupos, la puntuación obtenida por la mayoría de los encuestados se encontraba entre 0-4, es decir poca adicción. Sin embargo, en el grupo de fumadores sin factores de riesgo (Grupo 3) se observó un mayor porcentaje de personas con adicción elevada (12%) que en el grupo de fumadores con factores de riesgo (Grupo 4) (4%). Esta información se encuentra más detallada en la figura 28, en la que se representa el número de personas que obtuvieron cada una de las puntuaciones en el test. Se puede apreciar que, a pesar de que la media de puntuación es igual en ambos grupos, la distribución de respuestas difiere. En el grupo 3 se distribuye más uniformemente, observándose mayor número de personas que obtienen puntuaciones medias (entre 3 y 6), mientras que en el grupo 4 la mayor parte de los encuestados obtuvo 4 puntos en el test.

Resultados Test de Fagerström		
	Media	EEM
Grupo 3	4,07	0,25
Grupo 4	4,26	0,31

Figura 27. Puntuación obtenida en el test de Fagerström. a) Puntuación media. Datos expresados como media  $\pm$  EEM. B) Distribución de pacientes según puntuación obtenida en el test, siendo los valores de 0 a 4 indicativos de poca adicción a la nicotina, los de 5 a 6, adicción media y los de entre 7 y 10, adicción alta. Datos expresados como porcentajes. Grupo 3: Fumadores sin factores de riesgo; Grupo 4: Fumadores con factores de riesgo.



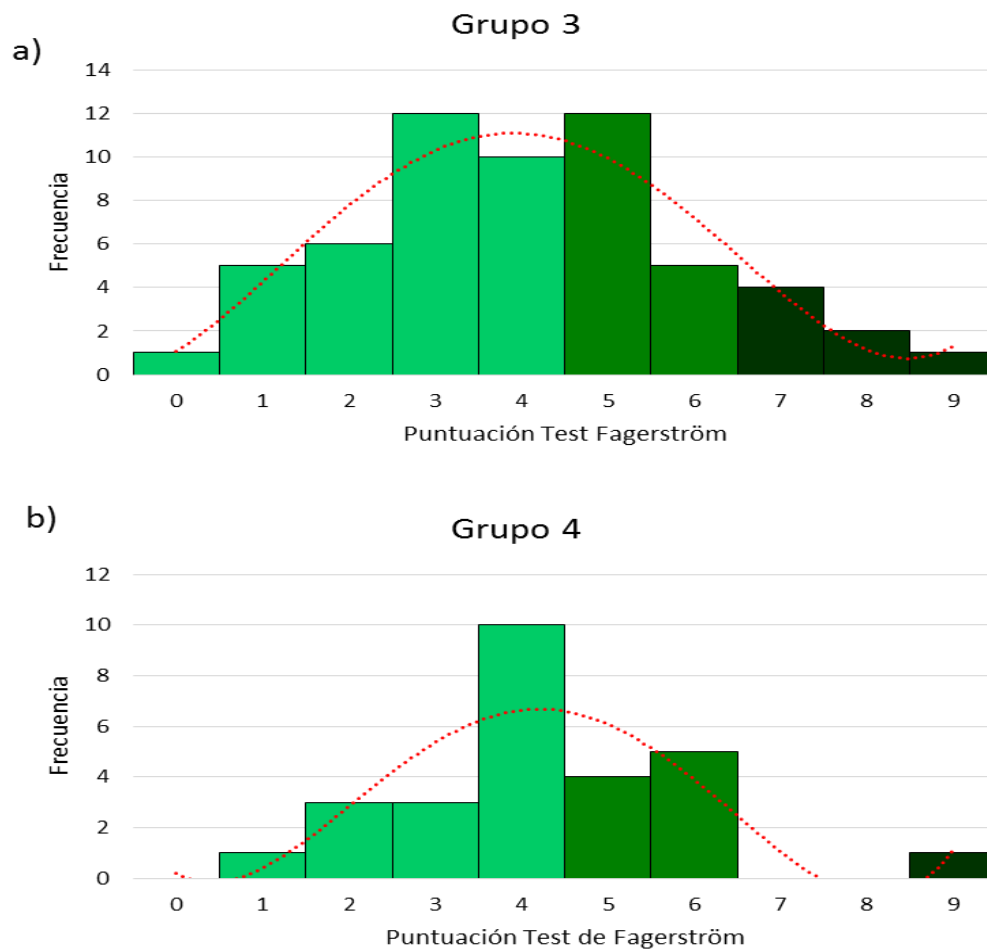


Figura 28. Puntuación obtenida en el test de Fagerström. Histograma de frecuencias. En el eje de ordenadas se representa el número de pacientes que obtiene cada una de las puntuaciones. a) Grupo 3: fumadores sin factores de riesgo. b) Grupo 4: fumadores con factores de riesgo.

#### 4. FACTORES DE RIESGO

Los pacientes que presentaban alguna de las siguientes situaciones se consideraron pacientes con factores de riesgo: Diabetes Mellitus, HTA y/o si consumían frecuentemente algún AINE.

La distribución de cada uno de estos factores en los grupos 2 y 4 (no fumadores y fumadores respectivamente), se muestra en la figura 29.

## RESULTADOS

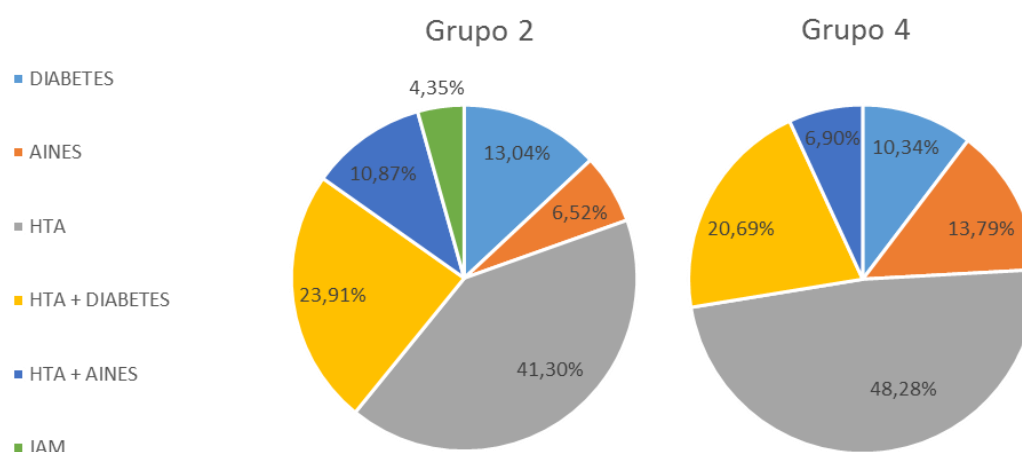


Figura 29. Factores de riesgo presentes en los grupos de pacientes 2 (no fumadores con factores de riesgo) y 4 (fumadores con factores de riesgo). Datos expresados en tanto por ciento. HTA significa hipertensión arterial; AINES significa antiinflamatorio no esteroideo; IAM significa infarto agudo de miocardio.

El factor de riesgo que sufrían la mayor parte de los pacientes de cada grupo fue la HTA, tanto sola como junto con otros factores de riesgo (diabetes o consumo de AINES). La suma de todos los pacientes que tenían HTA representó más del 75% en ambos grupos. En el grupo 2 la diabetes fue el segundo factor de riesgo con mayor prevalencia, seguido del consumo de AINES, además, en este grupo se incluyeron los pacientes que habían sufrido un infarto agudo de miocardio. En lo referente al grupo 4, el segundo factor de riesgo en porcentaje fue el consumo de AINES y en último lugar se encontraba la diabetes.

Como cada uno de los factores de riesgo se encuentra asociado a la prescripción de uno o varios fármacos, se recogió la información referente al consumo de éstos y se encuentra detallada en la tabla 7. Los medicamentos están ordenados dentro de cada factor de riesgo en función del consumo, de tal modo que el primero de la lista es el que utiliza un mayor número de pacientes mientras que el último es el menos consumido. Se ha de tener en cuenta que varios pacientes tenían varios factores de riesgo, lo que hace que necesiten más de un tratamiento farmacológico administrado simultáneamente en el tiempo. A este hecho se suma la politerapia que pueda

realizarse para el tratamiento de una sola patología como es el caso de la HTA. Las asociaciones de medicamentos observadas en estos grupos se muestran en la tabla 8.

Grupo 2	Grupo 4
<b>HTA</b>	
ARA II	
Olmesartán	Olmesartán
Valsartán	Valsartán
Telmisartán	Candesartán
IECA	
Ramipril	Enalapril
Lisinopril	Lisinopril
β-bloqueantes	
Nebivolol	Nebivolol
Antagonistas de calcio	
Amlodipino	
Diltiazem	
<b>Diabetes</b>	
Biguanidas	
Metformina	Metormina
Estatinas	
Atorvastatina	Pitavastatina
Sulfonilureas	
Glimeprida	Glimeprida
DPP-4	
Sitagliptina	
Dieta y ejercicio	
<b>AINES</b>	
Ibuprofeno	Ibuprofeno
AAS	Naproxeno
Celecoxib	AAS
Desketoprofeno	
Diclofenaco	

Tabla 7. Fármacos (por principio activo) consumidos por los pacientes de los grupos con factores de riesgo Grupo 2 (no fumadores) y Grupo 4 (fumadores). El orden de colocación establecido hace referencia al consumo, siendo el primero de cada tipo de fármacos el más consumido, el segundo el siguiente en consumo y así progresivamente. ARA II significa antagonistas de los receptores de Angiotensina II; IECA significa inhibidores de la enzima convertidora de Angiotensina; DPP-4 significa inhibidores de la dipeptil peptidasa; AINES significa antiinflamatorios no esteroideos; AAS significa ácido acecil salicílico.

<b>Grupo 2</b>
IECA + AINE IECA + Estatina ARA II + Diurético ARA II + Biguanida ARA II + Diurético + Biguanida Antagonista de calcio + Diurético Antagonista de calcio + ARA II + AINE AINE + Diurético
<b>Grupo 4</b>
IECA + AINE IECA + Biguanida IECA + ARA II + Biguanida ARA II + Biguanida + DPP-4 ARA II + AINE

Tabla 8. Asociaciones medicamentosas observadas en los grupos con factores de riesgo Grupo 2 (no fumadores) y Grupo 4 (fumadores). IECA significa inhibidores de la enzima convertidora de Angiotensina; AINES significa antiinflamatorios no esteroideos; ARA II significa antagonistas de los receptores de Angiotensina II; DPP-4 significa inhibidores de la dipeptil peptidasa.

## 5. DIAGNÓSTICO CONVENCIONAL DEL DAÑO RENAL

Se realizó una primera evaluación de la función renal, mediante el uso de marcadores habituales en la clínica que fueron: la creatinina plasmática, la estimación de la TFG mediante el uso de las fórmulas C-G y MDRD, la urea plasmática, la proteinuria, la albuminuria y la glucosuria. En todos estos parámetros se calculó la media y sus valores se representaron gráficamente. Además, con los valores de los marcadores urinarios del grupo 3 (fumadores sin factores de riesgo), se realizaron varios cálculos que permitían la asociación de la excreción del marcador con el consumo de tabaco. En primer lugar, se hizo una correlación entre la excreción urinaria de cada uno de los marcadores y la excreción urinaria de cotinina por cada paciente. En segundo lugar se establecieron tres grupos en función de la excreción urinaria de cotinina y se calculó la media de excreción de biomarcador en cada uno de estos grupos:

- < 500 ng/mg cr: poca excreción de cotinina
- 501-1500 ng/mg cr: excreción intermedia
- >1501 ng/mg cr: mucha excreción urinaria de cotinina



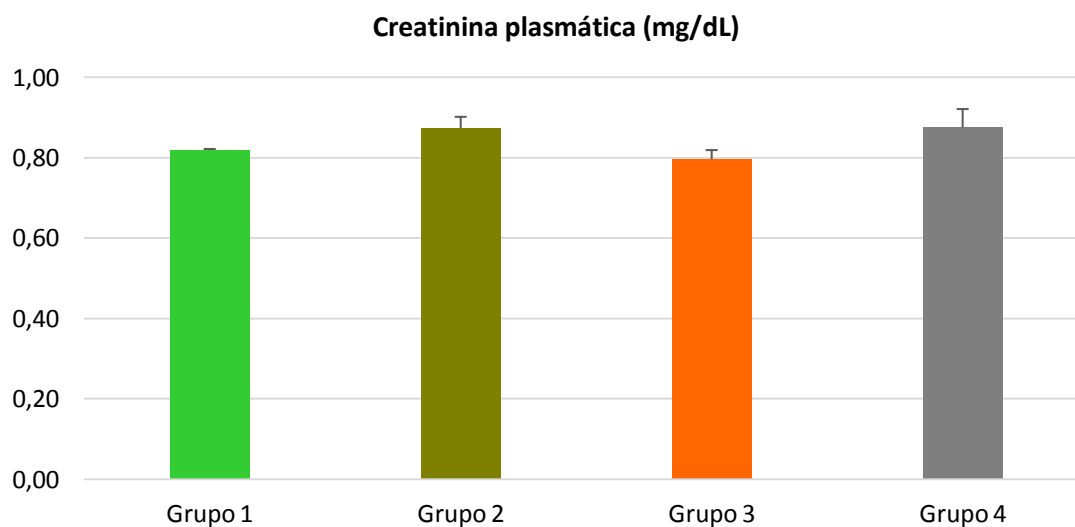
Por último, se realizó una segunda agrupación en función del consumo diario de cigarrillos:

- <15 cigarrillos/día
- 16-25 cigarrillos/día
- >26 cigarrillos/día

Debido a que en el grupo de mayor consumo solamente había dos pacientes, los valores no se representaron para evitar errores en la interpretación de los mismos.

### 5.1. CREATININA PLASMÁTICA

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los cuatro grupos. A pesar de esto, en la figura 30 se puede observar como los valores de creatinina plasmática en los grupos con factores de riesgo (Grupos 2 y 4) fueron ligeramente superiores a los que no tenían factores de riesgo (Grupos 1 y 3).

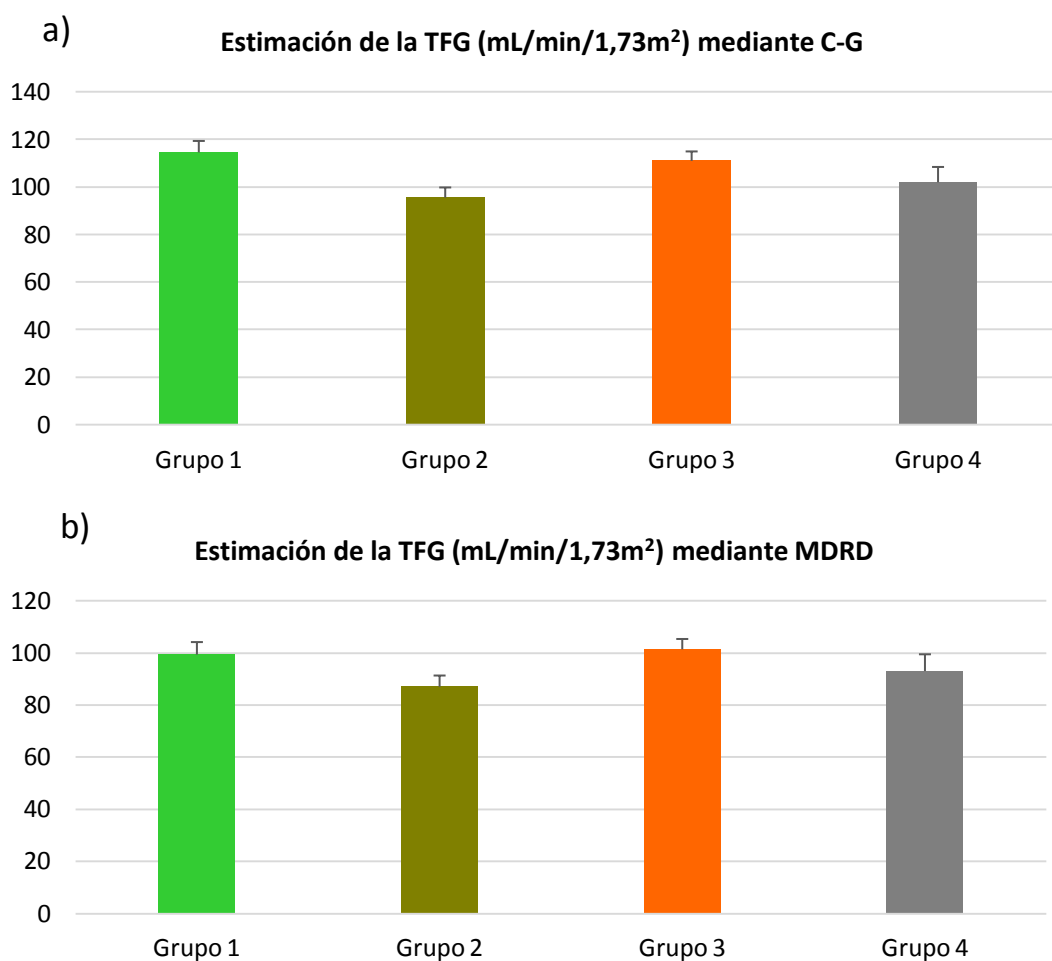


Consumo de tabaco	NO	NO	SI	SI
Factores de riesgo	NO	SI	NO	SI

Figura 30. Concentración plasmática de creatinina, expresada en mg/dL, en los cuatro grupos de estudio. Datos expresados como media  $\pm$  EEM.

5.2. CÁLCULO DE LA TFG

Mediante el uso de las fórmulas C-G y MDRD se evaluó la filtración glomerular. Este parámetro reconfirmó la ausencia de daño glomerular ya que los valores siguieron la misma tendencia que los observados para la creatinina plasmática, aunque a la inversa, es decir, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ninguno de los grupos, pero en los pacientes que tenían factores de riesgo los valores de TFG, calculados mediante ambas fórmulas, fueron sutilmente menores (Figura 31).

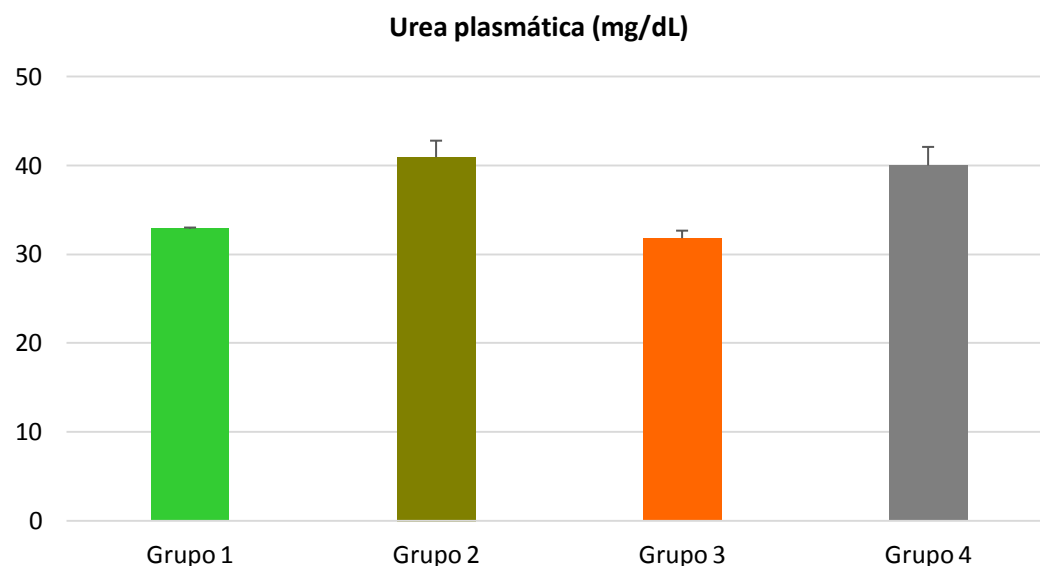


Consumo de tabaco	NO	NO	SI	SI
Factores de riesgo	NO	SI	NO	SI

Figura 31. Estimación de la tasa de filtración glomerular (TFG), expresados en mL por minuto por una estatura media de 1,73 m<sup>2</sup>, mediante las fórmulas de a) Crockoft-Gault (C-G) y b) *Modification Diet in Renal Disease* (MDRD). Datos expresados como media ± EEM.

### 5.3. UREA PLASMÁTICA

Este marcador nos vuelve a confirmar los resultados descritos anteriormente, y al igual que sucedía con la creatinina plasmática, no se observaron diferencias significativas, pero sí valores mayores en los grupos 2 y 4 (Figura 32).



Consumo de tabaco	NO	NO	SI	SI
Factores de riesgo	NO	SI	NO	SI

Figura 32. Concentración plasmática de urea, expresada en mg/dL, en los cuatro grupos de estudio. Datos expresados como media  $\pm$  EEM.

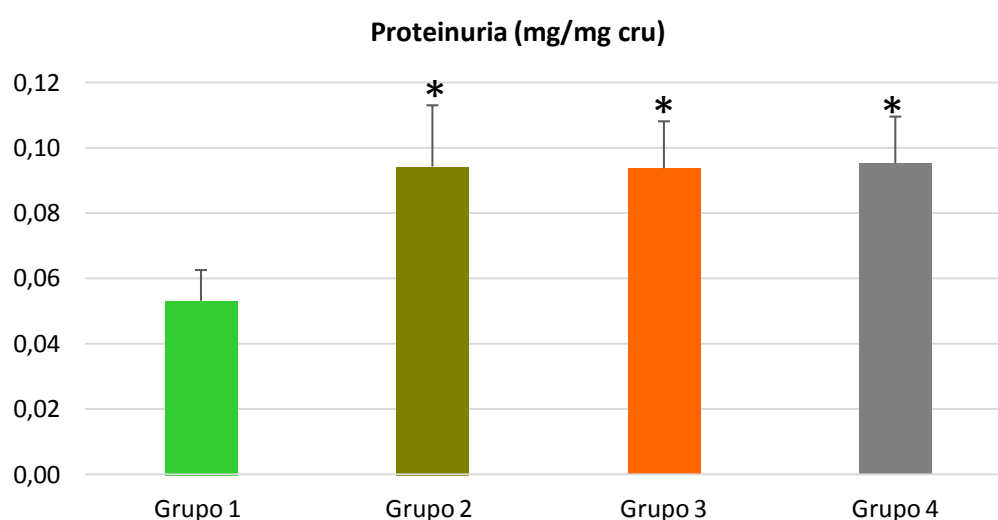
### 5.4. PROTEINURIA

La excreción urinaria de proteínas fue estadísticamente diferente entre el grupo 1 y el resto de grupos. Sin embargo, no se encontraron diferencias entre los grupos 2, 3 y 4 (Figura 33).

Con los valores obtenidos del grupo 3, se realizó una correlación entre la excreción urinaria de cotinina y de proteínas. Esta correlación presentó significación bilateral, es decir, existe una asociación directa entre el hecho de fumar más cantidad de tabaco (mayor cotinina urinaria) y tener mayor proteinuria (Figura 34). Datos que se corroboran cuando se calcularon las medias de excreción urinaria de proteínas, agrupadas por nivel de cotinina urinaria (Figura 35a). Como se puede observar, en el

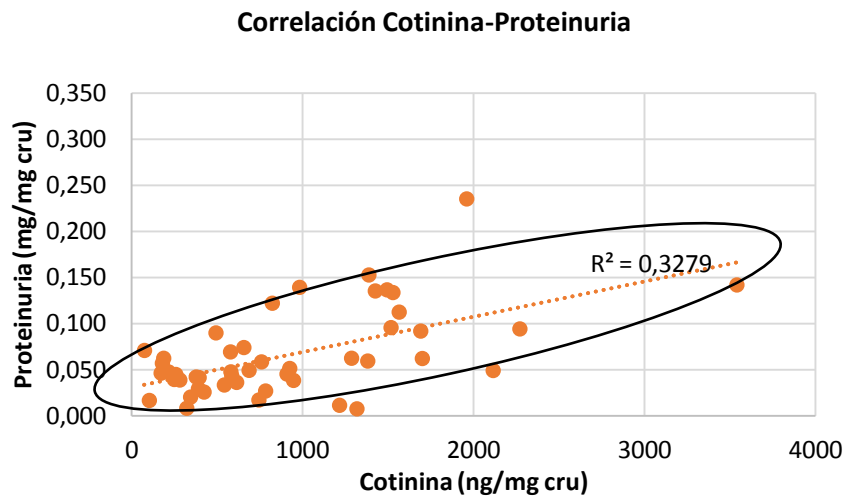
## RESULTADOS

grupo de pacientes cuya cotinina era superior a 1501 ng/mg cru la proteinuria es superior que en los otros dos, e incluso presenta diferencias estadísticamente significativas con los pacientes cuya creatinina es menor a 500 ng/mg cru. Cundo los datos de proteinuria se asocian en función del número de cigarrillos consumidos por día (Figura 35b), también se aprecia cómo los pacientes que fuman más (entre 16 y 25 cigarrillos) excretan mayores cantidades de proteinuria, pero en este caso la diferencia es menor y no es significativa.



Consumo de tabaco	NO	NO	SI	SI
Factores de riesgo	NO	SI	NO	SI

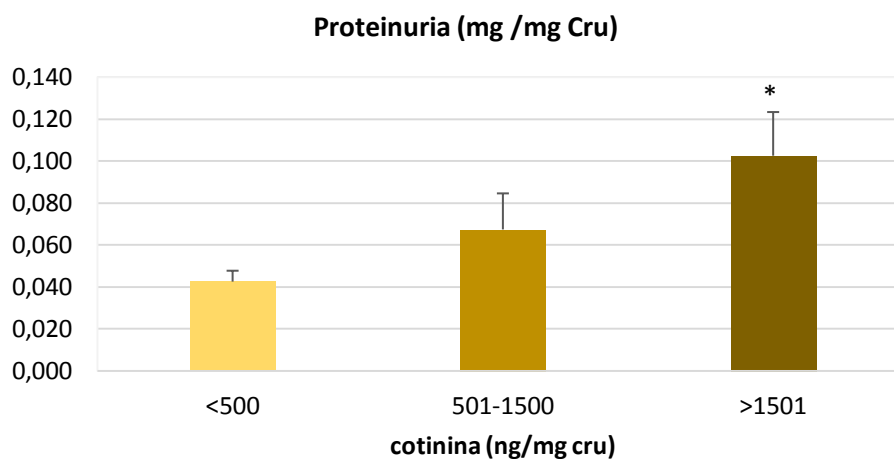
Figura 33. Proteinuria expresada en mg/mg cru. En los cuatro grupos de estudio. Cru significa creatinina urinaria. Datos expresados como media  $\pm$  EEM. Diferencias estadísticamente significativas \*  $p < 0,05$  vs grupo 1, según el test de Scheffé.



Correlaciones		cotinina	proteinuria
cotinina	Correlación de Pearson	1	,433**
	Sig. (bilateral)		,002
	N	49	48

Figura 34. Proteinuria en el grupo 3. Correlación estadística entre la excreción urinaria de cotinina, expresada en ng/mg cru, y la proteinuria, expresada en mg/mg cru. También se muestra la tabla con los valores estadísticos obtenidos, donde \*\* significa que la correlación es significativa en nivel <0,01 (bilateral) según el test de Pearson.

a)



b)

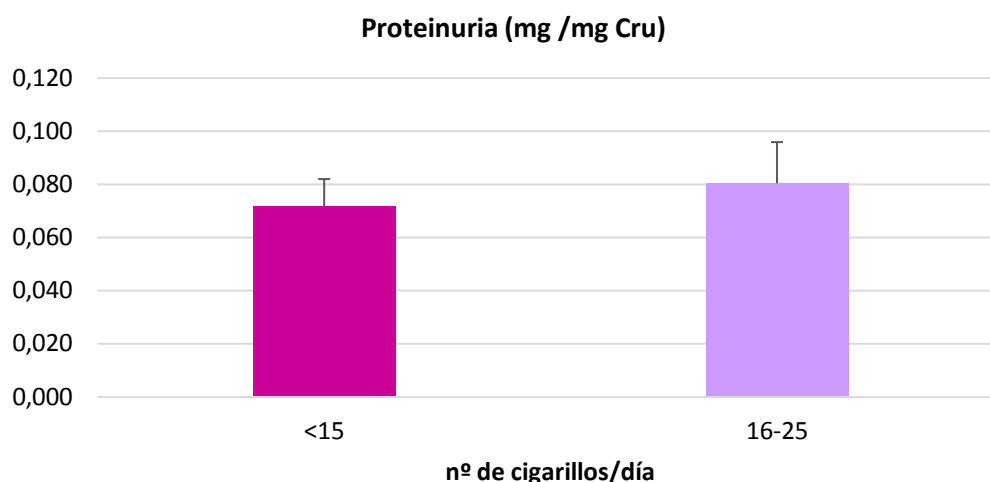


Figura 35. Proteinuria tras agrupar los datos por a) cantidad de cotinina excretada (ng/mg cru) o b) número de cigarrillos consumidos diariamente. Valores de proteinuria representados como mg/mg cru. Cru significa creatinina urinaria. Datos expresados como medias  $\pm$  EEM. Diferencias estadísticamente significativas \*  $p < 0,05$  vs  $< 500$ , según el test de Scheffé.

Por último, como los valores de proteinuria en el grupo 3 (fumadores sin factores de riesgo) parecen tener una asociación con el consumo de tabaco, se procedió a realizar un análisis de frecuencias mediante tablas de contingencia. Para ello los datos se agruparon, por un lado, como fumadores o no fumadores y por otro, según grupo de estudio. En el primer caso, se observó que el hecho de no fumar se asociaba con una menor excreción urinaria de proteínas, ya que el recuento observado (93) en el percentil  $< 70$  fue superior al esperado (84,8). Este resultado fue estadísticamente significativo como se muestra en la figura 36. Además, el hecho de fumar se asociaba con una mayor proteinuria, pues el recuento observado (34) en el percentil  $> 70$  fue superior al esperado (25,8). Cuando el análisis se realizó por grupo de estudio (Figura 37), los resultados indicaban que el hecho de ser no fumador sin factores de riesgo (Grupo 1) se asociaba con menor proteinuria, o lo que es lo mismo, que los pacientes sanos tienen menos probabilidad de tener alterado este marcador. Esta conclusión se hace tras observar los datos de la tabla de contingencia en la que se puede apreciar como el valor observado (69) del percentil  $< 70$  en el grupo 1 es muy superior al esperado (57,4). También podemos ver como en el caso contrario, fumadores con factores de riesgo (Grupo 4) los resultados son los opuestos, es decir, hay mayor

recuento observado (14) en el percentil >70p que el esperado (8,1). Lo que asocia a estos pacientes con mayor probabilidad a tener niveles elevados de proteínas en orina.

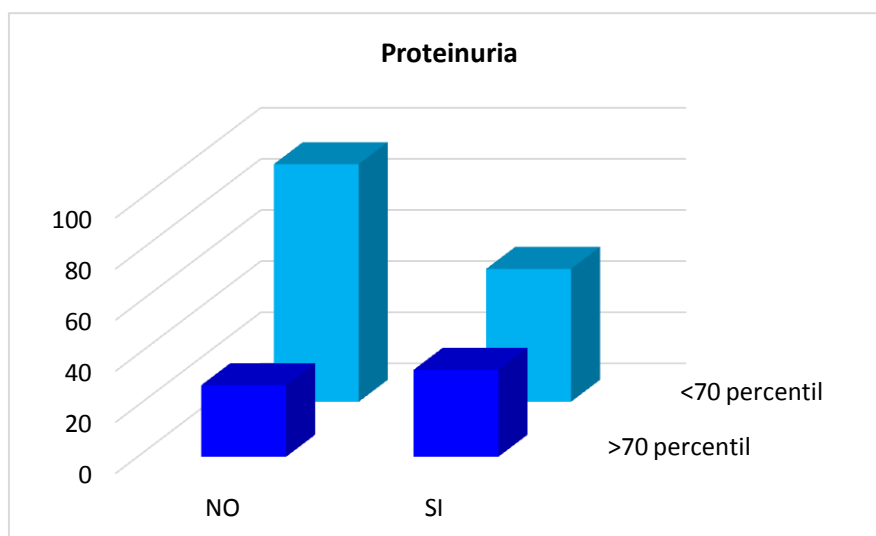
a)

**Pruebas de  $\chi^2$  de Pearson**

	Valor	gl	Significación asintótica (bilateral)	Significación exacta (bilateral)	Significación exacta (unilateral)
Chi-cuadrado ( $\chi^2$ ) de Pearson	6,440 <sup>a</sup>	1	,011		
Corrección de continuidad <sup>a</sup>	5,682	1	,017		
Razón de verosimilitud	6,388	1	,011		
Prueba exacta de Fisher				,014	,009
N de casos válidos	207				

a. Sólo se ha calculado para una tabla 2x2

b)



## RESULTADOS

c)

Tabla cruzada Fumador*Proteinuria70percentil					
			Proteinuria70p		Total
			>70 percentil	<70 percentil	
Fumador	NO	Recuento	28	93	121
		Recuento esperado	36,2	84,8	121
	SI	Recuento	34	52	86
		Recuento esperado	25,8	60,2	86

Figura 36. Proteinuria analizada mediante tablas de contingencia (percentil 70), los valores se agruparon en función de si el paciente no era fumador (NO) o sí era fumador (SI). a) Prueba estadística del  $\chi^2$ . b) Representación gráfica de los valores obtenidos (recuento) en la tabla de contingencia. c) Tabla de contingencia con los valores cruzados de proteinuria en el grupo de no fumadores (NO) y fumadores (SI).

a)

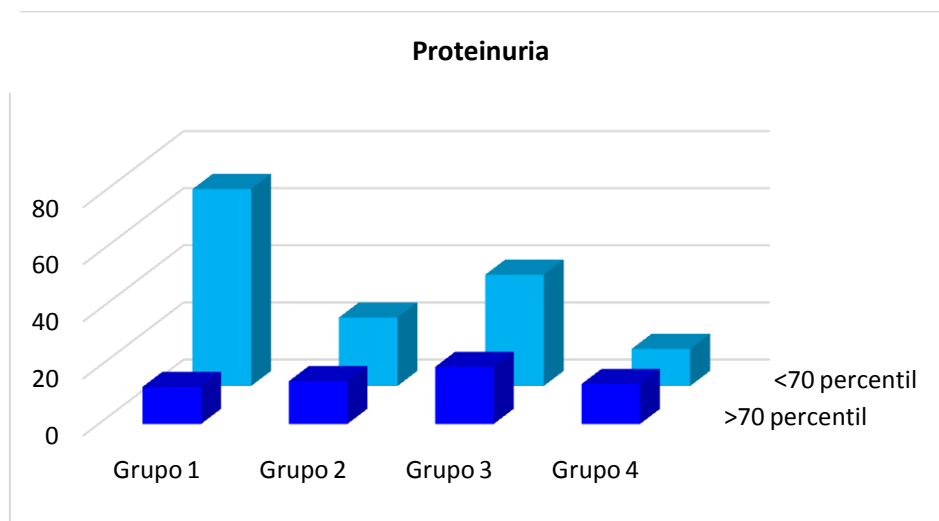
### Pruebas de $\chi^2$ de Pearson

	Valor	gl	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado ( $\chi^2$ ) de Pearson	15,724 <sup>a</sup>	3	,001
Razón de verosimilitud	16,097	3	,001
N de casos válidos	207		

a. 0 casillas (0,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 8,09.



b)



c)

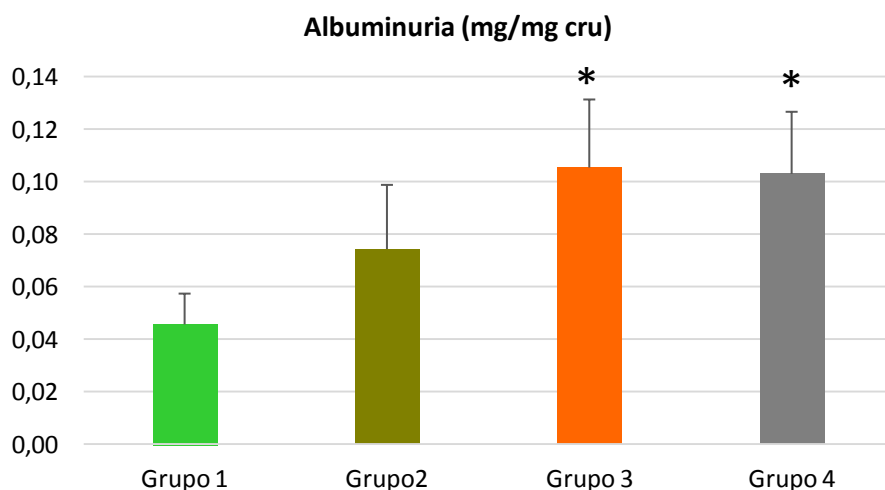
		Proteinuria70p		Total
		>70 percentil	<70 percentil	
Grupo 1	Recuento	13	69	82
	Recuento esperado	24,6	57,4	82
Grupo 2	Recuento	15	24	39
	Recuento esperado	11,7	27,3	39
Grupo 3	Recuento	20	39	59
	Recuento esperado	17,7	41,3	59
Grupo 4	Recuento	14	13	27
	Recuento esperado	8,1	18,9	27

Figura 37. Proteinuria analizada mediante tablas de contingencia (percentil 70), los valores se analizaron en función del grupo de estudio. Grupo 1, no fumador sin factores de riesgo; Grupo 2, no fumador con factores de riesgo; Grupo 3 fumador sin factores de riesgo; Grupo 4, fumador con factores de riesgo. a) Prueba estadística del chi-cuadrado. b) Representación gráfica de los valores obtenidos en la tabla de contingencia. c) Tabla de contingencia con los valores cruzados de proteinuria en cada grupo de estudio.

## RESULTADOS

### 5.5. ALBUMINURIA

La albúmina urinaria también presentó diferencias estadísticamente significativas, pero en este caso solamente entre el grupo 1 y los grupos de fumadores 3 y 4 (Figura 38).



Consumo de tabaco	NO	NO	SI	SI
Factores de riesgo	NO	SI	NO	SI

Figura 38. Albuminuria expresada en mg/mg cru. En los cuatro grupos de estudio. Cru significa creatinina urinaria. Datos expresados como media  $\pm$  EEM. Diferencias estadísticamente significativas \*  $p < 0,05$  vs grupo 1, según el test de Scheffé.

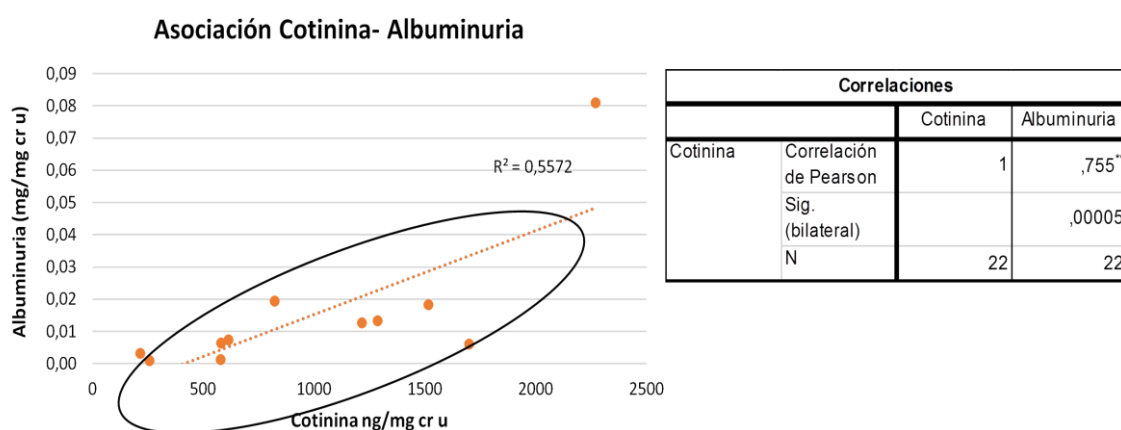


Figura 39. Albuminuria en el grupo 3. Correlación estadística entre la excreción urinaria de cotinina, expresada en ng/mg cru, y de albúmina, expresada en mg/mg cru. También se muestra la tabla con los valores estadísticos obtenidos, donde \*\* significa que la correlación es significativa en nivel  $< 0,01$  (bilateral) según el test de Pearson.

De nuevo, con los valores obtenidos del grupo 3, se realizó una correlación entre la excreción urinaria de cotinina y de albúmina. Esta correlación también presentó significación bilateral, es decir, a mayor consumo de tabaco, mayor albuminuria (Figura 39). Tras calcular las medias de albuminuria agrupadas por nivel de cotinina urinaria (Figura 40a), este resultado se confirmó de nuevo. Como se puede observar, en el grupo de pacientes cuya cotinina era superior a 1501 ng/mg cru, la proteinuria es superior que en los otros dos, pero en este caso no se observaron diferencias estadísticamente significativas. Sin embargo, estos resultados no son tan evidentes cuando la agrupación se hace por unidades de tabaco consumidas (Figura 40b). No hay diferencia entre los fumadores de menor o mayor número de cigarrillos, aunque se puede apreciar sutilmente un valor superior en los consumidores de entre 16-25 cigarrillos diarios.

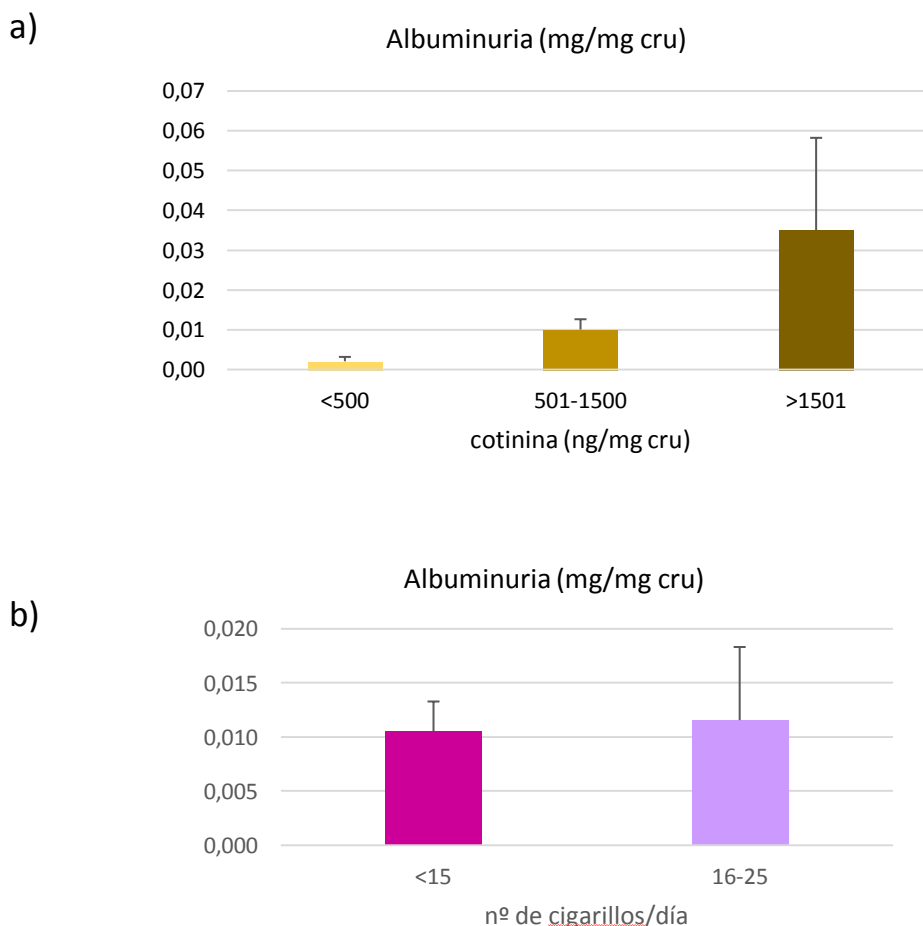


Figura 40. Albuminuria tras agrupar los datos por a) cantidad de cotinina excretada (ng/mg cru) o b) número de cigarrillos consumidos diariamente. Valores de albuminuria representados como mg/mg cru. Cru significa creatinina urinaria. Datos expresados como medias  $\pm$  EEM.

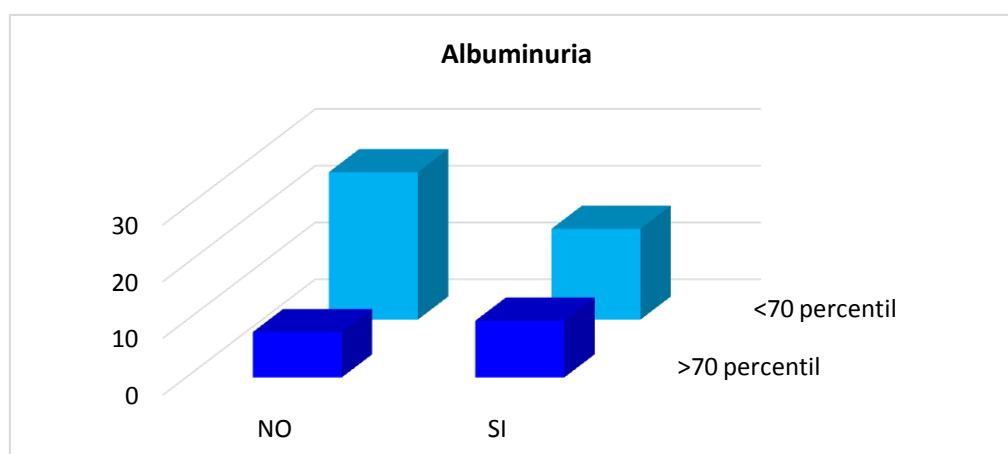
## RESULTADOS

### a) Pruebas de $\chi^2$ de Pearson

	Valor	gl	Significación asintótica (bilateral)	Significación exacta (bilateral)	Significación exacta (unilateral)
Chi-cuadrado ( $\chi^2$ ) de Pearson	1,564 <sup>a</sup>	1	,211		
Corrección de continuidad <sup>b</sup>	,934	1	,334		
Razón de verosimilitud	1,557	1	,212		
Prueba exacta de Fisher				,261	,167
N de casos válidos	60				

a. 0 casillas (0,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 7,80. b. Sólo se ha calculado para una tabla 2x2

### b)



### c)

Tabla cruzada Fumador*alb70p					
			alb70p		Total
			>70 percentil	<70 percentil	
Fumador	NO	Recuento	8	26	34
		Recuento esperado	10,2	23,8	34
	SI	Recuento	10	16	26
		Recuento esperado	7,8	18,2	26
Residuo			2,2	-2,2	

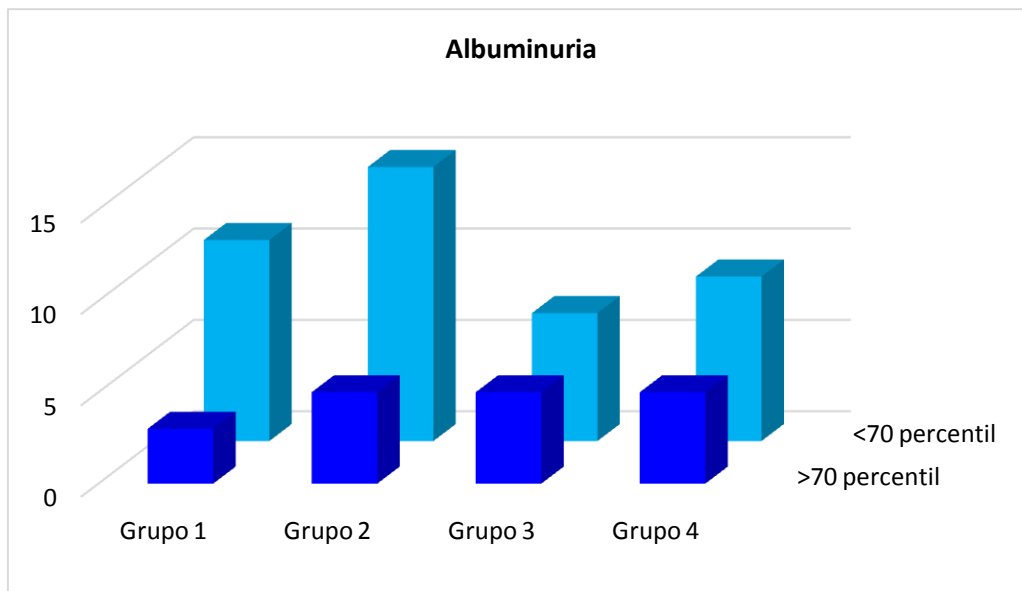
Figura 41. Albuminuria analizada mediante tablas de contingencia (percentil 70), los valores se agruparon en función de si el paciente no era fumador (NO) o sí era fumador (SI). a) Prueba estadística del chi-cuadrado ( $\chi^2$ ). b) Representación gráfica de los valores obtenidos (recuento) en la tabla de contingencia. c) Tabla de contingencia con los valores cruzados de albuminuria en el grupo de no fumadores (NO) y fumadores (SI).

a) **Pruebas de  $\chi^2$  de Pearson**

	Valor	gl	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado ( $\chi^2$ ) de Pearson	1,723 <sup>a</sup>	3	,632
Razón de verosimilitud	1,712	3	,634
N de casos válidos	60		

a. 3 casillas (37,5%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 3,60.

b)



c)

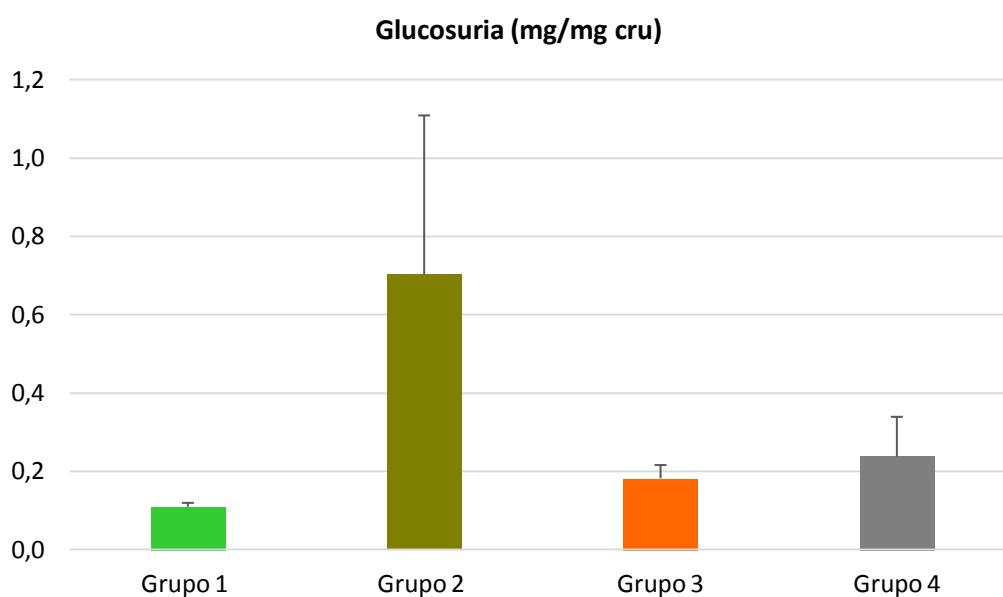
Tabla cruzada Fumador FR*alb70p				
		alb70p		Total
		>70 percentil	<70 percentil	
Grupo 1	Recuento	3	11	14
	Recuento esperado	4,2	9,8	14
Grupo 2	Recuento	5	15	20
	Recuento esperado	6	14	20
Grupo 3	Recuento	5	7	12
	Recuento esperado	3,6	8,4	12
Grupo 4	Recuento	5	9	14
	Recuento esperado	4,2	9,8	14
	Residuo	,8	-,8	

Figura 42. Albuminuria analizada mediante tablas de contingencia (percentil 70), los valores se analizaron en función del grupo de estudio. Grupo 1, no fumador sin factores de riesgo; Grupo 2, no fumador con factores de riesgo; Grupo 3, fumador sin factores de riesgo; Grupo 4, fumador con factores de riesgo. a) Prueba estadística del chi-cuadrado ( $\chi^2$ ). b) Representación gráfica de los valores obtenidos (recuento) en la tabla de contingencia. c) Tabla de contingencia con los valores cruzados de proteinuria en cada grupo de estudio.

Los valores de albuminuria en el grupo 3 (fumadores sin factores de riesgo) se relacionan con el consumo de tabaco por lo que se hizo un análisis de frecuencias mediante tablas de contingencia. Los datos se agruparon del mismo modo que para la proteinuria. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en ningún estudio (Figuras 41a y 42a). Los datos analizados en función de si los pacientes fumaban o no (Figura 41) mostraron un recuento observado similar al esperado. Lo mismo sucedió cuando la agrupación se realizó por grupo de estudio (Figura 42).

### 5.6. GLUCOSURIA

La excreción urinaria de glucosa no presentó diferencias significativas entre ninguno de los grupos (Figura 43). En el grupo de pacientes no fumadores con factores de riesgo (Grupo 2), los valores de este marcador fueron muy superiores al resto de pacientes, sin embargo, las diferencias encontradas en los valores de glucosuria en este grupo también son muy notables, como indica el EEM.



Consumo de tabaco	NO	NO	SI	SI
Factores de riesgo	NO	SI	NO	SI

Figura 43. Glucosuria expresada en mg/mg cru, en los cuatro grupos de estudio. Cru significa creatinina urinaria. Datos expresados como media  $\pm$  EEM.

Se realizó la correlación estadística entre la cotinina urinaria y la glucosuria. En este caso aparecen representados un menor número de pacientes debido a que varios presentaron valores menores al límite de detección de la técnica por lo que no pudieron incluirse en este gráfico. No se observó asociación entre la excreción de glucosa y el consumo de tabaco medido a través de la excreción urinaria de cotinina (Figura 44). Tampoco se observó ninguna relación cuando los datos se agruparon por niveles de cotinina (Figura 45a) o consumo diario de tabaco (45b).

## RESULTADOS

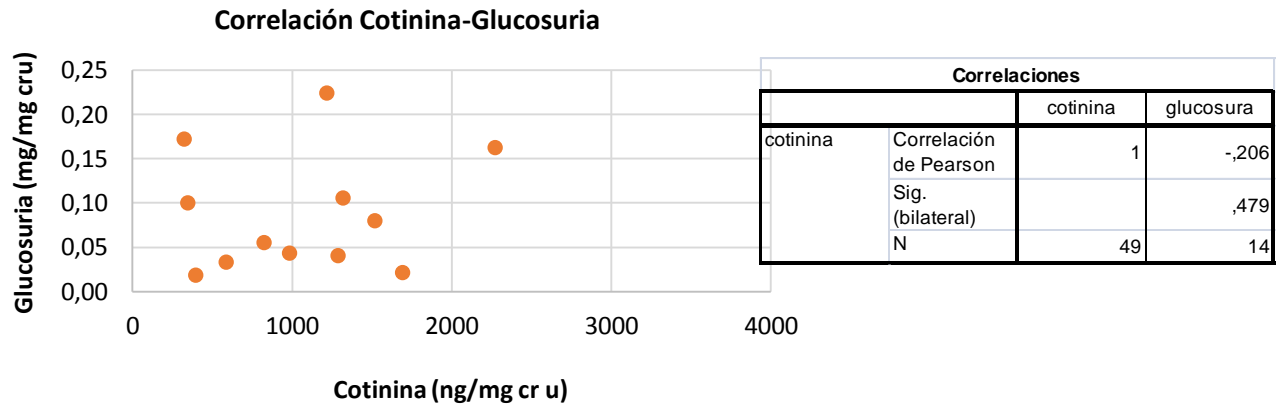


Figura 44. Glucosuria en el grupo 3. Correlación estadística entre la excreción urinaria de cotinina, expresada en ng/mg cru, y de albúmina, expresada en mg/mg cru. También se muestra la tabla con los valores estadísticos obtenidos.

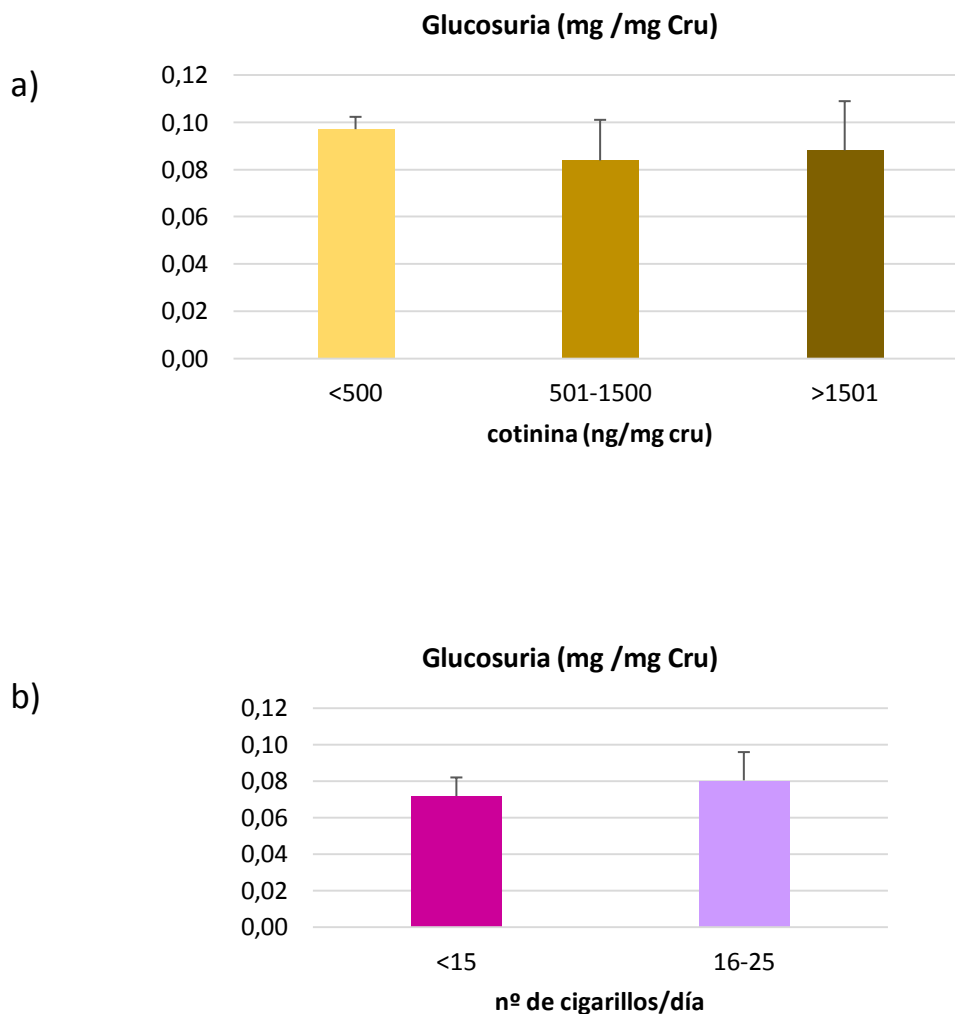


Figura 45. Albuminuria tras agrupar los datos por a) cantidad de cotinina excretada (ng/mg cru) o b) número de cigarrillos consumidos diariamente. Valores de proteinuria representados como mg/mg cru. Cru significa creatinina urinaria. Datos expresados como medias  $\pm$  EEM.

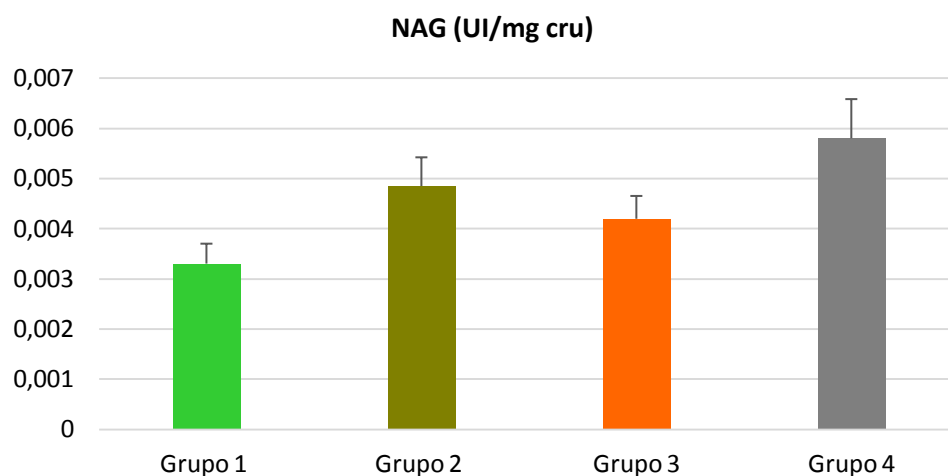


## 6. BIOMARCADORES TEMPRANOS DE DAÑO RENAL

Con el fin de evaluar la función renal más exhaustivamente, se utilizaron una serie de marcadores tempranos que no se utilizan comúnmente en la práctica clínica. Estos biomarcadores fueron: la NAG, la NGAL y el KIM-1.

### 6.1. N-ACETYL-D-GUCOSAMINIDASA (NAG)

La actividad de la enzima urinaria NAG no fue significativamente diferente entre ninguno de los grupos (Figura 46).



Consumo de tabaco	NO	NO	SI	SI
Factores de riesgo	NO	SI	NO	SI

Figura 46. NAG expresada como UI/ mg cru, en los cuatro grupos de estudio. UI significa unidades internacionales; cru significa creatinina urinaria. Datos expresados como media  $\pm$  EEM.

## RESULTADOS

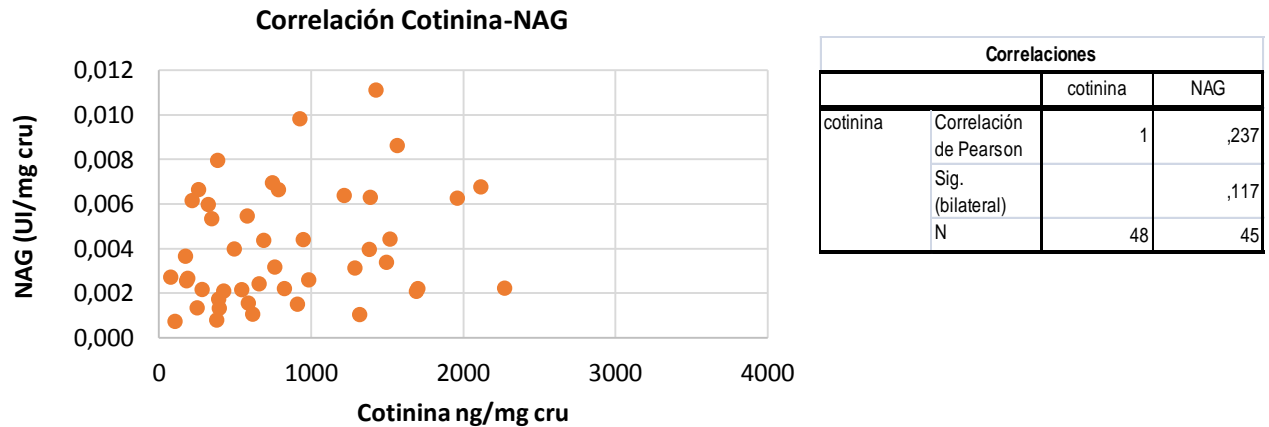
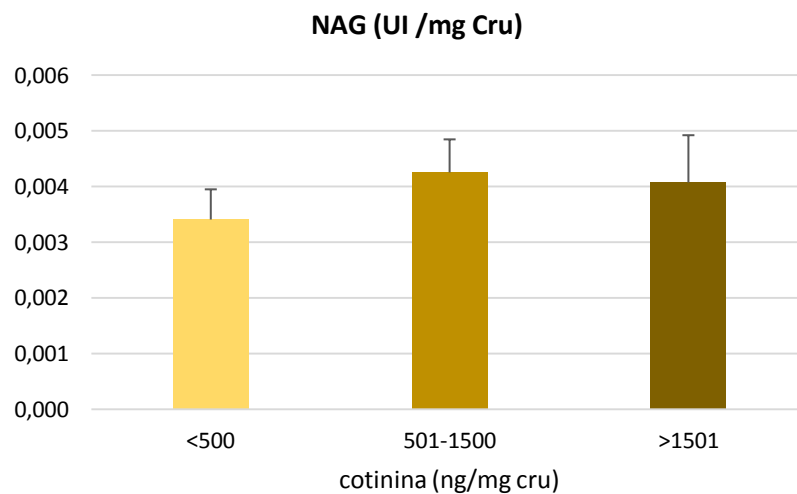


Figura 47. Actividad urinaria de la enzima N-acetil-D-glucosaminidasa (NAG) en el grupo 3. Correlación estadística entre la excreción urinaria de cotinina, expresada en ng/mg cru, y la actividad urinaria de NAG, expresada en UI/mg cru. También se muestra la tabla con los valores estadísticos obtenidos. UI significa unidades internacionales; cru significa creatinina urinaria.

El estudio estadístico de correlación entre la cotinina urinaria y la NAG con los datos de los pacientes del grupo 3 no presentó significación (Figura 47). Tampoco se observó ninguna relación cuando los datos se agruparon por niveles de cotinina (Figura 48a) o consumo diario de tabaco (48b).

a)



b)

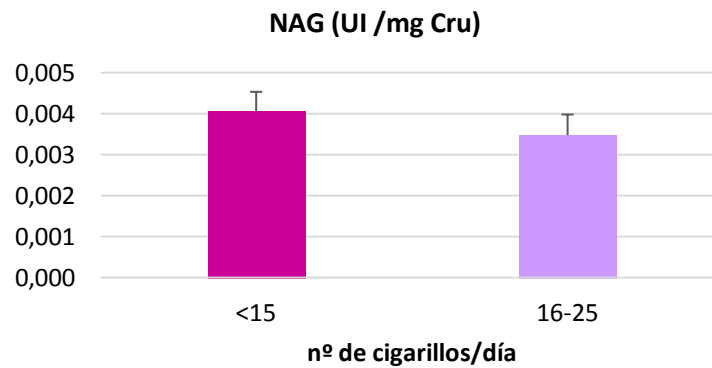
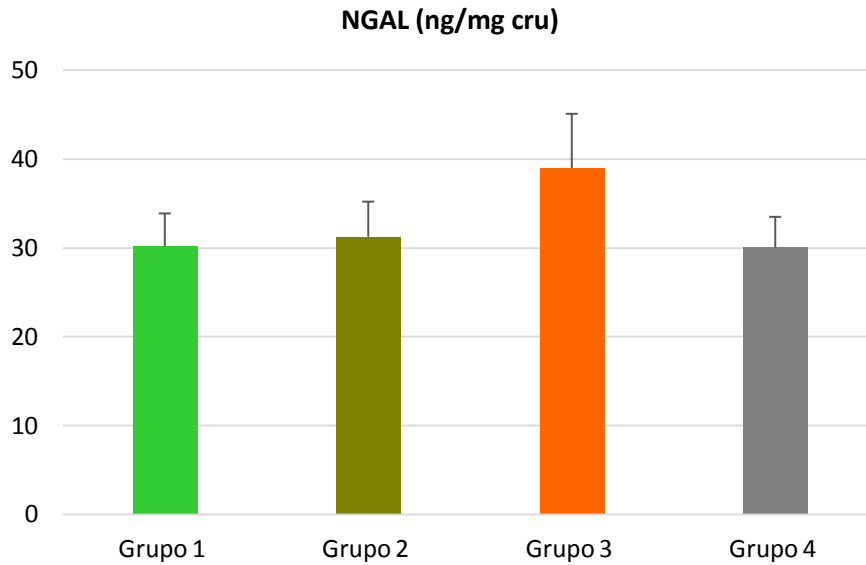


Figura 48. Actividad urinaria de la enzima N-acetil-D-glucosaminidasa (NAG) tras agrupar los datos por a) cantidad de cotinina excretada (ng/mg cru) o b) número de cigarrillos consumidos diariamente. Valores de NAG representados como UI/mg cru. UI significa unidades internacionales; cru significa creatinina urinaria. Datos expresados como medias  $\pm$  EEM.

## 6.2. LIPOCALINA ASOCIADA A GELATINASA DE NEUTRÓFILOS (NGAL)

No se observaron diferencias significativas en la excreción de este marcador en ninguno de los grupos evaluados (Figura 49). Tampoco se observó correlación entre la excreción de este biomarcador y la excreción urinaria de cotinina (Figura 50). Sin embargo, cuando los datos de NGAL se agruparon por niveles de excreción urinaria de cotinina (Figura 50a) o de consumo diario de cigarrillos (Figura 50b) se observó una tendencia al incremento de la excreción de NGAL a medida que incrementaba el consumo de tabaco.

## RESULTADOS



Consumo de tabaco	NO	NO	SI	SI
Factores de riesgo	NO	SI	NO	SI

Figura 49. Excreción urinaria de lipocalina asociada a gelatinasa de neutrófilos (NGAL), expresada en ng/mg cru, en los cuatro grupos de estudio. Cru significa creatinina urinaria. Datos expresados como media  $\pm$  EEM.

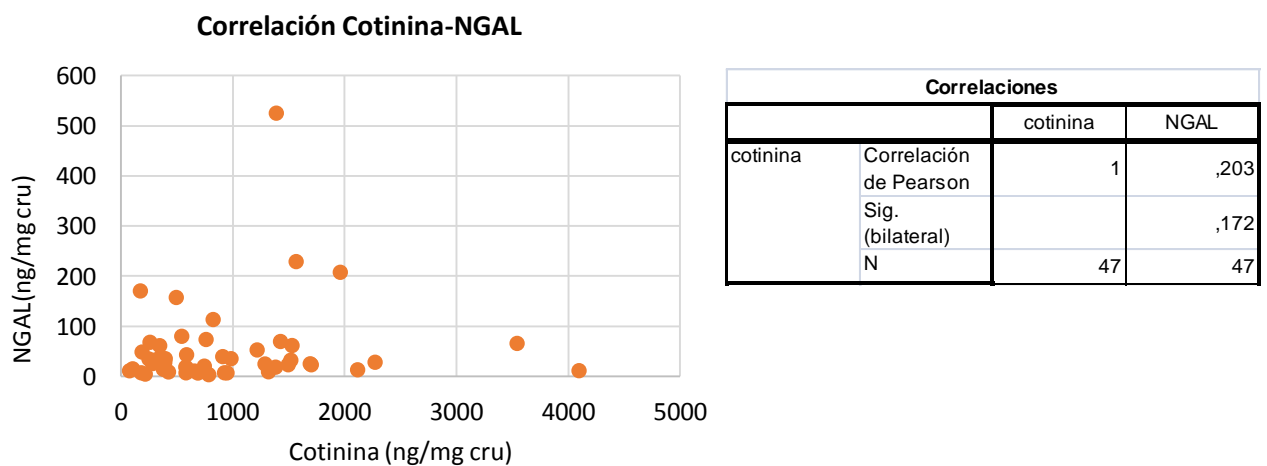
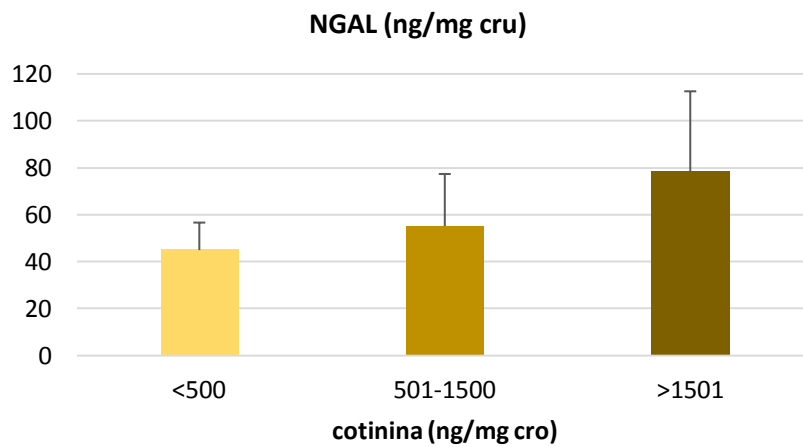


Figura 50. Lipocalina asociada a gelatinasa de neutrófilos (NGAL), en el grupo 3. Correlación estadística entre la excreción urinaria de cotinina, expresada en ng/mg cru, y de NGAL, expresado en ng/mg cru. También se muestra la tabla con los valores estadísticos obtenidos. Cru significa creatinina urinaria.

a)



b)

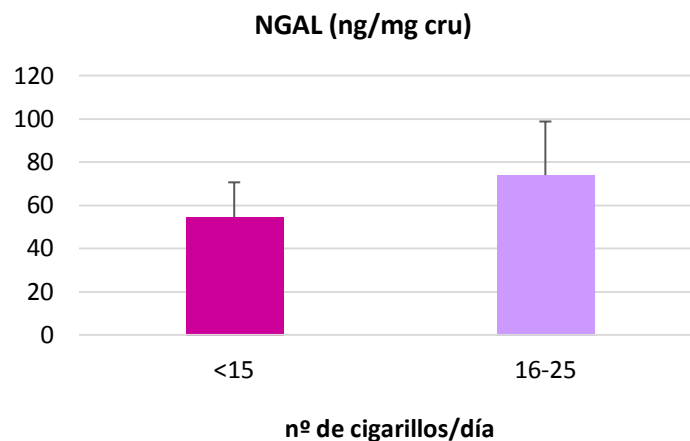


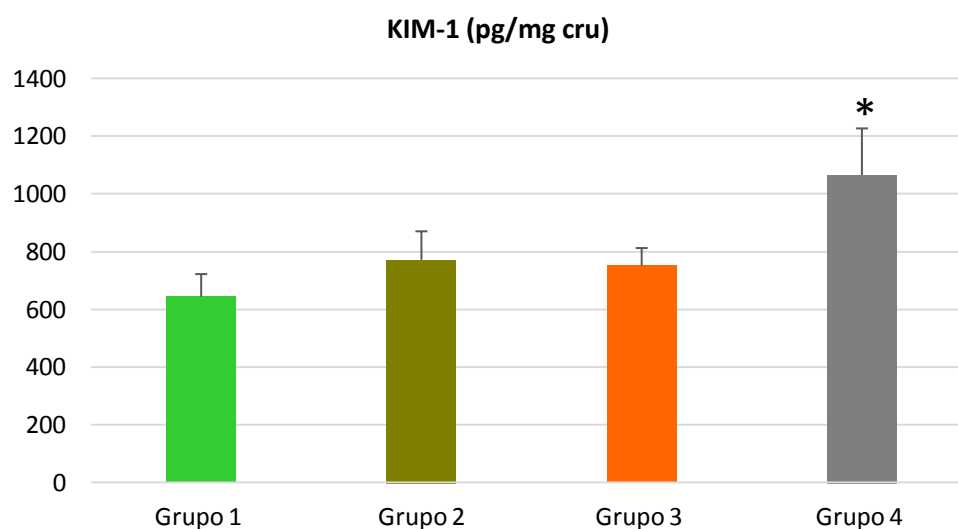
Figura 51. Excreción urinaria de lipocalina asociada a gelatinasa de neutrófilos (NGAL), tras agrupar los datos por a) cantidad de cotinina excretada (ng/mg cru) o b) número de cigarrillos consumidos diariamente. Valores de NGAL representados como ng/mg cru. Cru significa creatinina urinaria. Datos expresados como medias  $\pm$  EEM.

### 6.3. MOLÉCULA DE DAÑO RENAL 1 (KIM-1)

Los pacientes fumadores con factores de riesgo (Grupo 4) excretaron mayor cantidad de KIM en orina que el resto de grupos, este valor fue estadísticamente significativo con respecto al grupo de pacientes no fumadores sin factores de riesgo (Grupo 1). No se observaron diferencias en este marcador entre los grupos 1, 2 y 3. Por lo que los

## RESULTADOS

factores de riesgo por sí solos, o el tabaco por si solo, no parece alterar este marcador (Figura 52).



Consumo de tabaco	NO	NO	SI	SI
Factores de riesgo	NO	SI	NO	SI

Figura 52. Excreción urinaria de la molécula de daño renal 1 (KIM-1), expresada en pg/mg cru, en los cuatro grupos de estudio. Cru significa creatinina urinaria. Datos expresados como media  $\pm$  EEM. Diferencias estadísticamente significativas \*  $p < 0,05$  vs grupo 1, según el test de Scheffé.

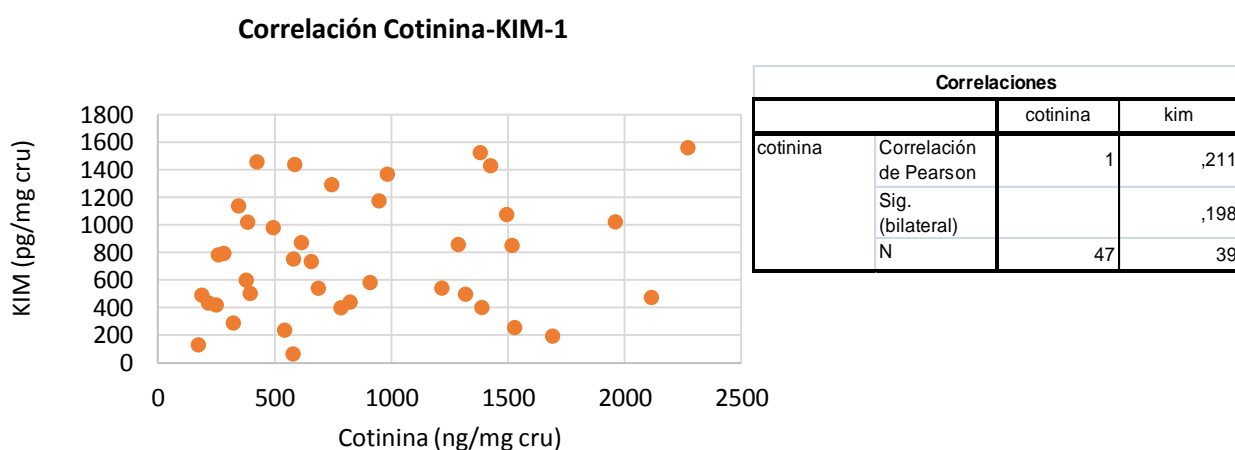
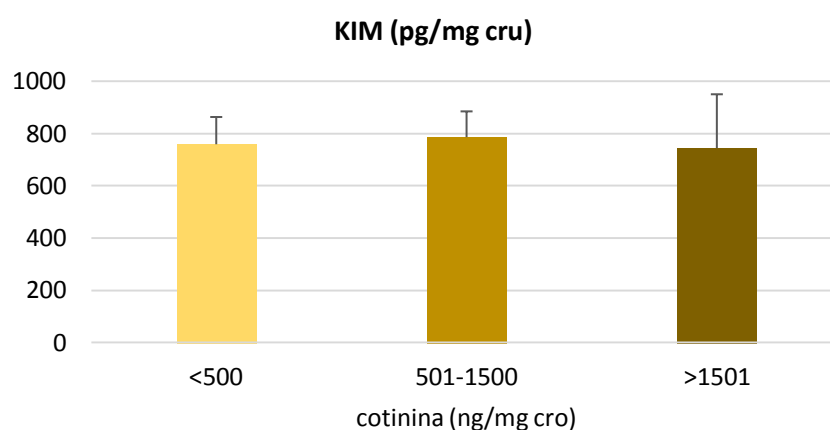


Figura 53. Molécula de daño renal 1 (KIM-1) en el grupo 3. Correlación estadística entre la excreción urinaria de cotinina, expresada en ng/mg cru, y de KIM-1, expresado en pg/mg cru. También se muestra la tabla con los valores estadísticos obtenidos. Cru significa creatinina urinaria.

Al igual que sucedía con la NAG, no se observó correlación significativa entre el consumo de tabaco, medido a través de la cotinina urinaria y la excreción urinaria de KIM-1 en el grupo de fumadores sin factores de riesgo (grupo 3) (Figura 53). De nuevo tampoco se apreciaron diferencias en los valores de KIM-1 cuando los valores se agrupaban por niveles de excreción de cotinina (Figura 54a) o consumo diario de cigarrillos (Figura 54b).

a)



b)

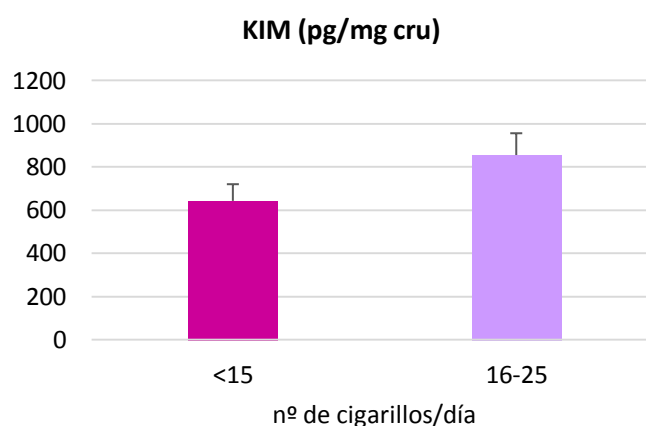


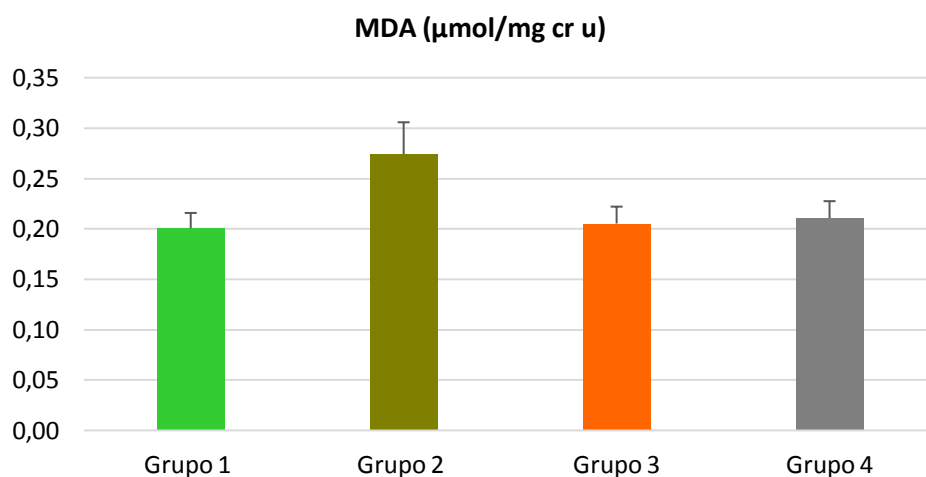
Figura 54. Excreción urinaria de la molécula de daño renal 1 (KIM-1) tras agrupar los datos por a) cantidad de cotinina excretada (ng/mg cru) o b) número de cigarrillos consumidos diariamente. Valores de KIM-1 representados como pg/mg cru. cru significa creatinina urinaria. Datos expresados como medias  $\pm$  EEM.

## 7. BIOMARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO

Puesto que el estrés oxidativo parece estar implicado en la generación del daño renal por parte del tabaco, se evaluaron dos marcadores del mismo, el MDA y los antioxidantes totales.

### 7.1. MALONILDIALDEHIDO (MDA)

La excreción urinaria de este producto de degradación de los lípidos no fue estadísticamente diferente en ninguno de los grupos. Aparecieron valores ligeramente elevados en el grupo de pacientes no fumadores con factores de riesgo (Grupo 2), (Figura 55). Sin embargo, tras la realización de la correlación entre los valores urinarios de cotinina y MDA, se observó significación, lo que parece indicar que cuanto mayor sea el consumo de tabaco mayor es la peroxidación lipídica (Figura 56). Y este resultado se corrobora con los datos de MDA agrupados por niveles de cotinina (Figura 57a), ya que la excreción de MDA era mayor a medida que incrementaba la cotinina e incluso, en la agrupación con más cotinina en orina (>1501 ng/mg cru), la diferencia fue estadísticamente significativa comparada con la agrupación de menor cantidad (<500 ng/mg cru). A pesar de ello, no se observaron diferencias cuando se asoció con el consumo diario de cigarrillos (Figura 57b).



Consumo de tabaco	NO	NO	SI	SI
Factores de riesgo	NO	SI	NO	SI

Figura 55. Malonildialdehido (MDA) urinario expresado en  $\mu\text{mol}/\text{mg cru}$ , en los cuatro grupos de estudio. Cru significa creatinina urinaria. Datos expresados como media  $\pm$  EEM .



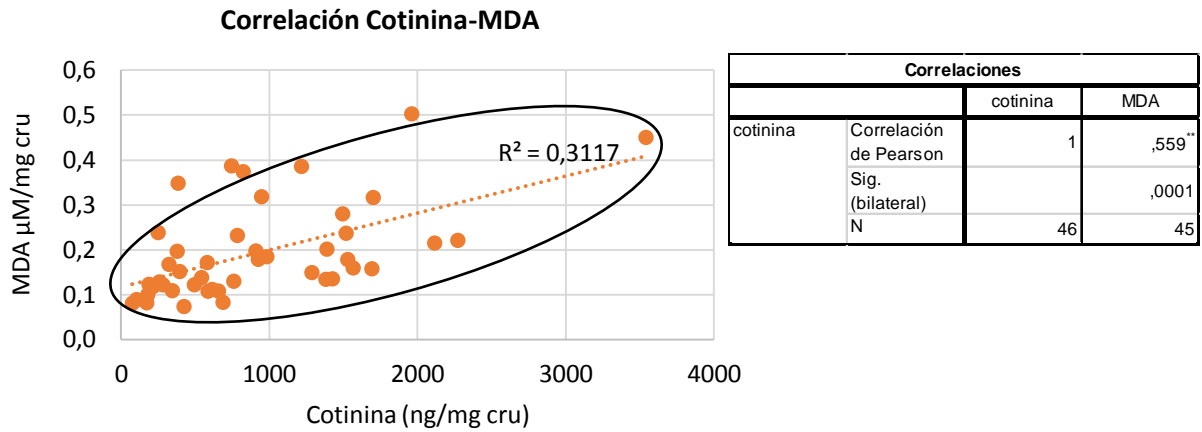


Figura 56. Malonildialdehido (MDA) en el grupo 3. Correlación estadística entre la excreción urinaria de cotinina, expresada en ng/mg cru, y de MDA, expresado en µM/mg cru. También se muestra la tabla con los valores estadísticos obtenidos. Cru significa creatinina urinaria; donde \*\* significa que la correlación es significativa en nivel <0,01 (bilateral) según el test de Pearson.

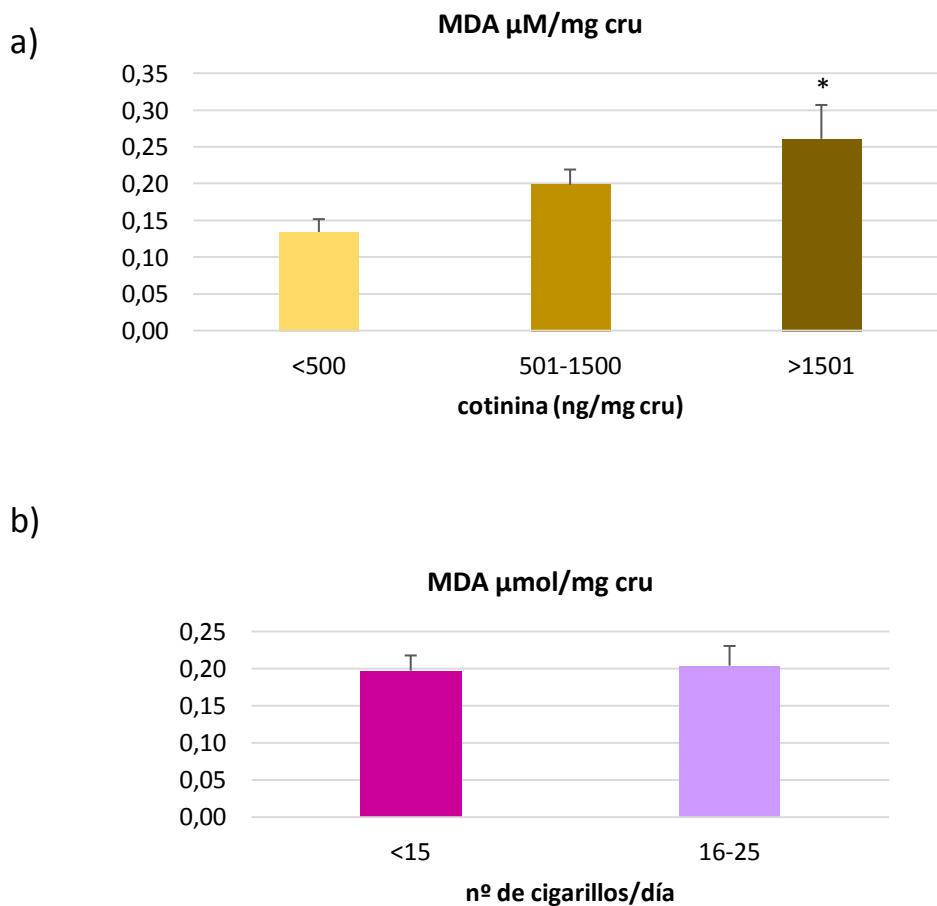
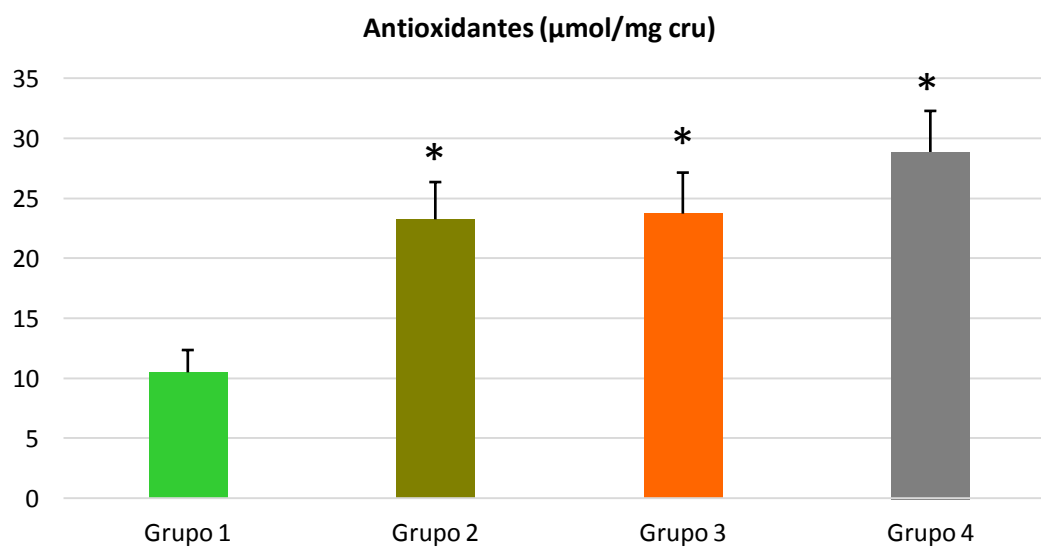


Figura 57. Malonildialdehido (MDA) urinario tras agrupar los datos por a) cantidad de cotinina excretada (ng/mg cru) o b) número de cigarrillos consumidos diariamente. Valores de MDA representados como µmol/mg cru. Cru significa creatinina urinaria. Datos expresados como medias ± EEM. Diferencias estadísticamente significativas \* p<0,05 vs <500, según el test de Scheffé.

**7.2. ANTIOXIDANTES TOTALES**

Se midieron todos los antioxidantes presentes en orina y se observó que el grupo de pacientes no fumadores sin factores de riesgo (Grupo 1) tenía menor cantidad que el resto de grupos (Figura 58). Esta diferencia fue estadísticamente significativa. En el grupo de pacientes fumadores con factores de riesgo (Grupo 4) los valores de este marcador fueron superiores en comparación a los obtenidos en los pacientes que solo tenían factores de riesgo (Grupo 2) o solamente eran fumadores (Grupo 3), mientras que entre estos dos últimos los niveles fueron muy similares.

En el grupo 3, la correlación estadística realizada entre los antioxidantes totales y la cotinina urinaria mostró significación, lo que indica una asociación directa entre el consumo de tabaco y la excreción de antioxidantes (Figura 59). Además se observaron diferencias estadísticamente significativas entre la agrupación de los valores de antioxidantes de pacientes con valores elevados de cotinina urinaria y los pacientes con valores menores (Figura 60a). Cuando los valores se agruparon por consumo diario de cigarrillos, no se observaron diferencias estadísticas, pero la tendencia a incrementar en el grupo de mayor consumo era evidente (60b).



Consumo de tabaco	NO	NO	SI	SI
Factores de riesgo	NO	SI	NO	SI

Figura 58. Antioxidantes en orina, expresados en µmol/mg cru, en los cuatro grupos de estudio. Cru significa creatinina urinaria. Datos expresados como media ± EEM. Diferencias estadísticamente significativas \* p<0,05 vs grupo 1, según el test de Scheffé.

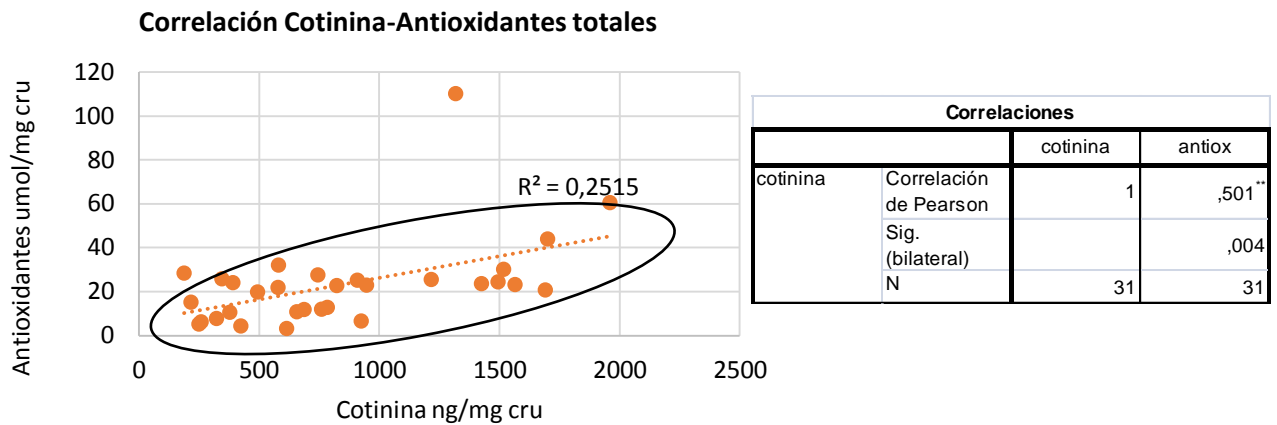


Figura 59. Antioxidantes en orina en el grupo 3. Correlación estadística entre la excreción urinaria de cotinina, expresada en ng/mg cru, y de antioxidantes, expresado en  $\mu\text{mol/mg cru}$ . También se muestra la tabla con los valores estadísticos obtenidos. Cru significa creatinina urinaria; donde \*\* significa que la correlación es significativa en nivel  $<0,01$  (bilateral) según el test de Pearson.

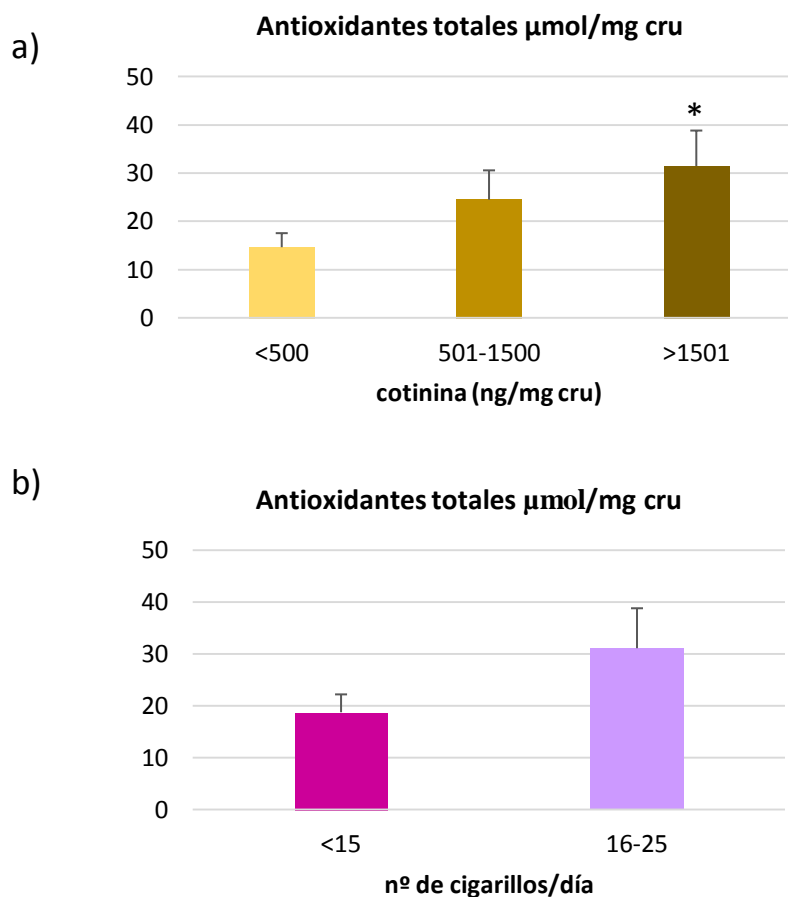


Figura 60. Excreción urinaria de antioxidantes tras agrupar los datos por a) cantidad de cotinina excretada (ng/mg cru) o b) número de cigarrillos consumidos diariamente. Valores de antioxidantes representados como  $\mu\text{mol/mg cru}$ . Cru significa creatinina urinaria. Datos expresados como medias  $\pm$  EEM. Diferencias estadísticamente significativas \*  $p<0,05$  vs  $<500$ , según el test de Scheffé.

## RESULTADOS

De nuevo, como la excreción urinaria de antioxidantes totales fue estadísticamente significativa y la correlación también, se procedió a realizar un análisis de frecuencias mediante tablas de contingencia. Una vez más, los datos se agruparon por un lado como fumadores o no fumadores y por otro, según los grupos de estudio. En el primer caso, no hubo significación estadística y los valores observados fueron muy similares a los esperados (Figura 61). Por otro lado, cuando el análisis se realizó por grupo de estudio (Figura 62), los resultados indicaron que el hecho de ser no fumador sin factores de riesgo (Grupo 1) se asociaba con menor excreción urinaria de antioxidantes totales, o lo que es lo mismo, que los pacientes sanos tienen menos probabilidad de tener alterado este marcador. Esta conclusión se hace tras observar los datos de la tabla de contingencia en la que se puede apreciar como el valor observado (26) del percentil <70 en el grupo 1 es muy superior al esperado (20,3). También podemos ver como en el caso contrario, fumadores con factores de riesgo (grupo 4) los resultados son los opuestos, es decir, hay mayor recuento observado (12) en el percentil >70 que el esperado (7,5). Lo que asocia a estos pacientes con mayor probabilidad a tener niveles elevados de antioxidantes en orina.

a)

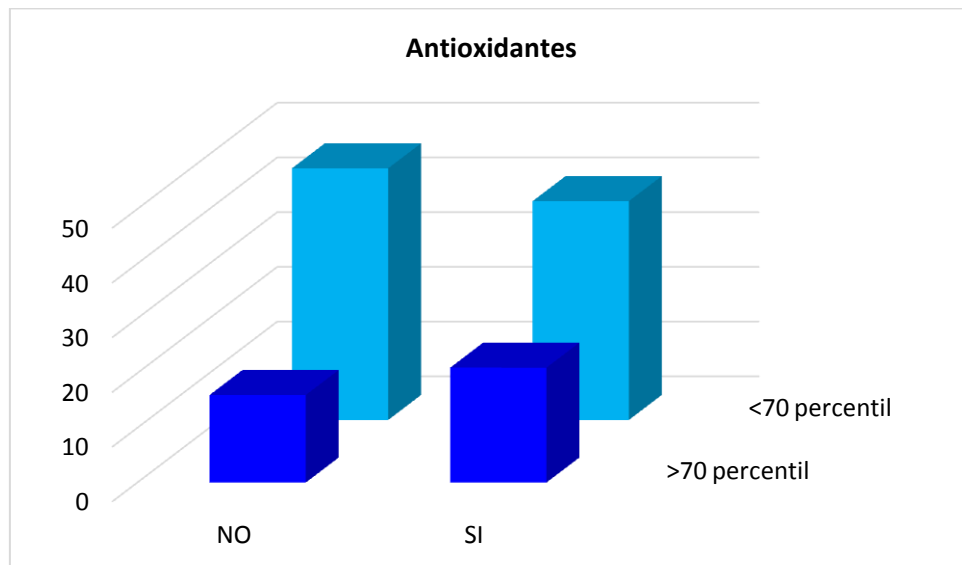
### Pruebas de $\chi^2$ de Pearson

	Valor	gl	Significación asintótica (bilateral)	Significación exacta (bilateral)	Significación exacta (unilateral)
Chi-cuadrado ( $\chi^2$ ) de Pearson	1,086 <sup>a</sup>	1	,297		
Corrección de continuidad <sup>b</sup>	,715	1	,398		
Razón de verosimilitud	1,089	1	,297		
Prueba exacta de Fisher				,330	,199
N de casos válidos	123				

a. 0 casillas (0,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 18,35.

b. Sólo se ha calculado para una tabla 2x2

b)



c)

Tabla cruzada Fumador*Antioxidantes 70p					
			Antioxidantes 70p		Total
			>70 percentil	<70 percentil	
Fumador	NO	Recuento	16	46	62
		Recuento esperado	18,7	43,3	62
	SI	Recuento	21	40	61
		Recuento esperado	18,3	42,7	61

Figura 61. Antioxidantes totales urinarios analizada mediante tablas de contingencia (percentil), los valores se agruparon en función de si el paciente no era fumador (NO) o sí era fumador (SI). a) Prueba estadística del chi-cuadrado ( $\chi^2$ ). b) Representación gráfica de los valores obtenidos (recuento) en la tabla de contingencia. c) Tabla de contingencia con los valores cruzados de antioxidante en el grupo de no fumadores (NO) y fumadores (SI).

## RESULTADOS

---

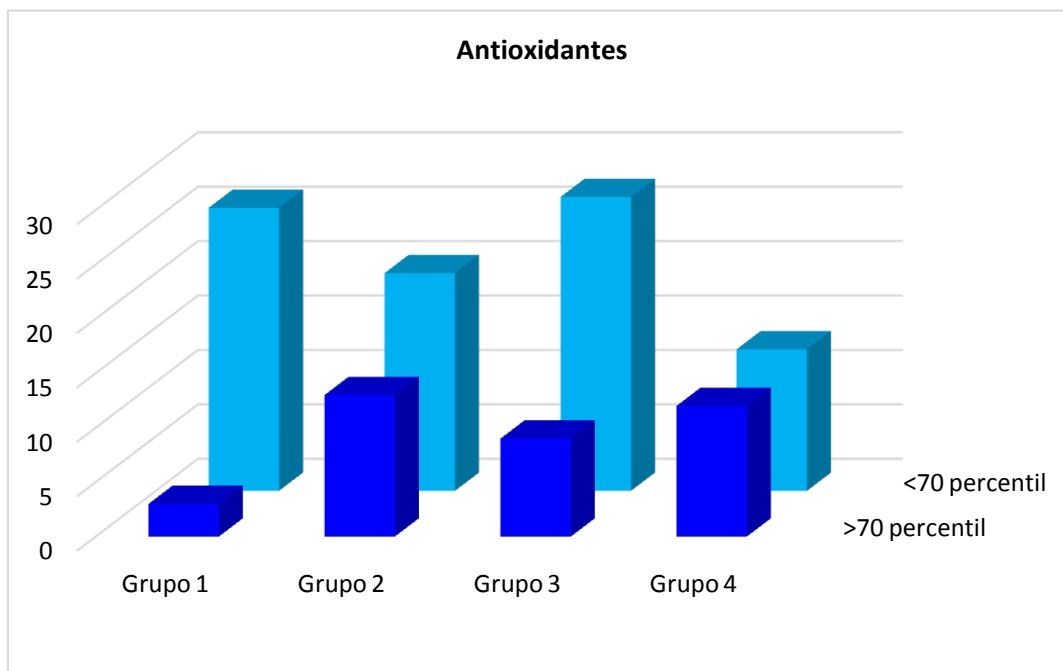
a)

### Pruebas de $\chi^2$ de Pearson

	Valor	gl	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado ( $\chi^2$ ) de Pearson	10,990 <sup>a</sup>	3	,012
Razón de verosimilitud	11,794	3	,008
N de casos válidos	123		

a. 0 casillas (0,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 7,52.

b)



c)

Tabla cruzada FumadorFR*Antioxidantes 70p				
		Antioxidantes 70p		Total
		>70 percentil	<70 percentil	
Grupo 1	Recuento	3	26	29
	Recuento esperado	8,7	20,3	29
Grupo 2	Recuento	13	20	33
	Recuento esperado	9,9	23,1	33
Grupo 3	Recuento	9	27	36
	Recuento esperado	10,8	25,2	36
Grupo 4	Recuento	12	13	25
	Recuento esperado	7,5	17,5	25

Figura 62. Antioxidantes totales urinarios analizados mediante tablas de contingencia (percentil), los valores se analizaron en función del grupo de estudio. Grupo 1, no fumador sin factores de riesgo; Grupo 2, no fumador con factores de riesgo; Grupo 3, fumador sin factores de riesgo; Grupo 4, fumador con factores de riesgo. a) Prueba estadística del chi-cuadrado ( $\chi^2$ ). b) Representación gráfica de los valores obtenidos (recuento) en la tabla de contingencia. c) Tabla de contingencia con los valores cruzados de antioxidantes en cada grupo de estudio.





## DISCUSIÓN

---



El tabaco es una de las mayores amenazas para la salud pública que ha tenido que afrontar el mundo. Según la OMS, el tabaquismo es la principal causa de enfermedad y muerte evitable, siendo un conocido factor de riesgo de desarrollo de cáncer, enfermedades respiratorias, cardiovasculares, etc. Es el único producto de consumo legal que daña a todas las personas expuestas, concretamente mata a casi 6 millones de personas al año, de las cuales más de 5 millones son consumidores directos y más de 600.000 son no fumadores expuestos al humo ajeno (OMS, 2015).

A pesar de que las primeras observaciones sobre el nexo entre tabaquismo y enfermedad renal datan de inicios del siglo pasado, el problema ha sido virtualmente “ignorado” por los nefrólogos. Sin embargo, en los últimos veinte años se han acumulado evidencias sobre el riesgo de desarrollo de enfermedad renal en fumadores, aceleración de la progresión de la IRC inducida por el tabaco y aumento del riesgo cardiovascular en pacientes renales fumadores.

La enfermedad renal crónica supone un coste social y económico (casi un 10 % de la población afectada y 3% del gasto sanitario total) muy elevado, que requiere criterios coordinados entre los profesionales sanitarios que garanticen los mejores niveles de calidad en la prevención, diagnóstico y tratamiento (Vargas, 2015). Además, la identificación de la enfermedad renal como factor de riesgo cardiovascular y la elevada morbimortalidad dependiente de la misma, (Blank y cols., 2011) se suman a la necesidad de generar estrategias preventivas en aquellos factores que pudieran ser potencialmente modificables, como es el caso del consumo del tabaco.

Para los gobiernos, las administraciones sanitarias y para los profesionales sanitarios que conocemos los efectos perjudiciales del tabaquismo, es nuestra responsabilidad advertir acerca de los peligros del tabaco, concienciar a la población de los riesgos que para la salud implica el consumo del mismo, y ofrecer nuestros conocimientos para ayudar al abandono del hábito de fumar.

En este contexto, el objetivo general de esta tesis fue evaluar el posible daño renal en una población fumadora adscrita a una consulta de Atención Primaria y explorar

la posibilidad de detectar dicho daño precozmente. Los pacientes se agruparon en cuatro grupos: 1. No Fumadores sin factores de riesgo; 2. No Fumadores con factores de riesgo; 3. Fumadores sin factores de riesgo; 4. Fumadores con factores de riesgo, según los criterios descritos en Materiales y Métodos.

Se consideraron pacientes con factores de riesgo a aquellas personas que sufrían alguna de las patologías implicadas en la progresión de la enfermedad renal crónica como eran la Diabetes Mellitus, la HTA o el consumo frecuente de algún AINE (Levey y cols. 2005). Estos grupos nos permitirían, comparar los posibles daños renales entre los diferentes grupos: fumadores con y sin patología asociada (Grupos 4 y 3), pacientes con factores de riesgo fumadores y no fumadores (Grupos 4 y 2) y población exenta de patología asociada a la enfermedad renal fumadora y no fumadora (Grupos 3 y 1).

Durante el tiempo que se desarrolló el reclutamiento de los pacientes, éstos fueron incluidos en los grupos antes mencionados según las características de los mismos. Cabe destacar, que los grupos no fueron exactamente homogéneos en cuanto a la media de edad, siendo más jóvenes aquellos que no tenían factores de riesgo (Grupos 1 y 3, media: 41-43 años), mientras que los que tenían dichos factores predisponentes tuvieron una edad superior (Grupos 2 y 4, media: 53-62 años). Estos resultados eran previsibles en cuanto a qué muchos de los factores que hemos considerado de riesgo para nuestro estudio como son la Diabetes Mellitus, la HTA o el consumo de AINES, están asociados a la edad (Coca, 2005). Respecto al peso, fue mayor en las mujeres con factores de riesgo (Grupos 2 y 4) respecto a las mujeres de los otros grupos, posiblemente este incremento esté asociado a la edad, ya que como se ha apuntado anteriormente, los grupos 2 y 4 son los de mayor edad, a pesar de ello, este dato no se fue estadísticamente significativo. En ningún caso, hubo pacientes con obesidad, la cual se considera una situación de riesgo aumentado a padecer IRC (Alcázar y cols. 2008).

En cuanto a la distribución por sexo de los pacientes, nuestros resultados en el grupo de fumadores sin factores de riesgo fueron el 59 % mujeres frente al 41 % hombres, siguiendo el modelo observado en otros estudios (Banegas y cols., 2005),

en los cuales la prevalencia en hombres ha comenzado a disminuir, mientras que en mujeres está entrando en un periodo de meseta. Por su parte, en los grupos con factores de riesgo tanto fumadores como no fumadores, fueron mayoritarios los varones, posiblemente debido a la prevalencia de dichas patologías en los hombres (Reid y cols, 2010).

El consumo de tabaco fue valorado primeramente por una encuesta realizada en la consulta. Los resultados de la misma evidenciaron que el grupo que más consumía era el 4, fumadores con factores de riesgo, ya que un 57,69 % fumaban entre 16-25 cigarrillos al día, mientras que solamente el 37,29 % de los fumadores sin factores de riesgo (Grupo 3) consumían esa cantidad. Este resultado es sorprendente, porque precisamente el consumo de tabaco está contraindicado en las patologías mencionadas y por ello, cabría esperar que aunque fumaran, el consumo fuera inferior. También se cuantificó el consumo de tabaco por la medida de la cotinina en orina, metabolito de la nicotina, que nos da una medida indirecta de la exposición a nicotina. Esta determinación se realizó únicamente en el grupo de fumadores sin factores de riesgo por ser el grupo fundamental de nuestro estudio. Los resultados revelaron que la cantidad de cotinina en los pacientes que decían consumir <15 cigarrillos/día y los que decían consumir entre 16-25 cigarrillos/día, fue similar, lo que no coincide con la encuesta realizada, ya que según ésta los que consumían <15 cigarrillos/día deberían tener menos cotinina. Este resultado pone de manifiesto un cierto sesgo que cuestiona la fiabilidad de la encuesta.

El test de Fagerström es una prueba que creó en el año 1978 el doctor Karl Fagerström, uno de los mayores expertos del mundo en tabaquismo con el nombre de "Cuestionario de tolerancia de Fagerström" y es utilizado para medir, por medio de seis preguntas, el nivel de adicción en los fumadores (Fagerstrom, 1978). Nuestros resultados muestran que no hay grandes diferencias entre los grupos comparados (sin factores y con factores de riesgo), sin embargo se observó un mayor porcentaje de personas con adicción elevada (12%) en los fumadores sin factores de riesgo. Partiendo del hecho de que hay una asociación entre mayor consumo de tabaco y mayor adicción, este dato reforzaría el encontrado con la

cotina, es decir, que los fumadores sin factores de riesgo consumen más cantidad de cigarrillos/día que la que reflejo la encuesta y que por lo tanto, pueda ser similar a la del grupo de fumadores con factores de riesgo.

Respecto a la distribución de los factores de riesgo asociados al daño renal que hemos considerado en nuestro estudio: la Diabetes Mellitus, la HTA y el consumo de AINES, resultó ser la hipertensión la patología mayoritaria observada en ambos grupos, hecho que coincide con la prevaencia de esta enfermedad en los países desarrollados, la cual afecta al 40% de los adultos (Kearney y cols., 2004).

En la clínica, una de las herramientas más utilizadas en el diagnóstico del daño renal se basa en la detección en la sangre de productos del metabolismo (creatinina, urea, etc.) que empiezan a acumularse una vez que comienza a disminuir la capacidad excretora renal. Sin embargo, cuando se observa el aumento de los niveles séricos de urea y creatinina, se ha perdido más del 70% de la función renal. Así, las tendencias actuales en el diagnóstico pretenden encontrar marcadores sensibles, específicos, y fáciles de cuantificar, que detecten eventos fisiopatológicos incipientes producidos en etapas tempranas, cuando el daño está menos extendido (Vaidya y cols., 2008). En este sentido, en nuestro estudio primeramente evaluamos la función renal de todos los pacientes, validada por los biomarcadores convencionales, a fin de constatar si estaba en los rangos de normalidad. En una segunda fase, esa misma evaluación la realizamos con biomarcadores tempranos de daño renal, con el objetivo de comprobar si eran capaces de evidenciar una posible lesión temprana no detectable con las técnicas habituales, y que pudiese estar provocada por el tabaco, los factores de riesgo o la asociación de ambos.

Nuestros resultados demuestran que los cuatro grupos fueron similares en cuanto a las determinaciones de creatinina, urea y la tasa de filtración glomerular (medida por las fórmulas de C-G y MDRD), lo que significa que partimos de pacientes sin daño renal, medido con estos parámetros, independientemente de que consuman tabaco o tengan asociada alguna patología de riesgo para la progresión del daño renal.

Aunque es clásica la asociación entre la proteinuria y la enfermedad renal, hasta no hace mucho tiempo, la proteinuria se consideraba únicamente como el resultado de un defecto en la barrera de filtración que permitiría el paso de moléculas de mayor tamaño. Actualmente, este concepto se ha ampliado de forma notable, y la proteinuria ha pasado a ser no sólo un marcador de enfermedad renal, sino que se ha indicado su papel como mediador, o incluso como causa de progresión de la nefropatía. Se sabe, que la misma puede deberse tanto a un daño tubular que altere los mecanismos de reabsorción de las proteínas, como a una alteración en la barrera de filtración glomerular, que tenga como consecuencia un aumento de la permeabilidad de las proteínas, o también a una combinación de ambos mecanismos (Waring y Moonie, 2011).

Los resultados de nuestro estudio evidenciaron un incremento estadísticamente significativo de proteinuria en los pacientes fumadores, en los que tenían factores de riesgo y en los que presentan ambas condiciones, en comparación con el grupo control (pacientes no fumadores sin factores de riesgo). Además, cuando se evaluó en el grupo de fumadores sin factores de riesgo la correlación entre la proteinuria y la cotinina excretada, se obtuvo una correlación significativa. Refuerza este resultado la comparación de intervalos de cotinina y proteinuria, la cual mostró que a partir de 1500 ng/cru de cotinina el aumento de la proteinuria era significativo frente a la excreción de cotinina <500 ng/cru. La proteinuria de los pacientes que decían consumir <15 cigarrillos/día y los que decían consumir entre 15 y 25, fue similar, lo que apoya nuestra hipótesis de que, posiblemente, los primeros consumían más de lo que reflejó la encuesta. La excreción de proteínas fue evaluada también aplicando un análisis de frecuencias, el cual nos informa de la distribución de los valores estudiados. Los resultados obtenidos reafirman los anteriores, ya que la excreción de proteínas de los pacientes que no fuman ni tienen factores de riesgo (Grupo 1), se mantiene en valores bajos de proteinuria y por tanto, en el rango fisiológico, mientras que en el grupo 3, el hecho de fumar se asoció con una mayor proteinuria, pues el recuento observado en los valores altos de la misma (percentil >70) fue superior al esperado.

Nuestro estudio confirma el realizado por Halimi y cols. (2000), en el cual observaron que los ex fumadores y los fumadores actuales tenían un marcado riesgo de proteinuria (riesgo relativo 2,69 y 3,26 respectivamente). Cabe destacar, de que a pesar del reducido número de pacientes de nuestro estudio en comparación con el realizado por Halimi, en el que se incluyeron 28.409 voluntarios de la población general, los resultados son similares, por lo que podemos afirmar que los pacientes reclutados fueron representativos.

La ya conocida asociación de proteinuria en pacientes diabéticos e hipertensos, así como en aquellos en tratamiento con AINES, es evidenciada en nuestros resultados tanto en pacientes fumadores como no fumadores. Estudios prospectivos de Chase y cols. (1991) y Sawicki y cols. (1994) han demostrado que dejar de fumar se acompaña de regresión de la proteinuria en diabéticos tipo I y II. Por otra parte, el estudio realizado por Orth y cols. (2001a), muestra que enfermos hipertensos que fuman más de 20 cigarrillos/día tienen una prevalencia 3,7 veces mayor de proteinuria que los no fumadores. En el caso del tratamiento con AINES, se ha demostrado ampliamente su potencial nefrotóxico (Whelton, 1999) y que además, dicho tratamiento junto con factores de riesgo cardiovasculares, como es el consumo de tabaco, pueden inducir enfermedad renal crónica que conlleva alteración de la excreción de proteínas (Liu y cols., 2014).

Por su parte, la albuminuria es un marcador de daño renal incipiente, presente en la orina cuando todavía no hay manifestaciones clínicas. Los cálculos efectuados en muestra simple (cociente albúmina/creatinina) se correlacionan de forma adecuada con la albuminuria en 24 horas (Nathan, y cols., 1987), por lo que ésta fue la forma elegida para calcular la albuminuria en nuestro estudio. Las causas y asociaciones más frecuentes de la albuminuria son: diabetes, hipertensión, obesidad, tabaco y enfermedad renal (Jorgensen y cols., 2007). En este sentido, los resultados obtenidos en nuestro estudio confirman, no solo la asociación del tabaco y la albuminuria, sino que las patologías antes mencionadas junto con el consumo de tabaco, potencian su excreción. A pesar de que este resultado no fue significativo en los pacientes no fumadores con factores de riesgo (Grupo 2), se observa una



tendencia similar a la obtenida en los grupos de fumadores y que posiblemente sería significativa si se aumentara el número de pacientes en este grupo.

Otro de los hallazgos descritos en nuestro trabajo es la correlación entre la cotinina y la albúmina lo que pone de manifiesto la relación directa existente entre el consumo de tabaco y la aparición de este marcador. La albuminuria de los pacientes que decían consumir <15 cigarrillos/día y los que decían consumir entre 15 y 25, fue similar, lo que de nuevo apoya nuestra hipótesis de que posiblemente los primeros consumían más de lo que reflejó la encuesta.

El estudio de Pinto-Sietsma y cols. (2000) puso de manifiesto que podría existir una relación entre la cantidad de cigarrillos consumidos por día y la cantidad de albúmina urinaria, de tal modo que aquellas personas que fumaban más de 20 cigarrillos al día presentaban elevados niveles de albuminuria, en población que no presentaba factores de riesgo como Diabetes Mellitus o HTA. En el caso de pacientes con hipertensión, la prevalencia de microalbuminuria es casi el doble en fumadores respecto a no fumadores con HTA primaria y además, los enfermos hipertensos que fuman más de 20 cigarrillos/día tienen una prevalencia 1,6 veces mayor de microalbuminuria (Orth, 2002b). En cuanto a la diabetes, parece que el riesgo adicional de fumar está relacionado con un incremento en la albuminuria, que a su vez produce un incremento en el riesgo de padecer proteinuria y de acelerar la progresión del daño renal (Biesenbach y cols., 1994).

Los glomérulos de un adulto sano filtran aproximadamente 180 g de glucosa cada día (Guyton y Hall, 1996). En circunstancias normales, casi toda esta glucosa se reabsorbe y <1% se excreta en la orina (Wright, 2001). La reabsorción de glucosa a partir de los túbulos es un proceso de múltiples pasos con participación de varios mecanismos de transporte. La glucosa, una vez filtrada en el túbulo, deberá ser transportada fuera del mismo, a través de las células epiteliales tubulares, y después, a través de la membrana basolateral, hacia el capilar peritubular. Bajo condiciones óptimas, cuando la carga de glucosa tubular es de aproximadamente 120 mg/min o menos, no se elimina glucosa en la orina ya que el 90% de la glucosa filtrada se reabsorbe por la alta capacidad del co-transportador

de sodio-glucosa tipo 2 (SGLT2), en el segmento contorneado del túbulo proximal, y el 10% restante de la glucosa filtrada se reabsorbe por el transportador SGLT1 (de tipo 1) en el segmento recto del túbulo proximal descendente. Sin embargo, cuando la carga de glucosa excede aproximadamente los 220 mg/min (el denominado “umbral de glucosa”), la glucosa comienza a aparecer en la orina. Clínicamente, la causa más frecuente de glucosuria es la diabetes. No obstante, pudiera aparecer glucosuria por procesos que impliquen daño tubular con implicación de sus transportadores (De Fronzo y cols., 2008). En nuestros resultados no se observa alteración significativa de la misma en ninguno de los grupos estudiados, lo que sugiere que no hay alteración de los transportadores de glucosa y la homeostasis es capaz de mantener valores normales, incluso en los pacientes diabéticos.

Los procesos fisiopatológicos característicos del daño renal comprenden tanto mecanismos relacionados con el propio daño, como con la respuesta reparadora del organismo. Durante el daño de las estructuras renales, sus componentes o derivados metabólicos, compuestos de degradación o restos de ellos se eliminarían por la orina y podrían ser detectados y utilizados como marcadores de lesión. El contacto directo de los epitelios renales con la orina facilita la aparición en ésta de moléculas y fracciones celulares procedentes de estos tejidos. Los posibles marcadores pueden tener su origen, entre otros, en la síntesis, activación o inhibición de mediadores de los procesos bioquímicos y de constituyentes estructurales celulares relacionados con procesos como la apoptosis y la regeneración tisular. Así mismo, podrían encontrarse en la orina indicios de la destrucción de los tejidos (células, matriz extracelular, membranas basales, etc.), bien sean moléculas enteras, fracciones de éstas, organelas o restos de ellas y de fracciones celulares o tisulares. La detección en la orina de ciertas enzimas celulares procedentes de la lesión de células renales, es actualmente el procedimiento para la detección temprana del daño renal que cursa con daño tubular. En este sentido, la NAG es una enzima cuya determinación en la orina representa una de las técnicas más finas para la detección de daño tubular, aunque su uso no está consolidado como técnica diagnóstica habitual (Bonventre y cols., 2010). Los resultados obtenidos en nuestro estudio muestran que no hubo diferencias en la actividad de

la NAG urinaria entre los grupos, lo que nos evidencia la ausencia de daño tubular tanto en fumadores como en pacientes con las patologías mencionadas. Es importante destacar que partimos de pacientes sin enfermedad renal previa y por lo tanto, a pesar de tener factores de riesgo pudieran no tener afectación tubular.

Por su parte, NGAL es una proteína de los gránulos secundarios de neutrófilos, que por su propiedad de unirse a sideróforos, se relaciona con el transporte de hierro en las células tubulares renales y por tanto, se cree que podría estar involucrada en el proceso de daño/repación del FRA induciendo diferenciación de las células progenitoras renales a epitelio tubular (Martensson y cols., 2012). Se ha demostrado también que la interleukina-1 $\beta$ , un mediador inflamatorio, estimula la síntesis de NGAL durante eventos patológicos agudos como la sepsis (Cai y cols., 2010), e incluso crónicos, como la enfermedad renal crónica (Xu y Venge, 2000), lo que demuestra que tiene un papel importante en procesos inflamatorios. A pesar de que el daño renal asociado al consumo de tabaco está relacionado con el daño renal crónico, estudios experimentales realizados por Arany y cols. (2011) mostraron que la exposición crónica a nicotina podía sensibilizar a los animales a sufrir un daño renal agudo, por lo que según nuestra hipótesis, NGAL sería susceptible de sintetizarse en ambos casos. En nuestro estudio no encontramos diferencias entre los niveles de NGAL entre los grupos comparados, lo que sugiere que no ha habido un proceso de daño/repación agudo en el túbulo renal, ni un proceso inflamatorio evidente en ninguno de los grupos: consumidores de tabaco, portadores de patologías de riesgo renal o pacientes con ambas características.

KIM-1 es una glicoproteína de membrana de tipo 1, que se ha asociado especialmente con células del túbulo proximal (Hawkins, 2011). La determinación de KIM-1 en nuestro estudio reveló un incremento significativo en los pacientes fumadores con factores de riesgo, lo que sugiere daño a nivel tubular cuando se asocian ambos factores. El ectodominio de KIM-1 aparece antes que la NAG en la progresión del daño renal como resultado de una gran variedad de daños (Ichimura, 2004; Waikar y Bonventre, 2008), este hecho pudiera explicar que en nuestro estudio no se evidencie el aumento de NAG, pero sí de KIM-1.

En los pacientes fumadores sin factores de riesgo no hubo correlación estadísticamente significativa entre los niveles de ninguno de los tres marcadores (NAG, NGAL y KIM-1) y los de cotinina, posiblemente porque la excreción de los mismos en estos pacientes fue similar a la de los controles.

Para evaluar la posible implicación del estrés oxidativo en el consumo de tabaco valoramos la excreción de MDA, como marcador de peroxidación lipídica. A pesar de que la excreción del mismo fue similar en todos los grupos, cuando evaluamos independientemente la correlación entre los valores urinarios de cotinina y MDA en el grupo de fumadores sin riesgo observamos una correlación significativa, que sugiere una relación directa entre consumo de tabaco y peroxidación lipídica. El hecho de que no haya diferencias entre los grupos puede deberse a dos factores, por un lado, a que la gran variabilidad interindividual de este parámetro requiere un elevado número de pacientes para ser concluyente, hecho que no se cumple en este estudio. Por otro, a que la técnica utilizada no es muy sensible cuando la muestra analizada es la orina, ya que el color amarillo de la misma puede enmascarar niveles bajos de MDA, lo que no sucede cuando se analiza este parámetro en plasma o en tejido renal. A pesar de estos inconvenientes, nuestros resultados confirman los realizados por Chen y cols., 2004, en los que demuestran la implicación de la peroxidación lipídica en fumadores, aunque en su estudio el marcador evaluado fue la 3-N4-etenocistatina, para lo que se utilizó una técnica de elevado coste económico.

Para corroborar los estudios anteriores determinamos los antioxidantes presentes en orina. Nuestros resultados ofrecen una relación directa entre el incremento de los mismos y el consumo de tabaco, la afección de algunas de las patologías de riesgo o ambos condicionantes. Por otra parte, la evaluación de los antioxidantes en pacientes fumadores sin factores de riesgo, ofreció una correlación significativa entre los niveles de cotinina y los antioxidantes, siendo además significativo el incremento de antioxidantes en valores de cotinina superiores a 1500 ng/mg cru respecto a 500 ng/mg cru. Por su parte, el análisis de frecuencia ofreció datos complementarios a los descritos, indicando que los pacientes no fumadores sin

factores de riesgo se asocian con menor excreción urinaria de antioxidantes totales, o lo que es lo mismo, que los pacientes sanos tienen menos probabilidad de tener alterado este marcador. Estos resultados son coherentes entre sí y sugieren que la excreción de antioxidantes pudiera ser el resultado de la homeostasis relativa al equilibrio oxidativo implicado en procesos como el consumo de tabaco o de patologías como las mencionadas, donde la progresión de las mismas depende del balance óxido-reducción. Dado que en los pacientes reclutados no se observaron alteraciones renales medidas por la creatinina plasmática o la TFG, podemos pensar que los antioxidantes están actuando como protectores y su excreción renal es reflejo de una sobreexpresión de los mismos en condiciones donde hay daño renal, como evidencia la proteinuria, la albuminuria y el aumento del KIM-1 urinario.

Como conclusión, este estudio alerta sobre los riesgos del consumo del tabaco en la progresión de la enfermedad renal, tanto en la población general como en pacientes con patologías asociadas a la misma. Abre también la puerta al diagnóstico temprano del daño renal mediante marcadores habituales en la clínica como la proteinuria y la albuminuria y otros aún no consolidados como es el KIM-1. La determinación de los mismos pudiera constituir no sólo una medida preventiva, sino una medida convincente para dejar de fumar.



## **CONCLUSIONES**

---

**CONCLUSIONES**

---



### **CONCLUSIÓN PRIMERA**

El consumo de tabaco está relacionado con una alteración de la función renal, que se manifestó en nuestro estudio con un incremento en la proteinuria, proporcional a la exposición de nicotina. Dicho incremento fue similar, tanto en los pacientes con factores de riesgo como en pacientes sanos, lo que sugiere que el tabaquismo en sí mismo, constituye un factor de riesgo en la progresión de la enfermedad renal crónica. La proteinuria pudiera constituir un buen marcador en el diagnóstico del daño renal asociado al consumo de tabaco.

### **CONCLUSIÓN SEGUNDA**

El incremento de albuminuria observado en consumidores de tabaco sugiere un daño renal incipiente, que pudiera ser debido tanto a afectaciones glomerulares como tubulares. Este incremento fue proporcional a la exposición de nicotina. La albuminuria pudiera constituir un buen marcador en el diagnóstico del daño renal asociado al consumo de tabaco.

### **CONCLUSIÓN TERCERA**

La determinación de KIM-1 en nuestro estudio reveló un incremento significativo en los pacientes fumadores con factores de riesgo, lo que pudiera indicar un daño a nivel tubular cuando se asocian ambos factores. La determinación de KIM-1 urinario pudiera constituir un buen marcador en el diagnóstico del daño renal temprano asociado al consumo de tabaco en pacientes con factores de riesgo.

### **CONCLUSIÓN CUARTA**

El estrés oxidativo está implicado en el daño renal inducido por el consumo de tabaco, sin embargo, los antioxidantes son capaces de mantener el equilibrio oxidativo de forma que la posible lesión renal queda oculta a los marcadores de daño renal más habitualmente utilizados en la clínica.

**CONCLUSIONES**

---

## **ANEXOS**

---



**FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO ESCRITO****Proyecto de investigación: ESTUDIO DE LA ASOCIACIÓN ENTRE EL TABACO Y LA ENFERMADAD RENAL.**

Investigador: Francisco José Sanz Parras, Centro de Salud de Coria.

**Resumen:**

Teniendo en cuenta la asociación entre consumo de tabaco y la mayor incidencia de desarrollo de enfermedad renal (principalmente insuficiencia renal crónica), en este trabajo nos proponemos dos objetivos

- En primer lugar, realizar un estudio epidemiológico que evalúe la relación entre el consumo de tabaco y el incremento de riesgo a sufrir daño renal en un grupo de pacientes que acuden a la consulta de Atención.
- En segundo lugar, evaluar la utilidad de nuevos marcadores como marcadores tempranos de predicción de daño renal asociados al consumo de tabaco.

**Recogida de datos**

Los datos de los pacientes serán incluidos en una base de datos, para ello a cada uno de los participantes se le asignará un código (mediante el uso de un sistema de encriptación), a fin de asegurar la protección de los datos de los pacientes, así como, de sus muestras de un modo totalmente confidencial.

**Toma de muestras**

Se recogerá una muestra de orina en el momento de la consulta.

Yo, .....

(nombre y apellidos)

He leído la hoja de información que se me ha entregado.

He podido hacer preguntas sobre el estudio.

He recibido suficiente información sobre el estudio.

He hablado con el Dr. Francisco José Sanz Parras

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

- 1.º Cuando quiera.
- 2.º Sin tener que dar explicaciones.
- 3.º Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio, y autorizo a que los datos clínicos obtenidos en el transcurso de este estudio sean:

- 1.- Registrados y utilizados de conformidad con los criterios explicados en la hoja de información.
- 2.- Puedan ser presentados a las autoridades competentes para su verificación, siempre y cuando se asegure que no se podrá relacionar mi identidad con mis datos (datos disociados).
- 3.- Accedo a que las muestras de orina obtenidas para el estudio puedan ser utilizadas en el futuro para nuevos análisis relacionados con la enfermedad o fármacos del estudio no previstos en el protocolo actual:

SI  NO

Fecha (\*)

Firma del participante

He comentado este estudio de investigación clínica con el paciente en un lenguaje comprensible e idóneo. Considero que he informado completamente al participante de la naturaleza del estudio y de los posibles beneficios y riesgos derivados del mismo, y creo que el participante ha comprendido esta explicación. He entregado una copia de la hoja de información sobre el estudio y de este documento fechado y firmado al paciente.

Firma del investigador: \_\_\_\_\_

Fecha (\*): \_\_\_\_\_  
Día / Mes / Año

(\*)Cada firmante del consentimiento debe escribir personalmente la fecha de su firma

**Este documento se firmará por duplicado quedándose una copia el investigador y otra el paciente.**



## HOJA DE RECOGIDA DE DATOS

**Código Paciente:**

**Fecha de recogida de muestra:**

**1. Fumador**

**No fumador**

(Marcar con una X)

**Exfumador desde:**

### 2. Factores de Riesgo

	SI	NO	ESPECIFICAR
Diabetes mellitus tipo 1			
Diabetes mellitus tipo 2			
Hipertensión arterial			
Toma de AINE frecuente			

### 3. Datos antropométricos:

Edad (años)	Sexo (M o V)	Peso (Kg)	Talla (cm)	IMC

### 4. Bioquímica sanguínea

Urea (mg/dL)	Creatinina (mg/dL)	Albuminuria (mg/dL)

### 5. Observaciones





## **BIBLIOGRAFÍA**

---



- AECC (2015) *Asociación española contra el cáncer* <https://www.Aecc.Es/sobreelcancer/prevencion/tabaco/documents/mortalidadporcomunidades.Pdf>. Available online (accessed 14/12/2015).
- Alcázar, R., Egocheaga, M.<sup>ª</sup> I., Orte, L., Lobos, J.M.<sup>ª</sup>, González Parra, E., Álvarez Guisasola, F., Górriz, J. L., Navarro, J. F. y Martín de Francisco, A. L. (2008) Documento de consenso SEN-semFYC sobre la enfermedad renal crónica. *Nefrología*, 28 (3) 273-282.
- Al-Delaimy, W. K. (2002) Hair as a biomarker for exposure to tobacco smoke. *Tob Control*, 11(3), 176-82.
- Arany, I., Grifoni, S., Clark, J.S., Csongradi, E., Maric C., Juncos, L. A. (2011) Chronic nicotine exposure exacerbates acute renal ischemic injury. *Am J Physiol Renal Physiol* 301: F125–F133.
- Aronow, W. S. (1971) The effect of smoking cigarettes on the apexcardiogram in coronary heart disease. *Chest*, 59(4), 365-8.
- ASH (2015) *Action on smoking and health* <http://www.Ash.Org.Uk/>. Available online (accessed 01/12/2015).
- Bagshaw, S. M. & Bellomo, R. (2007) Early diagnosis of acute kidney injury. *Curr Opin Crit Care*, 13(6), 638-44.
- Banegas, J. R., Díez Gañán, L., González Enríquez, J., Villar Alvarez, F. & Rodríguez-Atralejo, F. (2005) La mortalidad atribuible al tabaquismo comienza a disminuir en España. *Med Clin (Barc)*, 124, 769-771.
- Barrera-Chimal, J. & Bobadilla, N. A. (2012) Are recently reported biomarkers helpful for early and accurate diagnosis of acute kidney injury? *Biomarkers*, 17(5), 385-93.
- Biesenbach, G., Janko, O. & Zazgornik, J. (1994) Similar rate of progression in the predialysis phase in type i and type ii diabetes mellitus. *Nephrol Dial Transplant*, 9(8), 1097-102.

- Blank, M. D., Cobb, C. O., Kilgalen, B., Austin, J., Weaver, M. F., Shihadeh, A. & Eissenberg, T. (2011) Acute effects of waterpipe tobacco smoking: A double-blind, placebo-control study. *Drug Alcohol Depend*, 116(1-3), 102-9.
- Bonventre, J. V., Vaidya, V. S., Schmouder, R., Feig, P. & Dieterle, F. (2010). Next-generation biomarkers for detecting kidney toxicity. *Nat Biotechnol*, 28(5), 436-40.
- Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, 72, 248.
- Burghuber, O. C., Punzengruber, C., Sinzinger, H., Haber, P. & Silberbauer, K. (1986). Platelet sensitivity to prostacyclin in smokers and non-smokers. *Chest*, 90(1), 34-8.
- Cabezas Peña, C. (1997) Tabaco o salud: El porqué de una disyuntiva. En: Estilos de vida saludables: Tabaco y alcohol. Madrid: Ediciones Argón S.A.
- Cai, L., Rubin, J., Han, W., Venge, P., Xu, S. (2010) The origin of multiple molecular forms in urine of HNL/NGAL. *Clin J Am Soc Nephrol*. 5: 2229–2235.
- Celedon, J. C., Lange, C., Raby, B. A., Litonjua, A. A., Palmer, L. J., Demeo, D. L., Reilly, J. J., Kwiatkowski, D. J., Chapman, H. A., Laird, N., Sylvia, J. S., Hernandez, M., Speizer, F. E., Weiss, S. T. & Silverman, E. K. (2004) The transforming growth factor-beta1 (tgfb1) gene is associated with chronic obstructive pulmonary disease (copd). *Hum Mol Genet*, 13(15), 1649-56.
- Chapman, A. B., Johnson, A. M., Gabow, P. A. & Schrier, R. W. (1994). Overt proteinuria and microalbuminuria in autosomal dominant polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol*, 5(6), 1349-54.
- Chase, H.P., Garg, S.K., Marshall, G., Berg, C.L., Harris, S., Jackson, W.E., Hamman, R. (1991) Cigarette smoking increases the risk of albuminuria among subjects with type I diabetes. *JAMA* 265: 614–17.

- Chelghoum, Y., Danaila, C., Belhabri, A., Charrin, C., Le, Q. H., Michallet, M., Fiere, D. & Thomas, X. (2002) Influence of cigarette smoking on the presentation and course of acute myeloid leukemia. *Ann Oncol*, 13(10), 1621-7.
- Chen H.J., Wu C. F., Hong C. L., Chang C. M. (2004) Urinary excretion of 3,N4-etheno-2'-deoxycytidine in humans as a biomarker of oxidative stress: association with cigarette smoking. *Chem Res Toxicol*, 17(7):896-903.
- Cheung, A. K., Sarnak, M. J., Yan, G., Dwyer, J. T., Heyka, R. J., Rocco, M. V., Teehan, B. P. & Levey, A. S. (2000) Atherosclerotic cardiovascular disease risks in chronic hemodialysis patients. *Kidney Int*, 58(1), 353-62.
- Chiba, M. & Masironi, R. (1992) Toxic and trace elements in tobacco and tobacco smoke. *Bull World Health Organ*, 70(2), 269-75.
- Cho, Y. W., Terasaki, P. I. & Cecka, J. M. (1995) New variables reported to the unos registry and their impact on cadaveric renal transplant outcomes - a preliminary study. *Clin Transpl*, 405-15.
- Christiansen, J. S. (1987) Cigarette smoking and prevalence of microangiopathy in juvenile-onset insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 1(3), 146-9.
- Clerico, A., Galli, C., Fortunato, A. & Ronco, C. (2012) Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (ngal) as biomarker of acute kidney injury: A review of the laboratory characteristics and clinical evidences. *Clin Chem Lab Med*, 50(9), 1505-17.
- Coca Payeras A. (2005). Evolución del control de la hipertensión arterial en Atención Primaria en España. *Hipertensión y Riesgo Vascular*, 22, Issue 1, 5-14.
- Coca, S. G., Yalavarthy, R., Concato, J. & Parikh, C. R. (2008) Biomarkers for the diagnosis and risk stratification of acute kidney injury: A systematic review. *Kidney Int*, 73(9), 1008-16.
- Cohen, E. P. & Lemann, J., Jr. (1991) The role of the laboratory in evaluation of kidney function. *Clin Chem*, 37(6), 785-96.

## BIBLIOGRAFÍA

---

- Condiotte, M. M. & Lichtenstein, E. (1981) Self-efficacy and relapse in smoking cessation programs. *J Consult Clin Psychol*, 49(5), 648-58.
- Daniels, T. E., Chou, L., Greenspan, J. S., Grady, D. G., Hauck, W. W., Greene, J. C. & Ernster, V. L. (1992) Reduction of langerhans cells in smokeless tobacco-associated oral mucosal lesions. *J Oral Pathol Med*, 21(3), 100-4.
- De Braud, F., Maffezzini, M., Vitale, V., Bruzzi, P., Gatta, G., Hendry, W. F. & Sternberg, C. N. (2002) Bladder cancer. *Crit Rev Oncol Hematol*, 41(1), 89-106.
- De Fronzo R.A., Abdul-Ghani M. (2008). Inhibition of renal glucose reabsorption: a novel strategy for achieving glucose control in type 2 diabetes mellitus. *Endocr Pract*, 14(6):782-90.
- Devarajan, P. (2008) Neutrophil gelatinase-associated lipocalin--an emerging troponin for kidney injury. *Nephrol Dial Transplant*, 23(12), 3737-43.
- Dirkes, S. (2011) Acute kidney injury: Not just acute renal failure anymore?. *Crit Care Nurse*, 31(1), 37-49.
- Doyle, S. E., Matas, A. J., Gillingham, K. & Rosenberg, M. E. (2000) Predicting clinical outcome in the elderly renal transplant recipient. *Kidney Int*, 57(5), 2144-50.
- Dubowski, K. M. (1962) An O-toluidine method for body fluid glucose determination. *Clin. Chem.* 8,215.
- Ellenhorn , M. J., Schonwald, S., Ordog, G. & Wasserberger, J. (1997) Respiratory toxicology, in: W. A. Willkins (Ed.) *Ellenhorn's medical toxicology: Diagnosis and treatment of human poisoning*. Baltimore, 1448-1531.
- Fagerstrom, K.O. (1978) Measuring degree of physical dependence to tobacco smoking with reference to individualization of treatment. *Addict Behav*; 3(3-4):235-41.
- Fagerstrom, K. O., Kunze, M., Schoberberger, R., Breslau, N., Hughes, J. R., Hurt, R. D., Puska, P., Ramstrom, L. & Zatonski, W. (1996) Nicotine dependence

- versus smoking prevalence: Comparisons among countries and categories of smokers. *Tob Control*, 5(1), 52-6.
- Farley, J., Loup, D., Nelson, M., Miller, M. J., Taylor, R. & Gray, K. (1998) Transferrin in normal and neoplastic endocervical tissues: Distribution and receptor expression. *Anal Quant Cytol Histol*, 20(4), 238-49.
- Folch Andreu, R. (1950) El tabaco en la historia y en la actualidad. Madrid. Real Academia Nacional de Medicina. 158.
- Fowler, J. S., Logan, J., Wang, G. J. & Volkow, N. D. (2003) Monoamine oxidase and cigarette smoking. *Neurotoxicology*, 24(1), 75-82.
- García Ariño, C. (1996) Otros contaminantes químicos. Síntesis diagnóstica de las enfermedades profesionales producidas por metales, productos químicos y agentes vivos. Barcelona, (Mapfre), 63-183.
- Gokal, R. (1996) The need for standards and audit measures in the treatment of patients with renal failure. *Nephrol Dial Transplant*, 11(2), 234-6.
- Granda Orive, J. I. (2007) El tabaquismo como enfermedad adictiva crónica. En Jiménez-Ruíz C. A. y Fagüerstrom K. O. (eds.). Tratado de tabaquismo. Madrid: Ediciones Ergon; 99-119.
- Gressens, P., Laudénbach, V. & Marret, S. (2003) [mechanisms of action of tobacco smoke on the developing brain]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*, 32(1 Suppl), 1S30-2.
- Grubbs, F. (1969) Procedures for Detecting Outlying Observations in Samples. *Technometrics*, 11(1), pp. 1-21.
- Guyton, A.C., Hall J.E. (1996) Urine formation and the kidneys. In Textbook of Medical Physiology. 9th ed. Philadelphia, Pa.: W.B. Saunders, ;332-5.
- Halimi, J. M. & Mimran, A. (2000) Renal effects of smoking: Potential mechanisms and perspectives. *Nephrol Dial Transplant*, 15(7), 938-40.

- Halimi, J. M., Al-Najjar, A., Buchler, M., Giraudeau, B., Etienne, I., Picou, S., Marliere, J., Nivet, H. & Lebranchu, Y. (2001) [microalbuminuria in hypertensive, non-proteinuric renal transplant recipients: Role of previous acute rejection episodes and sodium intake]. *Arch Mal Coeur Vaiss*, 94(8), 933-6.
- Halimi, J. M., Philippon, C. & Mimran, A. (1998) Contrasting renal effects of nicotine in smokers and non-smokers. *Nephrol Dial Transplant*, 13(4), 940-4.
- Hansen, K. W., Pedersen, M. M., Christiansen, J. S. & Mogensen, C. E. (1994) Night blood pressure and cigarette smoking: Disparate association in healthy subjects and diabetic patients. *Blood Press*, 3(6), 381-8.
- Hartwig, A., Asmuss, M., Ehleben, I., Herzer, U., Kostelac, D., Pelzer, A., Schwerdtle T., and Bürkle A. (2002) Interference by toxic metal ions with DNA repair processes and cell cycle control: molecular mechanisms. *Environ Health Perspect*. 110(Suppl 5): 797–799.
- Hawkins, R. (2011) New biomarkers of acute kidney injury and the cardio-renal syndrome. *Korean J Lab Med*, 31(2), 72-80.
- Hawkins, R. (2011) New biomarkers of acute kidney injury and the cardio-renal syndrome. *Korean J Lab Med*, 31(2), 72-80.
- He, J., Vupputuri, S., Allen, K., Prerost, M. R., Hughes, J. & Whelton, P. K. (1999) Passive smoking and the risk of coronary heart disease, a meta-analysis of epidemiologic studies. *N Engl J Med*, 340(12), 920-6.
- Hegeman, R. L. & Hunsicker, L. G. (1995) Chronic rejection in renal allografts: Importance of cardiovascular risk factors. *Clin Transplant*, 9(2), 135-9.
- Hesse, E. (1907) Der einfluss des rauchens auf den kreislauf. *Deutsches Archiv fur Klinische Medizin*, 89, 565-575.
- Hogan, S. L., Satterly, K. K., Dooley, M. A., Nachman, P. H., Jennette, J. C. & Falk, R. J. (2001) Silica exposure in anti-neutrophil cytoplasmic autoantibody-associated glomerulonephritis and lupus nephritis. *J Am Soc Nephrol*, 12(1), 134-42.



- Ichimura, T., Hung, C. C., Yang, S. A., Stevens, J. L. & Bonventre, J. V. (2004) Kidney injury molecule-1: A tissue and urinary biomarker for nephrotoxicant-induced renal injury. *Am J Physiol Renal Physiol*, 286(3), F552-63.
- Inal, B.B., Oquz, O., Emre, T., Usta, M., Inal, H., Altunoglu, E. & Topkava, C. (2006). Evaluation of MDRD, Cockcroft-Gault, and CKD-EPI formulas in the estimated glomerular filtration rate. *Clin Lab*. 60(10),1685-94.
- Iskander, F. Y., Bauer, T. L. & Klein, D. E. (1986) Determination of 28 elements in american cigarette tobacco by neutron-activation analysis. *Analyst*, 111(1), 107-9.
- Jacob, P., Yu, L., Duan, M., Ramos, L., Yturralde, O. & Benowitz, N. L. (2011) Determination of the nicotine metabolites cotinine and trans-3'-hydroxycotinine in biologic fluids of smokers and non-smokers using liquid chromatography-tandem mass spectrometry: Biomarkers for tobacco smoke exposure and for phenotyping cytochrome p450 2a6 activity. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 879(3-4), 267-76.
- Jacques, P. F., Bostom, A. G., Wilson, P. W., Rich, S., Rosenberg, I. H. & Selhub, J. (2001) Determinants of plasma total homocysteine concentration in the framingham offspring cohort. *Am J Clin Nutr*, 73(3), 613-21.
- Jaffé M. (1886). Über den Niederschlag, welchen Pikrinsäure in normalem Harn erzeugt und über eine neue Reaktion des Kreatinins. *Physiol Chem* 10,391-400.
- Jané, M., Saltó, E., Pardell, H., Tresserras, R., Guayta, R., Taberner, J. L. & Salleras, L. (2002) Prevalencia del tabaquismo en cataluña, 1982-1988: Una perspectiva de género. *Med Clin (Barc)*, 118(3), 81-85.
- Janzon, L., Lindell, S. E., Trell, E. & Larne, P. (1981) Smoking habits and carboxyhaemoglobin. A cross-sectional study of an urban population of middle-aged men. *J Epidemiol Community Health*, 35(4), 271-3.

- Jiménez-Ruiz, C. A. & Fagerström, K. O. (Eds.) (2012) *Tratado de tabaquismo*, (Madrid, Aulamedica).
- Jorgensen L., Jenssen T., Ahmed L., Bjornerem A., Joakimsen R., Jacobsen BK. (2007). Albuminuria and risk of nonvertebral fractures. *Arch Int Med*. 167:1379-85
- Joseph, A. M., Hecht, S. S., Murphy, S. E., Carmella, S. G., Le, C. T., Zhang, Y., Han, S. & Hatsukami, D. K. (2005) Relationships between cigarette consumption and biomarkers of tobacco toxin exposure. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 14(12), 2963-8.
- Kearney P. M., Whelton M., Reynolds K., Whelton P. K., He J. (2004). Worldwide prevalence of hypertension: a systematic review. *Hypertens*. Jan; 22(1):11-9.
- Keller, C. K., Bergis, K. H., Fliser, D. & Ritz, E. (1996) Renal findings in patients with short-term type 2 diabetes. *J Am Soc Nephrol*, 7(12), 2627-35.
- Kendler, K. S., Neale, M. C., Sullivan, P., Corey, L. A., Gardner, C. O. & Prescott, C. A. (1999) A population-based twin study in women of smoking initiation and nicotine dependence. *Psychol Med*, 29(2), 299-308.
- Khuder, S. A. (2001) Effect of cigarette smoking on major histological types of lung cancer: A meta-analysis. *Lung Cancer*, 31(2-3), 139-48.
- Klaasen, C. D. & Watkins, J. B. (2001) Efectos tóxicos de metales. En: M.G.H. Interamericana (Ed.) *Manual de toxicología*. México DF, 659-722.
- Klag, M. J., Whelton, P. K., Randall, B. L., Neaton, J. D., Brancati, F. L., Ford, C. E., Shulman, N. B. & Stamler, J. (1996) Blood pressure and end-stage renal disease in men. *N Engl J Med*, 334(1), 13-8.
- Kodama, M., Kaneko, M., Aida, M., Inoue, F., Nakayama, T. & Akimoto, H. (1997) Free radical chemistry of cigarette smoke and its implication in human cancer. *Anticancer Res*, 17(1A), 433-7.

- Kunzle, R., Mueller, M. D., Hanggi, W., Birkhauser, M. H., Drescher, H. & Bersinger, N. A. (2003) Semen quality of male smokers and nonsmokers in infertile couples. *Fertil Steril*, 79(2), 287-91.
- Lamb, E. J., Tomson, C. R. & Roderick, P. J. (2005) Estimating kidney function in adults using formulae. *Ann Clin Biochem*, 42(Pt 5), 321-45.
- Lameire, N. H., Flombaum, C. D., Moreau, D. & Ronco, C. (2005) Acute renal failure in cancer patients. *Ann Med*, 37(1), 13-25.
- Lane, B. R. (2013) Molecular markers of kidney injury. *Urol Oncol*, 31(5), 682-5.
- Larsen, L. G., Clausen, H. V. & Jonsson, L. (2002) Stereologic examination of placentas from mothers who smoke during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*, 186(3), 531-7.
- Leavey, S. F., Strawderman, R. L., Young, E. W., Saran, R., Roys, E., Agodoa, L. Y., Wolfe, R. A. & Port, F. K. (2000) Cross-sectional and longitudinal predictors of serum albumin in hemodialysis patients. *Kidney Int*, 58(5), 2119-28.
- Lekuona Goya, I., Salcedo Arruti, A., Morillas Bueno, M. & Umaran Sánchez, J. (2009) Tabaco y enfermedad arterial no coronaria. Intervenciones para el abandono del hábito tabáquico *Rev Esp Cardiol* 9, 39-48.
- Leshner, A. I. (2001) Nicotine addiction. Research report series. National institute on drug abuse. Nih publication number 01-4342.
- Leufkens, A. M., Van Duijnhoven, F. J., Siersema, P. D., Boshuizen, H. C., Vrieling, A., Agudo, A., Gram, I. T., Weiderpass, E., Dahm, C., Overvad, K., Tjonneland, A., Olsen, A., Boutron-Ruault, M. C., Clavel-Chapelon, F., Morois, S., Palli, D., Grioni, S., Tumino, R., Sacerdote, C., Mattiello, A., Herman, S., Kaaks, R., Steffen, A., Boeing, H., Trichopoulou, A., Lagiou, P., Trichopoulos, D., Peeters, P. H., Van Gils, C. H., Van Kranen, H., Lund, E., Dumeaux, V., Engeset, D., Rodriguez, L., Sanchez, M. J., Chirlaque, M. D., Barricarte, A., Manjer, J., Almquist, M., Van Guelpen, B., Hallmans, G., Khaw, K. T., Wareham, N., Tsilidis, K. K., Straif, K., Leon-Roux, M., Vineis, P., Norat, T.,

- Riboli, E. & Bueno-De-Mesquita, H. B. (2011) Cigarette smoking and colorectal cancer risk in the european prospective investigation into cancer and nutrition study. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 9(2), 137-44.
- Levey, A. S., Eckardt K. U., Tsukamoto Y. (2005). Definition and classification of chronic kidney disease: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int*, 67:2089-100.
- Levey, A. S., Greene, T., Beck, G. J., Caggiula, A. W., Kusek, J. W., Hunsicker, L. G. & Klahr, S. (1999) Dietary protein restriction and the progression of chronic renal disease: What have all of the results of the mdrd study shown?. Modification of diet in renal disease study group. *J Am Soc Nephrol*, 10(11), 2426-39.
- Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal. BOE 14 de diciembre de 1999, núm 298, pág 43088-43099.
- Liu, M., Li, X. C., Lu, I., Cao, Y., Sun, R. R., Chen, S., Zhang, P. Y. (2014) Cardiovascular disease and its relationship with chronic kidney disease. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 18: 2918-2926.
- Luo, J., Margolis, K. L., Wactawski-Wende, J., Horn, K., Messina, C., Stefanick, M. L., Tindle, H. A., Tong, E. & Rohan, T. E. (2011) Association of active and passive smoking with risk of breast cancer among postmenopausal women: A prospective cohort study. *BMJ*, 342, d1016.
- Martensson J., Martling C. R., Bell M. (2012). Novel biomarkers of acute kidney injury and failure: clinical applicability. *Br J Anaesth Dec*;109(6):843-50.
- Martín Ruiz, A., Rodríguez Gómez, I., Rubio, C., Revert, C. & Hardisson, A. (2004) Efectos tóxicos del tabaco. *Revista Española de Toxicología*, 21, 64-71.
- Matsui, Y., Kario, K., Ishikawa, J., Hoshide, S., Eguchi, K. & Shimada, K. (2005) Smoking and antihypertensive medication: Interaction between blood pressure reduction and arterial stiffness. *Hypertens Res*, 28(8), 631-8.

- Matsumoto, K., Oki, A., Furuta, R., Maeda, H., Yasugi, T., Takatsuka, N., Hirai, Y., Mitsuhashi, A., Fujii, T., Iwasaka, T., Yaegashi, N., Watanabe, Y., Nagai, Y., Kitagawa, T. & Yoshikawa, H. (2010) Tobacco smoking and regression of low-grade cervical abnormalities. *Cancer Sci*, 101(9), 2065-73.
- Mehran, R. & Nikolsky, E. (2006) Contrast-induced nephropathy: Definition, epidemiology, and patients at risk. *Kidney Int Suppl*, 100), S11-5.
- Merkel, F., Pullig, O., Marx, M., Netzer, K. O. & Weber, M. (1994) Course and prognosis of anti-basement membrane antibody (anti-bm-ab)-mediated disease: Report of 35 cases. *Nephrol Dial Transplant*, 9(4), 372-6.
- Michael-Pittilo, R. (2000) Cigarette smoking, endothelial injury and cardiovascular disease. *Int J Exp Pathol*, 81(4), 219-30.
- Moreno Arnedillo, J. J. & Herrero García De Osma, F. J. (2003) *Programa para dejar de fumar*, (2 edn) (Madrid, Área de Salud y Consumo. Departamento de Salud).
- Morita, H., Ikeda, H., Haramaki, N., Eguchi, H. & Imaizumi, T. (2005) Only two-week smoking cessation improves platelet aggregability and intraplatelet redox imbalance of long-term smokers. *J Am Coll Cardiol*, 45(4), 589-94.
- Muhlhauser, I. (1994) Cigarette smoking and diabetes: An update. *Diabet Med*, 11(4), 336-43.
- Murin, S. & Bilello, K. S. (2005) Respiratory tract infections: Another reason not to smoke. *Cleve Clin J Med*, 72(10), 916-20.
- Nashmi, R., Dickinson, M. E., Mckinney, S., Jareb, M., Labarca, C., Fraser, S. E. & Lester, H. A. (2003) Assembly of alpha4beta2 nicotinic acetylcholine receptors assessed with functional fluorescently labeled subunits: Effects of localization, trafficking, and nicotine-induced upregulation in clonal mammalian cells and in cultured midbrain neurons. *J Neurosci*, 23(37), 11554-67.

## BIBLIOGRAFÍA

---

- Nathan D.M., Rosenbaum C., Protasowicki V.D. (1987). Single-void urine samples can be used to estimate quantitative micro albuminuria. *Diabetes Care*; 10: 414-418.
- Nguyen, M. T. & Devarajan, P. (2008) Biomarkers for the early detection of acute kidney injury. *Pediatr Nephrol*, 23(12), 2151-7.
- Nickolas, T. L., O'rourke, M. J., Yang, J., Sise, M. E., Canetta, P. A., Barasch, N., Buchen, C., Khan, F., Mori, K., Giglio, J., Devarajan, P. & Barasch, J. (2008) Sensitivity and specificity of a single emergency department measurement of urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin for diagnosing acute kidney injury. *Ann Intern Med*, 148(11), 810-9.
- Noras, S. A., Petrache, I. & García J., G. N. (2007) Cigarette smoking, emphysema and lung endothelium, in: R. Sockley (Ed.) *Chronic obstructive pulmonary disease*. . Massachussets (USA), 300-307.
- OMS (2008) Organización mundial de la salud. Un plan de medidas para hacer retroceder la epidemia del tabaquismo.
- OMS, 2015, Nota descriptiva n.º 339, Julio de 2015.
- Orth, S. R. & Hallan, S. I. (2008) Smoking: A risk factor for progression of chronic kidney disease and for cardiovascular morbidity and mortality in renal patients--absence of evidence or evidence of absence? *Clin J Am Soc Nephrol*, 3(1), 226-36.
- Orth, S. R. & Ritz, E. (2002a) Adverse effect of smoking on renal function in the general population: Are men at higher risk? *Am J Kidney Dis*, 40(4), 864-6.
- Orth, S. R. & Ritz, E. (2002b) The renal risks of smoking: An update. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 11(5), 483-8.
- Orth, S. R. (2000a) Smoking a renal risk factor. *Nephron*, 86(1), 12-26.
- Orth, S. R. (2000b) Smoking a risk factor for progression of renal disease. *Kidney Blood Press Res*, 23(3-5), 202-4.

- Orth, S. R. (2002a) Cigarette smoking: An important renal risk factor - far beyond carcinogenesis. *Tob Induc Dis*, 1(2), 137-55.
- Orth, S. R. (2002b) Smoking and the kidney. *J Am Soc Nephrol*, 13(6), 1663-72.
- Orth, S. R. (2004) Effects of smoking on systemic and intrarenal hemodynamics: Influence on renal function. *J Am Soc Nephrol*, 15 Suppl 1(S58-63).
- Orth, S. R., Amann, K., Strojek, K. & Ritz, E. (2001a) Sympathetic overactivity and arterial hypertension in renal failure. *Nephrol Dial Transplant*, 16 Suppl 1(67-9).
- Orth, S. R., Odoni, G., Ogata, H. & Ritz, E. (2000a) Smoking as a risk factor for end-stage renal failure in patients with primary renal disease. *Contrib Nephrol*, 130(109-23).
- Orth, S. R., Ritz, E. & Schrier, R. W. (1997) The renal risks of smoking. *Kidney Int*, 51(6), 1669-77.
- Orth, S. R., Ritz, E. & Suter-Crazzolará, C. (2000b) Glial cell line-derived neurotrophic factor (gdnf) is expressed in the human kidney and is a growth factor for human mesangial cells. *Nephrol Dial Transplant*, 15(5), 589-95.
- Orth, S. R., Viedt, C. & Ritz, E. (2001c) Adverse effects of smoking in the renal patient. *Tohoku J Exp Med*, 194(1), 1-15.
- Orth, S. R., Viedt, C., Amann, K. & Ritz, E. (2001b) Endothelin in renal diseases and cardiovascular remodeling in renal failure. *Intern Med*, 40(4), 285-91.
- Ortiz, F. (1973) Contrapunteo cubano del tabaco y el azúcar. *Ariel Editorial*.
- Owen, W. F., Madore, F. & Brenner, B. M. (1996) An observational study of cardiovascular characteristics of long-term end-stage renal disease survivors. *Am J Kidney Dis*, 28(6), 931-6.
- Patel, R. R., Ryu, J. H. & Vassallo, R. (2008) Cigarette smoking and diffuse lung disease. *Drugs*, 68(11), 1511-27.

## BIBLIOGRAFÍA

---

- Pearl, R. (1928) The rate of living, being an account of some experimental studies, in: A. A. Knopf (Ed.) *Biology of life duration*. New York.
- Pérez-Rial, S., Del Puerto Nevado, L. & Peces-Barba Romero, G. (2010) Epoc: De los factores de riesgo extrínseco a la autoinmunidad. Actualizaciones en la epoc, in: P. Lucas Ramos & A. Álvarez (Eds) *Monografías neumomadrid*. (vol. XV/2010, Madrid, Ergón), 19-30.
- Pérez Trullén, A. (1995) Naturaleza del humo del tabaco. Farmacología de la nicotina. *Arch Bronconeumol* 31, 101-108.
- Peto, R., Lopez, A. D., Boreham, J., Thun, M. & Heath, C., Jr. (1992) Mortality from tobacco in developed countries: Indirect estimation from national vital statistics. *Lancet*, 339(8804), 1268-78.
- Pfeffer, F. & Kaufer-Horwitz, M. (2001) Nutrición del adulto. En: E. M. Panamericana (Ed.) *Nutriología médica*. México DF, 104-119.
- Pickering, J. W. & Endre, Z. H. (2012) The metamorphosis of acute renal failure to acute kidney injury [internet] intech. [actualizado: Marzo de 2012; citado: Noviembre 2015]. Disponible en <http://www.Intechopen.Com.Books/basic-nephrology-and-acute-kidney-injury>.
- Pinto-Sietsma, S. J., Mulder, J., Janssen, W. M., Hillege, H. L., De Zeeuw, D. & De Jong, P. E. (2000) Smoking is related to albuminuria and abnormal renal function in nondiabetic persons. *Ann Intern Med*, 133(8), 585-91.
- Quiros, Y., Ferreira, L., Sancho-Martinez, S. M., Gonzalez-Buitrago, J. M., Lopez-Novoa, J. M. & Lopez-Hernandez, F. J. (2010) Sub-nephrotoxic doses of gentamicin predispose animals to developing acute kidney injury and to excrete ganglioside m2 activator protein. *Kidney Int*, 78(10), 1006-15.
- Real Decreto 1720/2007, de 21 de diciembre, por el que se aprueba el Reglamento de desarrollo de la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de protección de datos de carácter personal. BOE 19 del 01 del 2007, núm 17.



- Reavis A. J., S. & Hansen, K. J. (1995). Renovascular disease in older patients beginning renal replacement therapy. *Kidney Int*, 48(1), 171-6.
- Regalado, M., Yang, S. & Wesson, D. E. (2000) Cigarette smoking is associated with augmented progression of renal insufficiency in severe essential hypertension. *Am J Kidney Dis*, 35(4), 687-94.
- Reid J.L., Morton D.J., Wingard D.L., Garrett M.D., Von Muhlen D., Slymen D., Field M. (2010) Sex and age differences in the association of obesity and smoking with hypertension and type 2 diabetes in Southern California American Indians, 2002-2006. *Ethn Dis.*; 20(3):231-8.
- Ritz, E., Ogata, H. & Orth, S. R. (2000) Smoking: A factor promoting onset and progression of diabetic nephropathy. *Diabetes Metab*, 26 Suppl 4(54-63).
- Rocco, M. V., Soucie, J. M., Reboussin, D. M. & McClellan, W. M. (1996) Risk factors for hospital utilization in chronic dialysis patients. Southeastern kidney council (network 6). *J Am Soc Nephrol*, 7(6), 889-96.
- San-Gallen, R. & Corbella, J. (1995) Gases tóxicos, in: S.-V. I. S.A. (Ed.) *Manual de salud laboral*. Barcelona, 127-140.
- Sauret Valet, J. (1996) Sobre el uso y aplicaciones terapéuticas de la nicotina tabacum (vulgarmente tabaco) durante los siglos XVI-XVIII. *Arch Bronconeumol*, 32, 29-31.
- Sawicki, P. T., Didjurgeit, U., Muhlhauser, I., Bender, R., Heinemann, L., Berger, M. (1994) Smoking is associated with progression of diabetic nephropathy. *Diabetes Care*, 17: 126–131.
- Shears, L. L., Kawaharada, N., Tzeng, E., Billiar, T. R., Watkins, S. C., Kovesdi, I., Lizonova, A. & Pham, S. M. (1997) Inducible nitric oxide synthase suppresses the development of allograft arteriosclerosis. *J Clin Invest*, 100(8), 2035-42.
- Shemesh, O., Golbetz, H., Kriss, J. P. & Myers, B. D. (1985) Limitations of creatinine as a filtration marker in glomerulopathic patients. *Kidney Int*, 28(5), 830-8.

## BIBLIOGRAFÍA

---

- Silverman, S., Gorsky, M. & Lozada, F. (1984) Oral leukoplakia and malignant transformation. A follow-up study of 257 patients. *Cancer*, 53(3), 563-8.
- Sirota, J. C., Klawitter, J. & Edelstein, C. L. (2011) Biomarkers of acute kidney injury. *J Toxicol*, 2011(328120).
- Smith, C. J., Perfetti, T. A., Morton, M. J., Rodgman, A., Garg, R., Selassie, C. D. & Hansch, C. (2002) The relative toxicity of substituted phenols reported in cigarette mainstream smoke. *Toxicol Sci*, 69(1), 265-78.
- Solano Reina, S., Jiménez, C. A. & Riesco Miranda, J. A. (2002) *Manual del tabaquismo*, (Barcelona, Separ. Masson.).
- Star, R. A. (1998) Treatment of acute renal failure. *Kidney Int*, 54(6), 1817-31.
- Stegmayr, B. G. (1990) A study of patients with diabetes mellitus (type 1) and end-stage renal failure: Tobacco usage may increase risk of nephropathy and death. *J Intern Med*, 228(2), 121-4.
- Stengel, B., Couchoud, C., Cenee, S. & Hemon, D. (2000) Age, blood pressure and smoking effects on chronic renal failure in primary glomerular nephropathies. *Kidney Int*, 57(6), 2519-26.
- Stevens, L. A. & Levey, A. S. (2005) Measurement of kidney function. *Med Clin North Am*, 89(3), 457-73.
- Sung, R. S., Althoen, M., Howell, T. A., Ojo, A. O. & Merion, R. M. (2001) Excess risk of renal allograft loss associated with cigarette smoking. *Transplantation*, 71(12), 1752-7.
- Talamini, R., Polesel, J., Gallus, S., Dal Maso, L., Zucchetto, A., Negri, E., Bosetti, C., Lucenteforte, E., Boz, G., Franceschi, S., Serraino, D. & La Vecchia, C. (2010) Tobacco smoking, alcohol consumption and pancreatic cancer risk: A case-control study in Italy. *Eur J Cancer*, 46(2), 370-6.

- Taub, P. R., Borden, K. C., Fard, A. & Maisel, A. (2012) Role of biomarkers in the diagnosis and prognosis of acute kidney injury in patients with cardiorenal syndrome. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 10(5), 657-67.
- Telmer, S., Christiansen, J. S., Andersen, A. R., Nerup, J. & Deckert, T. (1984) Smoking habits and prevalence of clinical diabetic microangiopathy in insulin-dependent diabetics. *Acta Med Scand*, 215(1), 63-8.
- To-Figueras, J. (1999) Tabaco y cáncer: De la asociación epidemiológica a la evidencia molecular. *Med Clin*, 112,589-594.
- Urbschat, A., Obermuller, N. & Haferkamp, A. (2011) Biomarkers of kidney injury. *Biomarkers*, 16 Suppl 1S,22-30.
- US, DHHS (2014) U.S. Department of health and human services. The health consequences of smoking—50 years of progress: A report of the surgeon general. Atlanta: U.S. Department of health and human services, centers for disease control and prevention, national center for chronic disease prevention and health promotion, office on smoking and health, 2014 [accessed 2014 may 5].
- Vaidya, V. S., Shankar, K., Loc, E. A., Bucci T. J., Mehendale H.M. (2003) Role of tissue repair in survival from s-(1-2-dichlorovinyl)-L-cysteine-induced acute renal tubular necrosis in the mouse. *Toxicol. Sci.* 74:215–27.
- Vaidya, V. S., Waikar, S. S., Ferguson, M. A., Collings, F. B., Sunderland, K., Gioules, C., Bradwin, G., Matsouaka, R., Betensky, R. A., Curhan, G. C. & Bonventre, J. V. (2008) Urinary biomarkers for sensitive and specific detection of acute kidney injury in humans. *Clin Transl Sci*, 1(3), 200-8.
- Van Klaveren, R. J. & Nemery, B. (1999) Role of reactive oxygen species in occupational and environmental obstructive pulmonary diseases. *Curr Opin Pulm Med*, 5(2), 118-23.
- Van Timmeren, M. M., Vaidya, V. S., Van Ree, R. M., Oterdoom, L. H., De Vries, A. P., Gans, R. O., Van Goor, H., Stegeman, C. A., Bonventre, J. V. & Bakker, S. J.

- (2007) High urinary excretion of kidney injury molecule-1 is an independent predictor of graft loss in renal transplant recipients. *Transplantation*, 84(12), 1625-30.
- Vargas Marcos, Francisco, 2015. Documento Marco sobre Enfermedad Renal Crónica (ERC) dentro de la Estrategia de Abordaje a la Cronicidad en el SNS. FEBRERO 2015.
- Vicente-Vicente, L., Ferreira, L., Gonzalez-Buitrago, J. M., Lopez-Hernandez, F. J., Lopez-Novoa, J. M. & Morales, A. I. (2013) Increased urinary excretion of albumin, hemopexin, transferrin and vdbp correlates with chronic sensitization to gentamicin nephrotoxicity in rats. *Toxicology*, 304(83-91).
- Vicente-Vicente, L., Sanchez-Juanes, F., Garcia-Sanchez, O., Blanco-Goza, V., Pescador, M., Sevilla, M. A., Gonzalez-Buitrago, J. M., Lopez-Hernandez, F. J., Lopez-Novoa, J. M. & Morales, A. I. (2015) Sub-nephrotoxic cisplatin sensitizes rats to acute renal failure and increases urinary excretion of fumarylacetoacetase. *Toxicol Lett*, 234(2), 99-109.
- Von Der Leyen, H. E., Gibbons, G. H., Morishita, R., Lewis, N. P., Zhang, L., Nakajima, M., Kaneda, Y., Cooke, J. P. & Dzau, V. J. (1995) Gene therapy inhibiting neointimal vascular lesion: In vivo transfer of endothelial cell nitric oxide synthase gene. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 92(4), 1137-41.
- Waikar, S. S. & Bonventre, J. V. (2008) Biomarkers for the diagnosis of acute kidney injury. *Nephron Clin Pract*, 109(4), c192-7.
- Wakai, K., Kawamura, T., Matsuo, S., Hotta, N. & Ohno, Y. (1999) Risk factors for iga nephropathy: A case-control study in japan. *Am J Kidney Dis*, 33(4), 738-45.
- Waring, W.S., Moonie, A. (2011) Earlier recognition of nephrotoxicity using novel biomarkers of acute kidney injury. *Clin Toxicol (Phila)* Oct;49(8):720-8.
- Whelton, A. (1999) Nephrotoxicity of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: physiologic foundations and clinical implications. *Am J Med* 106: 13S-23S.

- Whelton, P. K., Perneger, T. V., He, J. & Klag, M. J. (1996) The role of blood pressure as a risk factor for renal disease: A review of the epidemiologic evidence. *J Hum Hypertens*, 10(10), 683-9.
- WHO (1992) The world health organization. The icd-10 classification of mental and behavioural disorders. Geneva
- WHO (2004) The world health organization. Neuroscience of psychoactive substance use and dependence, washington 2004, p43. Consultada en noviembre de 2015. Disponible en url:  
[Http://www.Paho.Org/spanish/ad/ths/mh/neuroscience-book](http://www.Paho.Org/spanish/ad/ths/mh/neuroscience-book).
- WHO (2014) The world health organization report on the global tobacco epidemic. Country profile spain, 2014.
- Wilkins, J. N., Carlson, H. E., Van Vunakis, H., Hill, M. A., Gritz, E. & Jarvik, M. E. (1982) Nicotine from cigarette smoking increases circulating levels of cortisol, growth hormone, and prolactin in male chronic smokers. *Psychopharmacology (Berl)*, 78(4), 305-8.
- Wolf, G. (2002) The effect of low and high doses of beta-carotene and exposure to cigarette smoke on the lungs of ferrets. *Nutr Rev*, 60(3), 88-90.
- Wright, E.M. (2001) Renal Na-glucose transporters. *Am J Physiol Renal Physiol*;280:F10-F18.
- Wynder, E. L. (1954) Tobacco as cause of lung cancer with special reference to the infrequency of lung cancer among non-smokers. *Pa Med J*, 57(1073-1083).
- Xu, S., Venge, P. (2000) Lipocalins as biochemical markers of disease. *Biochim Biophys Acta*. 1482: 298–307.
- Yamaguchi, Y., Kagota, S., Haginaka, J. & Kunitomo, M. (2000) Peroxynitrite-generating species: Good candidate oxidants in aqueous extracts of cigarette smoke. *Jpn J Pharmacol*, 82(1), 78-81.

## BIBLIOGRAFÍA

---

- Yaqoob, M., Bell, G. M., Percy, D. F. & Finn, R. (1992) Primary glomerulonephritis and hydrocarbon exposure: A case-control study and literature review. *Q J Med*, 83(301), 409-18.
- Yoshie, Y. & Ohshima, H. (1997) Synergistic induction of DNA strand breakage by cigarette tar and nitric oxide. *Carcinogenesis*, 18(7), 1359-63.
- Zappacosta, B., Persichilli, S., Mordente, A., Minucci, A., Lazzaro, D., Meucci, E. & Giardina, B. (2002) Inhibition of salivary enzymes by cigarette smoke and the protective role of glutathione. *Hum Exp Toxicol*, 21(1), 7-11.
- Zaragoza, J. R. & Llanos, M. (1980) *Tabaco y salud*, (Madrid, AC Colección Alfa Temas).
- Zhou, Y., Vaidya, V. S., Brown, R. P., Zhang, J., Rosenzweig, B. A., Thompson, K. L., Miller, T. J., Bonventre, J. V. & Goering, P. L. (2008) Comparison of kidney injury molecule-1 and other nephrotoxicity biomarkers in urine and kidney following acute exposure to gentamicin, mercury, and chromium. *Toxicol Sci*, 101(1), 159-70.