

Tesi doctoral presentada per En/Na

Antonio GIMENEZ LLORT

amb el títol

**"Púrpura de Schölein-Henoch
y estrés oxidativo"**

per a l'obtenció del títol de Doctor/a en

MEDICINA I CIRURGIA

Barcelona, 13 de febrer de 2004.

Facultat de Medicina
Departament de Obstetrícia i Ginecologia,
Pediatría, Radiología i Medicina Física



UNIVERSITAT DE BARCELONA



INDICE	pag.
1. Introducción.....	3
1.1. Púrpura de Schönlein-Henoch.....	3
1.2. Estrés oxidativo.....	9
1.3. Radicales libres.....	10
1.4. Enzimas antioxidantes.....	14
1.5. Púrpura de Schönlein-Henoch y nefropatía por IgA. Su relación con el estrés oxidativo.....	23
1.6. Estrés oxidativo y radicales libres, su comportamiento en el riñón.....	25
2. Hipótesis	31
3. Objetivos	35
4. Material y métodos	39
4.1. Material.....	41
4.1.1. Pacientes.....	41
4.1.2. Controles.....	49
4.2. Métodos.....	51
4.2.1. Diseño del trabajo.....	51
4.2.2. Enzimas antioxidantes.....	51
4.2.2.1. Determinación de la actividad de glutathione peroxidasa en eritrocitos.....	51
4.2.2.2. Determinación de la actividad de glutathione reductasa en eritrocitos.....	53
4.2.2.3. Determinación de la actividad de superóxido dismutasa en eritrocitos.....	55
4.2.2.4. Determinación de la actividad de catalasa en eritrocitos.....	56
4.2.3. Sustancias antioxidantes.....	58
4.2.3.1. Determinación de ubiquinona en plasma.....	58
4.2.3.2. Determinación de retinol en plasma.....	61
4.2.3.3. Determinación de tocoferol en plasma.....	62
4.2.3.4. Determinación de ácido ascórbico en plasma.....	64
4.2.4. Marcador de peroxidación lipídica.....	66

4.2.4.1. Determinación de malondialdehído en plasma.....	66
4.3. Métodos estadísticos.....	67
4.3.1. Análisis descriptivo.....	67
4.3.2. Análisis de la varianza.....	68
4.3.3. Comparación entre los grupos.....	68
5. Resultados.....	71
5.1. Enzimas antioxidantes.....	76
5.1.1. Glutacion peroxidasa.....	76
5.1.2. Glutacion reductasa.....	83
5.1.3. Superóxido dismutasa.....	92
5.1.4. Catalasa.....	99
5.2. Sustancias antioxidantes.....	107
5.2.1. Ubiquinona.....	107
5.2.2. Coenzima Q.....	115
5.2.3. Retinol.....	123
5.2.4. Tocoferol.....	130
5.2.5. Acido ascórbico.....	137
5.3. Marcador de la peroxidación lipídica.....	145
5.3.1. Malondialdehído.....	145
6. Discusión.....	153
7. Resumen.....	171
8. Conclusiones	181
9. Bibliografía.....	185
10. Listado de abreviaturas.....	197

Introducción

1. Introducción

1.1. Púrpura de Schönlein-Henoch:

La enfermedad de Schönlein-Henoch es una enfermedad multisistémica que afecta principalmente a vasos de pequeño calibre de la piel, articulaciones, sistema digestivo y riñón; raramente se pueden afectar otros órganos ⁽¹⁾.

En 1837 Schönlein fue el primero en describir la asociación de púrpura y artralgias denominándola púrpura reumática ⁽²⁾. Henoch treinta y siete años después refiere un síndrome formado por púrpura, dolor abdominal cólico grave y melena, asociado en tres de sus cuatro pacientes con dolores "seudo-reumatológicos" en tobillos y muñecas ⁽³⁾. Heberden en 1801 describió un paciente de cinco años con dolor abdominal, vómitos, melenas, dolores articulares, petequias, equimosis y hematuria ⁽⁴⁾. Osler atribuye los síntomas referidos a anafilaxia y se introduce el término púrpura anafilactoide ⁽⁵⁾.

La púrpura es la manifestación clínica más frecuente de la enfermedad de Schönlein-Henoch junto con artralgias y dolor abdominal de tipo cólico, se considera la vasculitis más frecuente en la infancia; afecta generalmente a niños entre tres y catorce años sin predominio de sexo.

De 1978 a 2002 se diagnosticaron en el Hospital Sant Joan de Déu 756 niños con púrpura de Schönlein-Henoch, de los cuales 144 evolucionaron con afectación renal (19%) ⁽⁶⁾. La edad media de presentación en nuestra serie fue de 7 años y 2 meses, predominando ligeramente los pacientes de sexo masculino (52%). En nuestra serie se constató un predominio de la presentación de la nefropatía en el periodo estacional otoño-invierno. No se pudo implicar la complicación renal de la púrpura a ningún tipo de infección y en especial la

estreptocócica. La clínica inicial de la nefropatía consecutiva a la púrpura fué:

- a. Hematuria aislada: 40 casos (27%)
- b. Hematuria-proteinuria no rango nefrótico: 65 casos (45%)
- c. Síndrome nefrótico: 28 casos (19%)
- d. Síndrome nefrítico: 7 casos (4%)
- e. Síndrome nefrítico-nefrótico: 4 casos (2%).

En estos pacientes se efectuaron 36 biopsias renales donde se objetivó (Cuadro 1):

- Lesiones glomerulares mínimas: 4 casos.
- Proliferación mesangial: 13 casos.
- Semilunas <50%: 14 casos.
- Semilunas 50-75%: 1 caso.
- Semilunas >75%: 2 casos.
- Glomerulonefritis pseudomesangiocapilar: 2 casos.

De nuestra serie tan solo dos evolucionaron a insuficiencia renal crónica y precisaron trasplante renal. (cuadro 1)

Aunque en la bibliografía la nefropatía oscila entre el 20 y 60% según la relación de la población y el método de valoración de la nefropatía ^(7,8). La afectación renal va a condicionar el pronóstico de la enfermedad de Schönlein-Henoch.

La patogenia de la enfermedad es desconocida. Se han referido varios factores tales como reacciones de hipersensibilidad a antígenos inespecíficos, procesos infecciosos (estreptococo beta hemolítico del grupo A y Mycoplasma pneumoniae) y mecanismos inmunológicos por el hallazgo de inmunocomplejos circulantes de IgA, que se depositan en el mesangio de los glomérulos, vasos cutáneos e intestinales ^(9, 10).

Se ha referido nefropatía de Schönlein-Henoch en varios miembros de una familia (padre-hijo, hermanos), asociación con antígenos de histocompatibilidad HLA BW35, casos con deficiencia hereditaria de la fracción C₂ del complemento, todo lo cual hace pensar en la existencia de factores genéticos hereditarios ⁽¹¹⁾. En nuestra serie presentaron púrpura con afectación renal dos parejas de hermanos ⁽⁶⁾.

Cuadro 1. Correlación clínico-patológica en nuestros casos:

	remisión clínica	clínica mínima renal	nefropatía persistente	insuf. renal terminal	total
Lesiones glomerulares mínimas	4	-	-	-	4
Proliferación mesangial	11	2	-	-	13
Semilunas <50%	13	-	1	-	14
Semilunas >50%	1	-	-	2	3
Pseudo-mesangio-capilar	1	-	1	-	2
Total	30	2	2	2	36

Se ha relacionado la púrpura de Schönlein-Henoch con antígenos de histocompatibilidad, encontrando asociación con HLA B12, BW34 y B37 de la clase I y HLA DR 2 y DR 4 de la clase II y recientemente se ha relacionado sin consistencia, con DQB 1, DQW 7, DWB 3b (DQ7), DQB (DQW 4/8-9) ⁽¹²⁾.

Diferentes estudios sugieren que la enfermedad de Schönlein-Henoch está mediada por inmunocomplejos de tipo IgA, como son el aumento de la IgA circulante en los tres primeros meses de la enfermedad, los depósitos de IgA y C₃ en los vasos de la piel afectada y sana adyacente y el aumento de los linfocitos portadores de IgA. La alteración del

mecanismo regulador de la síntesis de IgA, como respuesta a la estimulación de los distintos antígenos durante la fase aguda de la enfermedad, facilitando la formación de inmunocomplejos IgA, cuyo depósito en mesangio y capilares glomerulares facilita el desarrollo de la nefropatía en la enfermedad de Schönlein-Henoch ⁽⁸⁾.

La activación del complemento por la vía alternativa tiene un papel fundamental en la patogenia de esta enfermedad, por lo que se han detectado depósitos glomerulares de C₃ y properdina, el complejo C₅₋₉, en ausencia de C₁₉ y C₄ ⁽⁸⁾.

La frecuente asociación de los pacientes con nefropatía de Schönlein-Henoch con infecciones respiratorias y digestivas en el inicio o recurrencia de la hematuria, sugiere origen viral o bacteriano de la enfermedad. De hecho se han identificado a nivel glomerular, anticuerpos contra el virus de Epstein-Barr, adenovirus, herpes simple, citomegalovirus y haemophilus parainfluenzae ⁽¹⁴⁾.

No existe tratamiento efectivo para la púrpura ni para la complicación renal, tampoco se ha comprobado efectividad de los corticoides ⁽⁸⁾. En las glomerulonefritis rápidamente progresivas, se ha efectuado tratamiento con bolus de metil-prednisolona, ciclofosfamida y plasmaféresis habiendo sido la respuesta dispar ⁽⁸⁾. También se ha efectuado tratamiento de la complicación renal con antiagregantes plaquetarios, rifampicina, I-ECA y ciclosporina A, sin haber evidencias claras de buenos resultados ⁽⁸⁾. Cuando los pacientes con complicación renal evolucionan a insuficiencia renal crónica terminal son subsidiarios de trasplante renal. El índice de recidivas de la enfermedad en la fase posterior al trasplante es muy variable. Se han hallado depósitos de IgA en biopsias renales de niños trasplantados con ausencia total de sintomatología.

1.2. Estrés oxidativo:

El estrés oxidativo se define como la pérdida de equilibrio entre la generación de oxidantes y la actividad antioxidante a favor de los oxidantes o también como el efecto nocivo que se produce en el organismo cuando hay un aumento de degradación de los hidratos de carbono, grasas y proteínas provocado por radicales libres.

Los sistemas antioxidantes pueden ser endógenos y exógenos, los cuales limitan la actividad y producción de los radicales libres de oxígeno (ROS) manteniendo el sistema bajo control. Los endógenos más importantes son: las enzimas superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa. El sistema de glutatión como antioxidante está formado por el glutatión reducido y por la actividad de la enzima glutatión reductasa que reduce el glutatión oxidado; la transferrina y la ceruloplasmina se consideran proteínas antioxidantes. Los sistemas antioxidantes exógenos más significativos son: las vitaminas A, C, E y algunos metales como el cobre y el selenio, éste último actúa como cofactor de la enzima glutatión peroxidasa ^(15,16,17).

Para valorar el estrés oxidativo existen medidores directos e indirectos, a pesar de que los radicales libres son difíciles de medir por su reactividad (cuadro 2).

Cuadro 2: Marcadores directos del estrés oxidativo.

Lípidos	<i>Malondialdehido</i>
Ácidos nucleicos	<i>8-oxo-deoxiguanosina</i>
Proteínas	<i>Orto-tirosina</i> <i>Meta-tirosina</i> <i>Dinitro-tirosina</i>

El malondialdehido (MDA) informa principalmente de la peroxidación lipídica en base a que los hidroperóxidos lipídicos se descomponen fácilmente y se pueden medir por varias técnicas, la más utilizada para

medir el malondialdehído es a partir de la reacción con el ácido tiobarbitúrico. El MDA se considera un aldehído tóxico que propagaría la cadena de peroxidación.

El 8-oxo-deoxiguanosina tiene un papel mutagénico importante. Al existir diferentes sistemas de reparación del DNA, éstos contribuyen a aumentar los niveles de 8-oxo-deoxiguanosina en orina que, a la vez, es un marcador directo del estrés oxidativo.

También se han descrito como marcadores directos del estrés oxidativo la orto-tirosina, la meta-tirosina y la dinitro-tirosina.

Los marcadores indirectos del estrés oxidativo están relacionados con el estado de los enzimas y sustancias antioxidantes que proporcionan información del estrés oxidativo, como puede ser la disminución de vitaminas y oligoelementos que puede ser debida a un déficit de consumo en los alimentos o a un consumo elevado.

Un aumento del estrés oxidativo puede estar producido por tres condicionantes:

- a) Un aumento mantenido de los radicales libres de oxígeno o de nitrógeno que superarían los mecanismos de defensa.
- b) Una disminución de la defensa antioxidante
- c) La acción conjunta de ambos mecanismos provocaría un daño oxidativo crónico.

1.3. Radicales libres:

Las principales sustancias oxidantes en los sistemas biológicos son los radicales libres. Se considera un radical libre cualquier molécula que contenga uno o más electrones sin aparear derivados del oxígeno también denominados ROS (reactive oxygen species) por su actividad. La mayor parte de estas sustancias derivan del anión superóxido (O_2^-). Tal anión proviene de la cadena respiratoria y se produce continuamente por la membrana interna de la mitocondria en

cantidades pequeñas. Esta situación cambia en respuesta a un estímulo, aumentando la producción de este anión superóxido (O_2^-) a través de la NADPH oxidasa (Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato oxidasa).

La NADPH oxidasa de los fagocitos (leucocitos y monocitos) se estimula por mediadores pro-inflamatorios como el C_{5a} , interleucinas, factor de necrosis tumoral, bacterias, endotoxinas, etc. Cuando se forma el superóxido se transforma inmediatamente mediante la superóxido dismutasa en peróxido de hidrógeno (H_2O_2) que puede seguir tres vías:

- a) El peróxido de hidrógeno (H_2O_2) se metaboliza en oxígeno y agua.
- b) En presencia de hierro puede formar un radical hidroxilo altamente tóxico para las células provocando la peroxidación lipídica y produciendo rotura o mutación del DNA.
- c) En presencia de cloro, a través del sistema enzimático de la mieloperoxidasa de los leucocitos, se forma ácido hipocloroso (anión hipoclorito). El ácido hipocloroso es el radical más tóxico y la especie más reactiva formada por los fagocitos. Su efecto tóxico actúa también sobre células normales pudiendo oxidar lípidos y proteoglicanos de las membranas celulares. Intracelularmente inhibe los citocromos con lo que se interrumpe la cadena respiratoria.

En el metabolismo aerobio se producen constantemente pequeñas cantidades de sustancias reactivas de oxígeno (ROS), incluyendo radicales hidroxilo (OH), aniones superóxido (O_2^-) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2) como respuesta a estímulos externos e internos. Mínimas concentraciones de ROS son indispensables en muchos procesos como son el sistema de señales intracelulares, la inmunidad y la defensa contra microorganismos. En cambio, las altas dosis o la eliminación inadecuada de ROS dan lugar a estrés oxidativo que puede

provocar graves disfunciones metabólicas y alteraciones en macromoléculas biológicas.

El estrés oxidativo aparece en los tejidos cuando existe una perturbación del equilibrio entre las sustancias prooxidantes y antioxidantes a favor de las primeras. Es un efecto adverso que se produce en la sangre y tejidos de los organismos vivos cuando existe un incremento de la degradación de sus moléculas causadas por radicales libres. Esta lesión oxidativa cuando se produce en moléculas de gran importancia biológica como son las proteínas, lípidos, hidratos de carbono y ácidos nucleicos puede provocar alteraciones importantes como la disminución de la elasticidad de membrana, mutaciones, hasta llegar a producir la muerte celular. Las principales sustancias oxidantes en los sistemas biológicos son los radicales libres derivados del oxígeno (ROS) que son especies intermedias de las reacciones químicas y que se diferencian de otras especies químicas porque tienen orbitales con electrones desapareados, lo que las hace ser inestables y reactivas y su avidez por electrones para completar el orbital, hace que sus ataques a otras estructuras moleculares sean altamente destructivos. Entre los radicales libres derivados del oxígeno destacan: el anión superóxido (O_2^-), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el radical hidroxilo (OH^-), el óxido nítrico (NO). Los radicales libres son difíciles de detectar, identificar y cuantificar debido a su reactividad ya que su elevación es muy rápida. Esta reactividad es la responsable de su toxicidad.

El anion superóxido (O_2^-) es el resultado de la reacción del oxígeno con las proteínas que contienen hierro y azufre y también con la ubiquinona parcialmente reducida y el citocromo b del complejo III. Otra fuente importante de O_2^- son los fagocitos activados que producen una gran cantidad de O_2^- como mecanismo protector frente a organismos extraños.

El peróxido de hidrógeno (H_2O_2) se produce por la dismutación de O_2 , existiendo mecanismos de detoxificación del H_2O_2 efectuados por la

catalasa y glutatión peroxidasa que lo transforman en agua. Está considerado el radical libre menos reactivo pero dispone de una vida media más larga.

El radical libre más activo y con mayor capacidad para alterar moléculas es el hidroxilo (OH^\cdot), por tanto una producción excesiva de este radical puede provocar efectos nocivos importantes.

Por último, dentro del grupo de los radicales libres está el óxido nítrico (NO) que es producido por el endotelio vascular. El exceso de dicho radical puede ser tóxico para el organismo.

La actividad de los ROS está aumentada en los procesos inflamatorios, en casos de hiperoxia, el mecanismo isquemia-perfusión, el metabolismo de algunas drogas y la exposición a radiaciones⁽¹⁸⁾.

Los ácidos grasos poliinsaturados que son muy abundantes en todas las células, al ponerse en contacto con los ROS, inician una cascada de reacciones a la que se le da el nombre de "lipoperoxidación" y que pueden producir alteraciones en las membranas biológicas. Los ROS con las proteínas provocan una oxidación de los restos laterales de aminoácidos que se traduce en una pérdida o modificación de la función biológica que desempeñan. La relación con los ácidos nucleicos se localiza en las bases nitrogenadas que al ser oxidadas pueden ocasionar mutaciones⁽¹⁹⁾.

Las células circulantes infiltrantes como granulocitos, monocitos, macrófagos y plaquetas están implicadas en procesos inflamatorios renales tales como glomerulonefritis, vasculitis (Schönlein-Henoch) y pielonefritis estimulando la producción de grandes cantidades de ROS⁽¹⁶⁾. Los estímulos que favorecen la producción de ROS en los neutrófilos son las bacterias, inmunocomplejos, fracción 5 del complemento (C_5), factor activador de las plaquetas (PAF) y la interleucina 1 (IL-1). Las proteínas de Tamm-Horsfall y los ANCAS (anticuerpos anticitoplasmáticos) pueden lograr la producción de ROS

tanto en los neutrófilos como en los macrófagos. Cabe destacar que en las plaquetas la producción de ROS se realiza durante el metabolismo del ácido araquidónico.

1.4. Enzimas antioxidantes:

Una de las consecuencias del estrés oxidativo es la peroxidación lipídica cuya prevención es fundamental en todos los organismos aerobios, ya que los productos derivados de este proceso pueden interactuar con el DNA, siendo potencialmente mutágenos. Los epóxidos formados pueden reaccionar espontáneamente con centros nucleofílicos en la célula o unirse a los ácidos nucleicos (DNA y RNA). Esta reacción puede ocasionar citotoxicidad, alergia, mutagénesis o carcinogénesis, dependiendo de las propiedades del epóxido. Hay una amplia variedad de sustancias de defensa antioxidante, tanto enzimáticas como no, que se unen para proteger al organismo de los riesgos que conlleva el estrés oxidativo. Entre ellas destacan superóxido dismutasa (SOD), glutathion peroxidasa (GPX) y catalasa (CAT), además del ácido ascórbico (Vit. C), alfa-tocoferol (Vit. E), glutathion (GSH), betacaroteno (Vit. A), flavonoides y ácidos fenólicos.

Las altas dosis o una elevación inadecuada de ROS dan lugar a estrés oxidativo, que pueden causar graves disfunciones metabólicas y daño a macromoléculas biológicas, existiendo una relación entre los niveles de las enzimas antioxidantes y los tres tipos de moléculas mensajeras (factores de crecimiento, prostaglandinas y óxido nítrico) implicadas en la homeostasis celular, es decir, un equilibrio entre el mantenimiento de las condiciones estáticas o constantes en el medio interno celular y el nivel de ROS.

En los organismos aerobios existen una gran variedad de sistemas de defensa antioxidante, tanto enzimáticos como no enzimáticos (cuadro 3) que se coordinan para proteger al organismo del estrés oxidativo.

Cuadro 3: Sistemas de defensa antioxidante

Enzimáticos	Superóxido dismutasa (SOD) Glutation peroxidasa (GPX) Catalasa (CAT) Glutation reductasa (GR)
<p>No enzimáticos</p> <p style="text-align: center;">Endógenos</p> <hr/> <p style="text-align: center;">Exógenos</p> <p style="text-align: center;">Vitaminas</p> <hr/> <p style="text-align: center;">Oligoelementos</p>	<p>Glutation</p> <p>Ubiquinona</p> <p>Ácido úrico</p> <p>Proteínas</p> <hr/> <p>Ácido ascórbico (vit. C)</p> <p>Alfa tocoferol (vit. E)</p> <p>Betacaroteno</p> <p>Vitamina A</p> <p>Flavonoides</p> <p>Ácidos fenólicos</p> <hr/> <p>Selenio (Se)</p> <p>Cobre (Cu)</p> <p>Zinc (Zn)</p> <p>Manganeso (Mn)</p>

Glutation peroxidasa (GPX)

La glutacion peroxidasa está formada por cuatro subunidades idénticas y cada una de ellas contiene un residuo de seleniocisteína que es esencial para su actividad enzimática. Comparte su sustrato con la catalasa, además puede reaccionar de modo efectivo con tejidos y otros hiperóxidos orgánicos, catalizando la reducción de diferentes hiperóxidos (ROOH y H₂O₂) usando glutacion reducido (GSH), contribuyendo a la protección de células de mamíferos contra el daño oxidativo.

Se han detectado cinco isoenzimas de GPX en mamíferos. La GPX citosólica o mitocondrial (GPX₁) reduce los hiperóxidos de ácidos

grasos y el H_2O_2 a expensas del glutathion. La GPX_1 y la GPX_4 (PHGPX o fosfolípido hiperóxido GPX) se encuentran en más tejidos. La GPX_4 se localiza tanto en la fracción citosólica como en la membrana. La GPX_1 se encuentra predominantemente en eritrocitos, riñón e hígado, mientras que la GPX_4 se halla mayoritariamente en células epiteliales renales y en los testículos. La GPX_2 citosólica (GPX-G1) y la GPX_3 extracelular (GPX-P) se detectan escasamente en la mayoría de los tejidos, excepto en el tracto intestinal y el riñón respectivamente. Se ha detectado un nuevo isoenzima GPX_5 que no guarda relación con el selenio y se expresa específicamente en el epidídimo del ratón.

El ciclo redox del glutathion es la mayor fuente de protección contra bajos niveles de estrés oxidativo. En células animales y especialmente en eritrocitos humanos la principal enzima antioxidante para la detoxificación de H_2O_2 es la GPX ya que la catalasa presenta mucha menos afinidad para el H_2O_2 .

Glutathion reductasa (GR)

La glutathion reductasa es una enzima que reduce el glutathion oxidado mediante la nicotina adenina dinucleótido fosfato (NADPH). Guarda relación con la riboflavina, de modo que su actividad es un marcador del estado nutricional de esta vitamina. Reduce el peróxido y, en general, todos los hidroperóxidos orgánicos tipo R-OOH. Esta última requiere un donante de hidrógeno para actuar que es el glutathion reducido (GSH). Un aumento en la disponibilidad y velocidad de recambio del GSH en las células es un factor importante para la efectividad de los mecanismos que las protegen contra radicales libres y peróxidos. El GSH está involucrado en procesos importantes como:

- Protección de las enzimas tiónicas microsomales y la catepsina.
- Protección de la exoquinasa (en condiciones de baja concentración de GSH, esta enzima reduce su actividad y así disminuye también la síntesis de ATP).

- Participación en los procesos de respiración de los núcleos celulares a través del sistema GSH-ácido ascórbico.

El GSH actúa en procesos básicos de detoxificación celular como:

- Reacción glioxálica
- Secuencia catabólica de aminoácidos aromáticos.
- Dehidrogenación de formaldehído a ácido fórmico.
- Detoxificación a través de biosíntesis de ácidos mercaptúricos con bajo consumo de ATP.

El GSH y síntesis protéica:

- Suministro trans-membrana de aminoácidos a través de la gamma-glutamyl-transpeptidasa de membrana.
- Promoción de la reducción de ribonucleótidos a precursores de DNA.
- Estimulación de la síntesis de DNA.
- Mantenimiento de la estructura doble hélice del DNA, matriz de la síntesis protéica.

El nivel de GSH elevado se mantiene elevado por el NADPH (vía de las pentosas) y la actividad de la glutathion reductasa.

Superóxido dismutasa (SOD)

La superóxido dismutasa representa la primera línea de defensa. Cataliza la reacción de destrucción de los radicales superóxido mediante su transformación en peróxido de hidrógeno, que, a su vez, puede ser destruido por las actividades de la catalasa o de la glutathion peroxidasa. Se han aislado cuatro clases de SOD: una de ellas contiene un cofactor con dos átomos metálicos, uno de cobre y otro de zinc. Las demás contienen cofactores mononucleares de hierro, manganeso o níquel.

En humanos existen tres tipos de SOD: Mn-SOD mitocondrial, Cu/Zn-SOD citosólica y la SOD extracelular (EC-SOD). La importancia biológica de la Mn-SOD se ha demostrado por los siguientes hechos:

1. La inactivación de los genes de Mn-SOD en E. Coli aumenta la frecuencia de mutaciones cuando las bacterias crecen bajo condiciones aerobias.
2. La eliminación del gen en *Saccharomyces cerevisiae* aumenta su sensibilidad al oxígeno.
3. La falta de expresión de la enzima en ratones transgénicos puede ocasionar miocardiopatías y elevada mortalidad neonatal.
4. El factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) induce selectivamente el mRNA de Mn-SOD, pero no el de Cu/Zn-SOD, CAT o GPX en tejidos de ratón y en células cultivadas.
5. La expresión de genes humanos de Mn-SOD en ratones transgénicos los protege de lesiones pulmonares inducidas por oxígeno y toxicidad cardiaca inducida por adriamicina.

El contenido de Mn-SOD en tejidos humanos es aproximadamente la mitad del contenido de Cu/Zn-SOD, pero aún así es esencial para la supervivencia de la vida aerobia y el desarrollo de resistencia celular a la toxicidad inducida por las sustancias reactivas de oxígeno. Hay que señalar que la Mn-SOD existe en todos los tumores y la relación de actividades Cu/Zn-SOD/ Mn-SOD no se diferencia de la encontrada en tejidos normales, los tumores poseen menos Cu/Zn-SOD que los tejidos metabólicamente más activos. La Mn-SOD es esencial para la vida, hecho que no ocurre con la Cu/Zn-SOD.

La actividad de la Cu/Zn-SOD se encuentra incrementada en un 50% en todas las células de los individuos con síndrome de Down. Los pacientes con síndrome de Down están sometidos a mayor estrés oxidativo, lo que justificaría un mayor estado antioxidante para paliar el daño fisiológico derivado de especies reactivas de oxígeno.

Catalasa (CAT)

La catalasa es una enzima tetramérica, con cuatro subunidades idénticas dispuestas tetraédricamente, conteniendo cuatro grupos de ferro-protoporfirina por molécula. Es una de las enzimas más eficaces, tanto que no puede ser saturada por H_2O_2 a ninguna concentración, catalizando su conversión en H_2O y O_2 , para proteger a las células del H_2O_2 que se genera en su interior.

El H_2O_2 se cataboliza enzimáticamente en organismos aerobios por la catalasa y otras peroxidasas. La catalasa tiene un papel importante en la adquisición de tolerancia al estrés oxidativo en la respuesta de adaptación de las células. La catalasa captura el H_2O_2 antes de que pueda escapar de la célula y lo convierte en oxígeno molecular, dicho enzima es importante a la hora de proteger el organismo contra el estrés oxidativo grave.

Ubiquinona

Las ubiquinonas son un grupo de quinonas homólogas que están distribuidas en animales, plantas y microorganismos. La ubiquinona es un lípido de síntesis endógena; procede de dos moléculas diferentes: una, la quinona, procede del aminoácido tirosina por medio de diferentes reacciones enzimáticas que utilizan coenzimas esenciales (vitaminas hidrosolubles) y, la otra, la cadena lateral, procede del acetil-coenzima A, a través de la vía del mevalonato, común a la síntesis del colesterol. ⁽²¹⁾ La forma reducida de la ubiquinona es el ubiquinol, que es un antioxidante eficaz frente a los radicales libres y regenera antioxidantes como la vitamina E oxidada. Se han referido acciones de la ubiquinona en la fosforilación oxidativa mitocondrial, en el crecimiento celular y en la formación de vesículas de secreción.

La coenzima Q (CoQ) es la forma predominante de ubiquinona en el hombre; dicho enzima es un conductor en la cadena mitocondrial respiratoria así como un importante antioxidante intracelular. La CoQ tiene una cadena lateral de diez unidades de isoprenoides que le da el

nombre CoQ₁₀ ⁽⁹⁷⁾. En varias enfermedades se han referido niveles bajos de CoQ a nivel sanguíneo y tisular. La mayoría de las investigaciones clínicas se han enfocado a enfermedades cardiovasculares, específicamente la insuficiencia cardiaca congestiva. La valoración de la coenzima Q está basada generalmente en medidas plasmáticas, éstas están influenciadas por un número de factores fisiológicos y pueden no representar concentraciones celulares; plaquetas, linfocitos y fibroblastos pueden ser buenas alternativas para esta medida.

Vitamina A (Retinol)

La vitamina A puede derivar del retinol de origen animal y del que proviene de los carotenos de distintos vegetales. Las principales fuentes de vitamina A son aceites de hígado de algunos pescados, hígado de mamíferos y leche. Existe en los vegetales en forma de caroteno (provitamina). Tiene una función importante en la visión. En forma de ácido retinoico, la vitamina A, es eficaz en el tratamiento del acné y otras afecciones dermatológicas.

Vitamina E (Alfa-tocoferol)

La vitamina E bloquea la reacción en cadena de la peroxidación lipídica. Las fuentes alimentarias son pescado azul, vegetales, yema de huevo.

La vitamina E tiene importancia como antioxidante en el sistema nervioso central. El daño oxidativo y la peroxidación lipídica pueden jugar un papel en la patogenia de la púrpura de Schönlein-Henoch pero, dar vitamina E una vez iniciada la peroxidación lipídica, que es la última fase del daño celular, no es útil para frenar las reacciones de la cadena oxidativa que ya se han desencadenado ⁽²²⁾. Está presente en las membranas celulares y protege a los lípidos de la oxidación

uniendo los radicales hidroxilos formando una proteína sin actividad metabólica tóxica.

Vitamina C (Ácido ascórbico)

La vitamina C se encuentra dentro y fuera de la célula, limpiando los radicales hidroxilos y los aniones superóxido formando ácido dehidroascórbico que es limpiado por el glutatión. Acción antioxidante directa sobre O_2 y OH. Se obtiene a través de la dieta. Fuentes de ascórbico son frutas y verduras.

Riboflavina

La riboflavina es un antioxidante cuyo papel va unido a la glutatión reductasa. Ambas son responsables del reciclaje del glutatión oxidado. La riboflavina es importante en el crecimiento corporal, la producción de glóbulos rojos y en la liberación de energía de los carbohidratos.

Las fuentes alimentarias son: la leche y sus derivados, los huevos, la carne magra, las legumbres, las nueces, las verduras; los panes y los cereales se encuentran a menudo suplementados con riboflavina.

Los niveles séricos de riboflavina se miden mediante la determinación del coeficiente de activación de la glutatión reductasa eritrocitaria, aunque se discute sobre los puntos de corte más apropiados para considerar valores normales de dicho coeficiente.

Los adolescentes, que son vulnerables a la influencia de ciertos patrones estéticos, pueden padecer deficiencias de riboflavina. Los cambios producidos en el estilo de vida y en los hábitos alimentarios, conducen a consumir dietas bajas en energía y con baja densidad de nutrientes, consecuentemente provocan en el organismo deficiencias subclínicas de estos micro-nutrientes. En los países con abundancia de alimentos pueden aparecer deficiencias de riboflavina, especialmente

en los grupos de alto riesgo como adolescentes, mujeres embarazadas, ciertos tipos de vegetarianos, ancianos, habitantes de zonas rurales. En este apartado es importante incidir en que los lácteos son el grupo de alimentos que contribuye de un modo relevante a la ingesta dietética de riboflavina.

Oligoelementos

Dentro de este grupo es importante destacar el papel del selenio en forma de seleniocisteína que en la glutatión peroxidasa provoca la reducción del peróxido de hidrógeno y los hidroperóxidos lipídicos en sustancias no nocivas para el organismo; esta función permite mantener la integridad de la membrana, protege la producción de prostaciclina y reduce las posibilidades de iniciar el daño oxidativo. A partir de las plantas el selenio entra en la cadena alimentaria.

La superóxido dismutasa extracelular está disminuida en los pacientes con niveles bajos de zinc en plasma, lo que hace pensar que la actividad de la SOD puede ser un buen indicador del zinc. También se ha referido que el zinc disminuido puede estar relacionado con un aumento de la peroxidación lipídica y por tanto un suplemento de zinc podría llegar a inhibir la peroxidación.

En referencia al manganeso, bajos niveles plasmáticos de dicho oligoelemento produciría una disminución de la actividad de la Mn-SOD, que provocaría un aumento de la peroxidación lipídica.

El cobre cuando está disminuido en ratas provoca una disminución de la actividad de la Cu/Zn-SOD reduciendo consecuentemente la capacidad de defensa antioxidante en los órganos con esta deficiencia. La cisteína, taurina y metionina limpian selectivamente el ácido hipocloroso y las cloraminas. Ácido úrico, glucosa y manitol pueden neutralizar algunos agentes oxidantes. La ferritina, transferrina y ceruloplasmina pueden tener efecto antioxidante por secuestro de

metales de transición (hierro) e impedir la formación de radicales hidroxilos.

Es importante resaltar el equilibrio orgánico de los oligoelementos para conseguir un óptimo sistema antioxidante.

1.5. Púrpura de Schönlein-Henoch y nefropatía por IgA. Su relación con el estrés oxidativo.

La nefropatía por IgA fue descrita por primera vez en 1968 por Berger e Hinglass en adultos con hematuria en los cuales se demostraron depósitos mesangiales de IgA ⁽¹⁵⁾. Se considera a la nefropatía por IgA y la nefropatía de Schönlein-Henoch como las glomerulonefritis primarias más frecuentes en el mundo. Ambas entidades se consideran similares desde el punto de vista de afectación renal con la diferencia de que la nefropatía por IgA no presenta lesiones de vasculitis extrarrenales ^(24,25). En el cuadro 4 exponemos las similitudes inmunopatológicas entre las dos entidades.

La nefropatía de Schönlein-Henoch y la nefropatía por IgA representan en Japón ⁽²⁶⁾, Francia ⁽²⁷⁾, Italia ⁽²⁴⁾, y Australia ⁽²⁸⁾ del 18 al 40% de las enfermedades glomerulares primarias.

La nefropatía por IgA y la nefropatía de la púrpura de Schönlein-Henoch son enfermedades por inmunocomplejos (Ag + Ac (IgA) + C₃), observándose la presencia de IgA y de C₃ en el mesangio y también lo confirman los inmunocomplejos compuestos por IgA. La IgA pertenece a la subclase 1 que representa el 90% de la IgA sérica total. Se ha identificado la pieza J que une las dos IgA, pero no la secretora ⁽¹²⁾.

Se ha identificado una hiperactividad de la angiotensina II en pacientes con daño renal progresivo, lo que sugiere que la activación del sistema renina-angiotensina puede estar asociada a la progresión de la nefropatía por IgA ⁽¹³⁾.

En los últimos años la nefropatía por IgA se ha relacionado con radicales libres de oxígeno y mecanismos antioxidantes⁽²⁹⁾,

demostrándose que en adultos con nefropatía por IgA a los que se administraban suplementos de aceite de pescado durante dos años se retrasaba la pérdida de función renal pero no la desaparición de proteinuria⁽²⁹⁻³¹⁾.

Cuadro 4. Similitudes inmunopatológicas entre nefropatía por IgA y nefropatía de Schönlein-Henoch

	Nefropatía por IgA.	Nefropatía de Schönlein-Henoch
Depósitos glomerulares	IgA	IgA
Depósitos en piel	IgA	IgA (incluye afectación cutánea)
IgA sérica total	↑ (50-70%)	↑ (50%)
Polímeros de IgA	↑	↑
Inmunocomplejos IgA circulantes	↑	↑
Factores reumatoides IgA	presentes	presentes
Aclaramiento de IgA	alterado	?
Respuesta IgA a la inmunización sistémica	exagerada	?
Respuesta IgA a la inmunización mucosa	reducida	?
Recurrencia tras el trasplante renal	50%	común

Se ha sugerido que un suplemento de vitamina E como sustrato antioxidante puede interferir en procesos de glomerulopatías experimentales en ratas que podrían corresponder a lesiones evolutivas por nefritis de Schönlein-Henoch o nefropatía por IgA⁽³²⁻³⁴⁾. Se ha encontrado una elevación del óxido nítrico sérico y de la excreción del nitrato urinario en los pacientes con púrpura de Schönlein-Henoch, este aumento se ha asociado más con la actividad de la enfermedad que con la gravedad⁽³⁵⁾.

En la nefropatía por IgA experimental en ratas destaca la influencia del alfa-tocoferol, mitigando el daño renal, reduciendo la proteinuria y, a la vez, frenando el progreso de la enfermedad al fallo renal crónico, sugiriendo que aportes de vitamina E en la dieta del niño podrían incidir en la progresión de la nefropatía ^(29, 36). Dermicin y colaboradores ⁽³⁷⁾ revelan el papel del daño oxidativo en la patogénesis y desarrollo de las manifestaciones renales de la púrpura de Schönlein-Henoch, indicando que el grado de estrés oxidativo con pruebas no invasivas permite determinar la afectación renal en la púrpura de Schönlein-Henoch. Los pacientes de alto riesgo pueden ser tratados con un agente antioxidante para prevenir manifestaciones graves. Así se puede reducir la posibilidad de un fallo renal crónico debido a la púrpura disminuyendo la morbilidad de la enfermedad. En un futuro otras investigaciones que incluyan mayor número de pacientes y midan la actividad antioxidante en los tejidos, junto con los resultados de una terapéutica antioxidante pueden desarrollar nuevas intervenciones terapéuticas en el tratamiento de la enfermedad de Schönlein-Henoch ⁽³⁷⁾. Se ha intentado clarificar el papel de los radicales libres de oxígeno, enzimas y sustratos antioxidantes en la presencia del daño parenquimatoso renal en la nefropatía de Schönlein-Henoch mediante el estudio del comportamiento de la superóxido dismutasa, que actuaría provocando una disminución del anión superóxido (O_2^-) haciendo que el tejido renal sea más vulnerable al estrés oxidativo ⁽³⁸⁾.

1.6. Estrés oxidativo y radicales libres. Su comportamiento en el riñón:

No están claros los mecanismos subyacentes de la evolución de la insuficiencia renal crónica, entre otras causas porque el riñón responde de manera similar ante distintos tipos de agresión. De este modo múltiples mecanismos patogénicos, confluyen en una esclerosis o deterioro final en la que las células y estructuras renales han sido sustituidas por fibroblastos, colágeno y matriz mesenquimal, siendo imposible configurar cual ha sido la causa de la insuficiencia renal

crónica terminal ⁽³⁹⁾. Algunos de los factores que influyen en el deterioro de la función renal en la púrpura de Schönlein-Henoch y en otras enfermedades renales son: la hipertensión arterial, proteinuria al inicio no de rango nefrótico y posteriormente de rango nefrótico, la ingesta protéica diaria y la afectación histológica a nivel glomerular. La hipertensión arterial tiene efectos sistémicos en el riñón y puede iniciar el desarrollo de la enfermedad renal o acelerar la pérdida de función en el riñón previamente dañado, por lo tanto el control de la función renal en pacientes con o sin proteinuria reduce el desarrollo de la enfermedad renal; en este apartado la contribución del uso de hipotensores inhibidores del enzima conversor de la angiotensina ha sido esencial ^(13, 40). El grado de proteinuria es un indicador de la lesión glomerular, pero también la proteinuria contribuye a la progresión de muchas enfermedades renales ⁽⁴⁰⁾. La restricción protéica enlentece la progresión a insuficiencia renal terminal, aunque la disminución de aporte proteico en la dieta de los niños puede afectar el crecimiento de éstos. La hipertrofia glomerular va asociada al desarrollo de la glomérulo esclerosis en las nefronas restantes. Se atribuye tanto a razones hemodinámicas como a factores de crecimiento ⁽³⁹⁾.

El estrés oxidativo se señala como un importante mediador en muchas entidades clínicas: carcinogénesis, arteriosclerosis, enfermedades cardiovasculares e hipertensión arterial, enfermedades neurodegenerativas y envejecimiento ^(18,19). En el siguiente cuadro (cuadro 5) exponemos las enfermedades implicadas con los ROS y enzimas antioxidantes conocidas hasta la actualidad, excluyendo las enfermedades renales sobre todo nefropatía de Schönlein-Henoch y nefropatía por IgA que se expondrán a continuación.

En la actualidad el estrés oxidativo se considera como factor determinante a tener en cuenta en la patogenia de la progresión de la insuficiencia renal crónica.

Cuadro 5.- Enfermedades implicadas con los ROS y enzimas antioxidativos

Alergia	Asma bronquial ^(41,42) Intolerancia a la aspirina ⁽⁴³⁾ Intolerancia a alimentos ⁽⁴⁴⁾
Cáncer	Vejiga ⁽⁴⁵⁾ Colo-rectal ⁽⁴⁵⁾ Esofágico ⁽⁴⁶⁾ Renal ⁽⁴⁵⁾ Leucemia ⁽⁴⁷⁾ Hepático ⁽⁴⁵⁾ Pulmonar ⁽⁴⁵⁾ Prostático ⁽⁴⁸⁾ Piel ⁽⁴⁹⁾
Corazón y vascular	Ateroesclerosis ⁽⁵⁰⁾ Isquemia ^(51,52)
Enfermedades genéticas y metabólicas	Enfermedad granulomatosa crónica ⁽⁵³⁾ Diabetes mellitus ⁽⁵⁴⁾ Síndrome de Down ⁽⁵⁵⁾
Enfermedades infecciosas	Hepatitis ⁽⁵⁶⁾ HIV ⁽⁵⁷⁾ Influenza virus ⁽⁵⁸⁾ Artritis reumatoide ⁽⁵⁹⁾
Enfermedades neurodegenerativas	Enfermedad de Alzheimer ⁽⁶⁰⁾ Esclerosis lateral amiotrófica ⁽⁶¹⁾ Enfermedad de Parkinson ⁽⁶²⁾
Problemas oftalmológicos	Catarata ⁽⁶³⁾ Glaucoma ⁽⁶⁴⁾

En el ámbito de la nefrología el estrés oxidativo está implicado en situaciones clínicas y experimentales como:

- Enfermedades glomerulares: glomerulonefritis membranosa, nefropatía por IgA, nefropatía de Schönlein-Henoch,

glomerulonefritis antimembrana basal glomerular, síndrome nefrótico con lesiones glomerulares mínimas ^(41,37,20), nefropatía lúpica, glomerulonefritis postestreptocócica ^(20,65).

- Insuficiencia renal aguda post-isquémica o inducida por fármacos como acetaminofeno, aminoglucósidos y cefalosporinas ⁽⁶⁶⁾, la superóxido dismutasa también se ha estudiado en pacientes con insuficiencia renal aguda intentando obtener un valor predictivo del curso clínico ⁽⁶⁷⁾, los niveles de SOD estaban elevados en los pacientes con insuficiencia renal aguda y sugieren que podría usarse como marcador del daño renal.
- Alteraciones asociadas al trasplante ⁽⁶⁸⁾.
- Uropatía obstructiva y pielonefritis ⁽⁶⁹⁾.
- Deterioro funcional del riñón e insuficiencia renal crónica ^(67,15,16).

En pacientes con diversos grados de insuficiencia renal crónica se ha observado un aumento de estrés oxidativo en comparación con grupos control de pacientes sanos. El grado de estrés oxidativo, por otra parte, guarda relación con el grado de insuficiencia renal crónica, según sea leve, moderada ó terminal ^(70,71).

Los mecanismos por los que los ROS pueden intervenir en la progresión de la enfermedad renal son los siguientes:

- Hemodinámicamente al dañar las propiedades que caracterizan al glomérulo.
- Induciendo respuestas de crecimiento aberrante.
- Induciendo la pérdida de fenotipo celular y la apoptosis.
- Promoviendo respuestas inflamatorias agudas y crónicas: los oxidantes pueden regular la adhesión de moléculas, mediadores proinflamatorios, la trascrición de factores y citocinas fibrogénicas que están implicadas en el desarrollo de la enfermedad renal ⁽⁷²⁾.
- Cuando se produce una pérdida de masa renal (independientemente de la causa) hay un aumento del consumo

de oxígeno en las nefronas de la zona sana lo que condiciona el aumento del estrés oxidativo que puede perjudicar a dichas nefronas^(73,74).

Por lo tanto, en condiciones basales puede existir un daño permanente inducido por los ROS que, en determinadas circunstancias, puede agravarse por un aumento de la producción de ROS y también del metabolismo a nivel local.

En procesos como glomerulonefritis, procesos microtrombóticos mesoangiopáticos (síndrome hemolítico-urémico), toxicidad por fármacos y radiaciones, los ROS pueden provocar edema, descamación del endotelio, denudación de la membrana basal, trombos y fusión de los pedicelos lo que desde el punto de vista funcional conduce a un aumento de la permeabilidad glomerular y a la vez pérdida de proteínas por la orina y cambios hemodinámicos intraglomerulares. También existen alteraciones a nivel del túbulo como aumento de la permeabilidad, alteración del potencial transmembrana y una respuesta proliferativa, observándose en tóxicos tubulares como gentamicina y cisplatino.

Estudios efectuados en ratas por Meng y cols⁽⁷⁵⁾ relacionan los niveles de superóxido dismutasa renal con el daño renal en ratas con hipertensión arterial sal-sensibles y sal-resistentes, llegando a la conclusión que las ratas con hipertensión sal-sensibles presentan una marcada disminución en la SOD medular renal y un mayor estrés oxidativo y daño renal que en las ratas sal-resistentes.

El selenio es un cofactor del enzima antioxidante glutathion -peroxidasa y su déficit provoca una disminución de la actividad de dicho enzima, provocando un aumento del estrés oxidativo. En ratas se ha objetivado que un déficit de selenio puede provocar proteinuria y esclerosis glomerular y suplementos de selenio y vitamina E previenen la proteinuria provocada por aminoglicósidos⁽⁷⁶⁾. En la nefropatía

diabética se ha evidenciado que el déficit de selenio y vitamina E puede incidir en la fisiopatología de dicha enfermedad ^(74,75).

Los ROS son mediadores en el daño vascular en la hipertensión arterial, por tanto en la elección de un hipotensor hay que tener en cuenta qué fármacos del grupo I-ECAS (inhibidores del enzima convertidor de la angiotensina) han demostrado tener efecto antioxidante además del efecto hipotensor. El hierro es un sustrato para la producción de ROS dada su adaptación para oxidarse o reducirse y su poder catalítico en la reacción de Haber-Weiss generadora de radicales hidroxilo ^(16,78). En ratas con insuficiencia renal crónica progresiva se ha visto que las que seguían una dieta baja en hierro desarrollaban menos proteinuria y menos esclerosis glomerular. Experimentalmente también se ha observado el beneficio de las dietas pobres en hierro y los quelantes del hierro para amortiguar la fibrosis túbulo-intersticial ⁽⁷⁹⁾.

Los ROS se implican en el daño renal progresivo y se basan en varias líneas de evidencia:

- a) La producción de ROS está aumentada en la insuficiencia renal crónica
- b) Distintas estrategias antioxidantes tienen efectos beneficiosos en modelos de daño renal crónico
- c) El estrés oxidativo puede provocar en un riñón sano cambios similares a los vistos en insuficiencia renal crónica ⁽⁷²⁾.

Todas las células que configuran la estructura renal tanto a nivel vascular (endoteliales y musculares lisas) como a nivel glomerular (endotelio y mesangio), tubular (proximal, distal y colector) pueden producir ROS ante determinados estímulos como fármacos, hipertensión arterial, radiaciones o presión de oxígeno aumentada.

Hipótesis

2. Hipótesis

La enfermedad de Schönlein-Henoch puede ponerse de manifiesto en forma de diversos cuadros sindrómicos de evolución variable y a menudo impredecible. A pesar de ser una enfermedad conocida desde hace más de cien años, su etiología continúa siendo desconocida habiéndose relacionado con factores infecciosos, inmunológicos e incluso genéticos como desencadenantes. Asimismo, los factores que determinan la distinta evolución de los pacientes con enfermedad de Schönlein-Henoch no se conocen bien. Recientemente, se ha demostrado que los factores de riesgo oxidativo juegan un papel fundamental en el daño vascular.

Últimamente y con una bibliografía muy escasa, en especial en el campo pediátrico, se han querido incriminar **factores del riesgo oxidativo como influyentes en las lesiones de los vasos sanguíneos que se muestran en el núcleo central del problema.**

Nos ha parecido realmente sugerente la hipótesis dado el multitropismo de las manifestaciones de la enfermedad y la gran complejidad, diversidad y ubicuidad de los mecanismos de producción y neutralización de los radicales oxidativos que se producen de modo continuo en los tejidos por la cadena respiratoria tisular, por las reacciones inmunitarias y por otras muchas funciones metabólicas y del equilibrio homeostático.

En este contexto, es lógico pensar que los mecanismos del estrés oxidativo podrían jugar un papel determinante de la aparición del síndrome y, sobre todo, en su evolución y la aparición de su complicación más importante como es la nefropatía.

La hipótesis que planteamos en el presente trabajo es que el estrés oxidativo está implicado en la presentación de la púrpura de Schönlein-Henoch y en la nefropatía de Schönlein-Henoch.

Objetivos

3. Objetivos:

1. Estudiar el papel del daño oxidativo en la patogénesis y desarrollo de la púrpura de Schönlein-Henoch.
2. Estudiar la implicación de los agentes antioxidantes (glutathion peroxidasa, glutathion reductasa, superóxido dismutasa, catalasa, ubiquinona, coenzima Q, malondialdehido, vitamina A, vitamina C, vitamina E) en el desarrollo de la púrpura de Schönlein-Henoch en sus fases de actividad y remisión.
3. Estudiar la implicación de los agentes antioxidantes en la nefropatía de Schönlein-Henoch.

Material y métodos

4.1. Material:

Criterios de inclusión:

1. Haber padecido o estar padeciendo una púrpura de Schönlein-Henoch.
2. Haber presentado o no complicación renal en el curso de la púrpura de Schönlein-Henoch.

Criterios de exclusión:

1. Padecer otra patología renal.
2. Estar padeciendo una enfermedad infecciosa en el momento del estudio.
3. Presentar una enfermedad crónica.
4. Padecer una enfermedad metabólica.

4.1.1. Pacientes

Pacientes de estudio

Se han estudiado 23 pacientes afectos de púrpura de Schönlein-Henoch. Para el diagnóstico de púrpura de Schönlein-Henoch se han utilizado los criterios de la Academia Americana de Reumatología⁽⁸⁰⁾: púrpura palpable, inicio a la edad de 20 años o menos, dolor abdominal agudo, biopsia que muestre granulocitos en las paredes de las arteriolas o vénulas; la presencia de dos o más criterios distingue la púrpura de Schönlein-Henoch de otras vasculitis con una especificidad del 87,7% y una sensibilidad del 87,1%.

La edad media de los pacientes está en 9 años y 1 mes con un rango entre 1 año 6 meses y 18 años 8 meses; sexo: 13 niños y 10 niñas. Ningún paciente recibía medicación durante el estudio.

Los pacientes se han dividido en dos grupos según su afectación renal: (cuadro nº 6)

Grupo A. 12 con complicación renal, solo tres de ellos en remisión de su nefropatía.

Grupo B. 11 afectados de púrpura de Schönlein-Henoch sin complicación renal, cinco de ellos en remisión.

Los pacientes del grupo A se clasifican, según su grado de afectación renal en:

Tipo I: hematuria aislada (más de 5 hematíes por campo en el sedimento de orina)

Tipo II: hematuria con proteinuria no rango nefrótico (<40mg/m²/h)

Tipo III: hematuria con síndrome nefrótico (proteinuria >40mg/m²/h)

Tipo IV: síndrome nefrítico (hematuria con proteinuria leve <40mg/ m²/h y uno o más de las siguientes alteraciones: insuficiencia renal, hipertensión arterial y oliguria)

Tipo V: síndrome nefrítico-nefrótico (proteinuria >40mg/m²/h).

De los 12 pacientes 1 correspondía al tipo I, 7 al tipo II y 4 al tipo III, no se observaron casos del tipo IV ni del tipo V.

Cuadro nº 6.- Pacientes estudiados

	Grupo A Con nefropatía	Grupo B Sin nefropatía	<i>Total</i>
Actividad	9	6	15
Remisión	3	5	8
Total	12	11	23

A todos los pacientes tanto con complicación renal (grupo A) o no (grupo B) e independientemente de la fase en que se encontraban (actividad o remisión) se les efectuó la determinación de enzimas antioxidantes (glutathion peroxidasa, glutathion reductasa,

superóxido dismutasa, catalasa) y sustancias antioxidantes (vitamina A, vitamina E, vitamina C, ubiquinona, coenzima Q) y marcadores de peroxidación lipídica (malondialdehído) (tabla I).

Resumen clínico de los pacientes:

Caso 1: ZZZ.

Sexo femenino, etnia china.

Púrpura de Schönlein-Henoch a la edad de 10 años 1 mes, con complicación renal tipo II (proteinuria 10 mg/m²/h, microhematuria).

No tratamiento farmacológico.

Estudio de estrés oxidativo efectuado a los 4 meses de evolución permaneciendo en actividad.

Caso 2: ACC.

Sexo femenino.

Púrpura de Schönlein-Henoch a los 3 años 3 meses con complicación renal tipo II (microhematuria y proteinuria de 15 mg/m²/h).

Tratamiento al inicio de la nefropatía con prednisona durante 3 meses y ranitidina.

Estudio de estrés oxidativo efectuado a los 6 meses de evolución de su púrpura y nefropatía en activo, sin tratamiento.

Hermano afecto de púrpura de Schönlein-Henoch con nefropatía en remisión desde hace 4 años.

Caso 3: LOC.

Sexo femenino.

Púrpura de Schönlein-Henoch a los 7 años 9 meses. No afectación renal.

No recibió tratamiento.

Estudio del estrés oxidativo efectuado a los 4 días del inicio del cuadro.

Caso 4: CTG.

Sexo femenino.

Púrpura de Schönlein-Henoch a los 5 años 2 meses, con complicación renal tipo II (hematuria y proteinuria 33 mg/m²/h).

No recibió tratamiento.

Estudio de estrés oxidativo efectuado a los 2 años 4 meses del inicio de la enfermedad, tras cuatro meses de remisión.

Caso 5: NPG.

Sexo femenino.

Púrpura de Schönlein-Henoch a los 14 años 4 meses sin complicación renal. Enfermedad en activo con episodios de recurrencia hasta la actualidad.

No ha recibido tratamiento.

Estudio de estrés oxidativo efectuado a los 13 meses del inicio, en actividad.

Caso 6: MSM.

Sexo masculino.

Púrpura de Schönlein-Henoch al año y 10 meses sin complicación renal.

No tratamiento.

Estudio de estrés oxidativo efectuado a los 21 días del inicio de la enfermedad, en remisión.

Caso 7: DPC.

Sexo masculino.

Púrpura de Schönlein-Henoch a los 6 años 8 meses sin nefropatía, con púrpura recurrente hasta la actualidad.

No tratamiento

Estudio de estrés oxidativo efectuado a los 8 años 2 meses de evolución de su enfermedad, en actividad.

Hermano afecto (caso 10).

Caso 8: CCV.

Sexo masculino.

Púrpura de Schönlein-Henoch a los 12 años con nefropatía tipo III (hematuria y proteinuria 60 mg/m²/h). Biopsia renal efectuada a los 2 años y 6 meses de evolución de la enfermedad, obteniendo un resultado de proliferación mesangial con depósitos de IgA e IgG.

Tratamiento con prednisona durante 2 meses, no coincidente con el estudio.

Estudio de estrés oxidativo efectuado a los 2 años y medio de evolución.

Caso 9: IPC.

Sexo masculino.

Púrpura de Schönlein-Henoch a los 5 años 4 meses, sin complicación renal.

No tratamiento.

Estudio de estrés oxidativo efectuado a los 5 meses de la remisión.

Antecedente patológico de intolerancia a la lactosa.

Caso 10: APC.

Sexo masculino.

Púrpura de Schönlein-Henoch a los 5 años 5 meses con complicación renal tipo II (hematuria recurrente y proteinuria 27 mg/m²/h) que remitió al año de evolución, persistiendo cuadros de hematuria recurrente.

No tratamiento.

Estudio de estrés oxidativo efectuado a los 17 años 5 meses, tras 12 años de evolución de su enfermedad, en actividad.

Hermano afecto (caso 7).

Caso 11: JCM.

Sexo masculino.

Púrpura de Schönlein-Henoch a los 6 años 3 meses, sin complicación renal. Remisión al mes del inicio.

No tratamiento.

Estudio de estrés oxidativo efectuado a los 3 años 2 meses de remisión.

Caso 12: MFT.

Sexo femenino.

Púrpura de Schönlein-Henoch a los 5 años 5 meses, púrpura recurrente con complicación renal tipo III (hematuria y proteinuria 58mg/m²/h) en el segundo episodio, remitiendo a los 5 meses del inicio.

No tratamiento.

Estudio de estrés oxidativo efectuado a los 6 meses de su remisión completa.

Caso 13: BGV.

Sexo femenino.

Púrpura de Schönlein-Henoch a los 5 años con complicación renal tipo II (hematuria y proteinuria 31 mg/m²/h). Ha ido presentando recurrencia de su púrpura y manteniendo la nefropatía.

Tratamiento con prednisona y dipiridamol sin mejoría.

Estudio de estrés oxidativo efectuado a los 5 años 4 meses de haber iniciado la enfermedad, en actividad.

Caso 14: MBP.

Sexo masculino.

Púrpura de Schönlein-Henoch a los 15 años 4 meses, con complicación renal tipo II (hematuria y proteinuria mínima 10 mg/m²/h).

No tratamiento.

Estudio de estrés oxidativo efectuado a los 7 días de iniciar la enfermedad, en actividad.

Caso 15: HHP.

Sexo masculino.

Púrpura de Schönlein-Henoch a los 6 años 6 meses, sin complicación renal.

No tratamiento.

Estudio de estrés oxidativo efectuado a los 3 días del inicio.

Caso 16: NEC.

Sexo femenino.

Púrpura de Schönlein-Henoch a los 11 años 5 meses con nefropatía tipo II (hematuria y proteinuria no rango nefrótico 7 mg/m²/h).

No tratamiento.

Estudio de estrés oxidativo efectuado a los 2 años de evolución de su enfermedad sin nefropatía pero con recurrencias de la púrpura.

Caso 17: GFF.

Sexo masculino.

Púrpura de Schönlein-Henoch a los 5 años 4 meses con afectación renal tipo I que desapareció a los 3 meses de evolución.

No tratamiento.

Estudio de estrés oxidativo efectuado a los 4 años 1 mes del inicio de su enfermedad, en remisión completa.

Caso 18: IGA.

Sexo masculino.

Púrpura de Schönlein-Henoch a los 2 años 10 meses con afectación renal tipo III (hematuria y proteinuria rango nefrótico), la nefropatía remitió a los 2 meses de evolución.

Tratamiento con prednisona.

Estudio de estrés oxidativo efectuado a los 15 meses de la remisión.

Caso 19: FRV.

Sexo masculino.

Púrpura de Schönlein-Henoch a los 11 años 2 meses sin complicación renal. Remisión a los 2 meses de evolución.

No tratamiento.

Estudio de estrés oxidativo efectuado al año y medio de evolución, en remisión.

Caso 20: LBG.

Sexo femenino.

Púrpura de Schönlein-Henoch a los 7 años 7 meses con nefropatía tipo III (hematuria y proteinuria rango nefrótico 57 mg/m²/h).

Tratamiento con prednisona.

Estudio de estrés oxidativo efectuado a la semana del inicio de la púrpura y la nefropatía, en actividad.

Caso 21: AGP.

Sexo masculino.

Púrpura de Schönlein-Henoch a los 7 años 5 meses sin complicación renal. Remitió a las 2 semanas de evolución.

No tratamiento.

Estudio de estrés oxidativo efectuado a los 10 años 3 meses de su enfermedad.

Caso 22:

Sexo masculino.

Púrpura de Schönlein-Henoch a la edad de 4 años y 1 mes sin complicación renal.

No tratamiento.

Estudio de estrés oxidativo efectuado a la semana de evolución.

Caso 23:

Sexo femenino.

Púrpura de Schönlein-Henoch a los 4 años y 5 meses sin complicación renal.

Tratamiento con metil-prednisolona.

Se efectúa el estudio al 4º día de la enfermedad.

Tabla I: pacientes grupo A (con nefropatía) en rojo, pacientes grupo B (sin complicación renal) en negro.

Nº ident.	paciente	edad	nefropatía	actividad
1	ZZZ	10	Sí	Sí
2	ACC	3	Sí	Sí
3	LOC	6	No	Sí
4	CTG	7	Sí	Sí
5	NPG	15	No	Sí
6	MSM	1	No	No
7	DPC	14	No	Sí
8	CCV	14	Sí	Sí
9	IPC	5	No	No
10	APC	18	Sí	Sí
11	JCM	9	No	No
12	MFT	6	Sí	No
13	BGV	10	Sí	Sí
14	MBP	15	Sí	Sí
15	HHP	6	No	Sí
16	NEC	13	Sí	Sí
17	GFF	10	Sí	No
18	IGA	4	Sí	No
19	FRV	11	No	No
20	LBG	7	Sí	Sí
21	AGP	18	No	No
22	MPS	4	No	Sí
23	ARH	4	No	Sí

4.1.2. Controles

Criterios de inclusión:

1. Niños sanos que acudieron al laboratorio del hospital Sant Joan de Déu para analítica preoperatoria.
2. No estar padeciendo enfermedad infecciosa en el momento de la extracción.
3. No seguir dieta restrictiva alguna.
4. No estar en tratamiento con fármacos.
5. Resultados bioquímicos basales considerados normales.

Se han estudiado 33 controles de edades comprendidas entre 1 y 18 años, edades similares a los pacientes afectados de púrpura de Schönlein-Henoch, estos niños acudieron al Hospital Sant Joan de Déu para intervenciones quirúrgicas menores. De la coenzima Q se ha realizado sólo 20 controles, pero estadísticamente es igualmente fiable.

4.2. Métodos:

4.2.1. Diseño del trabajo:

Para contribuir al esclarecimiento de la hipótesis planteada, el procedimiento seguido en esta tesis ha sido el siguiente:

- ✓ Identificar un grupo de pacientes afectados del síndrome de Schönlein-Henoch en distintas fases evolutivas de su enfermedad y con o sin nefropatía.
- ✓ Practicar en los mismos, aparte del estudio clínico pertinente, determinaciones analíticas que abarquen:
 - Enzimas antioxidantes
 - Factores antioxidantes
 - Marcador de la peroxidación lipídica
- ✓ De modo paralelo tomar un grupo de niños sanos como control en los que, aprovechando la eventualidad de determinaciones analíticas por otros motivos, realizar las mismas determinaciones analíticas.
- ✓ Analizar los resultados para observar su grado de significación clínica y estadística.

4.2.2. Enzimas antioxidantes

4.2.2.1. Determinación de la actividad de glutathion peroxidasa en eritrocitos.

Se determina siguiendo la adaptación automatizada de los métodos manuales realizada por Wheeler et al. (1990).

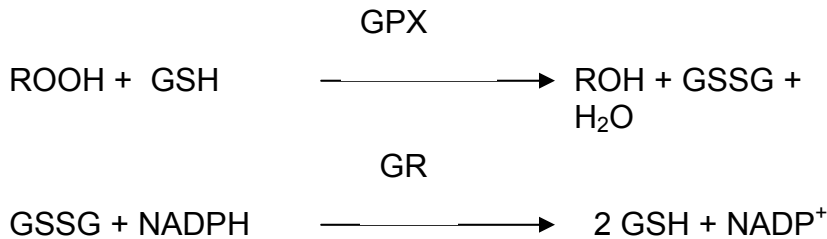
Fundamento del método:

La glutathion peroxidasa (GPX) cataliza la reducción de hidroperóxidos en su forma alcohólica, utilizando glutathion reducido como sustrato, liberando glutathion oxidado en una reacción NADPH-dependiente.

Reacción:

El t-butilhidroperóxido reacciona con el glutatión reducido (GSH) (reacción catalizada por la GPX), originando t-butanol y glutatión oxidado (GSSG) que es constantemente reducido por la glutatión reductasa (GR) por medio de la oxidación del NADPH que se mide a 340 nm.

Reactivos:



- GSH-Px (Sigma Chemical Co., St Louis, MO, EUA).
- NADPH (Sigma Chemical Co., St Louis, MO, EUA).
- GSH (Sigma Chemical Co., St Louis, MO, EUA).
- GR (Sigma Chemical Co., St Louis, MO, EUA).
- NaH_2PO_4 (Merck, Darmstadt, Alemania).
- Na_2HPO_4 (Merck, Darmstadt, Alemania).
- Ter-butil hidroperóxido (t-BuOOH) (Sigma Chemical Co., St Louis, MO, EUA).
- Reactivo de Drabkin's (Roche Diagnostics, SL, USA).
- Azida sódica (Merck, Darmstadt, Alemania).

Preparación del espécimen:

Esta preparación es común en los cuatro enzimas antioxidantes que se determinan.

- Sangre recogida en tubos Venoject utilizando EDTA- K_3 como anticoagulante.
- Centrifugar a 2000 g 10 minutos a 4°C. Aspirar el plasma.
- Lavar los eritrocitos 3 veces con cloruro sódico 153 mmol/L, eliminando la capa de leucocitos.
- Centrifugar a 2000 g, 10 minutos a 4°C, en cada lavado.
- Lisar los eritrocitos diluyéndolos con agua, congelando y descongelando 3 veces con hielo seco.
- Determinar la hemoglobina del sobrenadante por el método de Drakkin's (Van Kampen, 1961) y ajustarlo con agua destilada hasta 20 g /L.
- Congelar el sobrenadante a -40°C. hasta el momento de su determinación. En el momento de su determinación, añadir 100 μL de reactivo de Drabkin's a 100 μL de hemolizado para que la hemoglobina pase a cianometahemoglobina estable. (2-3 min). A continuación se diluyen los hemolizados con tampón fosfato 100 mmol/L, pH 7 hasta una concentración de hemoglobina de aproximadamente 2 g/L.

Procedimiento:

- Reactivo A:
 - 9,25 mL tampón fosfato (100 mmol/L, 1 mmol/L EDTA, pH 7,0).
 - 1,25 mL NADPH (2,25 mmol/L en 0,1% bicarbonato sódico).
 - 0,25 mL GR (25 U/0,25 mL tampón fosfato).
 - 0,5 mL GSH (37,5 mmol/L en tampón fosfato).
 - 37,5 μ L azida sódica 1,125 mol/L.
- Reactivo B:
 - t-butilhidroperóxido (15 mmol/L diluido en H₂O).
- Incubar 40 μ L de muestra con 225 μ L de reactivo A durante 10 s.
- Añadir 30 μ L de reactivo B e incubar durante 150 s.
- Leer la absorbancia a 340 nm, durante 2 min.

Condiciones espectrométricas:

- Instrumento: autoanalizador centrífugo Cobas FARA (Roche Diagnostic Systems, Montclair, NJ, US)
- Longitud de onda: 340 nm.
- Cálculo de la actividad enzimática: definimos una unidad de actividad enzimática como la cantidad de enzima que cataliza la transformación de 1 μ mol de sustrato por minuto.
- Unidades/L= $\Delta A/a \times r^2/sv \times 1000$

Donde:

ΔA = Incremento de la absorbancia por minuto a 340 nm.

a= Coeficiente de extinción molar del NADPH.

r= paso de luz de la cubeta.

sv= volumen de muestra.

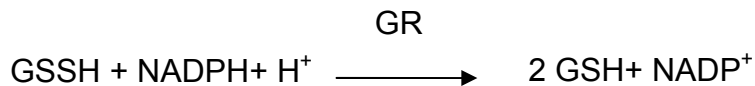
4.2.2.2. Determinación de la actividad de glutatión reductasa en eritrocitos.

Se determina siguiendo la adaptación automatizada de los métodos manuales realizada por Wheeler et al. (1990) según el método de Goldberg y Spooner (1983).

Fundamento del método:

La glutatión reductasa (GR) es una flavoproteína que cataliza la reducción del glutatión oxidado, en una reacción NADPH-dependiente, midiendo el descenso de absorbancia a 340 nm.

Reacción:



Reactivos:

- Glutatión reductasa (levadura) (Sigma Chemical Co., St Louis, MO, EUA).
- NADPH (Sigma Chemical Co., St Louis, MO, EUA).
- Glutatión oxidado (Sigma Chemical Co., St Louis, MO, EUA).

Preparación del espécimen:

Preparación común a la de la glutatión peroxidasa (ver página 27).

Procedimiento:

- Reactivo A: glutatión oxidado 3,7 mmol/L en tampón fosfato 147 mmol/L con 0,47 mmol/L EDTA a pH 7,2.
- Reactivo B: NADPH 2,25 mmol/L en NaHCO₃ al 1%.
- Incubar 40 µL de hemolizado con 225 µL de reactivo A, durante 10 segundos.
- Añadir 20 µL de reactivo B e incubar durante 150 segundos.
- Leer la absorbancia a 340 nm, durante 2 minutos.

Condiciones espectrométricas:

- Instrumento: autoanalizador centrífugo Cobas FARA (Roche Diagnostic Systems, Montclair, NJ, US)
- Longitud de onda: 340 nm.
- Cálculo de la actividad enzimática: definimos una unidad de actividad enzimática como la cantidad de enzima que cataliza la transformación de 1 µmol de sustrato por minuto.
- Unidades/L= $\Delta A/a \times r^2/sv \times 1000$

Donde:

ΔA = Incremento de la absorbancia por minuto a 340 nm.

a= Coeficiente de extinción molar del NADPH.

r= paso de luz de la cubeta.

sv= volumen de muestra.

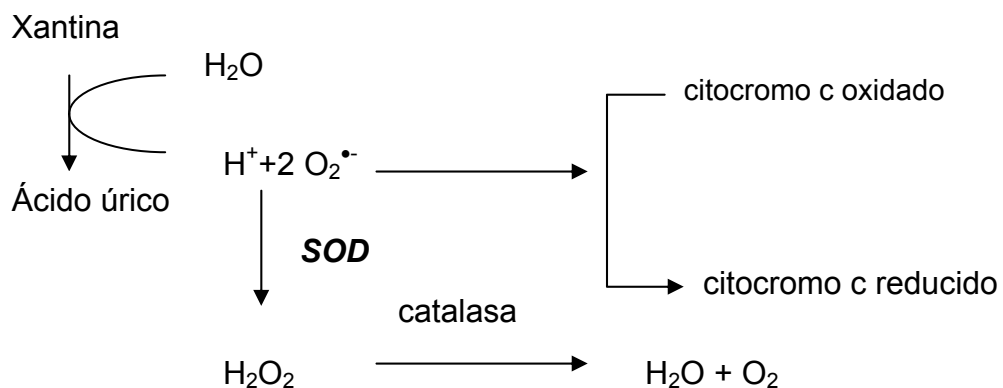
4.2.2.3. Determinación de la actividad de superóxido dismutasa en eritrocitos.

Se determina siguiendo la adaptación automatizada de los métodos manuales realizada por Wheeler et al. (1990) según el método de Mc.Corb y Fridovich (1969) y modificado por Lostner et al. (1983).

La xantina origina radicales superóxido por la acción de la xantina oxidasa (XO). Estos radicales superóxido reducen el citocromo c oxidado a citocromo c reducido que absorbe 550 nm.

La superóxido dismutasa (SOD) presente en la muestra compite con el citocromo c oxidado en su reacción con los radicales superóxido.

Reacción:



Reactivos:

- SOD (hígado bovino) (Sigma Chemical Co., St Louis, MO, EUA).
- Xantina (Sigma Chemical Co., St Louis, MO, EUA).
- Xantina oxidasa (Sigma Chemical Co., St Louis, MO, EUA).
- Ferricitocromo c (Sigma Chemical Co., St Louis, MO, EUA).
- NaH₂PO₄ (Merck, Darmstadt, Alemania).
- Na₂HPO₄ (Merck, Darmstadt, Alemania).
- Azida sódica (Merck, Darmstadt, Alemania).

Preparación del espécimen:

Preparación común a la de la glutatión peroxidasa (ver pagina 27).

Procedimiento:

- Reactivo A:
 - 3,750 mL ferricitocromo c 0,05 m mol/L en tampón fosfato.
 - 0,721 mL xantina 1,3 mmol/L en tampón fosfato.
 - 0,360 mL azida sódica 0,05 mmol/L en tampón fosfato.
 - 0,375 mL catalasa 50 U/mL de tampón fosfato.
 - 6,044 mL de tampón fosfato (73,5 mmol/L con 0,15 mmol/L EDTA a pH 7,8)
- Reactivo B:
 - Xantina oxidasa (200 U/L tampón)
- Incubar 40 µL de muestra más 225 µL de reactivo A, durante 90 s.
- Añadir 10 µL de reactivo B.
- Leer la absorbancia a 550 nm, durante 2 min.

Condiciones espectrométricas:

- Instrumento: autoanalizador centrífugo Cobas FARA (Roche Diagnostic Systems, Montclair, NJ, US).
- Longitud de onda: 550 nm.
- Se define una unidad SOD como la concentración de enzima que inhibe la formación del producto en un 50 %
- %Inhibición $((\text{Absorbancia del blanco} - \text{Absorbancia de la muestra}) / \text{Absorbancia del blanco}) \times 100$
- Curva de calibración: Se preparan soluciones estándar de concentraciones crecientes de SOD (0,1-5 µg/mL).

4.2.2.4. Determinación de la actividad de catalasa en eritrocitos.

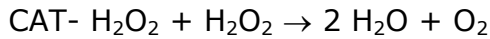
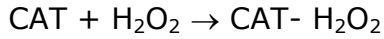
Se determina siguiendo la adaptación automatizada de los métodos manuales realizada por Wheeler et al. (1990) según el método de Johannsen y Borg (1988).

Fundamento del método:

La reacción de la catalasa presenta una cinética a punto final donde se valora la actividad peroxidásica. El ensayo se basa en la formación de un intermedio de la reacción (complejo I) que en presencia de metanol como donante de hidrógeno forma agua y formaldehído. Este último

reacciona con el reactivo de purpald formándose un complejo que absorbe a 550 nm.

Reacción:



Reactivos:

- Catalasa (Sigma Chemical Co., St Louis, MO, EUA).
- NaH_2PO_4 (Merck, Darmstadt, Alemania).
- Na_2HPO_4 (Merck, Darmstadt, Alemania).
- Peróxido de hidrógeno (Sigma Chemical Co., St Louis, MO, EUA).
- Hidróxido potásico (Merck, Darmstadt, Alemania).
- Purpald (5-mercapto-1,2,4-triazol, 4 amino-5-hidrazino-4H-1,2,4-triazol-3-tiol) (Aldrich Chemical Co, Milwaukee, US).
- Periodato potásico (Aldrich Chemical Co, Milwaukee, US).

Preparación del espécimen:

Preparación común a la de la glutatión peroxidasa (ver página 27).

Procedimiento:

- Reactivo A:
 - 3 mL de tampón fosfato 250mM, pH 7, 0.
 - 3mL de metanol 12 M.
 - 600 μ L H_2O_2 44mM
- Reactivo B:
 - Purpald (22,8 mM en KOH 2N)
- Reactivo C:
 - Periodato potásico (65,2 mM en KOH 0,5 N)
- Incubar 30 μ L de muestra más 66 μ L de reactivo A, durante 600 s.
- Añadir 90 μ L de reactivo B e incubar durante 900s.
- Añadir el reactivo C para parar la reacción y leer la absorbancia final a 550 nm.
- Leer la absorbancia a 550 nm, durante 2 min.

Condiciones espectrométricas:

- Instrumento: autoanalizador centrífugo Cobas FARA (Roche Diagnostic Systems, Montclair, NJ, US).
- Longitud de onda: 550 nm.
- Curva de calibración: Se preparan soluciones estándar de concentraciones crecientes de formaldehído para realizar la curva de calibración. Los resultados se calculan extrapolando las absorbancias obtenidas en la curva de calibración, considerando que una unidad de actividad enzimática es la cantidad de enzima que transforma 1 μ mol de sustrato por minuto en condiciones óptimas de medida.

4.2.3. Sustancias antioxidantes.

4.2.3.1. Determinación de ubiquinona en plasma.

Fundamento del método:

La determinación de ubiquinona en suero o plasma se basa en la separación por HPLC en fase reversa con detección electroquímica, después de realizar previamente una extracción, centrifugación y filtración del suero.

Reactivos:

- Coenzima Q₁₀ (Sigma-Aldrich, Steinheim, Alemania).
- Coenzima Q₇ (Sigma-Aldrich, Steinheim, Alemania).
- Metanol absoluto para HPLC (ROMIL, Cambridge, UK).
- Hexano para HPLC (ROMIL, Cambridge, UK).
- Etanol absoluto para HPLC (ROMIL, Cambridge, UK).
- Perclorato de litio 95% (Sigma-Aldrich, Steinheim, Alemania).
- Desferroxamina (Sigma-Aldrich, Steinheim, Alemania).
- Hidróxido sódico (Merck, Darmstadt, Alemania).
- Histopaque 1077 (Sigma-Aldrich, Steinheim, Alemania).
- PBS (phosphate buffered saline, solución de NaCl tamponada con fosfato) pH 7,2 (Biomérieux, Marci l'Etoile, France).

Preparación del espécimen (plasma o suero):

- Recoger sangre venosa (0,5 mL) tanto en el caso de los pacientes como de los controles después de 12 horas de ayuno y separar suero o plasma. S'ha de mantener el tubo evitando el contacto con la luz.
- Centrifugar a 2000 g durante 10 minutos a 4°C.
- Separar el plasma evitando aspirar la capa celular.
- Las muestras se conservan a -70°C hasta el momento del análisis.

Preparación del espécimen (linfocitos):

- Los linfocitos se separan partiendo de 3 mL sangre venosa heparinizada.
- Diluir la muestra 4:1 con PBS.
- La muestra se separa utilizando como gradiente Histopaque 1077.
- Centrifugar a 400 g a 20°C.
- Separar la capa de linfocitos y lavarlos 3 veces con PBS, centrifugando a 550 g a 4°C eliminando el sobrenadante.
- Finalmente se resuspenden en un volumen de 100 µL de PBS.
- Las muestras se conservan a -70°C hasta el momento del análisis.

Preparación de los estándares:

- Solución de ubiquinona (Coenzima Q₁₀).
 - Solución madre de aproximadamente 77 µmol/L etanol. Pesar 0,6 mg de Coenzima Q₁₀, y disolverlo en 10 mL de etanol.
 - Solución de trabajo 0,77 µmol/L. Hacer una dilución 1/100 de la solución anterior con etanol/metanol al 50%. Esta solución se mide con el espectrofotómetro para determinar la concentración exacta.
 - Coenzima Q₁₀ E 1%=165 a 275.
 - Longitud de la cubeta L=1 cm.
 - Factor $1 \times 1/165(L/10 \text{ g}) = 0.060 \text{ g/L}$
 - Concentración = Absorbancia a 275 nm x factor.
- Solución de Coenzima Q₇ (estándar interno)
 - Solución madre de aproximadamente 82 µmol/L etanol. Pesar 0,5 mg de Coenzima Q₇ y disolverlo en 10 mL de etanol.
 - Solución de trabajo de 0,82 µmol/L. Hacer una dilución 1/100 de la solución anterior con etanol/metanol al 50%. Esta solución es medida con el espectrofotómetro para determinar la concentración exacta.
 - Coenzima Q₁₀ E 1%=221 a 275 nm.
 - Longitud de la cubeta L=1 cm.

- Factor = $1 \times 1/221(L/10 \text{ g}) = 0,045 \text{ g/L}$.
- Concentración = Absorbancia a 275 nm x factor
- Para preparar un estándar de ubiquinona oxidada: añadir 400 μL de etanol, 100 μL de desferroxamina 2 mmol/L, 100 μL de solución de trabajo de coenzima Q₇, 100 μL de solución de trabajo de ubiquinona oxidada, y 100 μL de suero fisiológico. Agitar. Posteriormente seguir el mismo tratamiento que las muestras.

Procedimiento:

- Para preparar las muestras: añadir 400 μL de etanol, 100 μL de desferroxamina 2 mmol/L, 100 μL de solución de trabajo de coenzima Q₇ y 100 μL de muestra. Agitar.
- Añadir 2 mL de hexano.
- Agitar durante un minuto.
- Centrifugar a 2000 g 10 minutos a 4°C.
- Separar la capa superior y filtrar a través de una membrana (0,45 μm) y recoger el filtrado en un vial de 2 mL.
- Evaporar con nitrógeno y reconstituir con 200 μL de fase móvil (45% etanol absoluto, 55% metanol absoluto con perclorato de litio 20 mmol/L).

Condiciones cromatográficas:

- Instrumento: Perkin Elmer Serie 200 (USA)
- Detector electroquímico: Coulochem II ESA (USA).
- Precolumnas C18 (Tecknokroma, Barcelona).
- Columna Nucleosil 100 C18 5 μm 25x0,4 (Tecknokroma, Barcelona).
- Fase móvil: 45% etanol absoluto, 55% metanol absoluto con perclorato de litio 20 mmol/L
- Flux: 1,3 mL/min.
- Tiempo cromatográfico: 20 min.
- Electrodo: E (electrodo de acondicionamiento) = -600 mV, E1= 150 mV, E2 (electrodo analítico)= 500 mV. Sensibilidad 200 nA.

Cálculo de resultados:

La cuantificación de la ubiquinona oxidada y reducida se realiza después de una calibración con la solución estándar de ubiquinona, utilizando como estándar interno la coenzima Q₇. Los resultados se expresan en $\mu\text{mol/L}$ como ubiquinona total (oxidada + reducida).

4.2.3.2. Determinación de retinol en plasma.

Fundamento del método:

Determinación por HPLC en fase reversa con detección UV a 325 nm el retinol, después de realizar previamente una extracción, centrifugación y filtración del suero.

Reactivos:

- Retinol (Sigma Chemical Co, St Louis, MO, EUA).
- Acetato de retinol (Sigma Chemical Co, St Louis, MO, EUA).
- Metanol absoluto para HPLC (ROMIL, Cambridge, UK).
- Hexano absoluto para HPLC (ROMIL, Cambridge, UK).
- Etanol absoluto para HPLC (ROMIL, Cambridge, UK).

Preparación del espécimen:

- Recoger sangre venosa (0.5 mL) en tubos Venojet utilizando EDTA-K₃ como anticoagulante tanto en el caso de los pacientes como en los controles después de 12 horas de ayuno.
- Centrifugar a 2000 g durante 10 minutos a 4°C.
- Separar el plasma evitando aspirar la capa celular.

Preparación de los estándares:

- Estándar de retinol
 - Solución madre de aproximadamente 5 mmol/L etanol. Pesar 15 mg de α -retinol y disolverlo en 10 mL de etanol.
 - Solución de trabajo de 10 μ mol/L. Hacer una dilución 1/500 de la solución anterior con etanol. Esta solución se mide con el espectrofotómetro para determinar la concentración exacta.
 - Concentración (μ mol/l) = Absorbancia a 325 nm x 19,07.
- Estándar de retinol acetato
 - Solución madre de aproximadamente 5 mmol/L etanol. Pesar 16 mg de α -tocoferol y disolverlo en 10 mL de etanol.
 - Solución de trabajo de 10 μ mol/L. Hacer una dilución 1/500 de la solución anterior con etanol. Esta solución se mide con el espectrofotómetro para determinar la concentración exacta.
 - Concentración (μ mol/l) = Absorbancia a 325 nm x 20.1.

Añadir 50 μ L de solución de trabajo de acetato de retinol y 50 μ L de solución de trabajo de retinol (soluciones de trabajo de las cuales se ha determinado la concentración previamente a partir de la lectura de sus absorbancias) a 200 μ L de suero fisiológico.

Procedimiento:

- Añadir a 200 μ L de plasma 50 μ L de acetato de retinol y agitar suavemente.
- Añadir 400 μ L de metanol, para provocar la precipitación de las proteínas, en las muestras y en los Estándares. Agitar durante un minuto.
- Añadir 2 mL de hexano.
- Agitar durante un minuto.
- Centrifugar a 2000 g 10 minutos a 4°C.
- Separar la capa superior y filtrar a través de una membrana (0,45 μ m) y recoger el filtrado en un vial de 2 mL.
- Evaporar con nitrógeno y reconstituir con 200 μ L metanol.

Condiciones cromatográficas:

- Instrumento: Perkin Elmer Integral 4000
- Detector de ultravioleta: 285 nm y 325 nm.
- Columna: Extrasil ODS2 3 μ m 10x0,46 cm
- Precolumnas C18 ODS
- Fase móvil: metanol 100% flux 1mL/min
- Tiempo cromatográfico total de 18 minutos.

Cálculo de resultados:

La cuantificación del retinol se realiza después de una calibración con la solución estándar de retinol, utilizando como estándar interno el acetato de retinol.

4.2.3.3. Determinación de tocoferol en plasma.

Fundamento del método:

Determinación por HPLC en fase reversa con detección UV a 285 el tocoferol, después de realizar previamente una extracción, centrifugación y filtración del suero.

Reactivos:

- α -Tocoferol (Sigma Chemical Co, St Louis, MO, EUA).
- Acetato de α -tocoferol (Sigma Chemical Co, St Louis, MO, EUA).
- Metanol absoluto para HPLC (ROMIL, Cambridge, UK).
- Hexano absoluto para HPLC (ROMIL, Cambridge, UK).
- Etanol absoluto para HPLC (ROMIL, Cambridge, UK).

Preparación del espécimen:

- Recoger sangre venosa (0.5 mL) en tubos Venojet utilizando EDTA-K₃ como anticoagulante tanto en el caso de los pacientes como en los controles después de 12 horas de ayuno.
- Centrifugar a 2000 g durante 10 minutos a 4°C.
- Separar el plasma evitando aspirar la capa celular.

Preparación de los estándares:

- Estándar de tocoferol
 - Solución madre de aproximadamente 18 mmol/L etanol. Pesar 80 mg de α -tocoferol y disolverlo en 10 mL de etanol.
 - Solución de trabajo de 180 μ mol/L. Hacer una dilución 1/100 de la solución anterior con etanol. Esta solución se mide con el espectrofotómetro para determinar la concentración exacta.
 - Concentración (μ mol/l) = Absorbancia a 275 nm x 327.
- Estándar de tocoferol acetato
 - Solución madre de aproximadamente 18 mmol/L etanol. Pesar 80 mg de α -tocoferol y disolverlo en 10 mL de etanol.
 - Solución de trabajo de 180 μ mol/L. Hacer una dilución 1/100 de la solución anterior con etanol. Esta solución se mide con el espectrofotómetro para determinar la concentración exacta.
 - Concentración (μ mol/l) = Absorbancia a 285 nm x 298.

Añadir 50 μ L de solución de trabajo de acetato de tocoferol, y 50 μ L de solución de trabajo de tocoferol (solución de trabajo de la cual se ha determinado la concentración previamente a partir de la lectura de sus absorbancias) a 200 μ L de suero fisiológico.

Procedimiento:

- Añadir a 200 μ L de plasma 50 μ L de acetato de tocoferol y agitar suavemente.
- Añadir 400 μ L de metanol, para provocar la precipitación de las proteínas, en las muestras y en los Estándares. Agitar durante un minuto.

- Añadir 2 mL de hexano.
- Agitar durante un minuto.
- Centrifugar a 2000 g 10 minutos a 4°C.
- Separar la capa superior y filtrar a través de una membrana (0,45 µm) y recoger el filtrado en un vial de 2 mL.
- Evaporar con nitrógeno y reconstituir con 200 µL metanol.

Condiciones cromatográficas:

- Instrumento: Perkin Elmer Integral 4000
- Detector de ultravioleta: 285 nm y 325 nm.
- Columna: Extrasil ODS2 3 µm 10x0,46 cm
- Precolumnas C18 ODS
- Fase móvil: metanol 100% flux 1mL/min
- Tiempo cromatográfico total de 18 minutos.

Cálculo de resultados:

La cuantificación del tocoferol se realiza después de una calibración con la solución estándar de tocoferol, utilizando como estándar interno el acetato de tocoferol.

4.2.3.4. Determinación de ácido ascórbico en plasma.

Fundamento del método:

El ácido ascórbico se oxida selectivamente en ácido dehidroascórbico por medio de la ascorbato oxidasa. Este producto posteriormente se conjuga con O-fenilendiamina (OPDA) produciendo un cromóforo que se mide a 340nm.

Reactivos:

- Ascorbato oxidasa 200 U/mL (Sigma Chem Corp, Saint Louis, MO, EUA).
- O-fenilendiamina (OPDA) (Sigma Chem Corp, Saint Louis, MO, EUA).
- Ditiotreitól (DTT) (Sigma Chem Corp, Saint Louis, MO, EUA).
- Ácido metafosfórico (Sigma Chem Corp, Saint Louis, MO, EUA).
- KH_2PO_4 (Sigma Chem Corp, Saint Louis, MO, EUA).
- K_2HPO_4 (Sigma Chem Corp, Saint Louis, MO, EUA).

Preparación del espécimen:

- Sangre venosa (0,5 mL) recogida en tubos Venojet con EDTA-K₃ como anticoagulante. Es importante precipitar el plasma antes de que haya pasado una hora después de la extracción.
- Centrifugar 10 minutos a 2000g y separar el plasma.
- Añadir 2 volúmenes de plasma por 1 volumen de solución precipitante (ácido metafosfórico al 8%).
- Agitar y centrifugar 5 minutos a 9500 g.
- Alícuotar el sobrenadante y congelar hasta el momento del análisis.

La solución precipitante (ácido metafosfórico al 8%) se obtiene a partir de una solución de ácido metafosfórico al 40% con ditiotreitol 53,5 mmol/L y posterior dilución con agua destilada.

Preparación de los estándares:

Pesar 12,33 mg de ácido ascórbico i disolverlo en 25 mL de solución diluyente para obtener una solución 2,8 mmol/L. A partir de aquí se utiliza la solución diluyente para obtener soluciones de: 280 $\mu\text{mol/L}$, 168 $\mu\text{mol/L}$, 84 $\mu\text{mol/L}$, 67,2 $\mu\text{mol/L}$, 42 $\mu\text{mol/L}$ i 21 $\mu\text{mol/L}$.

La solución diluyente (ácido metafosfórico al 2.66%) se obtiene a partir de una solución de ácido metafosfórico al 40% con ditiotreitol 53,5 mmol/L y posterior dilución con agua destilada.

Procedimiento:

- Reactivo A:
 - Ascorbato oxidasa 8000 U/L
- Reactivo B:
 - Solución de OPDA 23 mmol/L con 3 m mol/L de DTT.
- Incubar 30 μL de muestra con 200 μL de reactivo A durante 300 s.
- Añadir 20 μL de reactivo B incubar 300s.
- Leer la absorbancia a 340 nm.

Condiciones espectrométricas:

- Instrumento: autoanalizador centrífugo Cobas FARA (Roche Diagnostic Systems, Montclair, NJ, US).
- Longitud de onda: 340 nm.

Cálculo de resultados:

Se calcula a partir de la curva de calibración obtenida a partir de los estándares, extrapolando las absorbancias obtenidas para cada muestra.

4.3. Marcador de peroxidación lipídica.

4.3.1. Determinación de malondialdehído en plasma.

Fundamento del método:

La determinación se basa en la reacción de los lipoperóxidos con el ácido tiobarbitúrico produciéndose una reacción de color donde el punto máximo está en pH=3,5 y a 95°C. Posteriormente se eliminan aquellas sustancias que pueden interferir con el resultado por medio de una extracción y se analizan por HPLC.

Reactivos:

- Ácido ortofosfórico (Sigma Chem Corp, Saint Louis, MO, EUA).
- Ácido tiobarbitúrico (Sigma Chem Corp, Saint Louis, MO, EUA).
- Tetrametoxipropano (Sigma Chem Corp, Saint Louis, MO, EUA).
- Hidróxido sódico (Merck, Darmstadt, Alemania).
- Metanol absoluto para HPLC (ROMIL, Cambridge, UK).
- KH_2PO_4 (Sigma Chem Corp, Saint Louis, MO, EUA).
- KOH (Merck, Darmstadt, Alemania).

Preparación del espécimen:

- Sangre venosa (1mL) recogida en tubos Venojet con EDTA- K_3 como anticoagulante.
- Centrifugar 10 minutos a 2000g.
- Congelar el sobrenadante a -40°C hasta el momento de su determinación.

Preparación de los estándares:

- A partir de la solución de estándar de 250 mM de tetrametoxipropano, preparar soluciones de 25 mmol/L, 250 $\mu\text{mol/L}$, 25 $\mu\text{mol/L}$, 10 $\mu\text{mol/L}$, 5 $\mu\text{mol/L}$, 2.5 $\mu\text{mol/L}$, 1 $\mu\text{mol/L}$, 0,5 $\mu\text{mol/L}$ i 0,25 $\mu\text{mol/L}$ utilizando agua como disolvente.

Procedimiento

- Añadir 175 μL de H_3PO_4 al 2% a 200 μL de muestra.
- Añadir a la mezcla 100 μL de ácido tiobarbitúrico 42 mmol/L.
- Colocar en el baño 60 minutos a 100°C .

- Mantener las muestras en hielo y añadir 475 μL de NaOH / metanol (1:12). Agitar y dejarlos reaccionar 10 minutos.
- Centrifugar a 13000 g durante 10 minutos.
- Inyectar 75 μL del sobrenadante.

Condiciones cromatográficas:

- Instrumento: HPLC Acta Basic. Amersham Pharmacia. Biotech
- Detector de ultravioleta: 542 nm
- Precolumnas C18.
- Columna Nucleosil 100 C18 5 μm 25x0,4
- Diluyentes:
 - A: Tampón fosfato potásico mol/L pH 6.
 - B: Metanol.
- Tiempo cromatográfico total de 12 minutos.

Cálculo de resultados:

Se calcula a partir de la curva de calibración obtenida a partir de los estándares, extrapolando las absorbancias obtenidas para cada muestra.

5. Métodos estadísticos.

5.1. Análisis descriptivo:

Para cada variable se calcularon los siguientes estadísticos que incluyen medidas de tendencia central, medidas de variabilidad y medidas de forma: Frecuencia; Media; Mediana; Varianza; Desviación típica; Error estándar; Mínimo; Máximo; Rango; Primer cuartil; Tercer cuartil; Asimetría tipificada; Curtosis tipificada (los coeficientes de asimetría y curtosis estandarizados pueden utilizarse para determinar si la muestra procede de una distribución normal. Los valores de estos estadísticos fuera del rango de -2 a +2 indican alejamiento significativo de normalidad que tendería a invalidar cualquier test estadístico con respecto a la desviación normal).

A fin de ilustrar estos valores numéricos se obtuvo un histograma de frecuencias.

5.2. Análisis de la varianza.

Se miró si para el grupo con púrpura de Schönlein-Henoch (grupo problema) las variables en estudio estaban afectadas por la nefropatía y la actividad.

A fin de comparar estas cuatro posibles situaciones se realizó un análisis de la varianza de dos factores con interacción no balanceado y en algunos casos con datos faltantes, tomando como factores el factor nefropatía con dos niveles: sí/no y el factor actividad con dos niveles: actividad/remisión. En todos los casos se comprobó la hipótesis de normalidad y de homogeneidad de varianzas a través de la gráfica de los residuos que permiten asegurar la fiabilidad del análisis. Algún gráfico de los residuos presentaba alguna tendencia a separarse de la hipótesis de homogeneidad de varianzas, pero sin que pareciera que el problema fuera tan severo como para tener un efecto muy importante en el análisis.

5.3. Comparación entre los dos grupos.

Mediante el test de ajuste de chi-cuadrado se comprueba si la variable en estudio sigue ó no una distribución normal.

En el caso de cumplirse la condición de normalidad, se comparó el grupo problema con el grupo control mediante el test t de Student de comparación de medias en poblaciones con distribución normal y homogeneidad de varianzas. La comprobación de la existencia ó no de homogeneidad de varianzas se realizó mediante el test F de homogeneidad de varianzas. Si no se verifica la condición de igualdad de varianzas, se realiza el test t de Student modificado, de comparación de medias en poblaciones con distribución normal y sin homogeneidad de varianzas. En el caso de no cumplirse la condición de normalidad se compararon ambos grupos mediante el test no paramétrico U de Mann-Whitney.

En todos los análisis se tomó como nivel de significación el valor 0.05 y en las gráficas vienen representados los histogramas de frecuencias y los valores medios con su error típico correspondiente.

El paquete estadístico utilizado ha sido Statgraphics Plus. Versión 5.0.

Resultados

5. Resultados

De los niños afectados de púrpura de Schönlein-Henoch estudiados, el 65% estaban en fase activa y el 35% en fase de remisión. 52% presentaron nefropatía y el 48% no la presentaron.

Se inicia la exposición de los resultados resumiéndolos en las cuatro tablas siguientes correspondientes a los enzimas antioxidantes las dos primeras y a las sustancias antioxidantes las otras dos.

Tabla II: resultados **enzimas antioxidantes en pacientes del grupo A, (con nefropatía)**: en azul los valores inferiores a los normales, en rojo los valores superiores.

Caso nº	SOD (448-522) U/gHb	GPX (17,22- 23,46) U/gHb	GR (6,78- 9,86) U/gHb	CAT (1279- 1841) U/gHb
1	481	24,15	6,47	2470
2	408	22,92	8,05	2043
4	474	26,11	7,43	2211
8	593	18,19	5,75	975
10	499	22,4	4,64	1871
12	477	23,14	7,45	1777
13	520	23,91	7,00	1575
14	499	17,3	8,04	2120
16	467	29,8	5,38	2092
17	486	21,74	10,1	1830
18	502	16,02	8,33	1786
20	541	23,69	7,02	1704

- La superóxidodismutasa aparece aumentada en dos pacientes y disminuida en uno.
- La glutatión peroxidasa se nos muestra aumentada en cuatro pacientes y disminuida en uno.

- Por el contrario la glutathion reductasa se muestra aumentada en un solo paciente y disminuida en cuatro de ellos.
- La catalasa aparece aumentada en cinco pacientes y disminuida en uno sólo.

Tabla III: resultados **enzimas antioxidantes en pacientes del grupo B (sin nefropatía)**, en azul los valores inferiores a los normales, en rojo los valores superiores.

Caso nº	SOD (448-522) U/gHb	GPX (17,22-23,46) U/gHb	GR (6,78-9,86) U/gHb	CAT (1279-1841) U/gHb
3	488	20,16	6,57	2254
5	475	23,53	6,7	1461
6	473	20,25	11,9	1614
7	512	16,3	5,78	2188
9	542	19,41	7,04	2019
11	511	26,5	6,47	1786
15	472	27,41	8,5	1899
19	469	20,57	7,17	1361
21	456	21,92	7,86	1340
22	528	20,83	5,75	1879
23	528	18,08	5,61	1392

- La superóxidodismutasa aparece aumentada en tres pacientes y en ninguno estuvo disminuida.
- La glutathionperoxidasa se nos muestra aumentada en cuatro pacientes y disminuida en uno.
- Por el contrario la glutathionreductasa se muestra aumentada en un solo paciente y disminuida en ocho de ellos.
- La catalasa aparece aumentada en seis pacientes y disminuida en ninguno.

Tabla IV: Resultados **sustancias antioxidantes y marcadores de peroxidación lipídica en pacientes del grupo A (con nefropatía)**, en azul los valores inferiores a los normales, en rojo los valores superiores.

Nº	MDA (270-550) mmol/l	UBI (0,41-1,15) µmol/l	CoQ (115-316) µmol/mol. de colesterol	VitA (0,88-2,11) µmol/l	VitE (13,4-36,4) µmol/l	VitC (36-77) µmol/l
1	413	0,5	112	1,2	20,7	59,7
2	466	0,75	108	1,8	31	12,3
4	276	0,53	148	1,1	17,1	76,6
8	393	0,72	148	1,8	27	103,9
10	449	0,37	104	1,1	19	54,2
12	331	0,87	170	1,1	35	80,4
13	351	0,63	152,17	1,0	23,1	55
14	236	0,45	119	0,9	25	17,6
16	362	0,31	93	1,1	14	36,6
17	351	0,64	176	-	22	65,2
18	645	0,41	105	1,7	24	59,7
20	935	0,97	173,52	-	-	29

- El malondialdehído aparece aumentado en dos pacientes y disminuido únicamente en uno de ellos.
- La ubiquinona solamente ha resultado disminuida en un paciente.
- La coenzima Q ha resultado disminuida en cinco pacientes.
- La vitamina A así como la E no han aparecido alteradas.
- La vitamina C aumentada en dos pacientes y disminuida en tres.

Tabla V: Resultados **sustancias antioxidantes y marcadores de peroxidación lipídica en pacientes del grupo B (sin nefropatía)** en azul los valores inferiores a los normales, en rojo los valores superiores.

Nº	MDA (270-550)	UBI (0,41-1,15)	CoQ (115-316)	VitA (0,88-2,11)	VitE (13,4-36,4)	VitC (36-77)
3	246	0,64	182	1,2	23,1	64,5
5	348	1,01	207	1,6	35	121,4
6	303	1,3	277	0,9	28	98,4
7	411	0,48	125	0,9	14,3	79,6
9	364	0,55	127	1,6	26	69,7
11	285	0,35	78	1,2	23	78
15	412	0,37	103	0,9	29,6	68,1
19	534	0,45	106	1,6	21,7	66,8
21	639	0,59	109,67	1,5	45	37
22	451	0,41	127	-	-	54,2
23	397	1,15	171	-	-	50

- El malondialdehído aparece aumentado en un paciente y disminuido en otro de ellos.
- La ubiquinona ha resultado aumentada en uno y disminuida en dos de ellos.
- La coenzima Q ha resultado disminuida en tres pacientes.
- La vitamina A no ha aparecido alterada.
- La vitamina E se ha encontrado aumentada en un paciente.
- La vitamina C aumentada en cuatro pacientes.

A continuación pasamos a exponer los resultados de la valoración estadística de los resultados que hemos expuesto en las tablas anteriores.

5.1.1. Glutation peroxidasa (GPX)

GRUPO CONTROL

Nº casos: 31

Resumen Estadístico para GPX grupo control

Frecuencia = 31

Media = 20,8729

Mediana = 19,74

Varianza = 20,6934

Desviación típica = 4,549

Error estándar = 0,817024

Mínimo = 13,92

Máximo = 33,6

Rango = 19,68

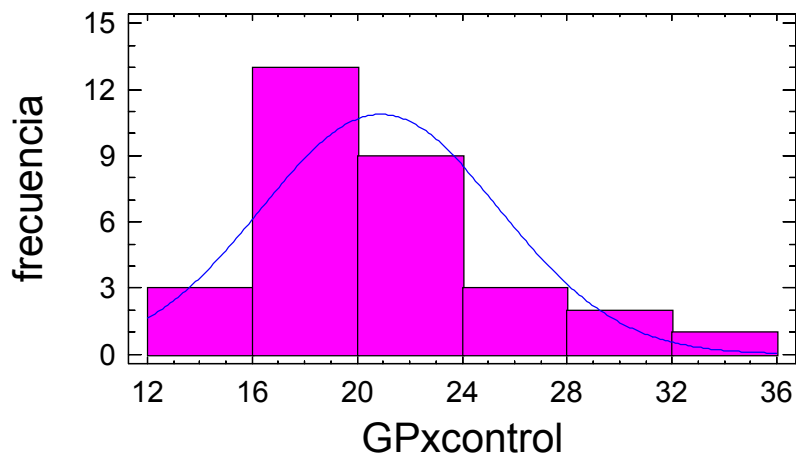
Primer cuartil = 17,57

Tercer cuartil = 23,11

Asimetría tipificada = 2,61871

Curtosis tipificada = 1,52255

Histograma para GPxcontrol



Esta variable presenta 31 valores comprendidos desde 13,92 hasta 33,6 observándose

Individuos con valores superiores (id. 6, 10, 17, 25, 30, 33) y valores inferiores (id 1, 4, 8, 21, 22, 28) que los considerados normales para esta variable.

El valor del coeficiente de asimetría estandarizado no está dentro del rango esperado para los datos de una distribución normal. El valor del coeficiente de curtosis estandarizado está dentro del rango esperado para los datos de una distribución normal. Sin embargo el test chi-cuadrado de bondad de ajuste con un P-valor = 0,300708 permite aceptar que la variable sigue una distribución normal.

GRUPO PROBLEMA

Nº casos: 23

Resumen Estadístico para GPX en púrpura de Schönlein-Henoch

Frecuencia = 23

Media = 21,9426

Mediana = 21,92

Varianza = 12,793

Desviación típica = 3,5767

Error estándar = 0,7458

Mínimo = 16,02

Máximo = 29,8

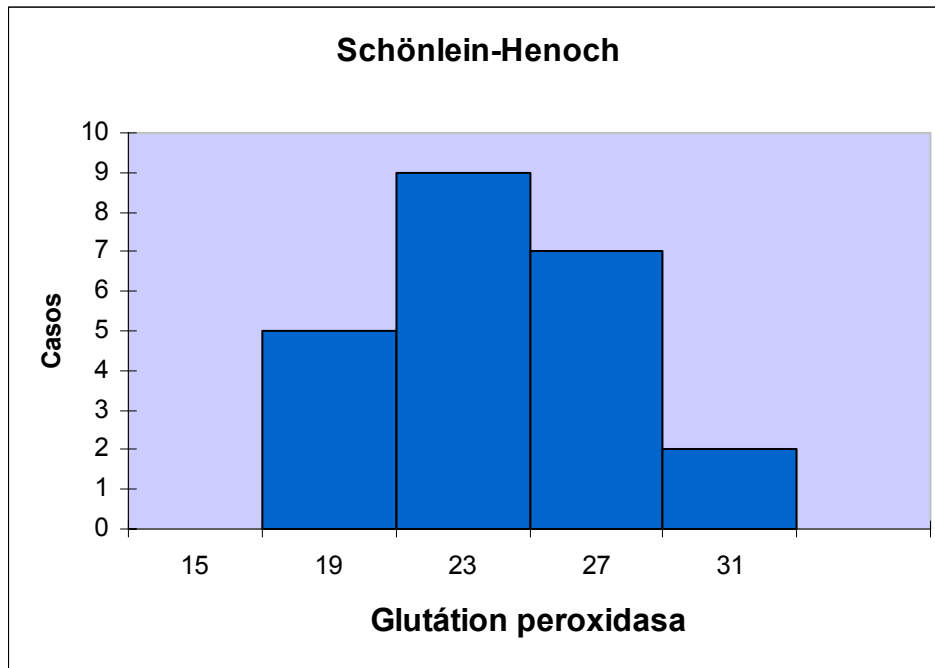
Rango = 13,78

Primer cuartil = 19,41

Tercer cuartil = 24,5

Asimetría tipificada = 0,414501

Curtosis tipificada = -0,489232



Esta variable presenta 23 valores comprendidos desde 16,02 hasta 29,8 teniendo un rango de variación inferior al caso control. También se observa una dispersión respecto la media inferior que en el caso control. Observándose individuos con valores superiores (id. 1, 4, 5, 11, 13, 15, 16, 20) y valores inferiores (id 7, 18) que los considerados normales para esta variable. El valor del coeficiente de asimetría estandarizado está dentro del rango esperado para los datos de una distribución normal. El valor del coeficiente de curtosis estandarizado está dentro del rango esperado para los datos de una distribución normal. Además el test chi-cuadrado de bondad de ajuste con un P-valor = 0,602458 permite aceptar la hipótesis de normalidad.

Estudio de la relación entre la glutatión peroxidasa y la nefropatía y actividad en la púrpura de Schönlein-Henoch.

La tabla de las medias correspondientes a las cuatro posibles situaciones de nefropatía (si/no) y actividad/remisión se incluye a continuación.

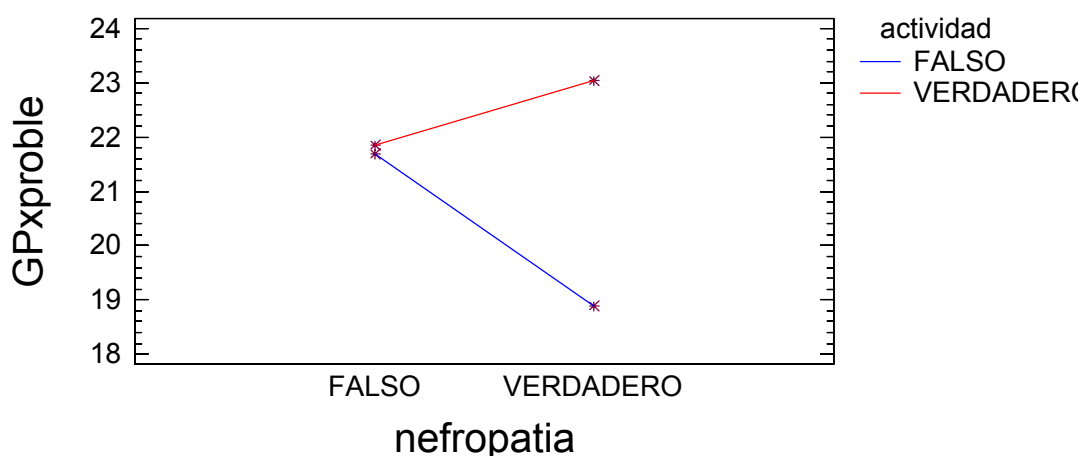
Nivel	Frecuencia	Media	Error Estándar
Actividad según nefropatía			
REMISIÓN / NO	5	21,512	1,26972
REMISIÓN / SI	3	20,3	2,17783
ACTIVIDAD / NO	6	21,2333	1,62615
ACTIVIDAD /SI	9	23,2022	1,26431

Los resultados del análisis de la varianza con interacción (no balanceado) están resumidos en la siguiente tabla ANOVA:

ANALISIS DE LA VARIANZA

FUENTE DE VARIACION		Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES	A: nefropatía	0,706	1	0,706	0,053	n.s.
	B: actividad	8,486	1	8,486	0,632	n.s.
INTERACCIONES	AB	12,474	1	12,474	0,929	n.s.
RESIDUOS		255,123	19	13,428		
TOTAL	(corregido)	281,442	22			

Gráfico de Interacción



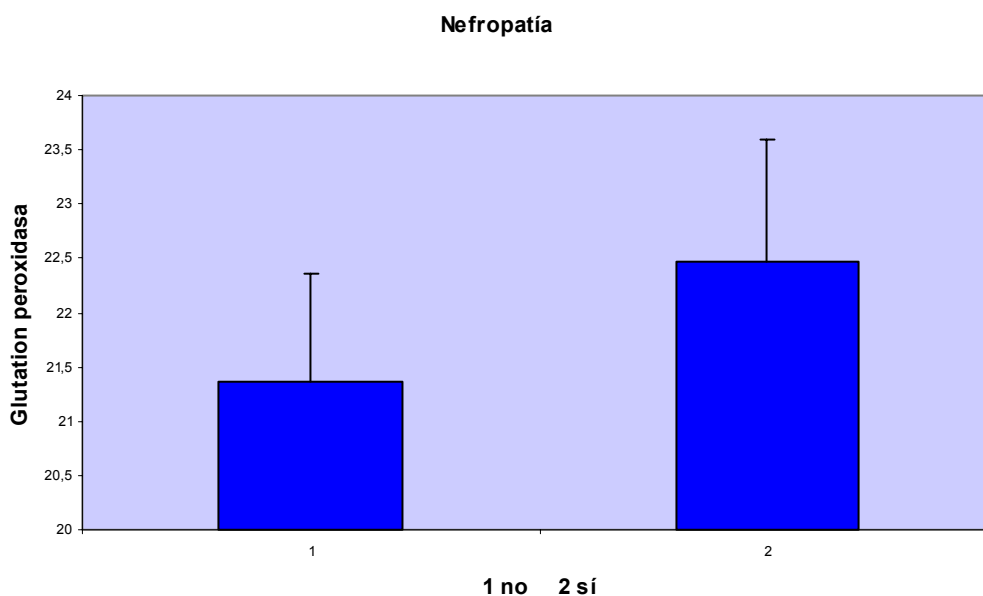
La tabla del análisis de la varianza muestra que la interacción no es significativa ($p\text{-valor} > 0,05$). Sin embargo hay que notar que la gráfica nos indica que aunque no sea significativo el comportamiento bajo la

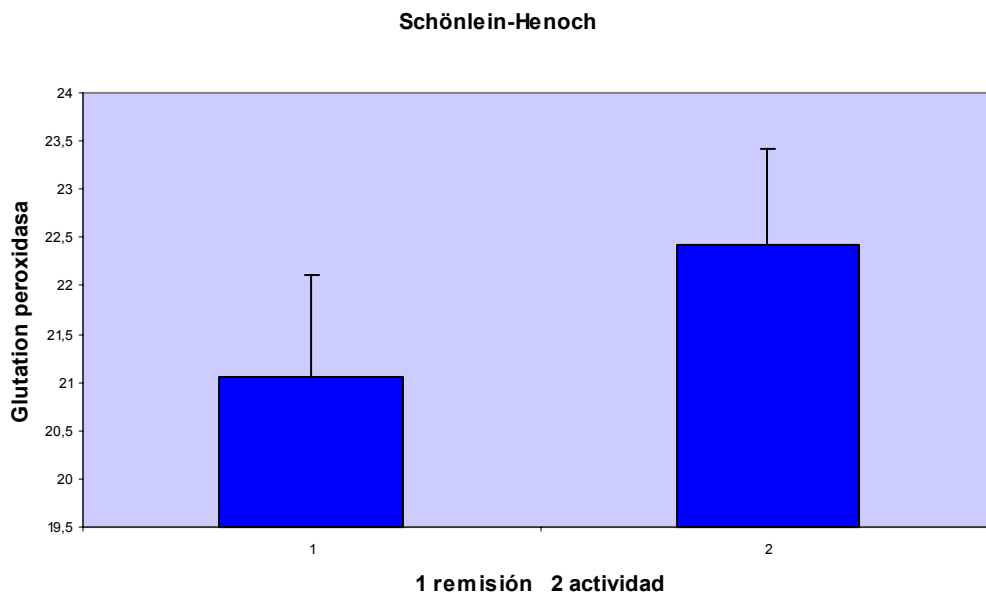
condición de sí/no es diferente. Rehaciendo el modelo, y realizando un análisis de la varianza de dos factores sin interacción (no balanceado) se obtiene:

ANALISIS DE LA VARIANZA

FUENTE DE VARIACION		Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFECTOS PRINCIPALES	A: nefropatía	4,235	1	4,235	0,317	n.s.
	B: actividad	6,689	1	6,689	0,500	n.s.
RESIDUOS		267,597	20	13,380		
TOTAL	(corregido)	278,521	22			

Es decir no se detectan diferencias significativas entre los niveles (sí/no), actividad/remisión, aunque la gráfica correspondiente parece indicar que los valores de glutatión peroxidasa bajo la condición de actividad da valores superiores (aunque no sea significativa esta diferencia) que bajo la condición de remisión.

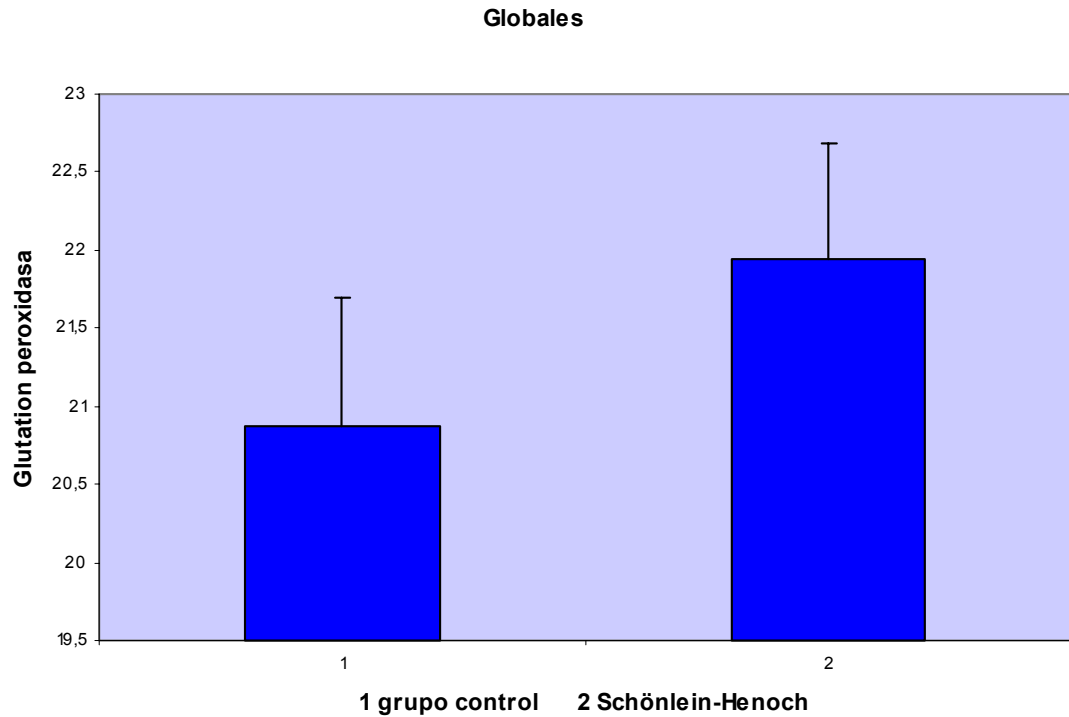




Como no han salido diferencias significativas podemos agrupar todos los individuos en una sola muestra y compararlos con los individuos del grupo control.

Comparacion entre el grupo problema y el grupo control

Realizando el test F de comparación de varianzas entre dos poblaciones normales, se obtiene un P-Valor = 0,508664, por tanto podemos suponer homogeneidad de varianzas. Como se observa en la gráfica, parece que la variable glutathione peroxidase toma valores superiores en el grupo problema que en el grupo control. Por ello se realiza el test t-Student de comparación de medias en poblaciones normales con homogeneidad de varianzas, tomando como hipótesis alternativa que la media de glutathione peroxidase en el grupo control es inferior a la media de glutathione peroxidase en el grupo problema. Se obtuvo un P-Valor > 0,05. Con lo que no podemos aceptar diferencias significativas entre el grupo control y el grupo problema.



No se detectan diferencias significativas entre los niveles (sí/no) de nefropatía y actividad/remisión. La gráfica correspondiente parece indicar que los valores de glutathion peroxidasa bajo la condición de actividad da valores superiores (aunque no sea significativa esta diferencia) que bajo la condición de remisión.

No existen diferencias significativas de la variable glutathion peroxidasa entre el grupo control y grupo problema.

5.1.2. Glutation reductasa (GR)

GRUPO CONTROL

Nº casos: 31

Resumen Estadístico para GR

Frecuencia = 31

Media = 8,75903

Mediana = 8,55

Varianza = 3,007

Desviación típica = 1,73407

Error estándar = 0,311448

Mínimo = 4,61

Máximo = 12,49

Rango = 7,88

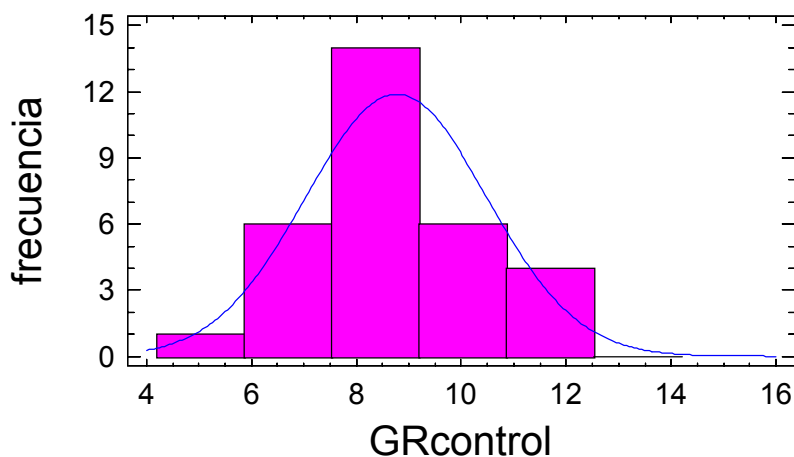
Primer cuartil = 7,92

Tercer cuartil = 9,59

Asimetría tipificada = 0,441343

Curtosis tipificada = 0,396933

Histograma para GRcontrol



Esta variable presenta 31 valores comprendidos desde 4,61 hasta 12,49 observándose individuos con valores superiores (id. 2, 3, 6, 9, 13, 20, 21) y con valores inferiores (id 23, 26, 32) que los

considerados normales para esta variable. El valor del coeficiente de asimetría estandarizado está dentro del rango esperado para los datos de una distribución normal. El valor del coeficiente de curtosis estandarizado está dentro del rango esperado para los datos de una distribución normal. Que la variable sigue una distribución normal queda confirmado por el test chi-cuadrado de bondad de ajuste con un P-valor = 0,769828.

GRUPO PROBLEMA

Nº casos: 23

Resumen Estadístico para GR en púrpura de Schönlein-Henoch

Frecuencia = 23

Media = 7,1743

Mediana = 7,0200

Varianza = 2,539

Desviación típica = 1,5934

Error estándar = 0,3323

Mínimo = 4,64

Máximo = 11,9

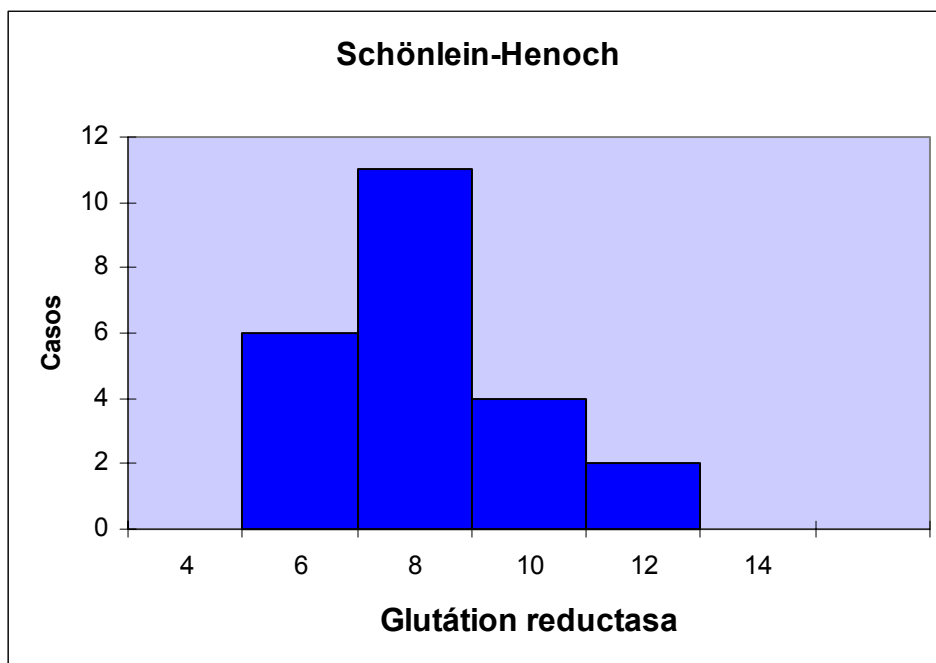
Rango = 7,26

Primer cuartil = 6,47

Tercer cuartil = 8,05

Asimetría tipificada = 1,90278

Curtosis tipificada = 1,66481



Esta variable presenta 23 valores comprendidos desde 4,64 hasta 11,9 teniendo un rango de variación similar al caso control. También se observa una dispersión respecto la media similar que en el caso control.

Observándose individuos con valores superiores (id. 17, 6) y valores inferiores (id 1, 3, 5, 7, 8, 10, 11, 16, 22, 23) que los considerados normales para esta variable. El valor del coeficiente de asimetría estandarizado está dentro del rango esperado para los datos de una distribución normal. El valor del coeficiente de curtosis estandarizado está dentro del rango esperado para los datos de una distribución normal. Además el test chi-cuadrado de bondad de ajuste con un P-valor = 0,862344 permite aceptar la hipótesis de normalidad.

Estudio de la relación entre la glutathion reductasa y la nefropatía y actividad en la púrpura de Schönlein-Henoch.

La tabla de las medias correspondientes a las cuatro posibles situaciones de nefropatía (sí/no) y actividad/remisión se incluye a continuación.

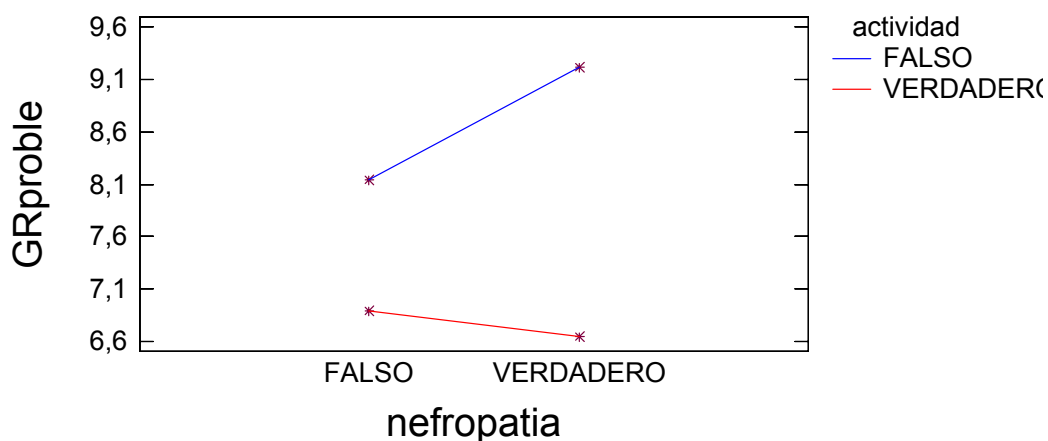
<i>Nivel</i>	<i>Frecuencia</i>	<i>Media</i>	<i>Error Estándar</i>
Actividad según nefropatía			
REMISIÓN / NO	5	7,666	1,0878
REMISIÓN /SÍ	3	8,62667	0,779238
ACTIVIDAD / NO	6	6,83667	0,466367
ACTIVIDAD / SI	9	6,64222	0,395368

Los resultados del análisis de la varianza con interacción (no balanceado) están resumidos en la siguiente tabla ANOVA

ANALISIS DE LA VARIANZA

FUENTE DE VARIACION		Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFECTOS PRINCIPALES	A: nefropatía	0,724	1	0,724	0,305	n.s.
	B: actividad	9,761	1	9,761	4,39	<0,05
INTERACCIONES	AB	1,74497	1	1,74497	0,70	n.s.
RESIDUOS		42,245	19	2,223		
TOTAL	(corregido)	54,475	22			

Gráfico de Interacción

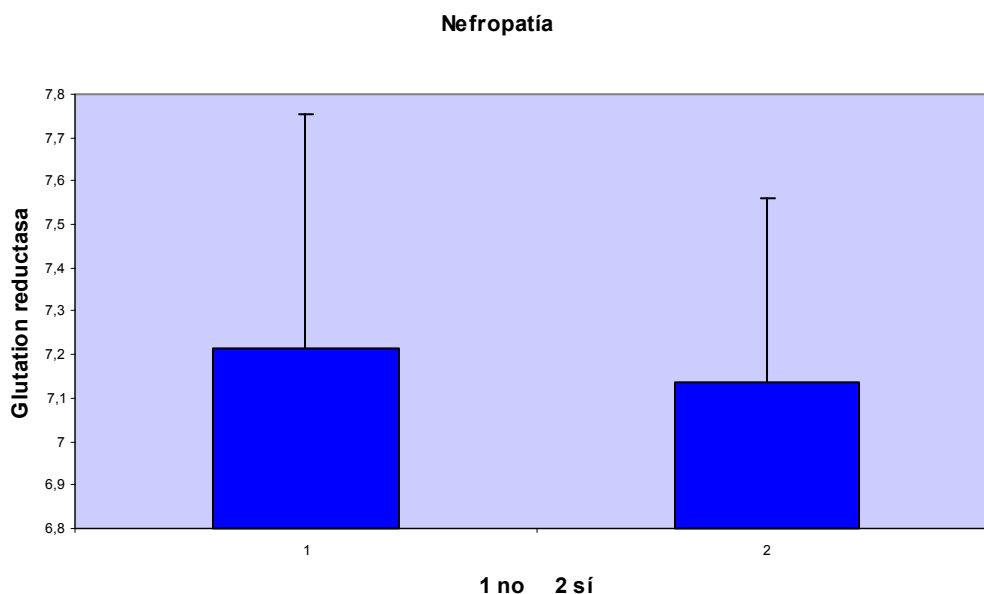


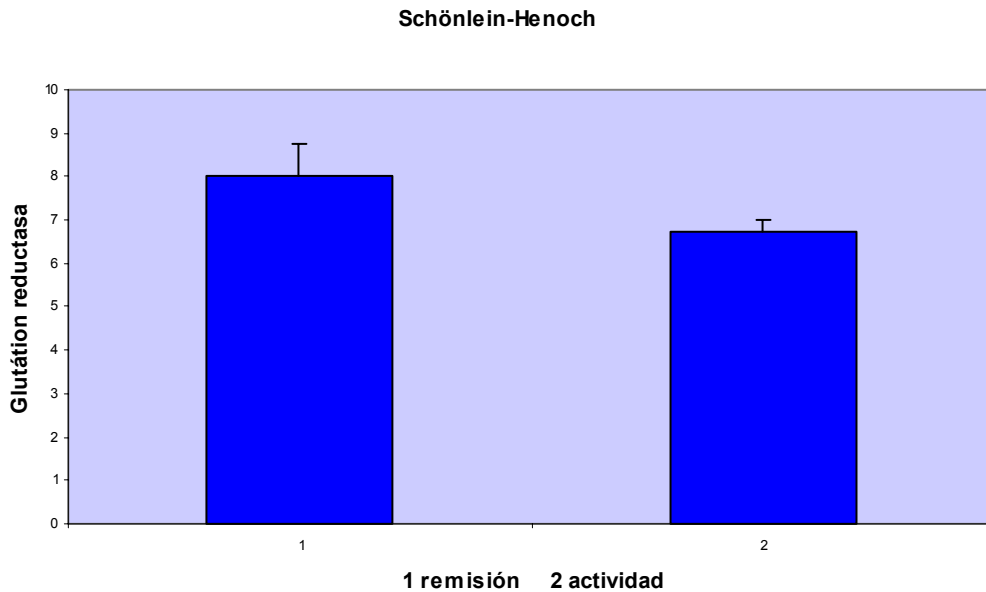
La tabla del análisis de la varianza muestra que la interacción no es significativa ($p\text{-valor} > 0,05$). Sin embargo la gráfica correspondiente muestra que el comportamiento es diferente. Rehaciendo el modelo, y realizando un análisis de la varianza de dos factores sin interacción (no balanceado) se obtiene

ANALISIS DE LA VARIANZA

FUENTE DE VARIACION		Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFECTOS PRINCIPALES	A: nefropatía	0,222	1	0,222	0,095	n.s
	B: actividad	9,091	1	9,091	4,39	0,0441
RESIDUOS		39,346	20	2,070		
TOTAL	(CORREGIDO)	48,659	22			

Es decir no se detectan diferencias significativas entre los niveles (sí/no) del factor nefropatía, aunque si se detectan diferencias significativas entre los dos niveles del factor actividad. Como puede observarse en la gráfica correspondiente los valores de glutatión reductasa bajo la condición de actividad son inferiores a los valores de glutatión reductasa bajo la condición de remisión.





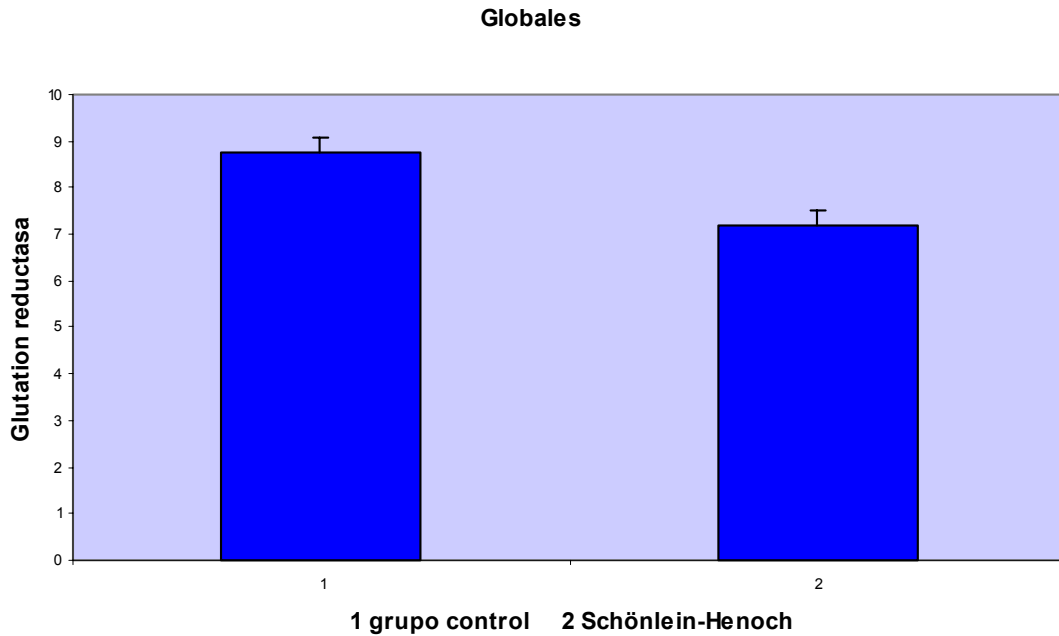
Como han salido diferencias significativas no podemos agrupar todos los individuos en una sola muestra a fin de compararlos con los individuos del grupo control.

Comparación entre el grupo problema y el grupo control

En primer lugar se compararon el grupo control con el grupo problema y actividad.

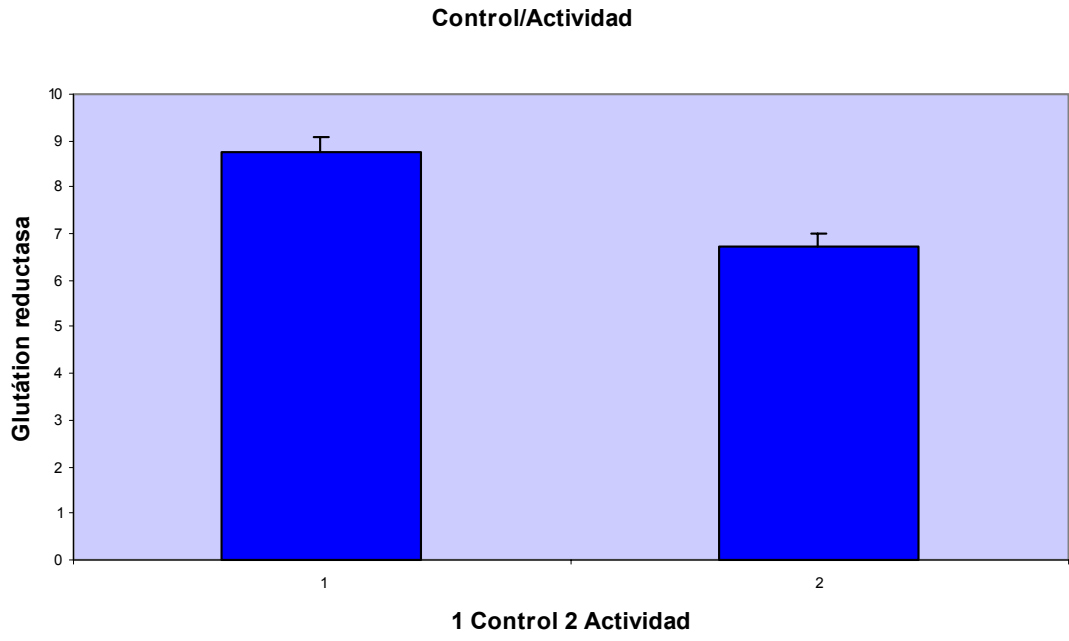
Realizando el test F de comparación de varianzas entre dos poblaciones normales, se obtiene un P-Valor = 0,193014, por tanto podemos suponer homogeneidad de varianzas. Como se observa en la gráfica, parece que la variable glutathion reductasa toma valores superiores en el grupo control que en el grupo problema bajo actividad. Por ello se realiza el test t-Student de comparación de medias en poblaciones normales con homogeneidad de varianzas, tomando como hipótesis alternativa que la media de glutathion reductasa en el grupo control es superior a la media de glutathion reductasa en el grupo problema bajo actividad. Se obtuvo un P-Valor < 0,0005. Con lo que podemos aceptar que glutathion reductasa

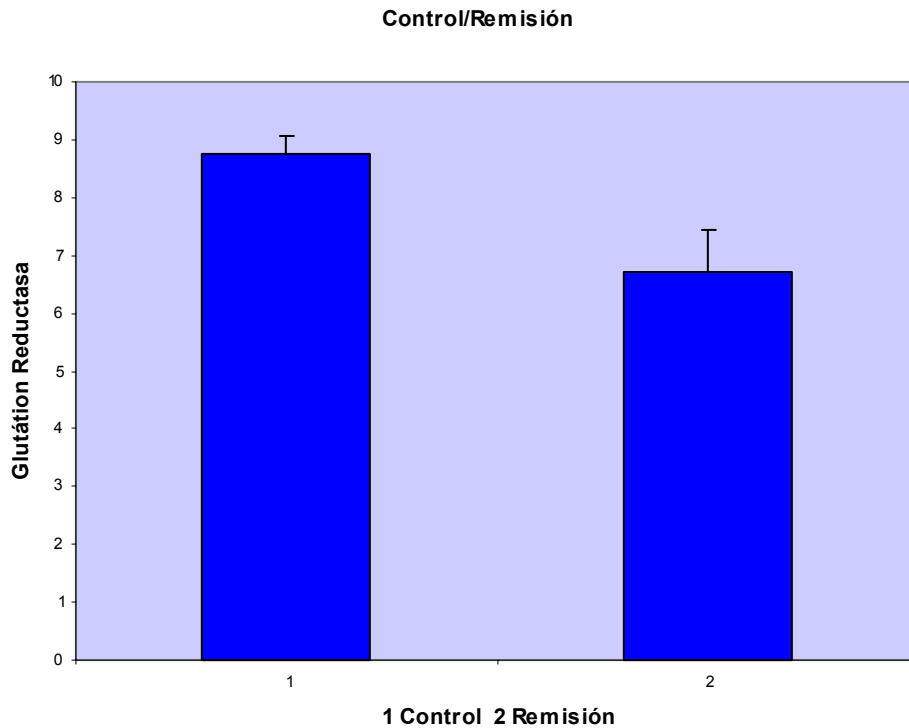
toma valores significativamente superiores en el grupo control que en el grupo problema bajo actividad.



En segundo lugar se compararon el grupo control con el grupo problema y remisión.

Realizando el test F de comparación de varianzas entre dos poblaciones normales, se obtiene un P-Valor = 0,454857, por tanto podemos suponer homogeneidad de varianzas. Como se observa en la gráfica, no parece que la variable glutathion reductasa tome valores superiores ó inferiores en el grupo control que en el grupo problema bajo remisión. Por ello se realiza el test t-Student de comparación de medias en poblaciones normales con homogeneidad de varianzas, tomando como hipótesis alternativa que la media de glutathion reductasa en el grupo control es diferente a la media de glutathion reductasa en el grupo problema bajo remisión. Se obtuvo un P-Valor >0,05. Es decir, no se detecta diferencia significativa de la variable glutathion reductasa en el grupo control y en el grupo problema bajo remisión.





No se detectan diferencias significativas entre los niveles (sí/no) de nefropatía.

Se detectan diferencias significativas entre los niveles de actividad/remisión.

Podemos aceptar que glutathione reductase toma valores significativamente superiores en el grupo control que en el grupo problema bajo actividad.

No se detecta diferencia significativa de la variable glutathione reductase en el grupo control y en el grupo problema en remisión.

5.1.3. Superóxido dismutasa (SOD)

GRUPO CONTROL

Nº casos 33

Resumen Estadístico para SODcontrol

Frecuencia = 33

Media = 496,485

Mediana = 492,0

Varianza = 1647,01

Desviación típica = 40,5833

Error estándar = 7,06465

Mínimo = 428,0

Máximo = 596,0

Rango = 168,0

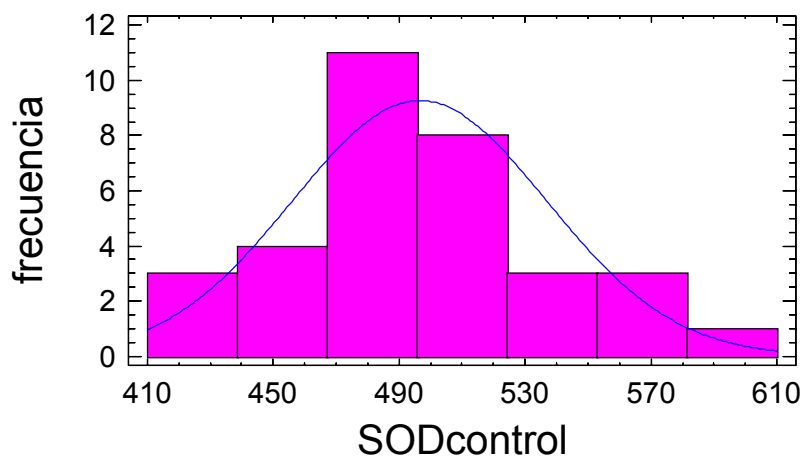
Primer cuartil = 472,0

Tercer cuartil = 520,0

Asimetría tipificada = 1,05794

Curtosis tipificada = 0,0271243

Histograma para SODcontrol



Esta variable presenta 33 valores comprendidos desde 428,0 hasta 596,0 observándose individuos con valores superiores (id. 8, 16, 17, 20, 22, 23, 27, 32) y con valores inferiores (id 1, 5, 15) que los

considerados normales para esta variable. El valor del coeficiente de asimetría estandarizado está dentro del rango esperado para los datos de una distribución normal. El valor del coeficiente de curtosis estandarizado está dentro del rango esperado para los datos de una distribución normal. Que la variable sigue una distribución normal queda confirmado por el test chi-cuadrado de bondad de ajuste con un P-valor = 0,307353.

GRUPO PROBLEMA

Nº casos: 23

Resumen Estadístico para SOD en púrpura de Schönlein-Henoch

Frecuencia = 23

Media = 495,70

Mediana = 488,00

Varianza = 1381,858

Desviación típica = 37,17

Error estándar = 7,75

Mínimo = 408,0

Máximo = 593,0

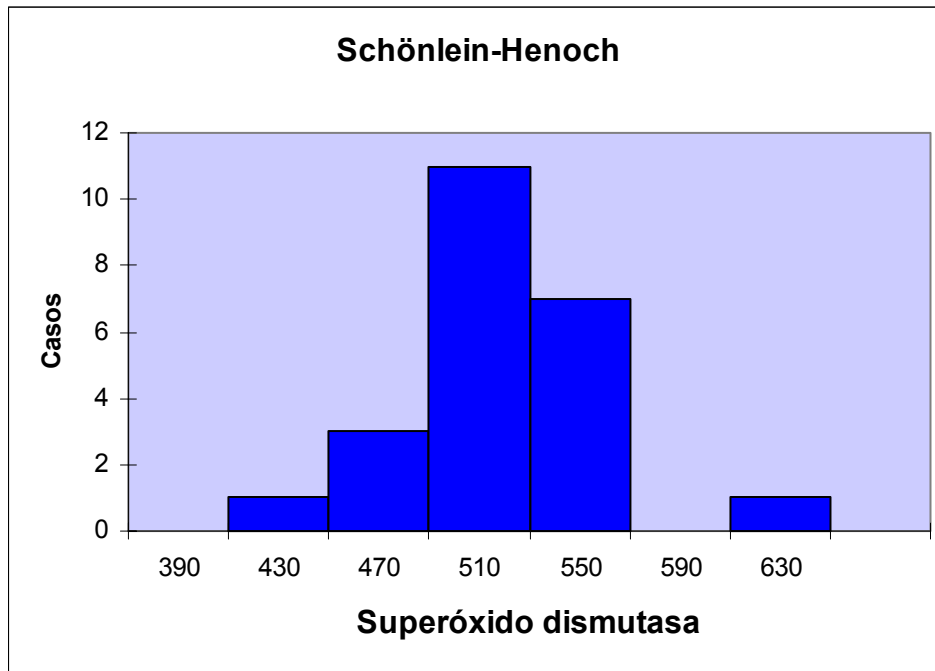
Rango = 185,0

Primer cuartil = 473,0

Tercer cuartil = 502,0

Asimetría tipificada = 1,39833

Curtosis tipificada = 3,0951



Esta variable presenta 23 valores comprendidos desde 408,0 hasta 593,0 teniendo un rango de variación algo superior al caso control. También se observa una dispersión respecto la media algo superior que en el caso control.

Observándose individuos con valores superiores (id. 8, 9, 20, 22 y 23) y valores inferiores (id 2) que los considerados normales para esta variable. El valor del coeficiente de asimetría estandarizado está dentro del rango esperado para los datos de una distribución normal. El valor del coeficiente de curtosis estandarizado no está dentro del rango esperado para los datos de una distribución normal. Además el test chi-cuadrado de bondad de ajuste con un P-valor = 0,0225032 no permite aceptar la hipótesis de normalidad.

Estudio de la relación entre la superóxido dismutasa y la nefropatía y actividad en la púrpura de Schönlein-Henoch.

Aunque en este caso no se verifica la condición de normalidad para la variable superóxido dismutasa el estudio de los residuos en un modelo de dos factores con interacción da un P-valor = 0,0541992 en el test de ajuste de chi-cuadrado, por lo tanto realizaremos el análisis de la varianza.

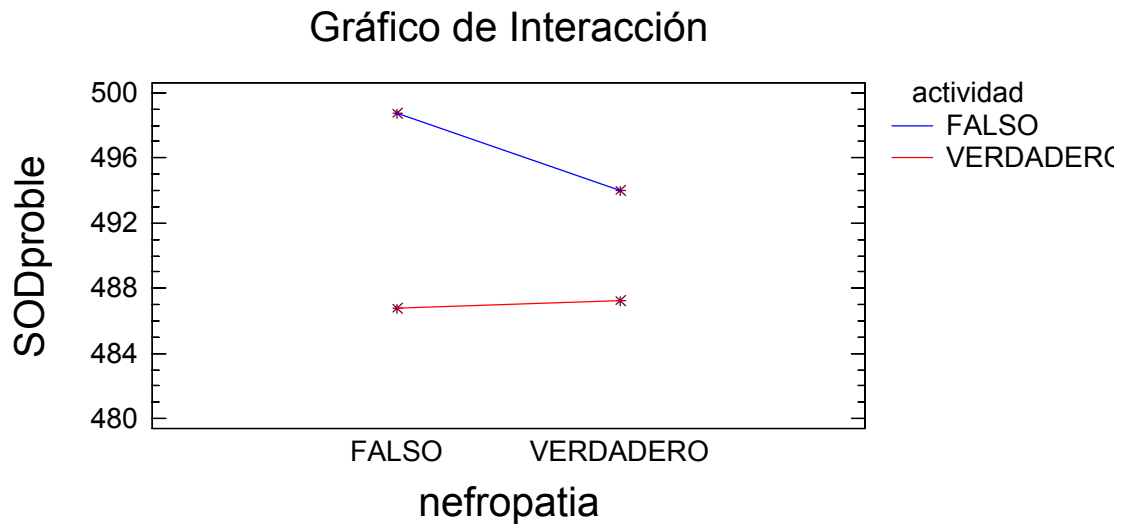
La tabla de las medias correspondientes a las cuatro posibles situaciones de nefropatía (sí/no) y actividad/remisión se incluye a continuación.

Nivel	Frecuencia	Media	Error Estándar
Actividad según nefropatía			
REMISIÓN / NO	5	504,6	14,5829
REMISIÓN / SÍ	3	488,33	7,31057
ACTIVIDAD / NO	6	488,5	10,9901
ACTIVIDAD / SÍ	9	498,0	17,1942

Los resultados del análisis de la varianza con interacción (no balanceado) están resumidos en la siguiente tabla ANOVA:

ANALISIS DE LA VARIANZA

FUENTE DE VARIACION		Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFECTOS PRINCIPALES	A: nefropatía	56,451	1	56,451	0,036	n.s.
	B: actividad	51,026	1	51,026	0,033	n.s.
INTERACCIONES	AB	818,533	1	818,533	0,527	n.s.
RESIDUOS		29483,367	19	1551,756		
TOTAL	(corregido)	30400,870	22			

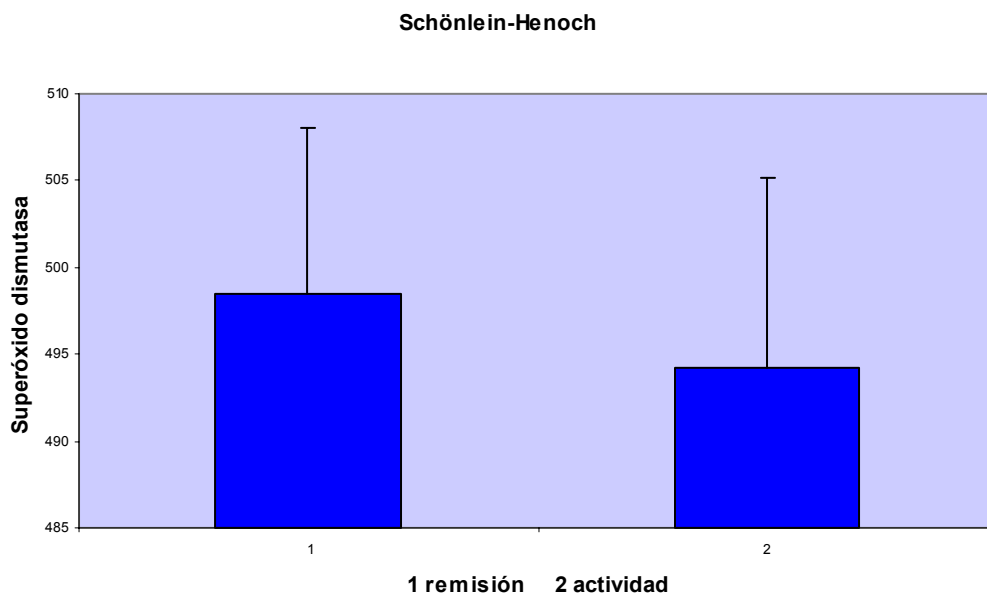
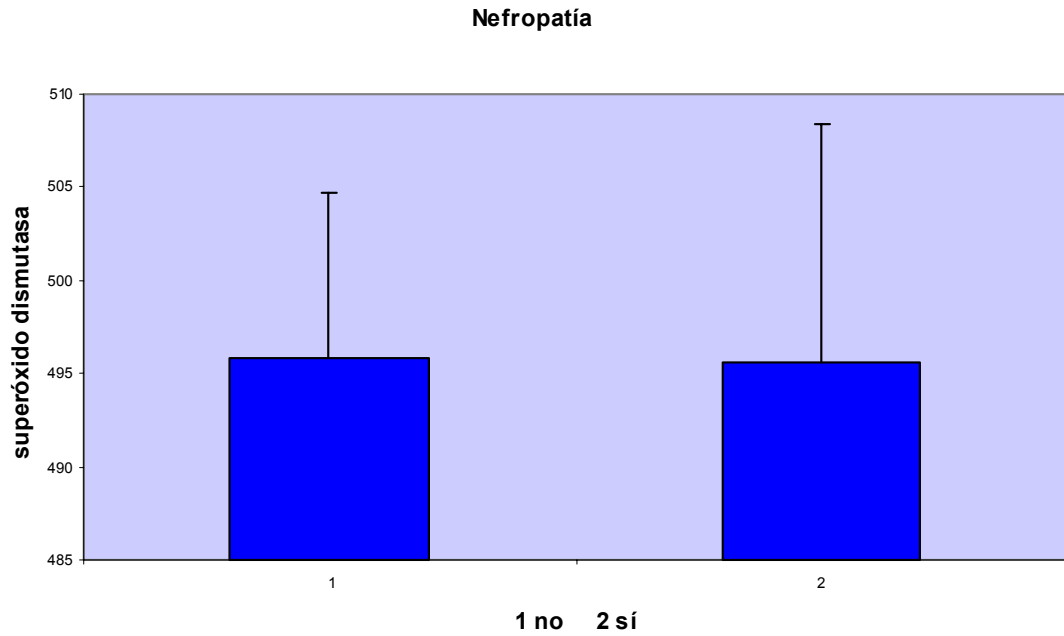


La tabla del análisis de la varianza muestra que la interacción no es significativa ($p\text{-valor} > 0,05$) aunque la gráfica correspondiente muestra que el comportamiento no es exactamente el mismo. Rehaciendo el modelo, y realizando un análisis de la varianza de dos factores sin interacción (no balanceado) se obtiene:

ANALISIS DE LA VARIANZA

FUENTE DE VARIACION		Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFECTOS PRINCIPALES	A: nefropatía	2,500	1	2,500	0,002	n.s.
	B: actividad	98,653	1	98,653	0,065	n.s.
RESIDUOS		30301,900	20	1515,095		
TOTAL	(corregido)	30403,053	22			

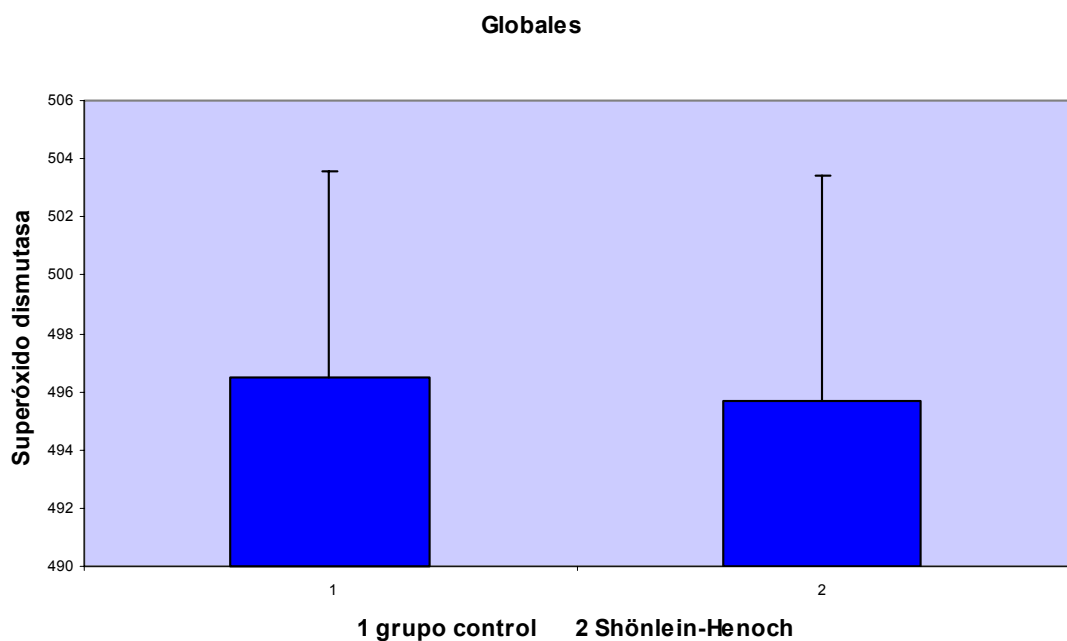
Es decir no se detectan diferencias significativas entre los niveles (sí/no) de nefropatía ni actividad/ remisión. Como se observa en la gráfica correspondiente a nefropatía los valores de superóxido dismutasa bajo la condición de sí o no son prácticamente iguales. Para actividad da valores algo inferiores en la condición de actividad.



Como no han salido diferencias significativas podemos agrupar todos los individuos en una sola muestra y compararlos con los individuos del grupo control.

Comparación entre el grupo problema y el grupo control

En este caso no se cumple la condición de normalidad para la variable superóxido dismutasa en el grupo problema, por tanto para realizar la comparación entre los dos grupos se ha utilizado el test no paramétrico U de Mann-Whitney. Se ha obtenido un P-valor $>0,05$ con lo que podemos afirmar que no existen diferencias significativas entre el grupo control y el grupo problema.



No se detectan diferencias significativas entre los niveles (verdadero/falso) de nefropatía y actividad.

No se detectan diferencias entre el grupo control y el grupo afecto de Schönlein-Henoch.

5.1.4. Catalasa (CAT)

GRUPO CONTROL

Nº casos: 33

Resumen estadístico para Catalasa control

Frecuencia = 33

Media = 1776,45

Mediana = 1835,0

Varianza = 48856,0

Desviación típica = 221,034

Error estándar = 38,4771

Mínimo = 991,0

Máximo = 2060,0

Rango = 1069,0

Primer cuartil = 1654,0

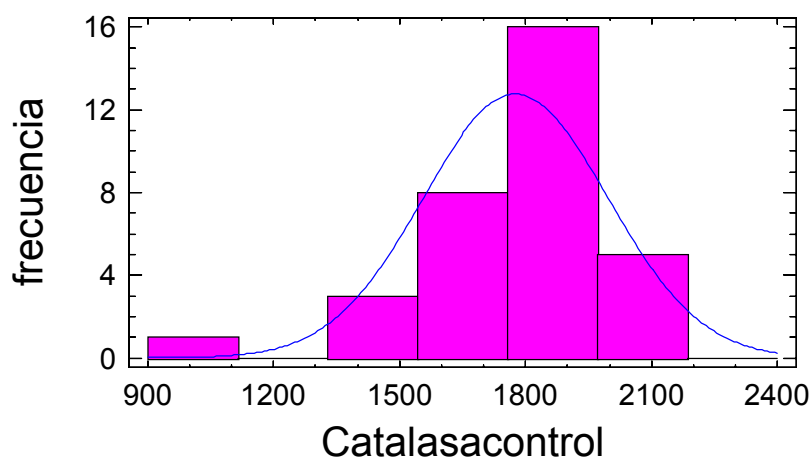
Tercer cuartil = 1939,0

Asimetría tipificada = -3,59515

Curtosis tipificada = 4,14272

P-valor = 0,25077

Histograma para Catalasacontrol



Esta variable presenta 33 valores comprendidos desde 991,0 hasta 2060,0 observándose un elevado número de individuos con valores superiores (id. 2, 3, 4, 5, 10, 12, 14, 15, 19, 20, 21, 22, 23, 30, 31, 32) y sólo uno con valores inferiores (id 17) que los considerados normales para esta variable. El valor del coeficiente de asimetría estandarizado no está dentro del rango esperado para los datos de una distribución normal. El valor del coeficiente de curtosis estandarizado no está dentro del rango esperado para los datos de una distribución normal. Pero que la variable sigue una distribución normal queda confirmado por el test chi-cuadrado de bondad de ajuste con un P-valor = 0,25077.

GRUPO PROBLEMA

Nº casos: 23

Resumen Estadístico para Catalasa en púrpura de Schönlein-Henoch

Frecuencia = 23

Media = 1810,30

Mediana = 1830,00

Varianza = 124950,221

Desviación típica = 353,48

Error estándar = 73,71

Mínimo = 975,0

Máximo = 2470,0

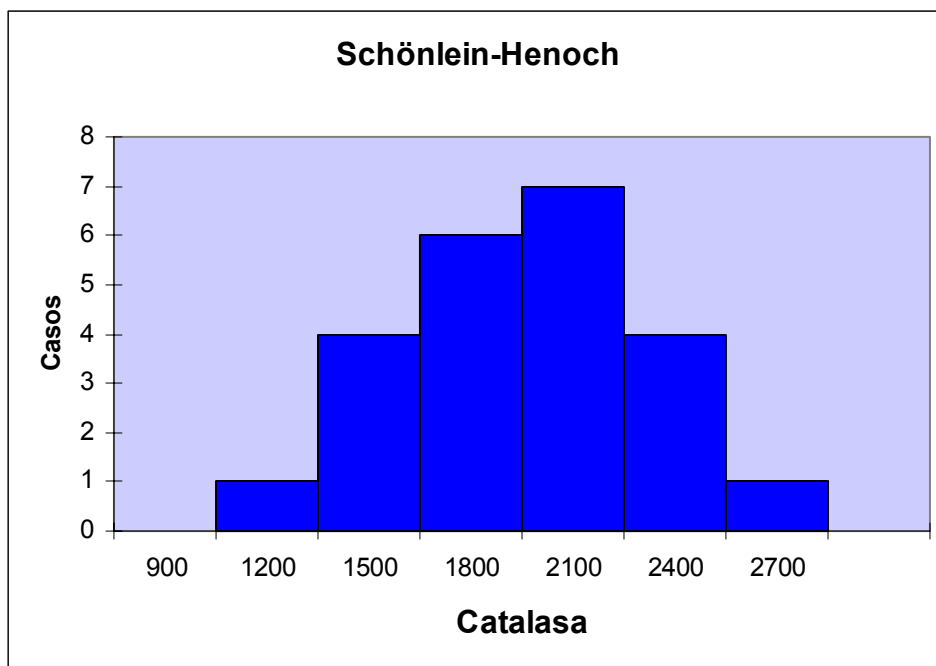
Rango = 1495,0

Primer cuartil = 1777,0

Tercer cuartil = 2120,0

Asimetría tipificada = -1,45174

Curtosis tipificada = 0,907033



Esta variable presenta 23 valores comprendidos desde 975,0 hasta 2470,0, teniendo un rango de variación algo superior al caso control. También se observa una dispersión respecto la media algo inferior que en el caso control.

Observándose un elevado número de individuos con valores superiores (id. 1, 2, 3, 4, 7, 9, 10, 14, 15, 16, 22) y uno sólo con valores inferiores (id 8) que los considerados normales para esta variable. El valor del coeficiente de asimetría estandarizado está dentro del rango esperado para los datos de una distribución normal. El valor del coeficiente de curtosis estandarizado está dentro del rango esperado para los datos de una distribución normal. Además el test chi-cuadrado de bondad de ajuste con un P-valor = 0,739918 permite aceptar la hipótesis de normalidad.

Estudio de la relación entre la catalasa y la nefropatía y actividad en la púrpura de Schönlein-Henoch.

La tabla de las medias correspondientes a las cuatro posibles situaciones de nefropatía (sí/no) y actividad/remisión se incluye a continuación.

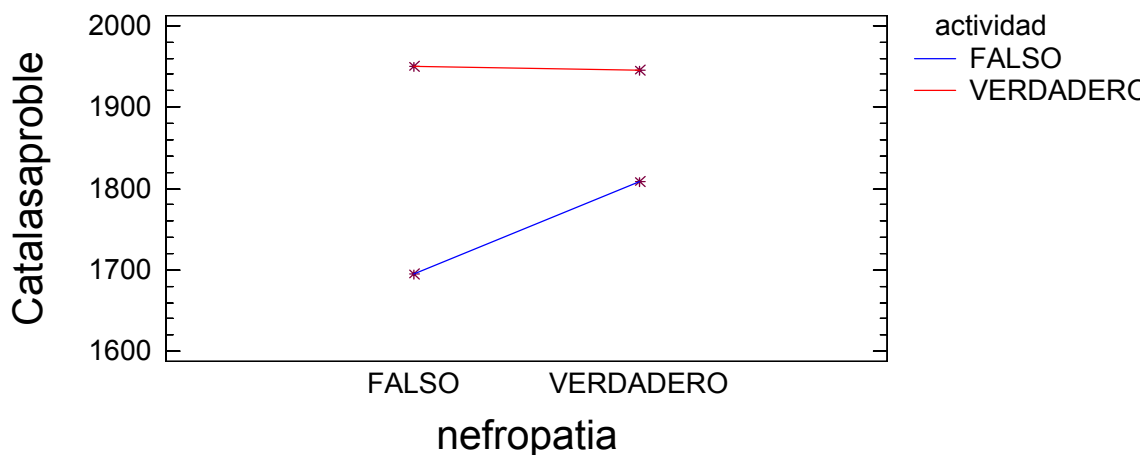
Nivel	Frecuencia	Media	Error Estándar
Actividad según nefropatía			
REMISIÓN / NO	5	1729,8	166,466
REMISIÓN /SI	3	1797,67	214,906
ACTIVIDAD / NO	6	1755,67	151,962
ACTIVIDAD / SI	9	1895,67	124,076

Los resultados del análisis de la varianza con interacción (no balanceado) están resumidos en la siguiente tabla ANOVA

ANALISIS DE LA VARIANZA

FUENTE DE VARIACION		Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFECTOS PRINCIPALES	A: nefropatía	53270,816	1	53270,816	0,384	n.s.
	B: actividad	18915,967	1	18915,967	0,137	n.s.
INTERACCIONES	AB	6414,926	1	6414,926	0,046	n.s.
RESIDUOS		2632528,8	19	138554,147		
TOTAL	(corregido)	2748904,87	22			

Gráfico de Interacción

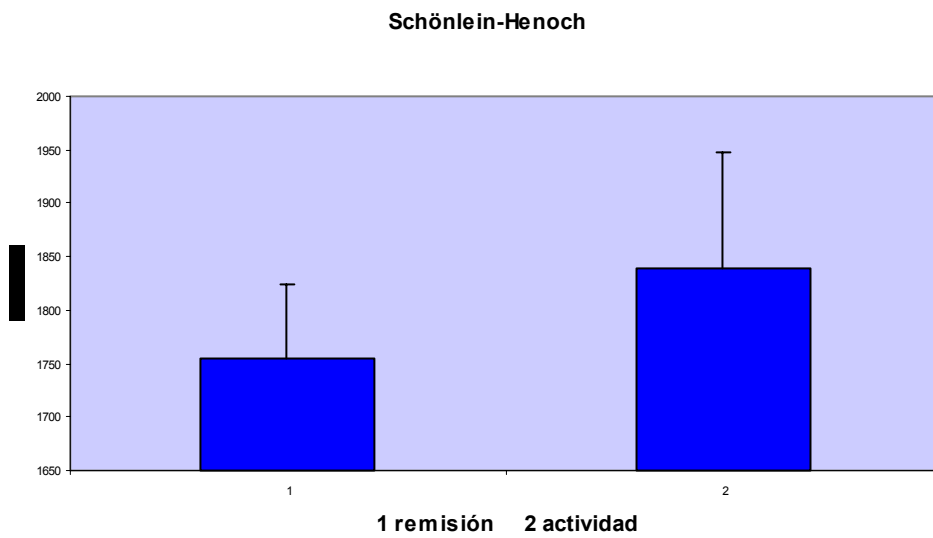
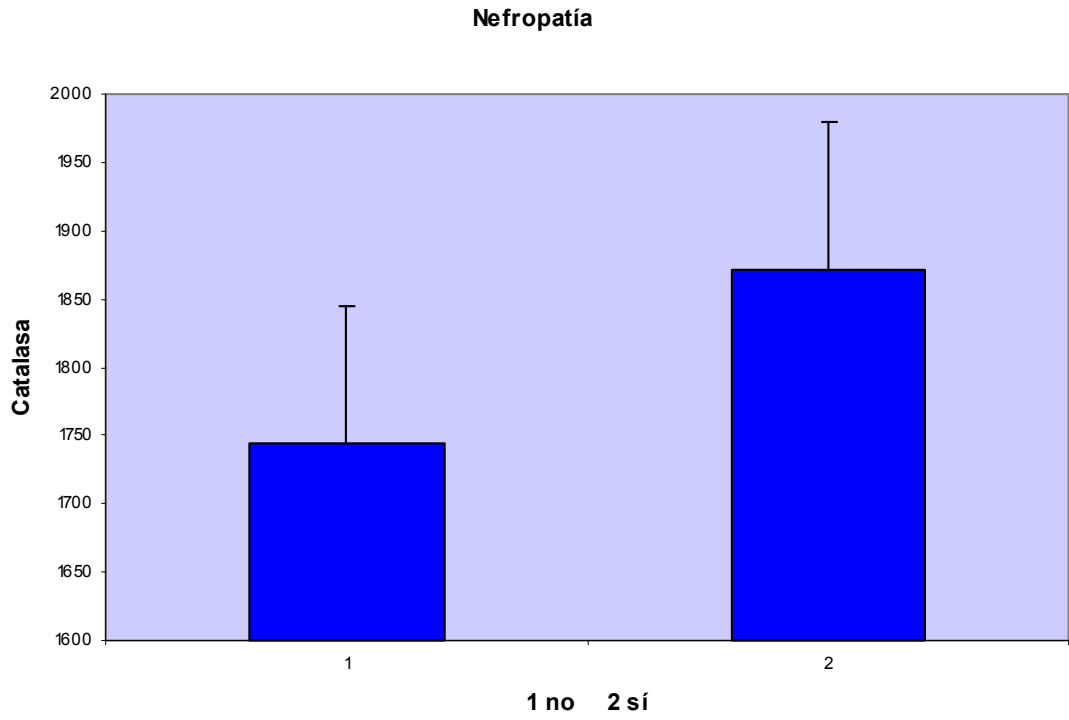


La tabla del análisis de la varianza muestra que la interacción no es significativa ($p\text{-valor} > 0,05$). Sin embargo la gráfica correspondiente muestra que el comportamiento es diferente. Rehaciendo el modelo, y realizando un análisis de la varianza de dos factores sin interacción (no balanceado) se obtiene

ANALISIS DE LA VARIANZA

FUENTE DE VARIACION		Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES	A: nefropatía	72781,107	1	72781,107	0,552	n.s.
	B: actividad	17018,850	1	17018,850	0,129	n.s.
RESIDUOS		2638943,726	20	131947,186		
TOTAL	(corregido)	2728743,683	22			

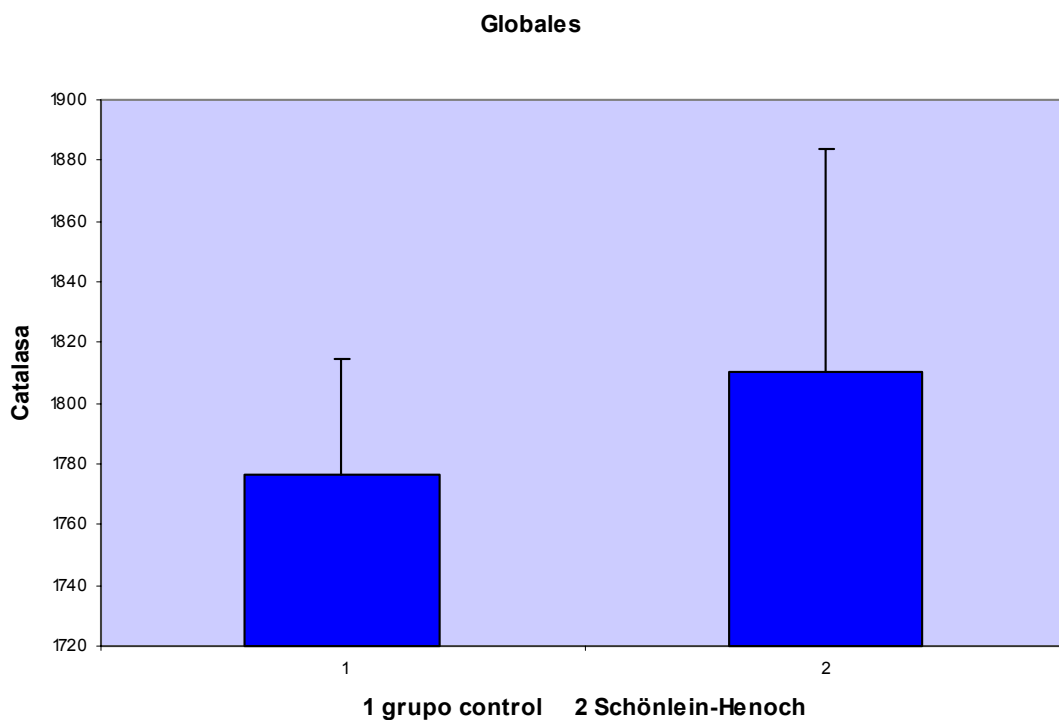
Es decir no se detectan diferencias significativas entre los niveles (sí/no) del factor nefropatía ni del factor actividad/remisión. Como puede observarse en la gráfica correspondiente los valores de catalasa bajo la condición de actividad son ligeramente superiores (aunque no significativamente) a los valores de catalasa bajo la condición de remisión.



Como no se han detectado diferencias significativas podemos agrupar todos los individuos en una sola muestra a fin de compararlos con los individuos del grupo control.

Comparación entre el grupo problema y el grupo control

Realizando el test F de comparación de varianzas entre dos poblaciones normales, se obtiene un P-Valor $<0,05$, por tanto no podemos suponer homogeneidad de varianzas. Como se observa en la gráfica, parece que la variable catalasa toma valores superiores en el grupo problema que en el grupo control. Por ello se realiza el test t-Student modificado de comparación de medias en poblaciones normales sin homogeneidad de varianzas, tomando como hipótesis alternativa que la media de catalasa en el grupo control es inferior a la media de catalasa en el grupo problema. Se obtuvo un P-Valor $>0,05$. Con lo que no se detectan diferencias significativas entre el grupo control y el grupo problema.



No se detectan diferencias significativas entre los niveles (sí/no) de nefropatía ni de actividad/remisión, aunque la gráfica correspondiente parece indicar que los valores de catalasa bajo la condición de

actividad son ligeramente superiores (aunque no significativamente) a los valores de catalasa bajo la condición de remisión.

No se detectan diferencias significativas entre el grupo control y el grupo problema, *aunque para el grupo problema los valores de catalasa sean algo mayores.*

5.2.1. Ubiquinona

GRUPO CONTROL

Nº casos: 23

Resumen Estadístico para ubiquinonacontrol

Frecuencia = 23

Media = 0,666087

Mediana = 0,66

Varianza = 0,0306249

Desviación típica = 0,175

Error estándar = 0,03649

Mínimo = 0,36

Máximo = 0,98

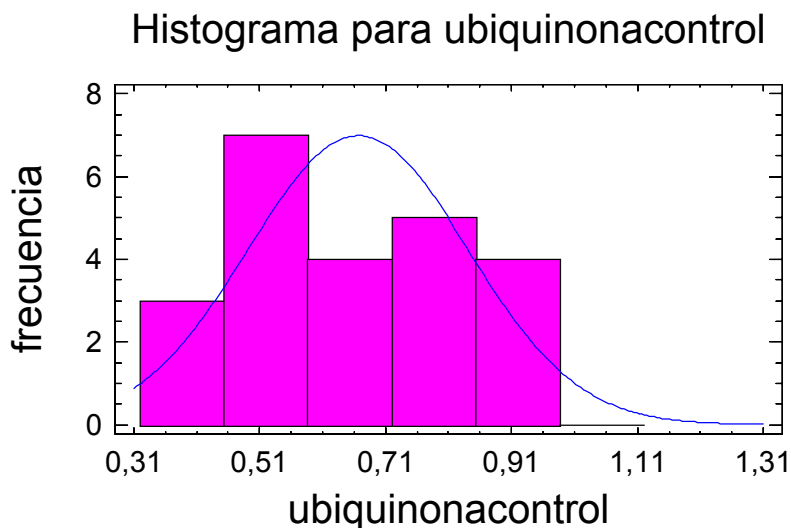
Rango = 0,62

Primer cuartil = 0,53

Tercer cuartil = 0,79

Asimetría tipificada = 0,322558

Curtosis tipificada = -0,782428



Esta variable presenta 23 valores comprendidos desde 0,36 hasta 0,98 observándose un individuo con valores inferiores (id. 12) que los considerados normales para esta variable.

El valor del coeficiente de asimetría estandarizado está dentro del rango esperado para los datos de una distribución normal. El valor del coeficiente de curtosis estandarizado está dentro del rango esperado para los datos de una distribución normal. Que la variable sigue una distribución normal queda confirmado por el test chi-cuadrado de bondad de ajuste con un P-valor = 0,620344.

GRUPO PROBLEMA

Nº casos: 23

Resumen Estadístico para ubiquinona en púrpura de Schönlein-Henoch.

Frecuencia = 23

Media = 0,6117

Mediana = 0,5500

Varianza = 6,073E-02

Desviación típica = 0,2464

Error estándar = 5,139E-02

Mínimo = 0,31

Máximo = 1,3

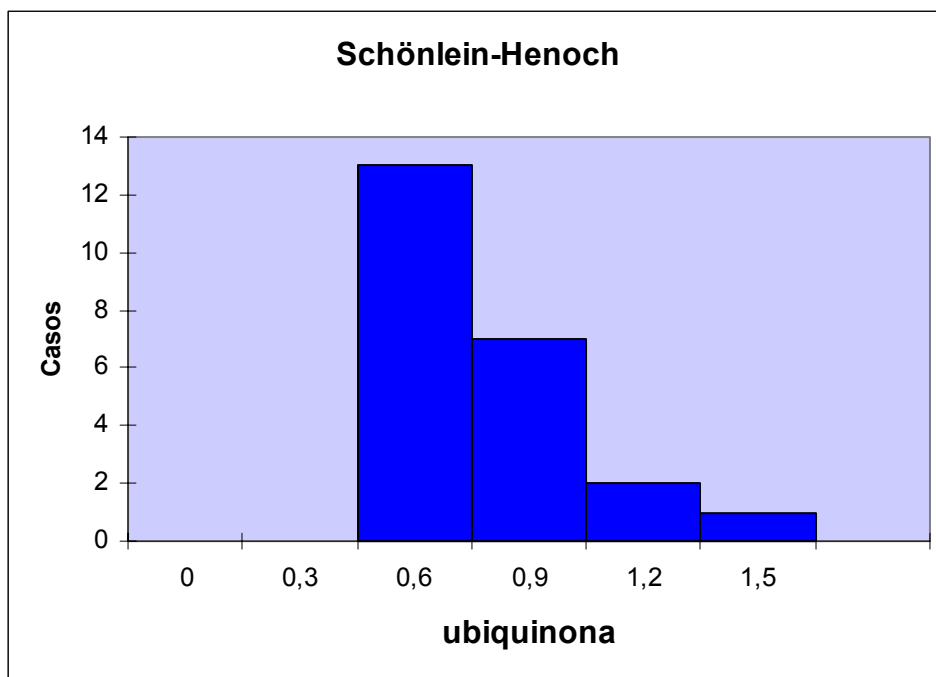
Rango = 0,99

Primer cuartil = 0,41

Tercer cuartil = 0,72

Asimetría tipificada = 2,48625

Curtosis tipificada = 1,77809



Esta variable presenta 23 valores comprendidos desde 0,31 hasta 1,3 teniendo un rango de variación algo superior al caso control. También se observa una dispersión respecto la media algo superior que en el caso control. Observándose individuos con valores inferiores (id. 10, 11, 15, 16) y un valor superior (id 6) que los considerados normales para esta variable. El valor del coeficiente de asimetría estandarizado no está dentro del rango esperado para los datos de una distribución normal. El valor del coeficiente de curtosis estandarizado está dentro del rango esperado para los datos de una distribución normal. Sin embargo el test chi-cuadrado de bondad de ajuste con un P-valor = 0,253551 permite aceptar la hipótesis de normalidad.

Estudio de la relación entre la ubiquinona y la nefropatía y actividad en la púrpura de Schönlein-Henoch.

La tabla de las medias correspondientes a las cuatro posibles situaciones de nefropatía (sí/no) y actividad/remisión se incluye a continuación.

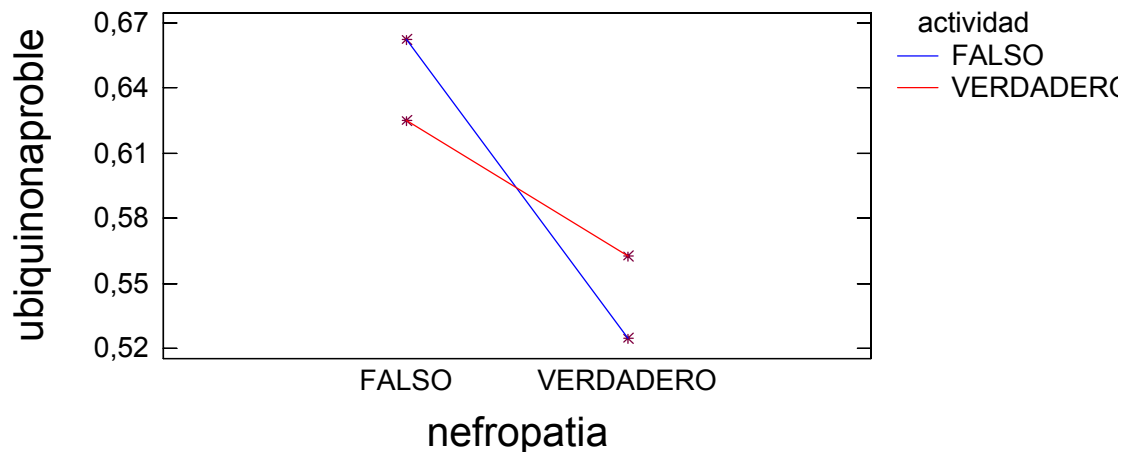
Nivel	Frecuencia	Media	Error Estándar
Actividad según nefropatía			
REMISIÓN / NO	5	0,612	0,175054
REMISIÓN / SÍ	3	0,64	0,132791
ACTIVIDAD / NO	6	0,643333	0,0921472
ACTIVIDAD / SÍ	9	0,581111	0,069311

Los resultados del análisis de la varianza con interacción (no balanceado) están resumidos en la siguiente tabla ANOVA

ANALISIS DE LA VARIANZA

FUENTE DE VARIACION		Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFECTOS PRINCIPALES	A: nefropatía	0,001444	1	0,001444	0,021	n.s.
	B: actividad	0,0009361	1	0,0009361	0,013	n.s.
INTERACCIONES	AB	0,01004	1	0,01004	0,145	n.s.
RESIDUOS		1,31661	19	0,073145		
TOTAL	(corregido)	1,336	22			

Gráfico de Interacción

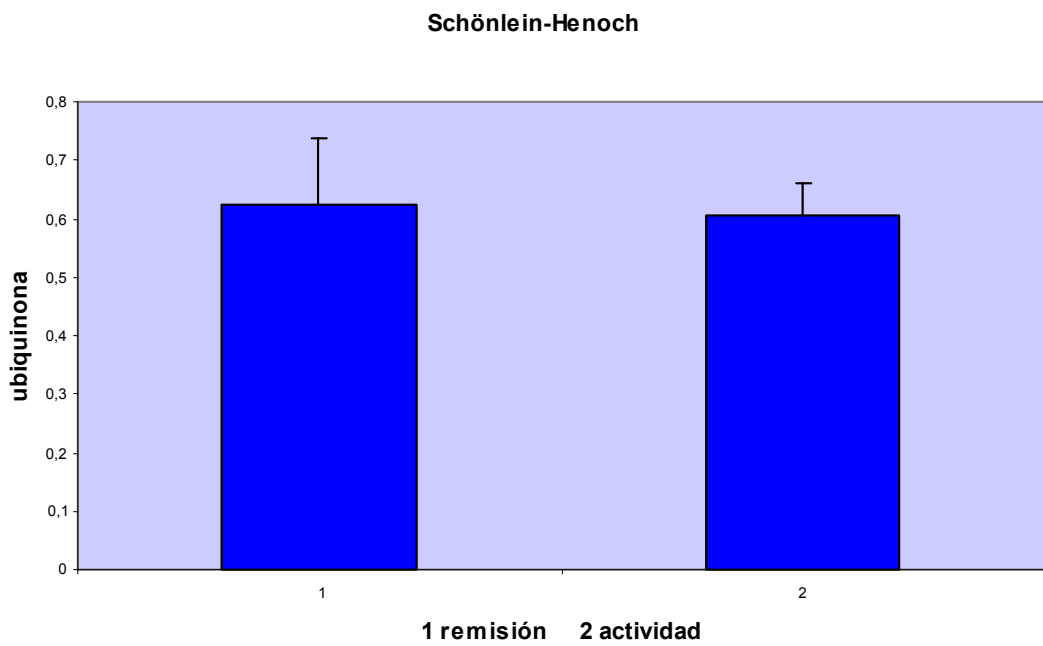
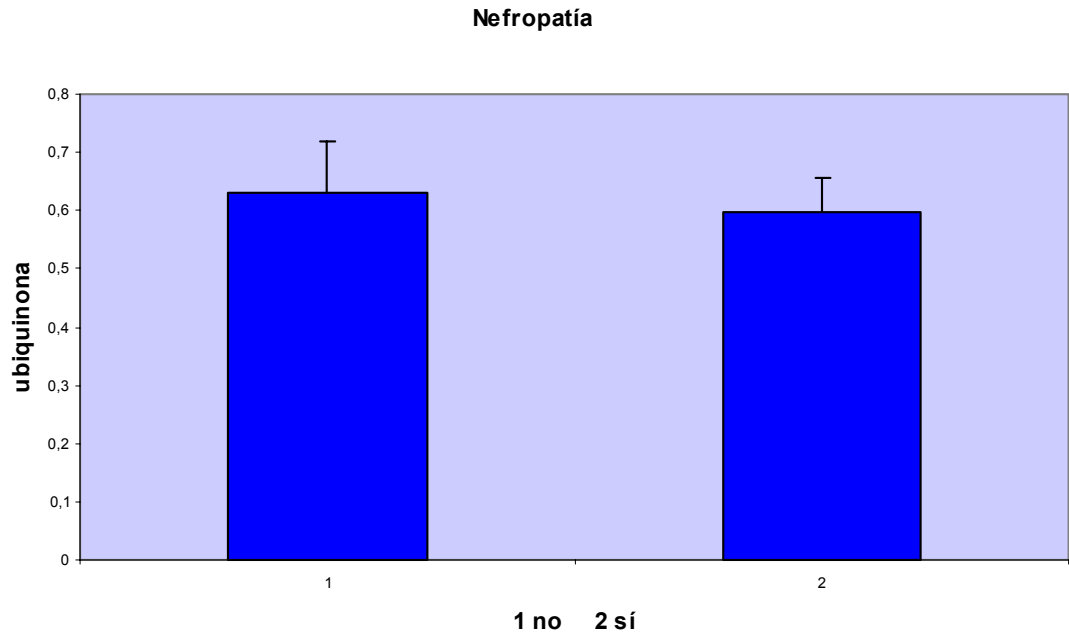


En la gráfica correspondiente a la interacción se observa como el comportamiento no es exactamente el mismo aunque el P-valor > 0,05 de la tabla del análisis de la varianza nos dice que esta interacción no es significativa. Rehaciendo el modelo, y realizando un análisis de la varianza de dos factores sin interacción (no balanceado) se obtiene

ANALISIS DE LA VARIANZA

FUENTE DE VARIACION		Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES	A: nefropatía	0,005372	1	0,005372	0,081	n.s.
	B: actividad	0,000444	1	0,000444	0,007	n.s.
RESIDUOS		1,329	20	0,06647		
TOTAL	(corregido)	1,334816	22			

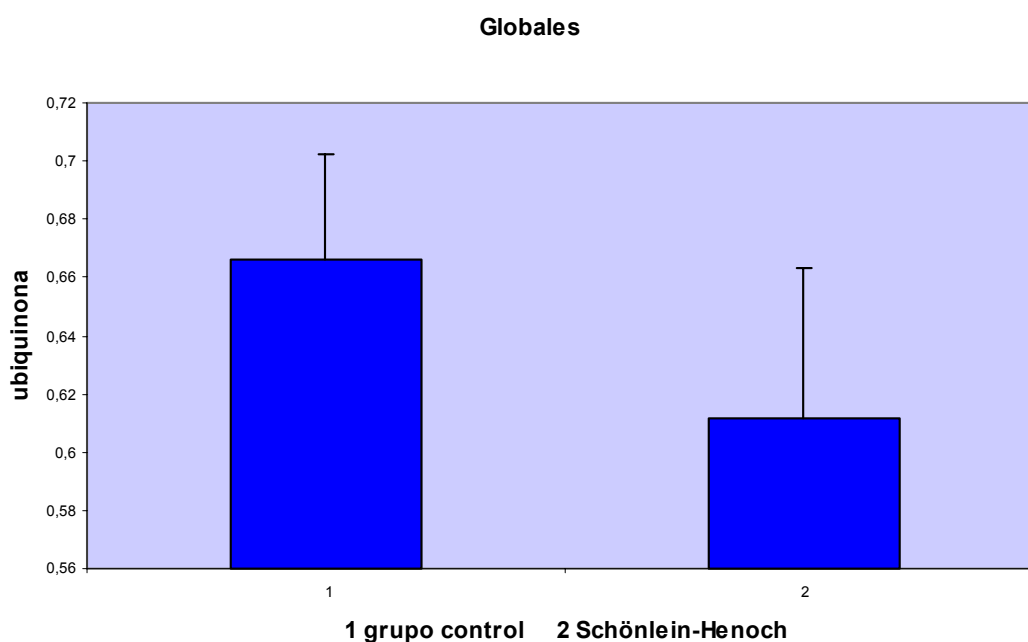
Es decir *no se detectan diferencias significativas entre los niveles nefropatía (sí/no) ni actividad/remisión* aunque las gráficas correspondientes parecen indicar que los valores de Ubiquinona bajo la condición de no nefropatía da valores ligeramente superiores (aunque no sea significativa esta diferencia) que bajo la condición de nefropatía.



Como no han salido diferencias significativas podemos agrupar todos los individuos en una sola muestra y compararlos con los individuos del grupo control.

Comparación entre el grupo afecto de púrpura de Schönlein-Henoch y el grupo control

Realizando el test F de comparación de varianzas entre dos poblaciones normales, se obtiene un P-Valor $>0,05$, por tanto podemos suponer homogeneidad de varianzas. Como se observa en la gráfica, parece que la variable Ubiquinona toma valores superiores en el grupo control que en el grupo problema. Por ello se realiza el test t-Student de comparación de medias en poblaciones normales con homogeneidad de varianzas, tomando como hipótesis alternativa que la media de Ubiquinona en el grupo control es superior a la media de Ubiquinona en el grupo problema. Se obtuvo un P-Valor $>0,05$. Con lo que no podemos aceptar que Ubiquinona toma valores significativamente superiores en el grupo control que en el grupo problema.



No se detectan diferencias significativas entre los niveles de nefropatía (sí/no) y actividad. Las gráficas correspondientes parecen indicar que los valores de Ubiquinona bajo la condición de no nefropatía son

ligeramente superiores (aunque no sea significativa esta diferencia) que bajo la condición de nefropatía.

No existen diferencias significativas entre los valores de Ubiquinona del grupo control y el grupo problema.

5.2.2. Coenzima Q

GRUPO CONTROL

Nº de casos: 20

Resumen Estadístico para CoQcontrol

Frecuencia = 20

Media = 157,091

Mediana = 149,348

Varianza = 1407,36

Desviación típica = 37,5148

Error estándar = 8,38857

Mínimo = 102,273

Máximo = 231,672

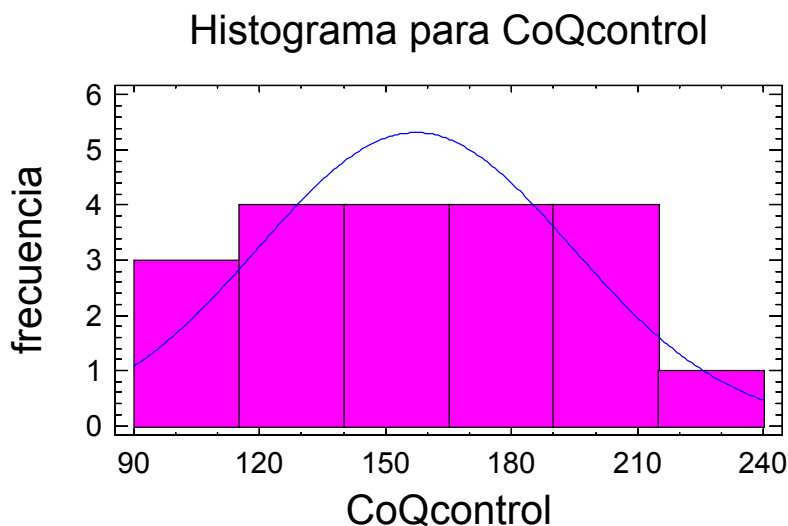
Rango = 129,399

Primer cuartil = 130,726

Tercer cuartil = 184,193

Asimetría tipificada = 0,499788

Curtosis tipificada = -0,725653



Esta variable presenta 20 valores comprendidos desde 102,273 hasta 231,672 observándose individuos con valores inferiores (id. 5, 12, 25) que los considerados normales para esta variable.

El valor del coeficiente de asimetría estandarizado está dentro del rango esperado para los datos de una distribución normal. El valor del coeficiente de curtosis estandarizado está dentro del rango esperado para los datos de una distribución normal. Que la variable sigue una distribución normal queda confirmado por el test chi-cuadrado de bondad de ajuste con un P-valor = 0,910297.

GRUPO PROBLEMA

Nº de casos: 23

Resumen Estadístico para CoQproble

Frecuencia = 23

Media = 140,0943

Mediana = 126,73

Varianza = 2012,992

Desviación típica = 44,8664

Error estándar = 9,3553

Mínimo = 78,3

Máximo = 276,6

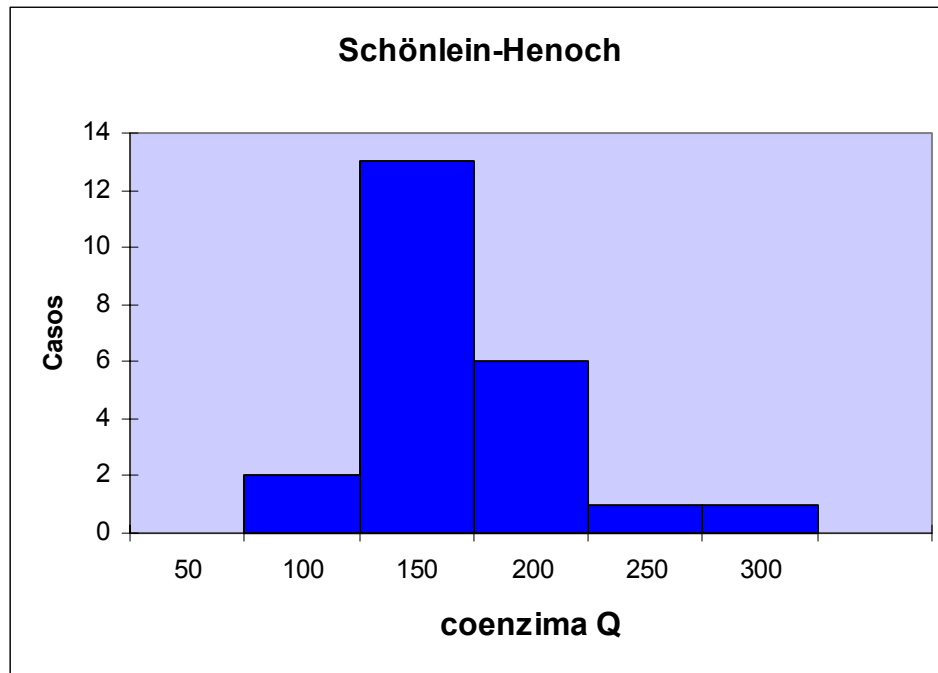
Rango = 198,3

Primer cuartil = 105,13

Tercer cuartil = 169,59

Asimetría tipificada = 2,55742

Curtosis tipificada = 2,13073



Esta variable presenta 23 valores comprendidos desde 78,3 hasta 276,6, teniendo un rango de variación superior al caso control. También se observa una dispersión respecto la media superior que en el caso control. Observándose individuos con valores inferiores (id. 1, 2, 10, 11, 15, 16, 18, 19, 21) que los considerados normales para esta variable. El valor del coeficiente de asimetría estandarizado no está dentro del rango esperado para los datos de una distribución normal. El valor del coeficiente de curtosis estandarizado no está dentro del rango esperado para los datos de una distribución normal. Sin embargo el test chi-cuadrado de bondad de ajuste con un P-valor = 0,122325 permite aceptar la hipótesis de normalidad.

Estudio de la relación entre la coenzima Q y la nefropatía y actividad en la púrpura de Schönlein-Henoch.

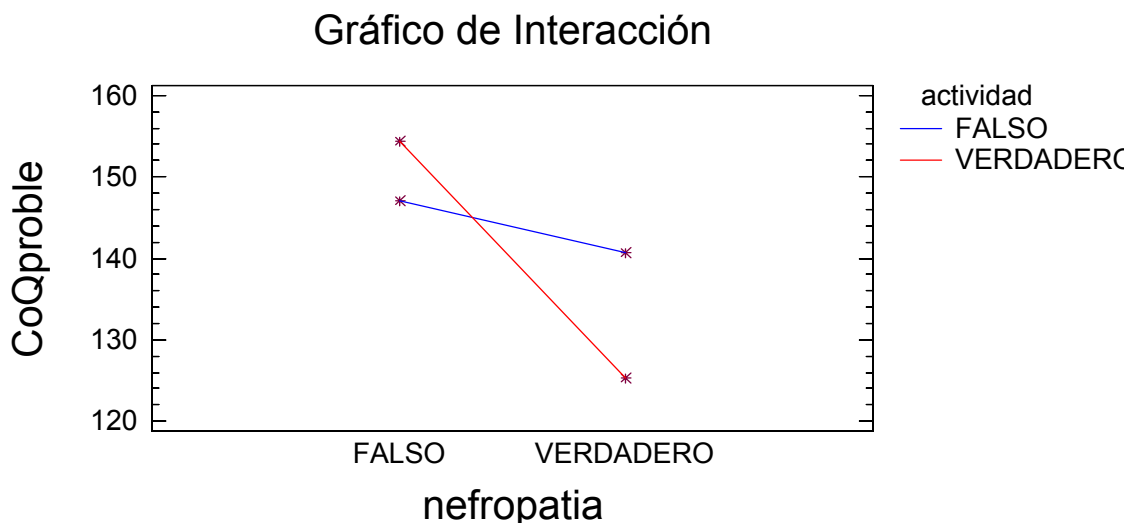
La tabla de las medias correspondientes a las cuatro posibles situaciones de nefropatía (sí/no) y actividad/remisión se incluye a continuación.

Nivel	Frecuencia	Media	Error Estándar
Actividad según nefropatía			
REMISIÓN / NO	5	143,002	34,5664
REMISIÓN / SÍ	3	150,343	22,6897
ACTIVIDAD / NO	6	149,697	17,57
ACTIVIDAD / SÍ	9	128,661	9,09198

Los resultados del análisis de la varianza con interacción (no balanceado) están resumidos en la siguiente tabla ANOVA

ANALISIS DE LA VARIANZA

FUENTE DE VARIACION		Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFECTOS PRINCIPALES	A: nefropatía	231,203	1	231,203	0,104	n.s.
	B: actividad	276,937	1	276,937	0,125	n.s.
INTERACCIONES	AB	992,771	1	992,771	0,447	n.s.
RESIDUOS		42198,726	19	2220,986		
TOTAL	(corregido)	44285,821	22			

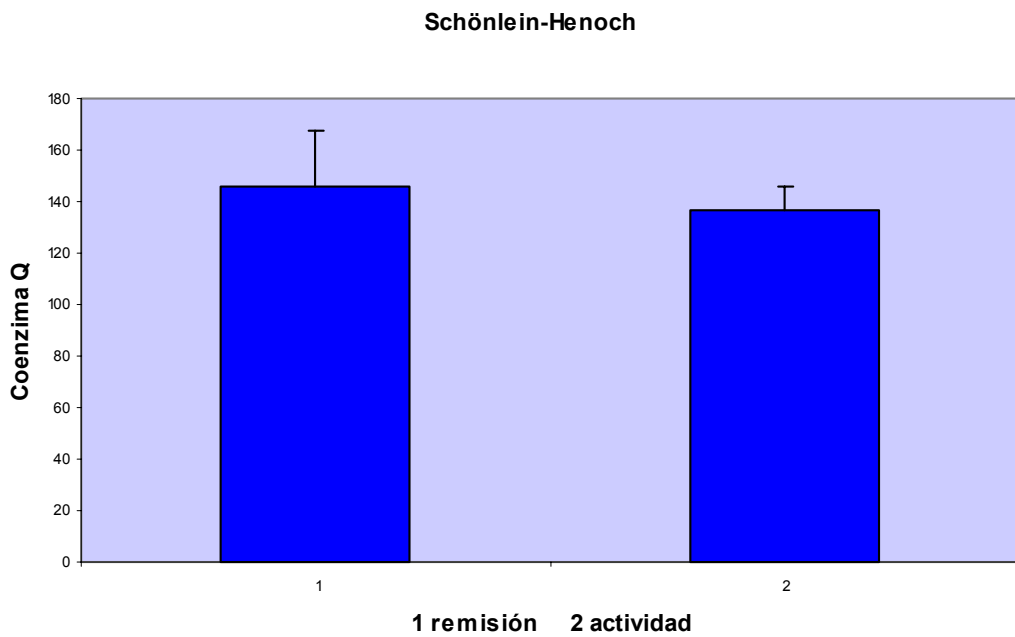
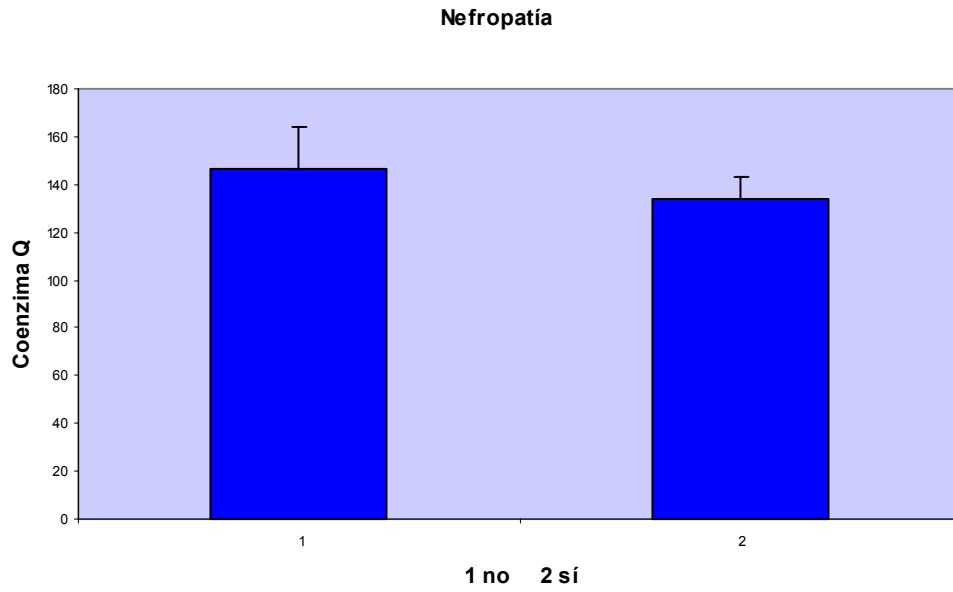


La tabla del análisis de la varianza muestra que la interacción no es significativa ($p\text{-valor} > 0,05$) aunque en la gráfica correspondiente se observa como el comportamiento no es exactamente el mismo. Rehaciendo el modelo, y realizando un análisis de la varianza de dos factores sin interacción (no balanceado) se obtiene

ANALISIS DE LA VARIANZA

FUENTE DE VARIACION		Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFECTOS PRINCIPALES	A: nefropatía	701,263	1	701,263	0,325	n.s.
	B: actividad	187,228	1	187,228	0,087	n.s.
RESIDUOS		43191,497	20	2159,575		
TOTAL	(corregido)	495693,625	22			

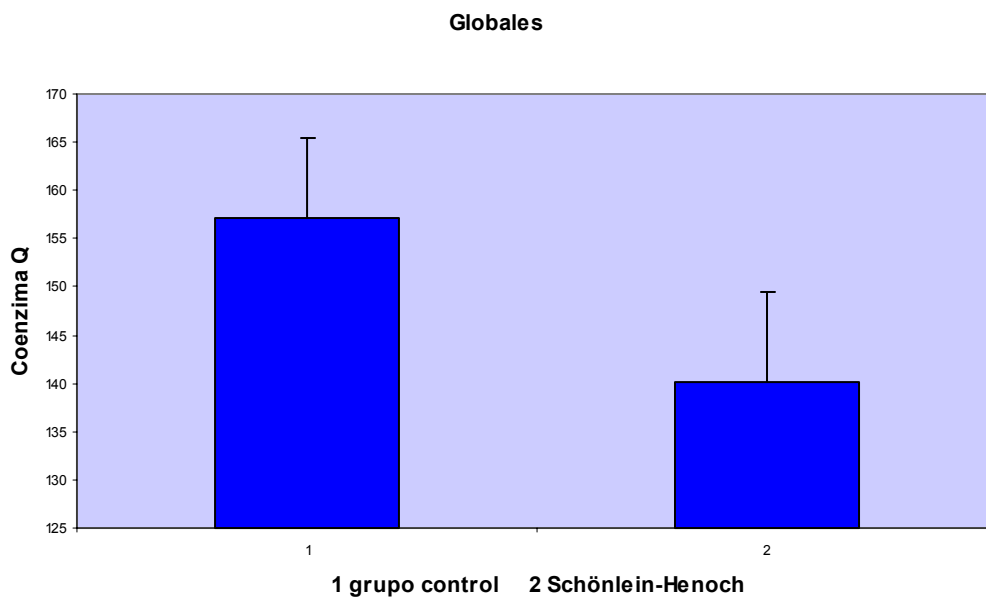
Es decir no se detectan diferencias significativas entre los niveles nefropatía (sí/no) ni actividad/remisión aunque las gráficas correspondientes parecen indicar que los valores de coenzima Q bajo la condición de no nefropatía da valores superiores (aunque no sea significativa esta diferencia) que bajo la condición de nefropatía.



Como no han salido diferencias significativas podemos agrupar todos los individuos en una sola muestra y compararlos con los individuos del grupo control.

Comparación entre el grupo problema y el grupo control

Realizando el test F de comparación de varianzas entre dos poblaciones normales, se obtiene un P-Valor $>0,05$ por tanto podemos suponer homogeneidad de varianzas. Como se observa en la gráfica, parece que la variable coenzima Q toma valores superiores en el grupo control que en el grupo problema. Por ello se realiza el test t-Student de comparación de medias en poblaciones normales con homogeneidad de varianzas, tomando como hipótesis alternativa que la media de coenzima Q en el grupo control es superior a la media de coenzima Q en el grupo problema. Se obtuvo un P-Valor $>0,05$. Con lo que podemos aceptar que coenzima Q no toma valores significativamente superiores en el grupo control que en el grupo problema.



No se detectan diferencias significativas entre los niveles (sí/no) de nefropatía y actividad/remisión. Las gráficas correspondientes parecen indicar que los valores de coenzima Q bajo la condición de no nefropatía son superiores (aunque no sea significativa esta diferencia) que bajo la condición de nefropatía.

No existen diferencias significativas entre los valores de coenzima Q del grupo control y el grupo problema (púrpura de Schönlein-Henoch).

5.2.3. Retinol

GRUPO CONTROL

Nº casos: 25

Resumen Estadístico para VitAcontrol

Frecuencia = 25

Media = 1,2808

Mediana = 1,23

Varianza = 0,0698243

Desviación típica = 0,264243

Error estándar = 0,0528486

Mínimo = 0,6

Máximo = 1,8

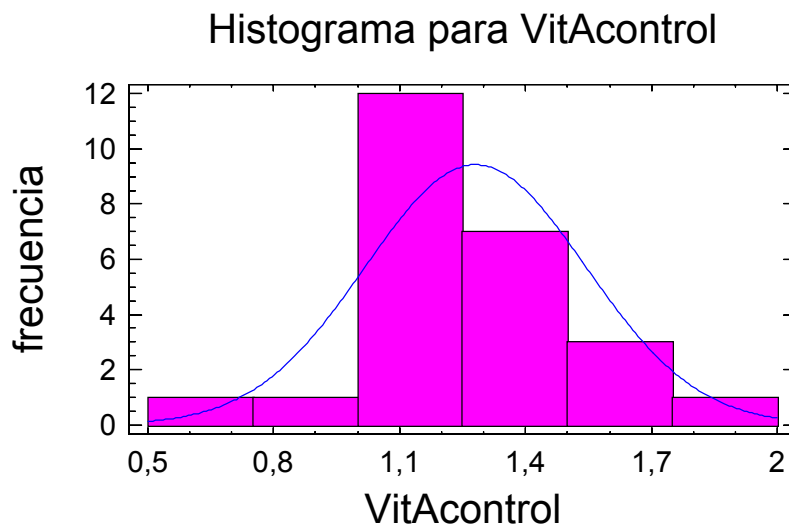
Rango = 1,2

Primer cuartil = 1,1

Tercer cuartil = 1,5

Asimetría tipificada = -0,452662

Curtosis tipificada = 0,741574



Esta variable presenta 25 valores comprendidos desde 0,6 hasta 1,8 observándose un único individuo con valores inferiores (id. 1) que los considerados normales para esta variable. El valor del coeficiente de

asimetría estandarizado está dentro del rango esperado para los datos de una distribución normal. El valor del coeficiente de curtosis estandarizado está dentro del rango esperado para los datos de una distribución normal. Sin embargo el test chi-cuadrado de bondad de ajuste con un P-valor = 0,00962111 no permite asegurar la condición de normalidad.

GRUPO PROBLEMA

Nº casos: 19

Resumen Estadístico para VitAproble

Frecuencia = 19

Media = 1,274

Mediana = 1,230

Varianza = 6,982E-02

Desviación típica = 0,264

Error estándar = 7,408E-2

Mínimo = 0,6

Máximo = 1,8

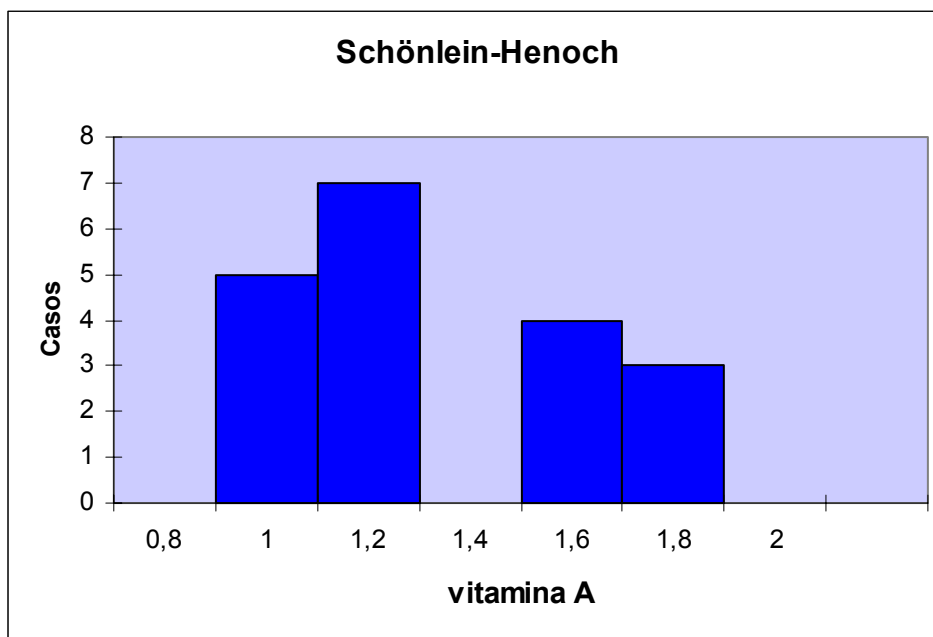
Rango = 1,2

Primer cuartil = 1,1

Tercer cuartil = 1,6

Asimetría tipificada = 0,750464

Curtosis tipificada = -1,15953



Esta variable presenta 19 valores comprendidos desde 0,9 hasta 1,8 teniendo un rango de variación algo inferior al caso control. También se observa una dispersión respecto la media superior que en el caso control.

No se observa ningún individuo con valores inferiores ó superiores que los considerados normales para esta variable. El valor del coeficiente de asimetría estandarizado está dentro del rango esperado para los datos de una distribución normal. El valor del coeficiente de curtosis estandarizado está dentro del rango esperado para los datos de una distribución normal. Sin embargo el test chi-cuadrado de bondad de ajuste con un P-valor = 0,0019982 no permite aceptar la hipótesis de normalidad.

Estudio de la relación entre la vitamina A y la nefropatía y actividad en la púrpura de Schönlein-Henoch.

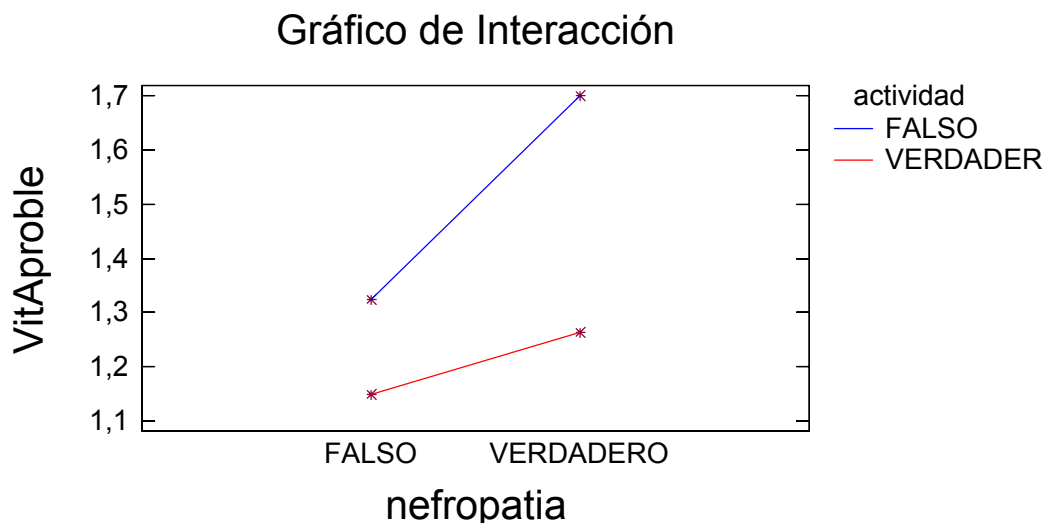
La tabla de las medias correspondientes a las cuatro posibles situaciones de nefropatía (sí/no) y actividad/remisión se incluye a continuación.

Nivel	Frecuencia	Media	Error Estándar
Actividad según nefropatía			
REMISION/ NO	4	1,325	0,170171
REMISION / SI	2	1,4	0,3
ACTIVIDAD / NO	5	1,22	0,146287
ACTIVIDAD / SI	8	1,25	0,123924

Los resultados del análisis de la varianza con interacción (no balanceado) están resumidos en la siguiente tabla ANOVA. Aunque la variable vitamina A no sigue una distribución normal, como el test de ajuste de chi-cuadrado sobre los residuos da un P-valor > 0,05 aceptaremos la normalidad de los residuos y por tanto realizaremos el análisis.

ANALISIS DE LA VARIANZA

FUENTE DE VARIACION		Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES	A: nefropatía	0,01026	1	0,01026	0,085	n.s.
	B: actividad	0,06049	1	0,06049	0,500	n.s.
INTERACCIONES	AB	0,001884	1	0,001884	0,016	n.s.
RESIDUOS		1,815	15	0,121		
TOTAL	(corregido)	1,877	18			

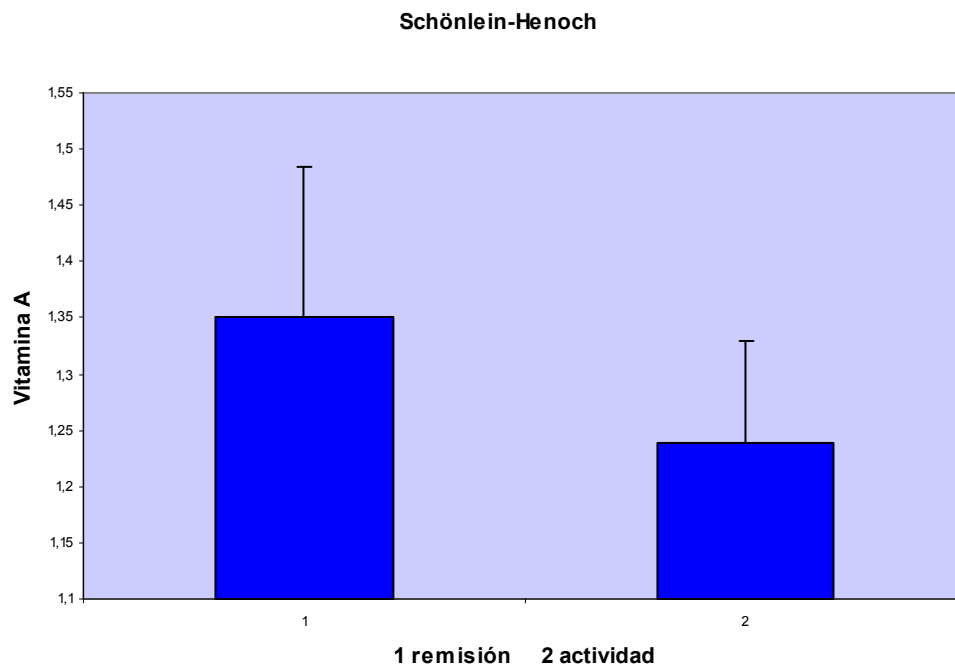
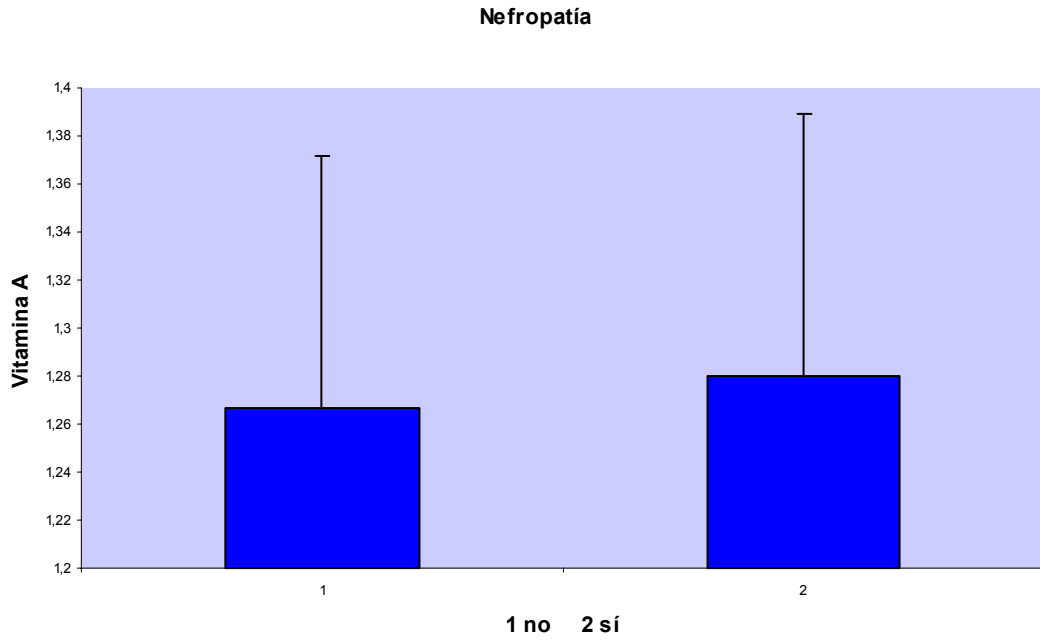


La tabla del análisis de la varianza muestra que la interacción no es significativa ($p\text{-valor} > 0,05$). Sin embargo la gráfica correspondiente muestra que el comportamiento no es idéntico. Rehaciendo el modelo, y realizando un análisis de la varianza de dos factores sin interacción (no balanceado) se obtiene

ANALISIS DE LA VARIANZA

FUENTE DE VARIACION		Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES	A: nefropatía	0,008386	1	0,008386	0,074	n.s.
	B: actividad	0,05862	1	0,05862	0,516	n.s.
RESIDUOS		1,817	16	0,114		
TOTAL	(corregido)	1,884006	19			

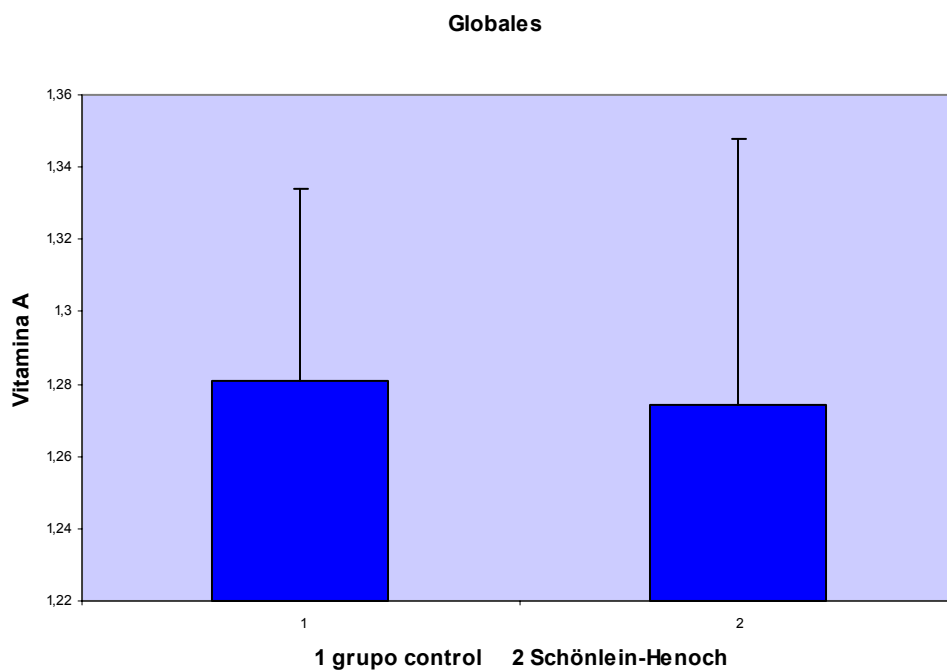
Es decir no se detectan diferencias significativas entre los niveles (sí/no) del factor nefropatía ni del factor actividad/remisión. Como puede observarse en las gráficas correspondientes los valores para nefropatía son algo superiores (aunque no de forma significativa) bajo la condición de verdadero. Para actividad los valores son algo superiores (aunque no de forma significativa) bajo la condición de remisión.



Como no se han detectado diferencias significativas podemos agrupar todos los individuos en una sola muestra a fin de compararlos con los individuos del grupo control.

Comparación entre el grupo problema y el grupo control

Como la variable vitamina A no sigue una distribución normal ni en el grupo control ni en el grupo problema, a fin de comparar ambos grupos hemos realizado el test no paramétrico U de Mann-Whitney. Se obtuvo un P-valor $>0,05$, por tanto no se detectan diferencias significativas entre el grupo control y el grupo problema.



No se detectan diferencias significativas entre los niveles (sí/no) de nefropatía ni de actividad/remisión.

No se detectan diferencias significativas entre el grupo control y el grupo problema (púrpura de Schönlein-Henoch).

5.2.4. Tocoferol

GRUPO CONTROL

Nº casos: 25

Resumen Estadístico para VitEcontrol

Frecuencia = 25

Media = 21,38

Mediana = 21,0

Varianza = 32,5242

Desviación típica = 5,703

Error estándar = 1,1406

Mínimo = 12,0

Máximo = 35,5

Rango = 23,5

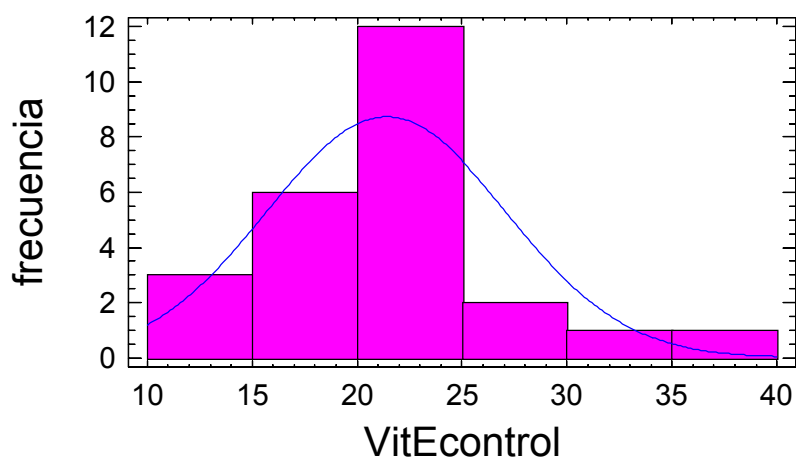
Primer cuartil = 17,8

Tercer cuartil = 23,7

Asimetría tipificada = 1,71263

Curtosis tipificada = 1,38298

Histograma para VitEcontrol



Esta variable presenta 25 valores comprendidos desde 12,0 hasta 35,5 observándose individuos con valores inferiores (id. 1, 32) que los considerados normales para esta variable. El valor del coeficiente de

asimetría estandarizado está dentro del rango esperado para los datos de una distribución normal. El valor del coeficiente de curtosis estandarizado está dentro del rango esperado para los datos de una distribución normal. Que la variable sigue una distribución normal queda confirmado por el test chi-cuadrado de bondad de ajuste con un P-valor = 0,88637.

GRUPO PROBLEMA

Nº casos: 20

Resumen Estadístico para VitEproble

Frecuencia = 20

Media = 25,225

Mediana = 23,550

Varianza = 55,573

Desviación típica = 7,455

Error estándar = 1,667

Mínimo = 14,0

Máximo = 45,0

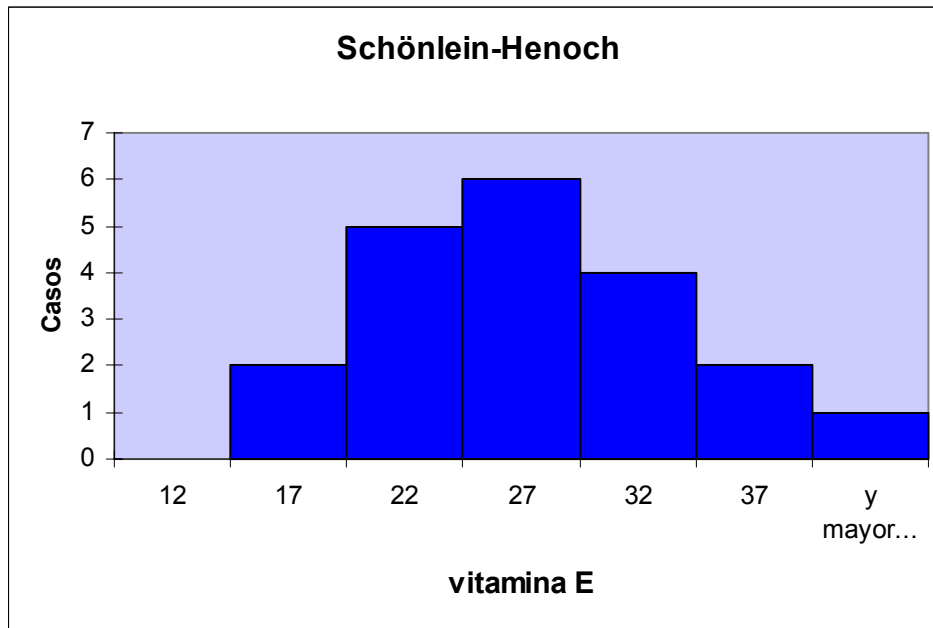
Rango = 31,0

Primer cuartil = 20,7

Tercer cuartil = 28,0

Asimetría tipificada = 0,195225

Curtosis tipificada = -0,370763



Esta variable presenta 23 valores comprendidos desde 14,0 hasta 35,0, teniendo un rango de variación algo inferior al caso control. También se observa una dispersión respecto la media algo superior que en el caso control.

No se observa ningún individuo con valores inferiores y sólo uno superior (id 21) que los considerados normales para esta variable. El valor del coeficiente de asimetría estandarizado está dentro del rango esperado para los datos de una distribución normal. El valor del coeficiente de curtosis estandarizado está dentro del rango esperado para los datos de una distribución normal. Además el test chi-cuadrado de bondad de ajuste con un P-valor = 0,949602 permite aceptar la hipótesis de normalidad.

Estudio de la relación entre vitamina E y la nefropatía y la actividad en la purpura de Schönlein-Henoch.

La tabla de las medias correspondientes a las cuatro posibles situaciones de nefropatía (sí/no) y actividad/remisión se incluye a continuación.

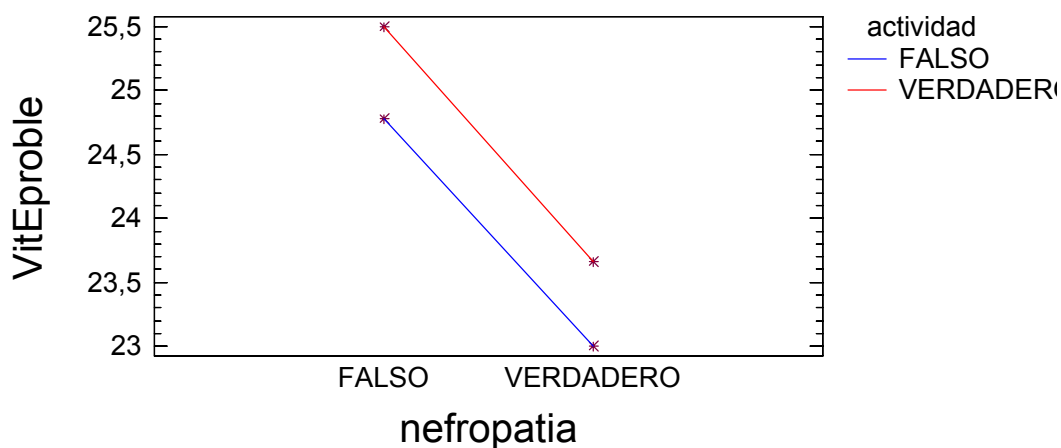
Nivel	Frecuencia	Media	Error Estándar
Actividad según nefropatía			
REMISIÓN /NO	4	24,775	1,44301
REMISIÓN / SÍ	3	27,0	4,04145
ACTIVIDAD / NO	5	29,4	5,20797
ACTIVIDAD / SÍ	8	22,175	1,97572

Los resultados del análisis de la varianza con interacción (no balanceado) están resumidos en la siguiente tabla ANOVA

ANÁLISIS DE LA VARIANZA

FUENTE DE VARIACION		Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES	A: nefropatía	27,523	1	27,523	0,498	n.s.
	B: actividad	0,04404	1	0,04404	0,001	n.s.
INTERACCIONES	AB	98,315	1	98,315	1,779	n.s.
RESIDUOS		884,043	16	55,253		
TOTAL	(corregido)	1055,878	19			

Gráfico de Interacción



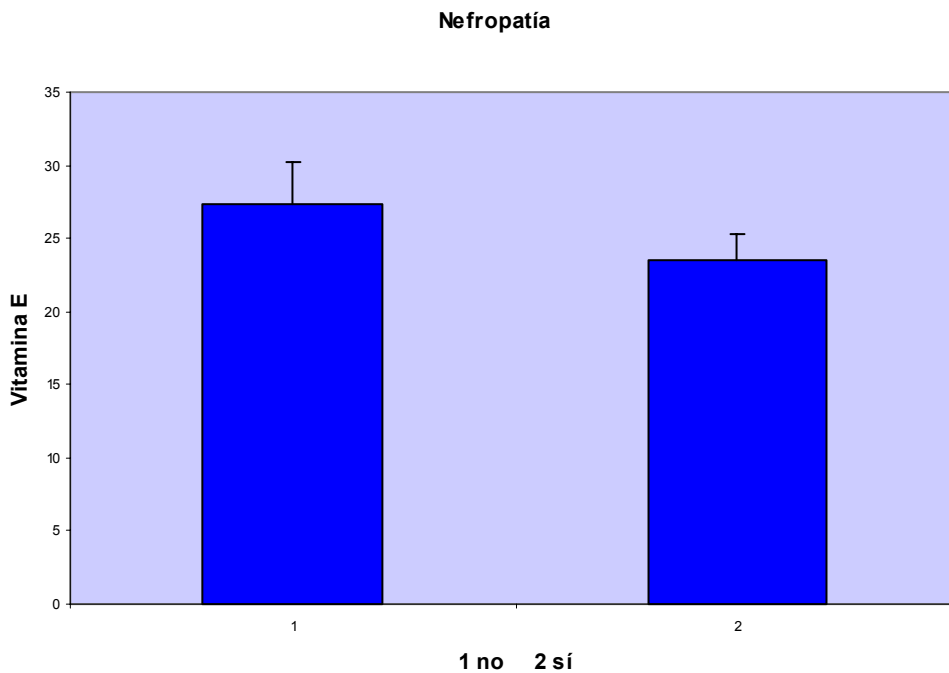
La tabla del análisis de la varianza muestra que la interacción no es significativa ($p\text{-valor} > 0,05$). La gráfica correspondiente muestra que el

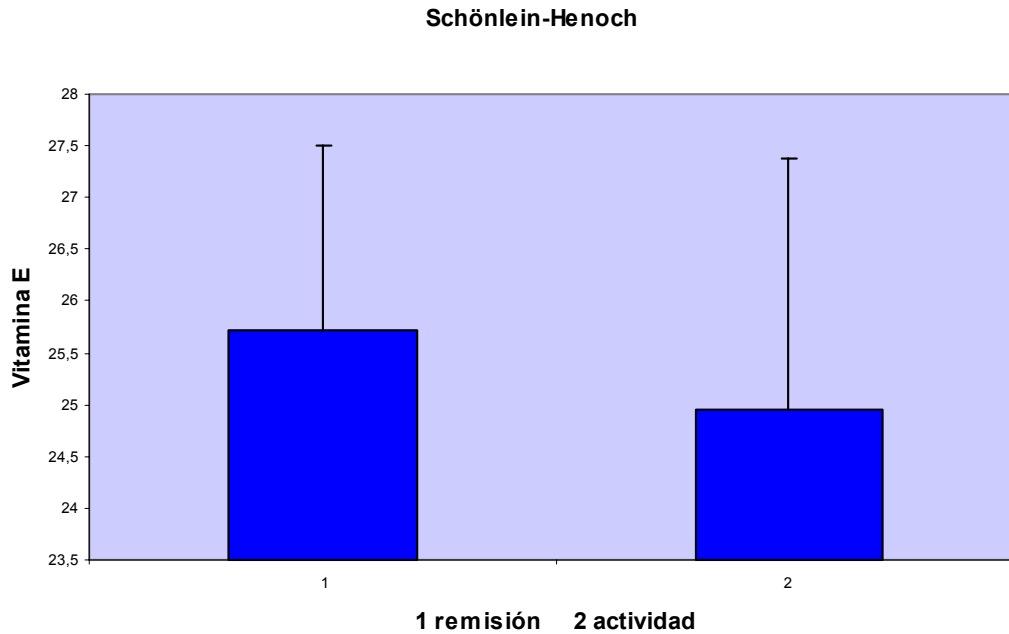
comportamiento es similar. Rehaciendo el modelo, y realizando un análisis de la varianza de dos factores sin interacción (no balanceado) se obtiene

ANALISIS DE LA VARIANZA

FUENTE DE VARIACION		Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFECTOS PRINCIPALES	A: nefropatia	70,789	1	70,789	1,225	n.s.
	B actividad	0,01413	1	0,01413	0,00	n.s.
RESIDUOS		982,357	17	57,786		
TOTAL	(corregido)	1053,160	19			

Es decir no se detectan diferencias significativas entre los niveles (sí/no) del factor nefropatía ni del factor actividad. Como puede observarse en las gráficas correspondientes los valores son muy similares.

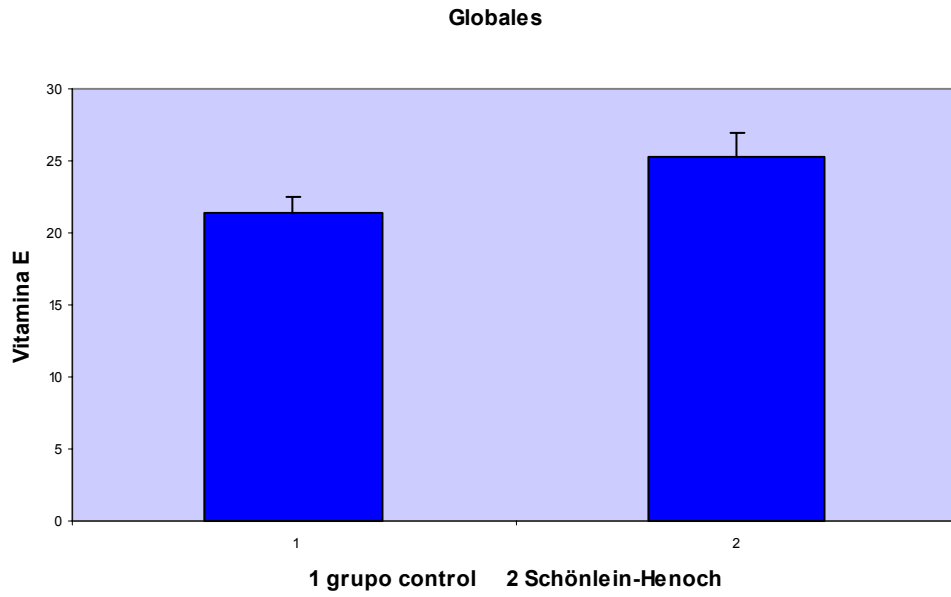




Como no se han detectado diferencias significativas podemos agrupar todos los individuos en una sola muestra a fin de compararlos con los individuos del grupo control.

Comparación entre el grupo problema y el grupo control

Realizando el test F de comparación de varianzas entre dos poblaciones normales, se obtiene un $P\text{-Valor} > 0,05$, por tanto podemos suponer homogeneidad de varianzas. Como se observa en la gráfica, parece que la variable vitamina E toma valores algo superiores en el grupo problema que en el grupo control. Por ello se realiza el test t-Student de comparación de medias en poblaciones normales con homogeneidad de varianzas, tomando como hipótesis alternativa que la media de vitamina E en el grupo control es inferior a la media de vitamina E en el grupo problema. Se obtuvo un $P\text{-Valor} > 0,05$. Con lo que no se detectan diferencias significativas entre el grupo control y el grupo problema, aunque como puede verse en la gráfica en el grupo problema los valores son algo superiores (aunque no de forma significativa).



No se detectan diferencias significativas entre los niveles (sí/no) de nefropatía ni actividad/remisión.

No se detectan diferencias significativas entre el grupo control y el grupo problema (púrpura de Schönlein-Henoch).

5.2.5. Ácido ascórbico

GRUPO CONTROL

Nº casos: 33

Resumen Estadístico para VitCcontrol

Frecuencia = 33

Media = 62,9697

Mediana = 61,7

Varianza = 263,233

Desviación típica = 16,2245

Error estándar = 2,82432

Mínimo = 34,0

Máximo = 92,6

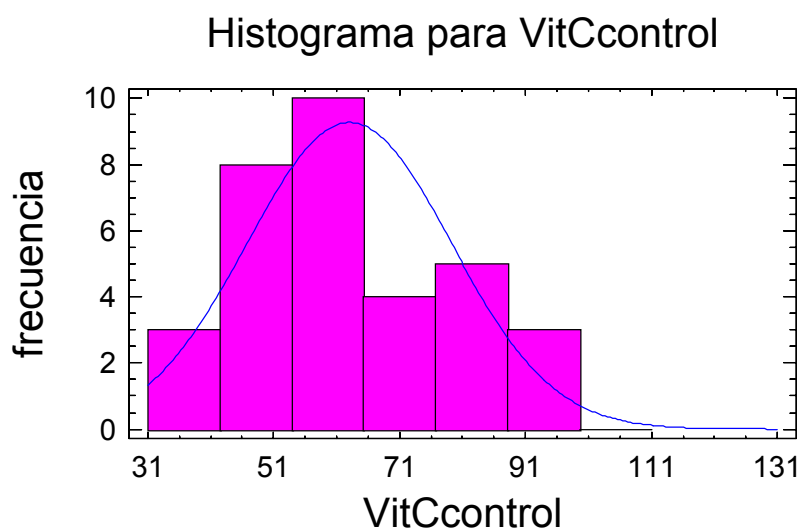
Rango = 58,6

Primer cuartil = 50,1

Tercer cuartil = 75,7

Asimetría tipificada = 0,37233

Curtosis tipificada = -0,961023



Esta variable presenta 33 valores comprendidos desde 34,0 hasta 92,6 observándose individuos con valores superiores (id. 5, 6, 8, 13, 22,

24, 25) y con valores inferiores (id 19, 20) que los considerados normales para esta variable. El valor del coeficiente de asimetría estandarizado está dentro del rango esperado para los datos de una distribución normal. El valor del coeficiente de curtosis estandarizado está dentro del rango esperado para los datos de una distribución normal. Que la variable sigue una distribución normal queda confirmado por el test chi-cuadrado de bondad de ajuste con un P-valor = 0,25077.

GRUPO PROBLEMA

Nº casos: 23

Resumen Estadístico para VitCproble

Frecuencia = 23

Media = 61,94

Mediana = 65,00

Varianza = 689,381

Desviación típica = 26,26

Error estándar = 5,47

Mínimo = 12,3

Máximo = 121,0

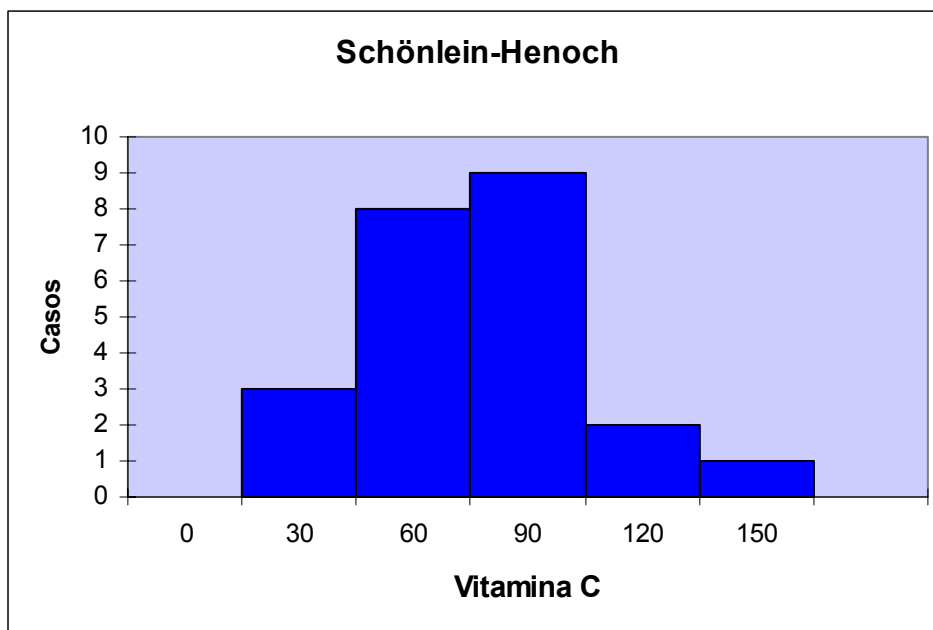
Rango = 108,7

Primer cuartil = 54,2

Tercer cuartil = 80,0

Asimetría tipificada = -0,348769

Curtosis tipificada = 0,333819



Esta variable presenta 23 valores comprendidos desde 12,3 hasta 121,0 teniendo un rango de variación superior al caso control. También se observa una dispersión respecto la media superior que en el caso control.

Observándose un elevado número de individuos con valores superiores (id. 5, 6, 7, 8, 11, 12) y uno sólo con valores inferiores (id 2) que los considerados normales para esta variable. El valor del coeficiente de asimetría estandarizado está dentro del rango esperado para los datos de una distribución normal. El valor del coeficiente de curtosis estandarizado está dentro del rango esperado para los datos de una distribución normal. Además el test chi-cuadrado de bondad de ajuste con un P-valor = 0,862344 permite aceptar la hipótesis de normalidad.

Estudio de la relación entre vitamina C y la nefropatía y la actividad en la purpura de Schönlein-Henoch

La tabla de las medias correspondientes a las cuatro posibles situaciones de nefropatía (sí/no) y actividad/remisión se incluye a continuación.

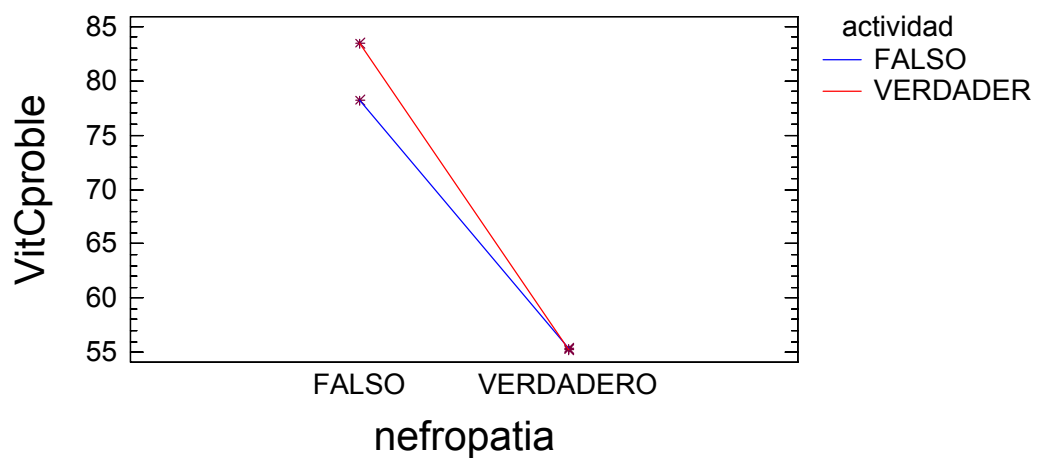
Nivel	Frecuencia	Media	Error Estándar
Actividad según nefropatía			
REMISIÓN / NO	5	73,4	7,24596
REMISIÓN / SÍ	3	63,6	9,9626
ACTIVIDAD / NO	6	70,1667	11,8587
ACTIVIDAD / SÍ	9	49,5333	9,7508

Los resultados del análisis de la varianza con interacción (no balanceado) están resumidos en la siguiente tabla ANOVA

ANALISIS DE LA VARIANZA

FUENTE DE VARIACION		Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFECTOS PRINCIPALES	A: nefropatía	1141,875	1	1141,875	1,707	n.s.
	B: actividad	368,988	1	368,988	0,552	n.s.
INTERACCIONES	AB	144,692	1	144,692	0,216	n.s.
RESIDUOS		12710,053	19	668,950		
TOTAL	(corregido)	15166,375	22			

Gráfico de Interacción



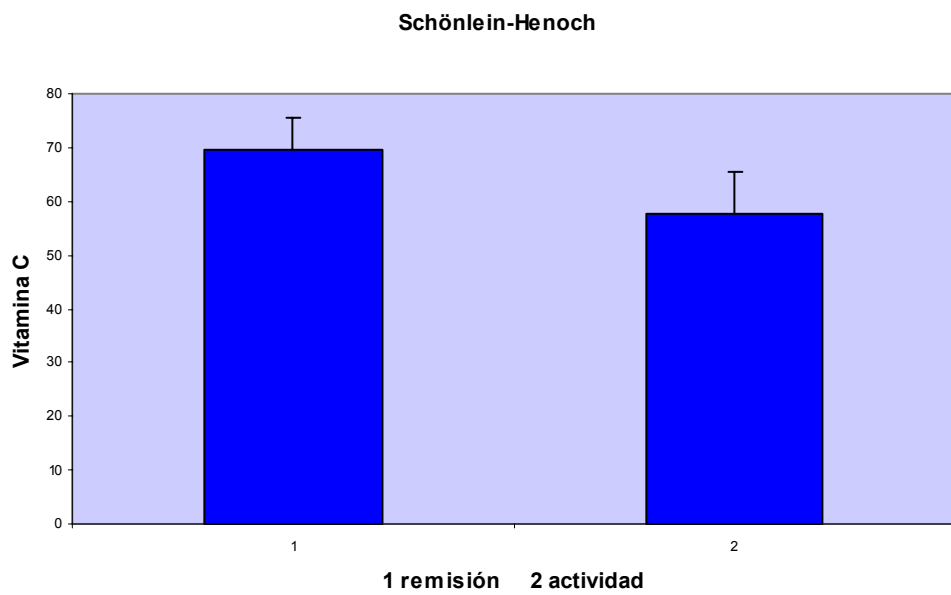
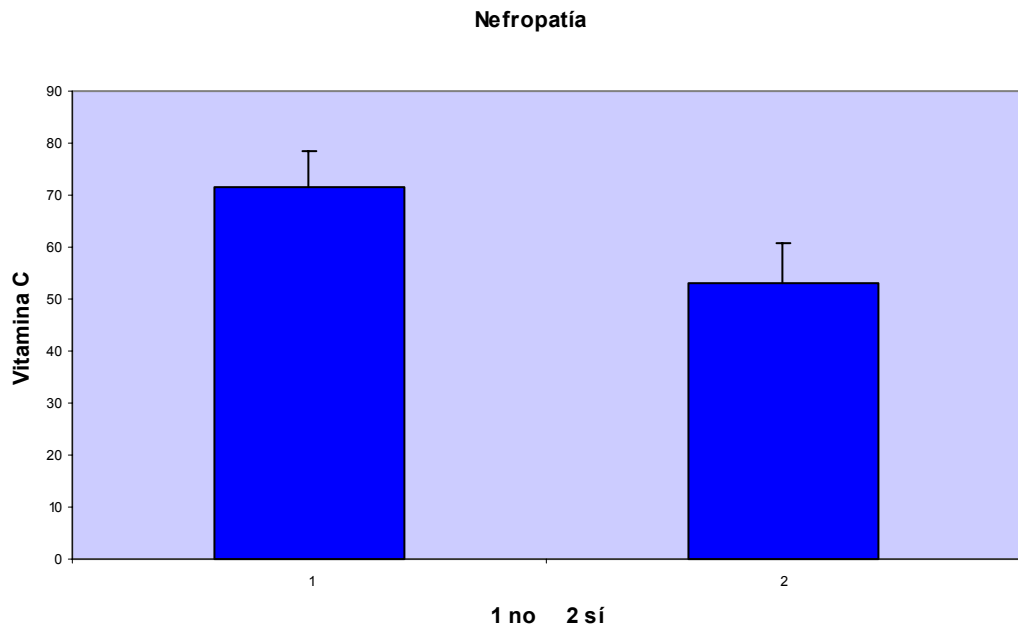
La tabla del análisis de la varianza muestra que la interacción no es significativa (p -valor=0,8485). La gráfica correspondiente muestra que el comportamiento es bastante similar. Rehaciendo el modelo, y realizando un análisis de la varianza de dos factores sin interacción (no balanceado) se obtiene

ANALISIS DE LA VARIANZA

FUENTE DE VARIACION		Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFECTOS PRINCIPALES	A: nefropatía	1568,027	1	1568,027	2,440	n.s.
	B: actividad	329,030	1	329,030	0,512	n.s.
RESIDUOS		12854,745	20	642,737		
TOTAL	(corregido)	14751,802	22			

No se detectan diferencias significativas $p > 0,05$ entre los niveles del factor nefropatía (sí/no) ni entre los niveles del factor actividad/remisión.

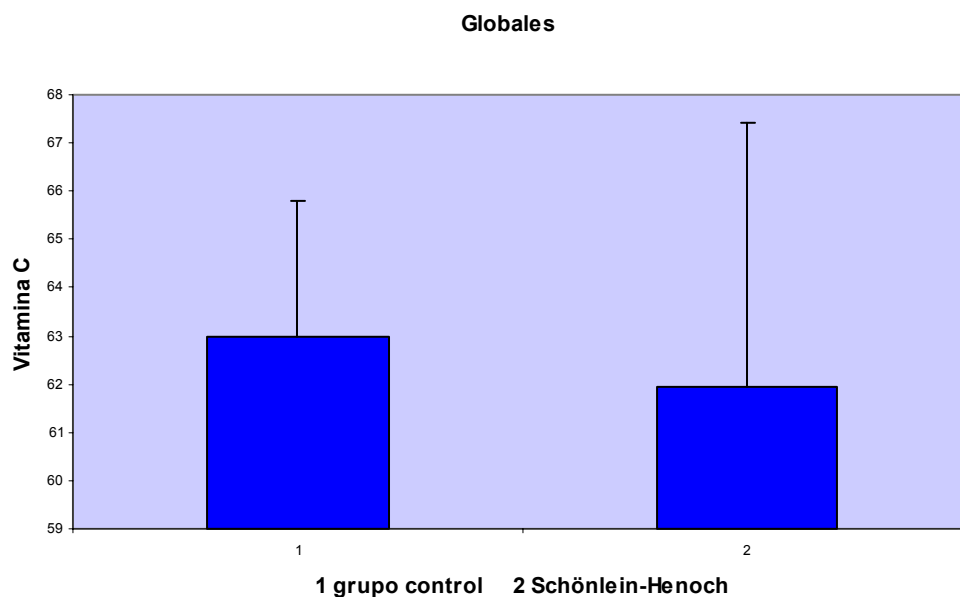
Como puede observarse en la gráfica correspondiente a nefropatía los valores de vitamina C bajo la condición de nefropatía son inferiores a los obtenidos bajo la condición de no nefropatía.



Como no se han detectado diferencias significativas podemos agrupar todos los individuos en una sola muestra a fin de compararlos con los individuos del grupo control.

Comparación entre el grupo problema y el grupo control

Realizando el test F de comparación de varianzas entre dos poblaciones normales, se obtiene un P-Valor $<0,05$, por tanto no podemos suponer homogeneidad de varianzas. Como se observa en la gráfica, parece que la variable vitamina C toma valores algo superiores en el grupo control que en el grupo problema. Por ello se realiza el test t-Student modificado de comparación de medias en poblaciones normales sin homogeneidad de varianzas, tomando como hipótesis alternativa que la media de vitamina C en el grupo control es superior a la media de vitamina C en el grupo problema. Se obtuvo un P-Valor $>0,05$. Con lo que no se detectan diferencias significativas entre el grupo control y el grupo problema.



No se detectan diferencias significativas entre los niveles (sí/no) de nefropatía ni actividad/remisión.

No se detectan diferencias significativas entre el grupo control y el grupo problema (púrpura de Schönlein-Henoch).

5.3.1. Malondialdehido

GRUPO CONTROL

Nº casos: 32

Resumen Estadístico para MDA control

Frecuencia = 32

Media = 494,594

Mediana = 494,0

Varianza = 15720,6

Desviación típica = 125,382

Error estándar = 22,1646

Mínimo = 261,0

Máximo = 867,0

Rango = 606,0

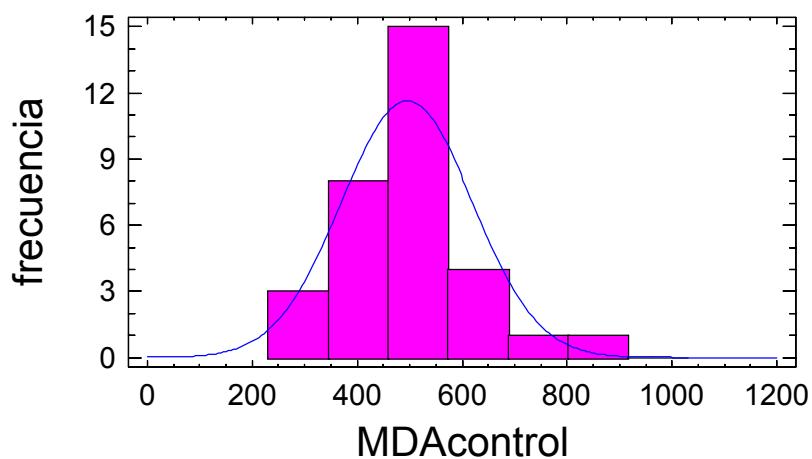
Primer cuartil = 423,5

Tercer cuartil = 563,5

Asimetría tipificada = 1,29534

Curtosis tipificada = 1,62688

Histograma para MDAcontrol



Esta variable presenta 32 valores comprendidos desde 261,0 hasta 867,0 observándose individuos con valores superiores (id. 7, 8, 12, 15,

22, 28, 29, 30, 33) y un individuo (id 20) con valores inferiores que los considerados normales para esta variable.

El valor del coeficiente de asimetría estandarizado está dentro del rango esperado para los datos de una distribución normal. El valor del coeficiente de curtosis estandarizado está dentro del rango esperado para los datos de una distribución normal. Que la variable sigue una distribución normal queda confirmado por el test chi-cuadrado de bondad de ajuste con un P-valor = 0,760258.

GRUPO PROBLEMA

Nº casos: 23

Resumen Estadístico para MDAproble

Frecuencia = 23

Media = 423,652

Mediana = 393,0

Varianza = 25841,6

Desviación típica = 160,753

Error estándar = 33,52

Mínimo = 236,0

Máximo = 935,0

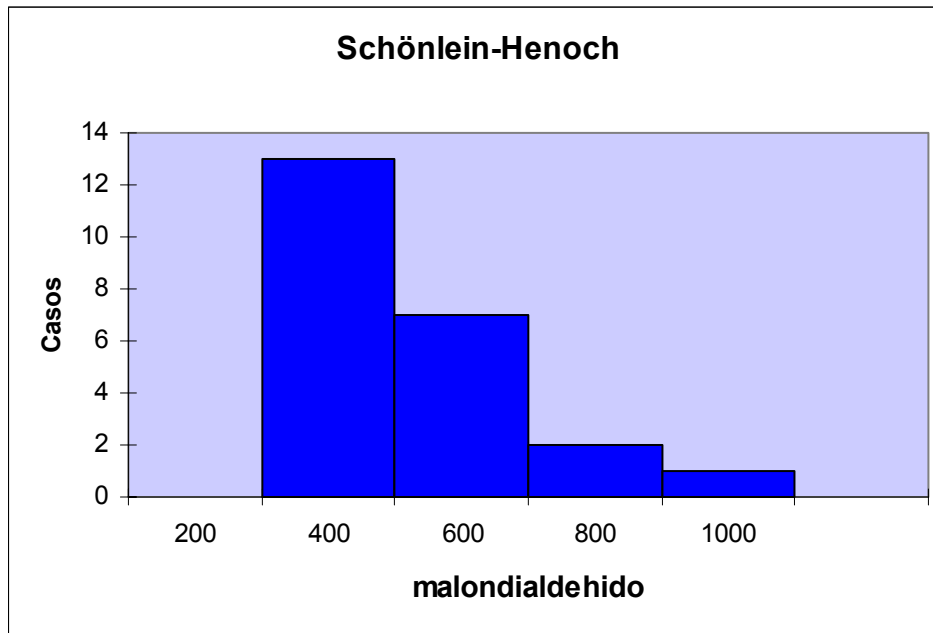
Rango = 699,0

Primer cuartil = 317,0

Tercer cuartil = 431,0

Asimetría tipificada = 4,04607

Curtosis tipificada = 5,68398



Esta variable presenta 23 valores comprendidos desde 236,0 hasta 935,0, teniendo un rango de variación superior al caso control. También se observa una dispersión respecto la media superior que en el caso control.

Observándose individuos con valores superiores (id. 18, 20, 21) y valores inferiores (id 3, 14) que los considerados normales para esta variable. El valor del coeficiente de asimetría estandarizado no está dentro del rango esperado para los datos de una distribución normal. El valor del coeficiente de curtosis estandarizado no está dentro del rango esperado para los datos de una distribución normal. Sin embargo el test chi-cuadrado de bondad de ajuste con un P-valor = 0,128458 permite aceptar la hipótesis de normalidad.

Estudio de la relación entre malondialdehido y la nefropatía y la actividad en la purpura de Schönlein-Henoch

La tabla de las medias correspondientes a las cuatro posibles situaciones de nefropatía (sí/no) y actividad/remisión se incluye a continuación.

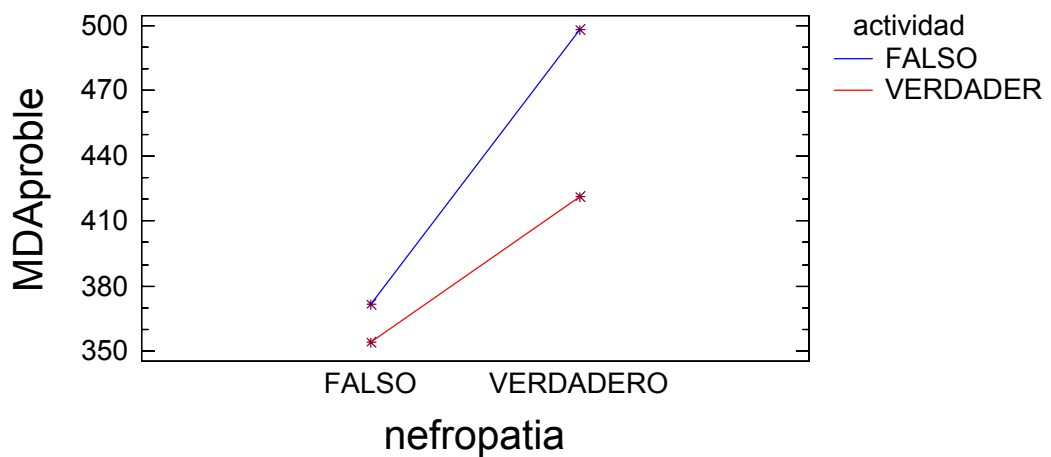
Nivel	Frecuencia	Media	Error Estándar
Actividad según nefropatía			
REMISIÓN / NO	5	435,8	77,8867
REMISIÓN / SÍ	3	442,333	101,498
ACTIVIDAD / NO	6	392,833	39,5115
ACTIVIDAD / SÍ	9	431,222	67,7561

Los resultados del análisis de la varianza con interacción (no balanceado) están resumidos en la siguiente tabla ANOVA

ANALISIS DE LA VARIANZA

FUENTE DE VARIACION		Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES	A: nefropatía	2487,95	1	2487,95	0,084	n.s.
	B: actividad	3605,43	1	3605,43	0,122	n.s.
INTERACCIONES	AB	1251,09	1	1251,09	0,042	n.s.
RESIDUOS		560516,0	19	29500,8		
TOTAL	(corregido)	568515,0	22			

Gráfico de Interacción

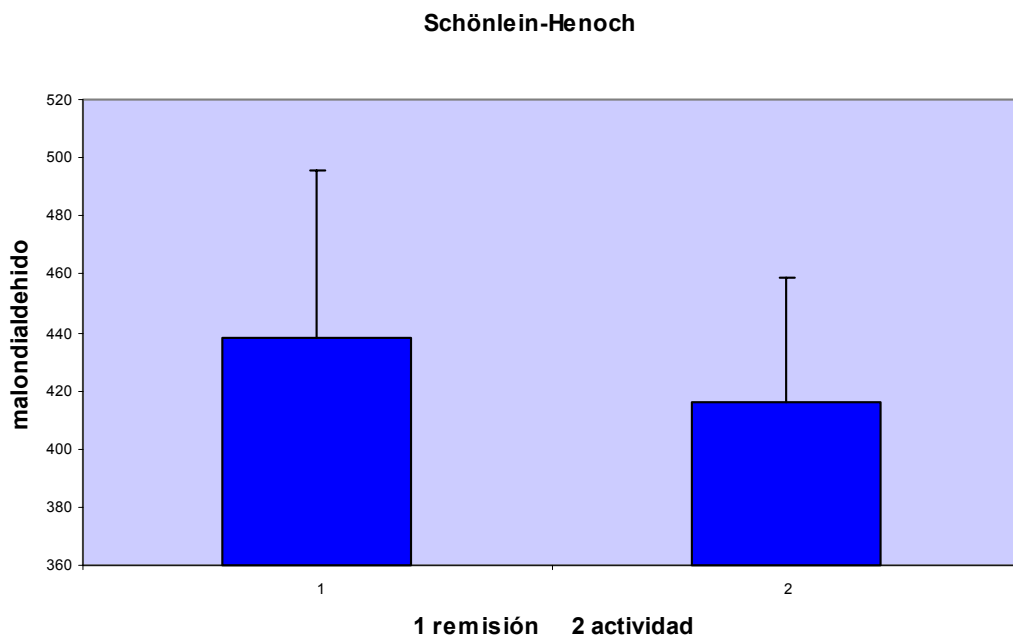
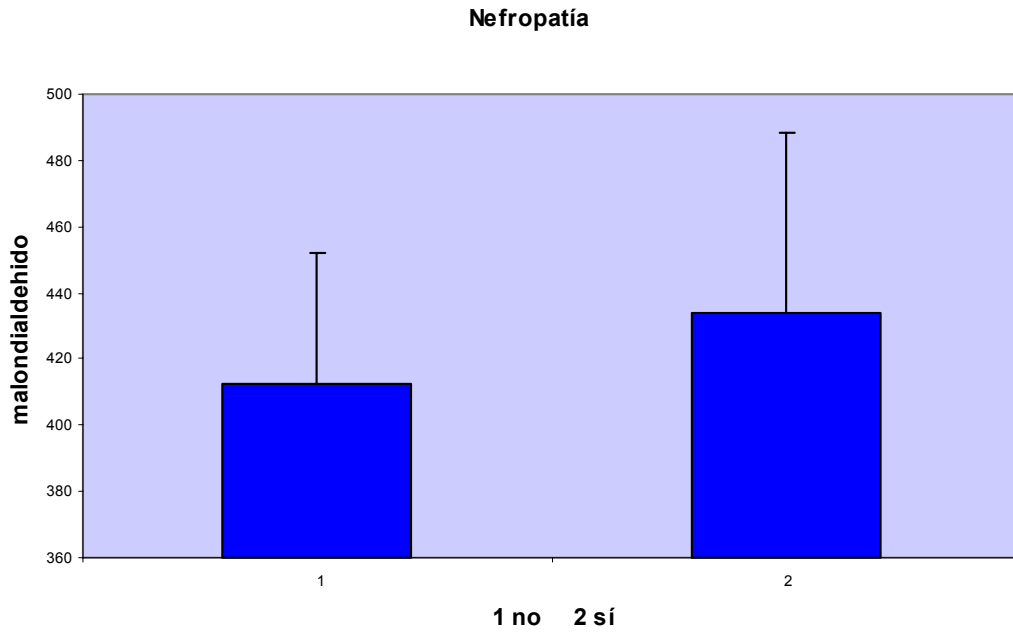


La tabla del análisis de la varianza muestra que la interacción no es significativa ($p\text{-valor} > 0,05$) y la gráfica correspondiente muestra que el comportamiento no es exactamente el mismo. Rehaciendo el modelo, y realizando un análisis de la varianza de dos factores sin interacción (no balanceado) se obtiene

ANALISIS DE LA VARIANZA

FUENTE DE VARIACION		Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFECTOS PRINCIPALES	A: nefropatía	4134,28	1	4134,28	0,15	n.s.
	B: actividad	4061,6	1	4061,6	0,14	n.s.
RESIDUOS		561767,0	20	28088,3		
TOTAL	(corregido)	568515,0	22			

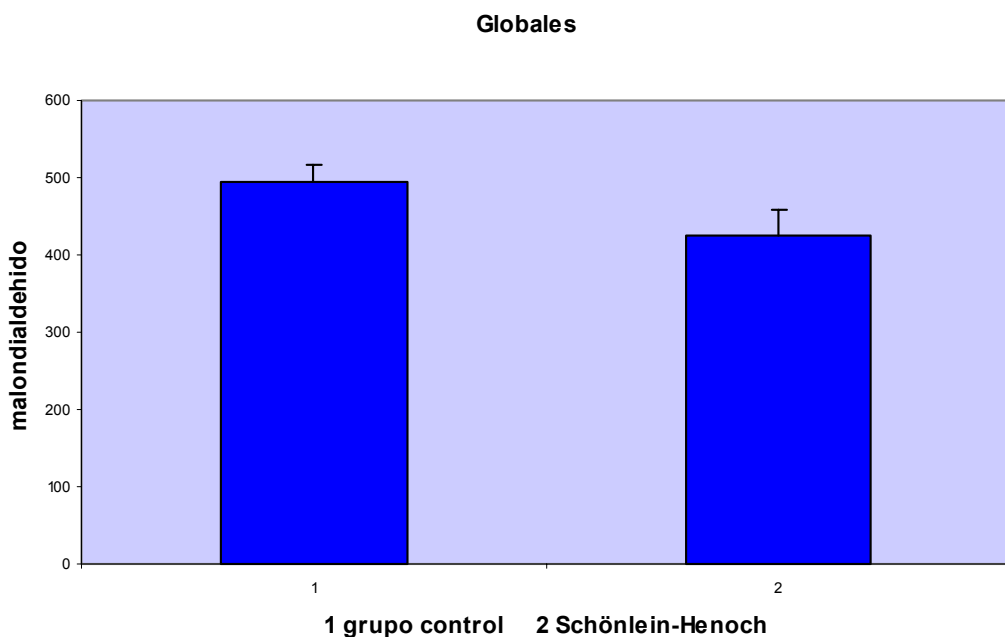
Es decir no se detectan diferencias significativas entre los niveles (sí/no) de ninguno de los dos factores aunque las gráficas correspondientes parecen indicar que los valores de malondialdehído bajo la condición de sí nefropatía da valores superiores (aunque no sea significativa esta diferencia) que bajo la condición de no nefropatía. En cambio se tienen valores algo superiores de malondialdehído (aunque no significativos) bajo la condición de remisión que bajo actividad.



Como no han salido diferencias significativas podemos agrupar todos los individuos en una sola muestra y compararlos con los individuos del grupo control.

Comparación entre el grupo problema y el grupo control

Realizando el test F de comparación de varianzas entre dos poblaciones normales, se obtiene un P-Valor $>0,05$, por tanto podemos suponer homogeneidad de varianzas. Como se observa en la gráfica, parece que la variable malondialdehido toma valores superiores en el grupo control que en el grupo problema. Por ello se realiza el test t-Student de comparación de medias en poblaciones normales con homogeneidad de varianzas, tomando como hipótesis alternativa que la media de malondialdehido en el grupo control es superior a la media de malondialdehido en el grupo problema. Se obtuvo un P-Valor $>0,05$. Con lo que no podemos aceptar que malondialdehido toma valores significativamente superiores en el grupo control que en el grupo problema.



No se detectan diferencias significativas entre los niveles (sí/no) de nefropatía y actividad/remisión. Las gráficas correspondientes parecen indicar que los valores de malondialdehido bajo la condición de verdadero en nefropatía da valores superiores (aunque no significativamente) que bajo la condición de falso. En cambio se tienen

valores algo superiores de malondialdehído (aunque no significativamente) bajo la condición de remisión que bajo actividad.

No se detectan diferencias significativas entre ambos grupos (púrpura de Schönlein-Henoch y control).

Discusión

6. Discusión

La enfermedad de Schönlein-Henoch es una enfermedad multisistémica con una etiopatogenia aún desconocida a la cual se le han atribuido factores infecciosos, inmunológicos y genéticos; siendo su sintomatología variada y, a veces, inesperada. El tratamiento de la enfermedad es totalmente empírico y el pronóstico está condicionado por su afectación renal. Estos hechos nos han llevado a estudiar la posible relación de la púrpura de Schönlein-Henoch y su complicación más importante, la nefropatía, con el estrés oxidativo; por lo que nos planteamos algunas preguntas que podrían abrir líneas de investigación clínica. ¿Puede ser el estrés oxidativo determinante en la aparición de la enfermedad y en su evolución? ¿Qué papel juega éste en la complicación más importante, la nefropatía? En esta línea de investigación buscamos un grupo de pacientes afectados de púrpura de Schönlein-Henoch en los que estuvieran representadas diferentes fases de la evolución de la enfermedad y además que algunos de estos pacientes hubieran desarrollado complicación renal. En el estudio bioquímico analizamos parámetros que nos informarán de los radicales oxidativos y, a la vez, de los factores antioxidantes. Paralelamente tomamos un grupo de niños sanos como control. Una vez conseguidos los estudios indicados procedimos al análisis estadístico de los resultados para poder obtener la significancia o no de las posibles alteraciones sobre los hechos apuntados.

Es importante remarcar que estamos ante un campo de estudio prácticamente inédito puesto que son muy escasos los trabajos en los que se ha investigado el papel del estrés oxidativo en la púrpura de Schönlein-Henoch.

Recientemente se ha puesto de manifiesto que los mecanismos relacionados con el estrés oxidativo juegan un papel muy importante en diversas enfermedades, incluyendo las renales.

El grupo de niños estudiados afectados de púrpura de Schönlein-Henoch ha quedado concretado en 23 pacientes de los cuales 12 habían desarrollado complicación renal y 11 habían presentado la púrpura sin nefropatía. 15 de los pacientes se han estudiado en la fase activa de la enfermedad y 8 estaban en remisión en el momento de efectuar el estudio.

En el estudio de la enzima **glutathion peroxidasa (GPX)** en los niños afectados de púrpura de Schönlein-Henoch *no hemos objetivado diferencias estadísticamente significativas entre nuestro grupo de pacientes y el grupo control*. Observamos que existen seis pacientes con valores superiores a los normales (id. 1, 4, 5, 11, 15, 16) y dos con valores inferiores a la normalidad (id. 7, 18). Los pacientes con valores superiores correspondían a tres niños que no habían presentado complicación renal, dos de ellos en remisión y uno en actividad y a tres niños con complicación renal ambos en fase activa de su enfermedad y con nefropatía de tipo II. Los dos pacientes con valores inferiores a la normalidad corresponden a dos niños con enfermedad en actividad, uno de ellos con complicación renal de hematuria proteinuria de rango nefrótico de larga evolución, motivo por el que fue sometido a biopsia renal, en el estudio histopatológico se observó la presencia de proliferación mesangial con depósitos de Ig. A e Ig. G, sin imágenes de semilunas, lo que corresponde a una lesión histológica tipo II; el otro paciente con valores inferiores a la normalidad corresponde a un niño que nunca tuvo complicación renal y va presentando recurrencias de la púrpura desde hace 8 años y es hermano de otro niño que presenta púrpura de Schönlein-Henoch en remisión.

Algunos autores ^(22,81) han encontrado una disminución de GPX en el periodo agudo de la enfermedad hecho que en nuestra serie no hemos podido constatar, ya que incluso analizando por separado el grupo de pacientes con enfermedad en actividad no hemos hallado diferencias

significativas con el grupo control, ni con el grupo de pacientes en remisión.

Recientes estudios han revelado que la actividad de la glutatión peroxidasa está disminuida en pacientes con insuficiencia renal crónica, Chen y cols. ⁽⁸²⁾ refieren que los niveles de glutatión peroxidasa en plasma, orina y glomérulos están disminuidos en pacientes con glomeruloesclerosis focal y segmentaria, destacando una defensa antioxidante disminuida en la fase precoz de las enfermedades glomerulares crónicas.

También se ha estudiado la actividad de la glutatión peroxidasa como biomarcador del estrés oxidativo en el cero, catorce y veinticuatro días del ciclo menstrual en un grupo de veinticuatro mujeres con alteraciones psiquiátricas. No hubo correlación entre el tipo de enfermedad psiquiátrica y los niveles de glutatión peroxidasa. La actividad de la glutatión peroxidasa tiene relación directa con la concentración de hormonas sexuales. Se ha observado en todos los grupos de edad un aumento en la actividad de la glutatión peroxidasa desde el día cero al veintiocho del ciclo menstrual, seguido por una brusca disminución durante la menstruación. Este hecho demuestra la existencia de un ciclo enzimático ⁽⁸³⁾. El aumento de la peroxidación lipídica y la reducción de la actividad antioxidante pueden contribuir al desarrollo de complicaciones en el embarazo. En un estudio reciente se discute la posibilidad de que la peroxidación lipídica y la actividad antioxidante extraída de sangre de cordón y materna pueden ser indicadores de la actividad de los radicales libres. Se incluyeron embarazos con las siguientes complicaciones: hipertensión arterial y preeclampsia, diabetes mellitus (diabetes insulino-dependiente y diabetes gestacional), oligohidramnios y desprendimiento de placenta; comparándolos con un grupo control. Se determinaron glutatión S-transferasa, glutatión peroxidasa selenio dependiente, en eritrocito y plasma materno en periodo antenatal (tercer trimestre) y en el nacimiento. La actividad de la glutatión S-transferasa estaba aumentada significativamente en embarazos con diabetes insulino-

dependiente, la glutatión peroxidasa selenio dependiente estaba aumentada significativamente en preeclampsias durante el embarazo y en diabetes mellitus insulino-dependiente. La glutatión peroxidasa selenio dependiente y la catalasa se encontraron disminuidas significativamente en el grupo de la preeclampsia hipertensiva. El resultado de este estudio sugiere que el estrés oxidativo y la peroxidación lipídica acompañan a las complicaciones de hipertensión arterial, preeclampsia y diabetes mellitus en el embarazo. Estos parámetros biomarcadores se pueden utilizar para la monitorización de la eficacia de los suplementos antioxidantes en los embarazos complicados ⁽⁸⁴⁾.

En el estudio efectuado en los valores de la enzima **glutatión reductasa (GR)** en nuestro grupo de pacientes obtenemos *valores inferiores en los pacientes que presentan enfermedad activa en comparación con el grupo control con una diferencia con significación estadística ($p < 0,05$)*. Sin embargo no hemos encontrado diferencias en los valores de GR entre los pacientes con púrpura de Schönlein-Henoch en remisión y el grupo control ($p > 0,05$), tampoco se observan diferencias en los valores de GR entre los pacientes que han presentado complicación renal o no y el grupo control ($p > 0,05$).

Dos de los pacientes del grupo de púrpura de Schönlein-Henoch tenían valores superiores a las cifras de normalidad de glutatión reductasa, ambos estaban en remisión uno sin nefropatía y otro con complicación renal de su enfermedad. Dentro del grupo de pacientes que tuvieron valores inferiores a los normales de GR encontramos ocho pacientes, dos de ellos hermanos, cinco con la glutatión peroxidasa alterada (tres aumentada y dos disminuida) y uno de ellos presentaba además una SOD aumentada. Entre los pacientes que tuvieron la GR disminuida, seis presentaban enfermedad activa y cuatro tenían complicación renal.

Larrumbe y cols. han encontrado niveles plasmáticos más bajos de glutatión reducido (GSH) en los pacientes con enfermedad de Parkinson que en el grupo control ⁽⁸⁵⁾. Este hallazgo está en relación con lo que se observa en la sustancia negra de pacientes con enfermedad de Parkinson, una importante reducción de GSH que no se observa en ninguna otra de las enfermedades neurodegenerativas de los ganglios basales. El glutatión es un tripéptido sintetizado en la propia célula como paso importante en la síntesis de la cisteína por la enzima cistationasa y que podría alterarse por el envejecimiento ⁽⁸⁶⁾.

En el estudio de la **superóxido dismutasa (SOD)** en los pacientes afectados de púrpura de Schönlein-Henoch *no hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas en los valores de dicha enzima tanto si el paciente se encontraba en una fase activa de su enfermedad o bien si estaba en fase de remisión*; así como tampoco hemos encontrado diferencias con significación estadística entre los pacientes que habían presentado complicación renal de la enfermedad como los que no la tuvieron. En nuestro grupo de pacientes afectados de púrpura de Schönlein-Henoch dos de ellos presentan valores de SOD superiores a los valores considerados normales (N: 448-552) y uno de ellos presenta valores inferiores a los normales. El primer paciente con valores superiores tiene 12 años y está afecto de enfermedad en actividad y con complicación renal, este niño fue sometido a biopsia renal y es el mismo ya referido en la discusión de la GPX. El otro paciente con valores elevados por encima de la normalidad corresponde a un niño de 5 años y 4 meses, en el momento del estudio estaba en remisión de su enfermedad, no había presentado complicación renal pero si tuvo complicación digestiva importante. El paciente que presentaba valores de SOD inferiores a los considerados normales, es un niño de 3 años y 4 meses, que presentó complicación renal con hematuria y proteinuria de rango nefrótico y precisó tratamiento con prednisona; en el momento de efectuar el estudio ya no estaba sometido a tratamiento corticoideo y presentaba aún una proteinuria mínima, cabe reseñar que este último paciente tiene un

hermano que ha presentado la misma enfermedad con las mismas características de complicación renal que remitieron.

Nuestros resultados concuerdan con los obtenidos por Dermicin⁽³⁷⁾ que midió la actividad de la SOD en niños afectados de púrpura de Schönlein-Henoch al inicio y en fase de remisión de la enfermedad sin encontrar diferencias en los valores obtenidos en cada periodo de la enfermedad y el grupo control ($p > 0,05$). Sin embargo, un estudio posterior efectuado por Erdogan⁽²²⁾ en pacientes afectados de púrpura de Schönlein-Henoch si encuentran diferencias en los valores de SOD obtenidos en periodo agudo y en periodo de remisión, teniendo valores inferiores los correspondientes al periodo agudo y ambos inferiores a los del grupo control. En nuestro estudio también hemos obtenido valores inferiores de SOD en los pacientes con enfermedad activa aunque sin significación estadística.

Vilaseca y cols. ⁽⁸⁷⁾ observaron un aumento de la actividad de la SOD, CAT y GPX en un grupo de pacientes afectados de acidemias orgánicas con dietas protéicas libres. En concreto la SOD se mantuvo elevada en un 35% de los pacientes con errores congénitos del metabolismo intermediario, lo que sugiere una inducción de la síntesis de la proteína enzimática producida por un aumento de la producción de radicales libres.

Referente a la **catalasa (CAT)** *no hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y el grupo con púrpura de Schönlein-Henoch* ($p > 0,05$), aunque para el grupo de enfermos los niveles de catalasa son algo superiores en los pacientes con enfermedad activa pero sin significación estadística, lo mismo ocurre entre el grupo afecto de púrpura de Schönlein-Henoch y el grupo control.

Del grupo estudiado diez pacientes presentaban la catalasa aumentada y sólo uno disminuida. Siete tenían la púrpura en actividad y seis

presentaban nefropatía. El único paciente con la catalasa disminuida también presentaba disminución de la glutatión peroxidasa y la glutatión reductasa.

En un estudio efectuado por Turi y cols. ⁽²⁰⁾ observan un aumento del estrés oxidativo en el síndrome nefrótico con lesiones glomerulares mínimas cuando éste está en recaída, en la nefropatía por IgA, nefropatía lúpica y la glomerulonefritis postestreptocócica que se puede detectar en el glutatión, oxidación de hemoglobina y peroxidación lipídica en los eritrocitos periféricos. También encontraron las actividades de SOD y CAT significativamente más bajas en todos los pacientes en comparación con los controles. Este estudio concluye que puede haber una correlación entre la presencia de enfermedad glomerular activa y la evidencia de cambios oxidativos en varios parámetros medidos en sangre periférica.

Gaertner en su estudio examinó concentraciones de ROS glomerulares durante el inicio de glomerulonefritis mesangioproliferativa en ratas, llegando a la conclusión que al inicio de la enfermedad existía una pronunciada disregularización de enzimas pro-oxidantes y antioxidantes conduciendo a un aumento de niveles de ROS glomerulares, dejando un camino abierto a nuevas posibilidades terapéuticas en humanos ⁽⁸⁸⁾.

Un grupo de científicos de varios centros estadounidenses consiguen por primera vez incrementar la esperanza de vida al nematodo *Caenorhabditis elegans* mediante el empleo de una sustancia que intensifica los sistemas antioxidantes naturales ⁽⁸⁹⁾. Los ensayos se efectuaron en grupos de nematodos adultos a los que se trató o no con unas versiones sintéticas de la superóxido dismutasa y catalasa, EUK-8 y EUK-134. El tratamiento de nematodos de tipo salvaje con sustancias similares a la superóxido dismutasa o catalasa provocó una esperanza de vida media superior en un 50% a los nematodos no tratados. En los nematodos mutados con una esperanza de vida inferior asociada a un estrés oxidativo se controló la muerte prematura

y se normalizó la esperanza de vida gracias al tratamiento con dichas sustancias. Los resultados sugieren que el estrés oxidativo exógeno es un factor fundamental para la edad. Según este trabajo es la primera vez que se demuestra que el envejecimiento es una condición que puede tratarse con una terapia farmacológica adecuada y a la vez que el incremento de la esperanza de vida conseguido mediante el tratamiento con las sustancias similares a la superóxido dismutasa y catalasa no se debe a una reducción no específica en el metabolismo, ya que los nematodos tratados no parecieron moribundos hasta que realmente les llegó la muerte. Por tanto los autores sugieren que el organismo genera de forma permanente radicales libres a través de la función celular, protegiéndose a si mismo mediante las enzimas de la superóxido dismutasa.

En los valores de **ubiquinona** *no hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas en los valores de ubiquinona entre los pacientes y el grupo control*, los valores de ubiquinona están disminuidos en cuatro pacientes (id 10, 11, 15, 16) tres de ellos tenían la enfermedad en actividad. Uno de los pacientes presentaba valores superiores a la normalidad (id 6). Tampoco hemos hallado diferencias estadísticamente significativas en los valores de ubiquinona de los pacientes que presentaban nefropatía y los que no, ni entre los pacientes con enfermedad en remisión y con enfermedad en actividad.

La **coenzima Q (CoQ)** se encontró disminuida en ocho pacientes (id. 1, 2, 10, 11, 15, 16, 18, 19) *sin objetivarse diferencias significativas entre los grupos*, cuatro de ellos tenían también la ubiquinona disminuida. Cinco de los pacientes con coenzima Q disminuida tenían nefropatía (id.1, 2, 10, 16, 18) y había cinco que tenían la enfermedad en actividad (id. 1, 2, 10, 11, 15, 16).

La coenzima Q₁₀ se considera un importante antioxidante que desempeña un papel importante en la síntesis de adenosin trifosfato,

este efecto beneficioso se ha comprobado en varias enfermedades como la encefalopatía mitocondrial, miopatía mitocondrial y cardiomiopatía mitocondrial ⁽⁸⁹⁾. Gazdikova y cols. han estudiado un grupo de 15 pacientes, cinco con tubulopatía y diez con nefritis túbulo-intersticial crónica, a los que les administró tratamiento con vitamina E, vitamina C y riboflavina durante tres meses y en los dos últimos meses añadió coenzima Q₁₀ a dicho tratamiento, midió la función renal, lípidos, parámetros de peroxidación lipídica (malondialdehído), niveles de alfa-tocoferol, betacaroteno y coenzima Q₁₀, encontrando que la coenzima Q₁₀ estaba más baja en pacientes con nefropatía antes del aporte y su déficit puede mejorar con el aporte y podría ser utilizado como tratamiento complementario en algunas enfermedades renales ⁽⁸⁹⁾. Se ha presentado la coenzima Q₁₀ como un buen suplemento en la dieta, pero permanece en discusión si su administración por vía oral aumenta sus niveles tisulares y/o puede modular el estrés oxidativo "in vivo". Se administró en ratas ⁽⁹¹⁾ coenzima Q₁₀ a dosis de 150 mg/kg/d en sus dietas durante 4 y 13 semanas y se determinaron los niveles de coenzima Q₁₀ y coenzima Q₉ en plasma, hígado riñón, corazón, músculo esquelético, cerebro y mitocondria de estos tejidos; la administración de CoQ₁₀ aumentó los niveles plasmáticos y mitocondriales de CoQ₁₀ y CoQ₉, generalmente el aumento de ambas coenzimas fue mayor en las que se administró durante el periodo de 13 semanas. Así según estos autores el suplemento de CoQ consigue una elevación en los homólogos de CoQ en tejidos y sus mitocondrias y un descenso selectivo en el daño oxidativo proteico y un aumento en el potencial antioxidante en la rata.

Artuch y cols. ⁽⁹²⁾ en su estudio de las encefalopatías mitocondriales observan que en algunas de éstas la CoQ tiene una relación directa con el mecanismo causal del defecto (deficiencias primarias), mientras que en otras los niveles de CoQ están disminuidos de modo secundario. El tratamiento coadyuvante con CoQ en estas enfermedades es controvertido. Se ha demostrado la utilidad de la ubiquinona 10 por vía oral en algunos casos no excluyendo su riesgo por los efectos que podría causar en la cadena respiratoria

mitocondrial, aconsejan el tratamiento en deficiencias de CoQ primarias, en defectos del complejo I de la cadena respiratoria mitocondrial y cuando se comprueba un aumento del estrés oxidativo.

En el estudio de la **vitamina E (Vit E)** en nuestros pacientes *no hemos encontrado diferencias significativas con el grupo control* ($p > 0,05$). Los resultados de la vitamina E corresponden a 20 casos, los tres restantes están pendientes de realización, para evitar molestias al paciente se realizará en el próximo control bioquímico. Todos los pacientes tenían niveles de vitamina E dentro del rango de la normalidad, aunque el grupo problema (A y B) tenían niveles de vitamina E algo superiores que el grupo control sin diferencias significativas.

Entre las sustancias antioxidantes y las enfermedades renales posiblemente la vitamina E sea la más estudiada, Buyan y cols. ⁽⁹³⁾ recogieron un grupo de 10 niños afectados de púrpura de Schönlein-Henoch e investigaron el papel del estrés oxidativo en la patogenia de esta enfermedad midiendo los niveles de malondialdehído como indicador de la peroxidación lipídica, actividad de la prostaglandina E como mediadora inflamatoria y vitamina E tanto en la fase aguda de la púrpura como en la fase de remisión. La actividad del malondialdehído y la prostaglandina E se encontró elevada con significación estadística en la fase activa comparándola con la fase en remisión. La vitamina E estaba significativamente reducida en la fase activa comparándola con la fase de remisión, hecho que nosotros no hemos observado en nuestro grupo de estudio.

Erdögan y cols. ⁽²²⁾ administraron tratamiento a un grupo de pacientes afectados de púrpura de Schönlein-Henoch con alfa-tocoferol (300 mg/d) durante 6 a 17 semanas hasta que los pacientes estaban en remisión. En estos pacientes los niveles de vitamina E después del tratamiento fueron significativamente mayores que al inicio pero no se objetivaron cambios en los parámetros medidos del daño oxidativo, además

tampoco encontraron diferencias del daño renal entre los pacientes que recibieron tratamiento y los que no lo recibieron. Este es el primer estudio que se ha intentado mostrar los efectos de la vitamina E sobre las vasculitis sin encontrar efectos terapéuticos, a pesar de que los niveles plasmáticos de vitamina E aumentaron un 90%.

En otro estudio experimental Quasym y cols. no pudo encontrar ningún beneficio administrando vit. E antes del inicio de la vasculitis leucocitoclástica ⁽⁹³⁾. Harper y cols. concluyen en un grupo de pacientes con vasculitis sistémica asociada a ANCA positivos, que estudiaron la capacidad antioxidativa, el beneficio de un tratamiento coadyuvante con vitamina E y C, además del tratamiento de base ⁽⁹⁵⁾. Bennett y cols. en un estudio efectuado en ratas con pielonefritis concluyen que el tratamiento antibiótico y el suplemento en la dieta de vitaminas A y E pueden reducir significativamente la inflamación asociada con la pielonefritis ascendente y sugieren un uso potencial del aporte vitamínico en el tratamiento de la nefropatía por reflujo en niños ⁽⁷⁶⁾.

El estudio DATATOP efectuado a pacientes parkinsonianos “de novo” ha puesto de manifiesto que el tratamiento diario con vitamina E no aporta ningún beneficio a estos pacientes ⁽⁹⁸⁾, mientras otros estudios observan un resultado beneficioso de la vitamina E en retrasar la evolución de la enfermedad ⁽⁹⁹⁾

La **vitamina C (Vit C)** la hemos encontrado aumentada en seis pacientes (id. 5, 6, 7, 8, 11, 12) y disminuida en uno (id. 2). De los que tenían niveles elevados de vitamina C, cuatro no presentaban nefropatía y dos sí, mientras que tres de ellos estaban en actividad. *No hemos hallado diferencias significativas entre los grupos.*

Se han recomendado suplementos con vitaminas antioxidantes para el tratamiento y profilaxis de la insuficiencia renal crónica, enfermedad cardiovascular y cancer en la población general ⁽⁹⁹⁾. Se han referido

niveles plasmáticos bajos de vitamina C en pacientes con insuficiencia renal crónica (IRC). Bajo la hipótesis de que los pacientes con IRC pudieran tener niveles altos de vitamina A y bajos de vitamina C se recogió una muestra representativa de la población de E.E.U.U. entre 1988 y 1994 que reunió a 19618 personas que participaron en la entrevista divididos entre blancos no hispanos, negros no hispanos y mexicanos, los niveles séricos de vitamina C se encontraban asociados de forma significativa e inversa con los niveles de creatinina plasmática en los tres grupos. Observaron que niveles mayores de vitamina C se asociaron a un riesgo menor (22%-42%) para presentar hipercreatininemia en blancos no hispanos y mexicanos. No se puede descartar que los niveles disminuidos de vitamina C en pacientes con insuficiencia renal crónica sean resultado de pérdidas renales por orina o aumento del estrés oxidativo lo que hace pensar que la vitamina C desempeña un papel importante en prevenir el desarrollo de la insuficiencia renal. La vitamina C atenúa el estrés oxidativo y a la vez niveles superiores de vitamina C se asocian a tensión arterial con tendencia a la disminución, niveles bajos de colesterol LDL y niveles altos de HDL. A las vitaminas C y E se les ha atribuido un papel importante en la regulación de la muerte celular programada (apoptosis), estudios recientes efectuados sobre neuronas "in vitro" demuestran la capacidad protectora de la vitamina C pero no de la E ⁽¹⁰⁰⁾. La exposición a la inhalación del tabaco (fumadores pasivos) aumenta el riesgo de éstos al cáncer de pulmón y enfermedades cardio-pulmonares. Un suplemento diario de antioxidantes, especialmente con vitamina C, disminuye el estrés oxidativo en fumadores pasivos ⁽¹⁰¹⁾.

El etanol es el factor teratógeno más común en el embarazo. Cohen-Kerem y cols. revisan los efectos antioxidantes en modelos experimentales de síndrome alcohólico-fetal ⁽¹⁰²⁾. El daño oxidativo evidente por el etanol en el feto puede atenuarse por una variedad de antioxidantes, como fue documentado en los estudios tisulares y en animales. Sugieren que la aplicación de un tratamiento estratégico que incluya antioxidantes está justificado en embarazos humanos. La

seguridad de las vitaminas C y E en el embarazo sugieren que el uso experimental de antioxidantes en madres consumidoras de alcohol se debe considerar seriamente para reducir el daño alcohólico fetal. Hay autores que insisten en aportar en la dieta suplementos de vitamina E y C para la prevención de la pre-eclampsia en los embarazos, porque se observa en dichos embarazos la producción anormal de ROS, particularmente NO y O₂, niveles anormales de las defensas antioxidantes y aumento de la peroxidación lipídica placentaria⁽¹⁰³⁾.

En el estudio de la **vitamina A (Vit A)** en nuestros pacientes *no hemos encontrado diferencias significativas entre el grupo control y el grupo problema*, tampoco observamos diferencias entre los pacientes con nefropatía y los que no la tuvieron aunque hay una tendencia a mayores valores de vitamina A en los pacientes con nefropatía, no se observaron diferencias entre los pacientes con la enfermedad en actividad y los que estaban en remisión. Los resultados de la vitamina A corresponden a 20 casos, los tres restantes están pendientes de realización, para evitar molestias al paciente se realizará en el próximo control bioquímico. Los valores de vitamina A en nuestro grupo de estudio estuvieron todos dentro del rango de los considerados normales.

Se han referido niveles elevados de vitamina A en pacientes con insuficiencia renal crónica⁽⁹⁹⁾, pacientes en hemodiálisis y en periodo post-trasplante renal. En el estudio efectuado en E.E.U.U. en población afecta de insuficiencia renal crónica se observó una asociación significativa entre los niveles séricos de vitamina A en los tres grupos estudiados (blancos no hispanos, negros no hispanos y mexicanos) que se asoció con mayor riesgo de aumento de los niveles de creatinina.

Los niveles de alfa-caroteno no se asocian significativamente con los niveles séricos de creatinina, mientras que los de beta-caroteno se asociaron de forma significativa y positiva sólo en los negros no

hispanos. Dicho trabajo sugiere que la disminución del catabolismo de la proteína que liga el retinol en el riñón y la disminución de excreción de la vitamina A en pacientes con insuficiencia renal crónica podría explicar esta asociación.

El **malondialdehído (MDA)** se encontró aumentado en tres pacientes, dos de ellos estaban en remisión y uno había presentado nefropatía, el tercero estaba en actividad, tenía nefropatía y recibía tratamiento con prednisona. En dos pacientes se encontró disminuido dicho enzima, uno de ellos tenía la púrpura en actividad con nefropatía y el otro paciente estaba en remisión y no había presentado complicación renal. En el estudio del malondialdehído en el grupo afecto no hemos encontrado diferencias significativas entre los pacientes que presentaban la enfermedad en actividad o en remisión, ni tampoco entre los que tenían nefropatía y los que no tenían complicación renal. *No hemos encontrado diferencias entre el grupo control y el grupo de enfermos.*

Buyan y cols. encontraron en 10 niños afectados de púrpura de Schönlein-Henoch el malondialdehído elevado en la fase activa en comparación con los niños que estaban en remisión, hecho que nosotros no hemos podido constatar ⁽⁹³⁾.

Hay evidencia que el fumar está relacionado con el aumento de producción de radicales libres y deplección de antioxidantes. Los efectos al suprimir el tabaco en las concentraciones plasmáticas de antioxidantes y la susceptibilidad al estrés oxidativo son desconocidos. Polidori y cols. midieron en quince pacientes, saludables, peroxy radical generador 2,2'-azobis (2-amidinopropano) (AAPH), vitamina C y malondialdehído ⁽¹⁰⁴⁾. Las concentraciones de todos los antioxidantes eran más bajas antes de suprimir el tabaco que después de suprimirlo; el consumo de vitamina C plasmática y la producción de malondialdehído dieron lugar a una proporción significativamente más rápida antes de dejar de fumar que después. El cese de fumar provoca

un aumento de las concentraciones plasmáticas de antioxidantes y aumenta sustancialmente la resistencia plasmática al daño oxidativo.

Se han investigado niveles en plasma y placenta de malondialdehído, glutatión y superóxido dismutasa en embarazos preeclámpicos y normotensivos. Los niveles plasmáticos y en placenta de malondialdehído fueron significativamente más altos y los niveles de glutatión y superóxido dismutasa plasmáticos y en placenta fueron significativamente más bajos en las preeclampsias comparadas con pacientes normotensas. También se observó el malondialdehído aumentado significativamente y el glutatión y superóxido dismutasa disminuidos con los incrementos de la presión arterial diastólica. Se observa que los niveles de peroxidación lipídica aumentan en la circulación materna y tejido placentario mientras que los antioxidantes disminuyen en la preeclampsia. La magnitud del estrés oxidativo y cambios antioxidantes se correlacionan a la presión arterial diastólica (105).

Resumen

7. Resumen

- 7.1. Introducción
 - 7.1.1. Motivo y justificación de la tesis
- 7.2. Objetivos
- 7.3. Material y métodos
- 7.4. Resultados
- 7.5. Discusión

7.1. Introducción

La enfermedad de Schönlein-Henoch es una enfermedad multisistémica que afecta principalmente a vasos de pequeño calibre de la piel, articulaciones, sistema digestivo y riñón. La complicación renal va a condicionar el pronóstico de la púrpura de Schönlein-Henoch.

La clínica inicial de la nefropatía de Schönlein-Henoch es:

- a. Hematuria aislada
- b. Hematuria-proteinuria no rango nefrótico
- c. Síndrome nefrótico
- d. Síndrome nefrítico
- e. Síndrome nefrítico-nefrótico

En el contexto anatómico-patológico de la complicación renal de la púrpura de Schönlein-Henoch, las lesiones que se encuentran son:

- Lesiones glomerulares mínimas
- Proliferación mesangial
- Semilunas <50%
- Semilunas 50-75%
- Semilunas >75%

- Glomerulonefritis pseudomesangiocapilar

De estas lesiones pueden evolucionar a insuficiencia renal crónica los pacientes que presentan semilunas >50% y la glomerulonefritis pseudomesangiocapilar.

7.1.1. Motivo y justificación de la tesis

La enfermedad de Schönlein-Henoch puede afectar a muchos órganos y su pronóstico y evolución en algunas ocasiones quedan inciertos. En la actualidad se puede considerar una enfermedad menos frecuente que en años anteriores. En nuestro hospital desde 1973 a 1997 se visitaron una media anual de 28 niños afectados de púrpura de Schönlein-Henoch, mientras que en los últimos cinco años la media ha sido de 16 pacientes afectados de púrpura de Schönlein-Henoch anuales. Esta disminución del número de pacientes justifica el número recogido en esta tesis 23 pacientes.

Actualmente en la bibliografía se refieren factores del riesgo oxidativo como posibles causas de las lesiones de los vasos sanguíneos a nivel de todos los órganos, tomando mayor relevancia a nivel renal.

Al iniciar nuestro trabajo nos planteamos las siguientes cuestiones:

- El estrés oxidativo puede ser determinante en la aparición del síndrome de Schönlein-Henoch, en su evolución o en la presentación de la nefropatía.
- Los radicales libres en exceso o un déficit de los mecanismos antioxidantes podría favorecer la aparición de la enfermedad.

7. 2. Objetivos

1. Estudiar el papel del daño oxidativo en la patogénesis y desarrollo de la púrpura de Schönlein-Henoch.

2. Estudiar la implicación de los agentes antioxidantes (glutathion peroxidasa, glutathion reductasa, superóxido dismutasa, catalasa, ubiquinona, coenzima Q, malondialdehido, vitamina A, vitamina C, vitamina E) en el desarrollo de la púrpura de Schönlein-Henoch en sus fases de actividad y remisión.
3. Estudiar la implicación de los agentes antioxidantes en la nefropatía del Schönlein-Henoch

7. 3. Material y métodos

7.3.1. Material.

Se estudian 23 pacientes diagnosticados de la púrpura de Schönlein-Henoch. La edad media de los pacientes está en 9 años y 1 mes con un rango entre 1 año y 6 meses a 18 años 8 meses; sexo: 13 niños y 10 niñas.

Los pacientes se han dividido en dos grupos según su afectación renal. El grupo A comprendía 12 pacientes con complicación renal y tan sólo dos de ellos estaban en remisión de su nefropatía, el grupo B constaba de 11 pacientes afectados de púrpura sin complicación renal y 5 de ellos en remisión.

A los 23 pacientes se les efectuó independientemente de la fase en que se encontraban determinación de enzimas antioxidantes, sustancias antioxidantes y marcador de la peroxidación lipídica que se detallan en las tablas II, III, IV y V.

7.3.2. Metodología

Para la determinación de la actividad de glutathion peroxidasa en eritrocitos se ha seguido la adaptación automatizada de los métodos manuales realizada por Wheeler et al. (1990).

Para la determinación de la actividad de glutatión reductasa en eritrocitos se siguió la adaptación automatizada de los métodos manuales realizada por Wheeler et al. (1990) según el método de Goldberg y Spooner (1983).

Para la determinación de la actividad de superóxido dismutasa en eritrocitos se ha seguido la adaptación automatizada de los métodos manuales realizada por Wheeler et al. (1990) según el método de Mc.Corb y Fridovich (1969) y modificado por Lostner et al. (1983).

La actividad de catalasa en eritrocitos se ha determinado siguiendo la adaptación automatizada de los métodos manuales realizada por Wheeler et al. (1990) según el método de Johannsen y Borg (1988).

La determinación de ubiquinona en suero o plasma se basa en la separación por HPLC en fase reversa con detección electroquímica, después de realizar previamente una extracción, centrifugación y filtración del suero.

La vitamina A se determina por HPLC en fase reversa con detección UV a 325 nm el retinol, después de realizar previamente una extracción, centrifugación y filtración del suero.

La vitamina E se determina por HPLC en fase reversa con detección UV a 285 nm el tocoferol, después de realizar previamente una extracción, centrifugación y filtración del suero.

El ácido ascórbico se oxida selectivamente en ácido dehidroascórbico por medio de la ascorbato oxidasa. Este producto posteriormente se conjuga con 0-fenilendiamina (OPDA) produciendo un cromóforo que se mide a 340 nm.

La determinación del malondialdehído se basa en la reacción de los lipoperóxidos con el ácido tiobarbitúrico produciéndose una reacción de

color donde el punto máximo está en pH=3,5 y a 95°C. Posteriormente se eliminan aquellas sustancias que pueden interferir con el resultado por medio de una extracción y se analizan por HPLC.

7.3.3. Métodos estadísticos:

Análisis descriptivo.

Análisis de la varianza.

Comparación entre los dos grupos.

7.4. Resultados.

En el estudio de la enzima glutatión peroxidasa (GPX) no se han objetivado diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de pacientes y el grupo control.

En la glutatión reductasa (GR) se obtienen valores inferiores en los pacientes que presentan enfermedad activa comparados con el grupo control, con significación estadística ($p < 0,05$).

En el estudio de la superóxido dismutasa (SOD) no se han objetivado diferencias estadísticamente significativas.

En la catalasa (CAT) no se han observado diferencias estadísticamente significativas entre en grupo control y el grupo con púrpura de Schönlein-Henoch.

Referente a la ubiquinona no se encuentran diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes y el grupo control.

La coenzima Q se encontró disminuída en ocho pacientes sin obtener diferencias significativas entre ambos grupos.

En el estudio de la vitamina E no se encontraron diferencias significativas con el grupo control.

Entre los grupos no se objetivaron diferencias significativas en los valores de vitamina C.

En lo concerniente a la vitamina A no se observaron diferencias significativas entre el grupo control y el grupo problema.

En el marcador de peroxidación lipídica estudiado, malondialdehído, tampoco hemos encontrado diferencias significativas entre los grupos.

7.5. Discusión:

En los pacientes con púrpura de Schönlein-Henoch que hicieron nefropatía y estaban en actividad no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la **glutacion peroxidasa** aunque algunos autores han encontrado una disminución de glutacion peroxidasa en la fase aguda de la enfermedad.

En la **glutacion reductasa** sí se obtienen valores inferiores en los pacientes que presentan enfermedad activa en comparación con el grupo control con diferencia con significación estadística ($p < 0,05$).

En ninguno de los grupos de pacientes afectados de púrpura de Schönlein-Henoch se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en la **superóxido dismutasa**. En la bibliografía no hay unidad de criterios en cuanto al valor de la superóxido dismutasa en relación a la enfermedad.

En la **catalasa** no se objetivaron diferencias estadísticamente significativas. En algunas enfermedades renales se ha observado una disminución de catalasa.

La **ubiquinona** no presentó diferencias significativas en nuestros pacientes. Tampoco se encontraron diferencias significativas en la coenzima Q. La coenzima Q se considera un importante antioxidante y permanece en discusión el suplemento de coenzima Q en la dieta.

En ninguna de las **vitaminas A, E, y C** se han objetivado diferencias significativas entre el grupo de pacientes y el grupo control, lo que contrasta con algunos datos de la literatura y los intentos de tratamiento con vitaminas E y C en esta enfermedad, con resultados controvertidos.

En el **malondialdehido** no hemos encontrado diferencias significativas.

Conclusiones

8. Conclusiones

1. Los pacientes que tenían la púrpura de Schönlein-Henoch en actividad presentaban valores de glutatión reductasa significativamente más bajos que el grupo control.
2. Los enzimas antioxidantes estudiados: glutatión peroxidasa, glutatión reductasa, catalasa y superóxido dismutasa, no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y los pacientes con púrpura de Schönlein-Henoch en actividad, en remisión o los que presentaron nefropatía.
3. Las sustancias antioxidantes estudiadas: ubiquinona, coenzima Q y vitaminas A, E y C, no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y los pacientes con púrpura de Schönlein-Henoch en actividad, en remisión o los que presentaron nefropatía.
4. La peroxidación lipídica estudiada mediante la determinación de malondialdehído no ha mostrado diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y los pacientes con púrpura de Schönlein-Henoch en actividad, en remisión o los que presentaron nefropatía.

Bibliografía

9. Bibliografía

1. White RHR. Henoch- Schönlein purpura. In Churg A, Churg J, eds. *Sistemic vasculitides*. New York: Igaku-Shoin, 1991; 203-17.
2. Schönlein JL, *Allgemeine und specielle. Pathologie und therapie*. 3rd ed. Herisau, Japan: literatur-Comoptoir, 1837; 2:48.
3. Henoch EH, Ueber eine eigenthumliche form von purpura. *Berlclin Wochenschr* 1874; 11:641-3.
4. Heberden W. *Comentarii dimorboriana: historia et curatione*. London: Paine, 1801.
5. Osler W. *Visceral lesions of purpura and allied conditions*. B.M.J. 1914; i:517-25.
6. Giménez A. Nefropatía de Schönlein-Henoch. En *Riñón y vasculitis*. XXV Reunión Nacional de Nefrología Pediátrica. Cáceres. Junio 1998.
7. Meadow SR. Schönlein-Henoch síndrome. En: Edelman CMjr (ed) *Pediatric Kidney Disease*. Little, Brown and Comopani. Boston 1992; 1525-33.
8. White RHR, Ioshikawa N, Feehalli J. IgA Nephropathy and Henoch-Schönlein Nephritis. En: Barrat TM, Avner ED, Harmon WE(eds) *Pediatric Nephrology*. Lippincott, Williams and Wilkins. Baltimore 1999: 691-706.
9. Ackroial JF. Allergic purpura, including purpura due to foods, drugs, and infections. *Am. J. Med.* 1953; 14:605.
10. Aioub EM, Hoier J. Anaphylactoid purpura: streptococcal antibody titers and globulin levels. *J. Pediatr.* 1969; 75:193-203.
11. Gelfand EN, Clarkson JE, Minta JO. Selective deficiency of the second component of complement in a patient with anaphylactoid purpura. *Am. J. Dis. Child.* 1975; 4:269-79.
12. Ioshikawa N, Tanaka R, Lijema K. Pathophysiology and treatment of IgA nephropathy in children. *Pediatr. Nephrol.* 2001; 1:446-57.

13. Coppo R, Amore A, Gianoglio B, Cacace G, Picciotto G, Rocatello D et al. Angiotensin II local hiperreactivity in the progression of IgA nephropathy. *Am. J. Kidney Dis.* 1993; 25:593-602.
14. Coppo R, Amore A, Hogg R, Emancipator S. Idiopathic nephropathy with IgA deposits. *Pediatr. Nephrol.* 2000; 15:139-50. Bunchman TE, Mauer SM, Siblei RK et al. Anaphylactoid purpura: characteristics of 16 patients who progressed to renal failure. *Pediatr. Nephrol.* 1988; 2:393-7.
15. Rodríguez Pujol D, Duque I, Arribas I, Pérez Ledema G, López Onguil S, Rodríguez Pujol M. Papel de los radicales libres en la fisiopatología renal. *Nefrología* 1995; XV (S1):49-54.
16. Stratta P, Canavese C, Dogliani M, Mazzuco G, Monga G, Vercellone A. The role of free radical in the progression of renal disease. *Am. J. Kidney Dis.* 1991; XVII, 5 (S1): 33-37.
17. Rodríguez Pujol D, Lucio J, Ruiz P, López Onguil S, Iglasias MC, Ruiz Gines JA, Torrecilla G, Rodríguez Pujol M. Radicales libres y daño glomerular. *Nefrología* 1996; XVI (S3):29-34.
18. Davis Conference. Oxygen radicals and human disease. *Ann. Int. Med.* 1987; 526-45.
19. Asensi M: Parámetros indicativos del estrés oxidativo. En: Radicales libres y estrés oxidativo en Biomedicina. Importancia y utilidad de los antioxidantes en la prevención de los procesos fisiopatológicos relacionados. Saenz Tormo G. y Puig-Perellada P. 1999; 103-110.
20. Turi S, Nemeth I, Torkos A, Saghi L, Varga I, Matkovic B, Nagy J. Oxidative stress and antioxidant defense mechanism in glomerular diseases. *Free Radic. Biol. Med.* 1997; 22:161-8.
21. Page AC, Gale PH, Koniuzy F, Folkers K. Coenzyme Q IX. Coenzyme Q₉ and coenzyme Q₁₀ content of dietary components. *Arch. Biochem. Biophys.* 1959; 85:474-7.
22. Erdogan O, Öner A, Aidin A, Ismer A, Dermicin G, Bülbül M. Effect of vitamin E treatment on the oxidative damage occurring in Henoch-Schönlein purpura. *Acta Paediatr.* 2003; 92:546-550.
23. Berger J, Hinglass N. Les dépôts intercapillaires de IgA, IgG. *J. Urol. Nephrol.* 1968; 76 :694-5.

24. DeAmico G. The commonest glomerulonephritis in the world: IgA nephropathy. *Q. J. Med.* 1987; 64:709-27.
25. Meadow SR, Scott DG. Berger disease: Henoch- Schönlein syndrome without the rash. *J. Pediatr.* 1985; 106:27-32.
26. Katajima T, Murakami M, Sakai O. Clinicopathological features in Japanese patients with IgA nephropathy. *Jpn. J. Med.* 1983; 22:219-22.
27. Berger J, Ianeva H, Crosnier J. La glomerulonephrite a depots mesangiaux de IgA: une cause frequente deinsuffisance rénale terminale. *Nouv. Press. Med.* 1980; 9:219-21.
28. Clarkson AR, Seimour AE, Thompson AJ et al. IgA nephropathy: a syndrome of uniform morphologi, diverse clinical features and uncertain prognosis. *Clin. Nephrol.* 1977; 8:459-71.
29. Steinmann JI, Trachtman H, Lin Ci, Langman CB, Chang JC. IgA nephropathy to treat or not to treat? *Nephron* 1997; 75:251-8.
30. Pestka JJ, Zhou HR, Jia Q, Timmer AM. Dietary fish oil suppresses experimental immunoglobulin A nephropathy in mice. *J. Nutr.* 2002; 132:261-9.
31. Dillon JJ, Fish oil theraphi for IgA nephropathy: efficacy and interstudy variation. *J. Am. Soc. Nephrol.* 1997; 8:1739-44.
32. Otan H, Mune M, Iukawa S, Smith D, Meidani M, Blumberg J. Vitamin E treatment of experimental glomerular disease in rats. *Kidney Int. Suppl* 1999; 71:S66-9.
33. Tahzib M, Fran RR, Gauthier B, Valderrama E, Trachtman H. Vitamin E treatment of focal segmental glomerulosclerosis: results of an open label study. *Pediatr. Nephrol.* 1999; 13:649-52.
34. Hahn S, Krieg RJ jr, Hishano S, Chan JC. Vitamine E suppresses oxidative estrés and glomerulosclerosis in rat remmant. *Kidney Pediatr. Nephrol.* 1999; 13: 195-8.
35. Soilemezoglu O, Ozkaia O, Erbas D, Akkok N, Buian N, Hasanoglu E. Nitric oxide in Henoch-Schönlein purpura. *Scand. J. Rheumatol.* 2002; 31: 271-4.
36. Kuemerle NB, Krieg RJ jr., Chan N, Trachtman H, Norkus EP, Chan JC. Influence of alpha-tocopherol over the time course of

- experimental IgA nephropathy. *Pediatr. Nephrol.* 1999; 13:108-12.
37. Dermicin G., Öner A., Ünver I., Bülbül M., Erdögan Ö. Erythrocyte superoxide dismutase activity and plasma malondialdehyde levels in children with Henoch-Schönlein purpura. *Acta Paediatr.* 1998; 87:848-52.
38. Kashem A., Endoh M., Imauchi F., Iano N., Nomoto I., Sakai H., Pronai L., Tanaka M., Nakazawa H. Superoxide dismutase activity in human glomerulonephritis. *Am. J. Kidney Dis.* 1996; 28:14-22.
39. Klahr S, Schreiner G, Ichikawa I. The progression of renal disease. *N. Engl. J. Med.* 1988; 25:1657-66.
40. Walls J. Relationship between proteinuria and progressive renal disease. *Am. J. Kidney Dis.* 2001; 37:S:13-16.
41. Beasley R, Thomson C, Pearce N. Selenium, glutathione peroxidase and asthma. *Clin. Exp. Allergy* 1991; 21:157-9.
42. Misso NL, Powers KA, Gillon RL, Stewart GA, Thompson PJ. Reduced platelet glutathione peroxidase activity and serum selenium concentration in atopic asthmatic patients. *Clin. Exp. Allergy* 1996; 26:838-47.
43. Pearson DJ, Suarez Mendez VJ, Dai JP, Miller PF. Selenium status in relation to reduced glutathione peroxidase activity in aspirine-sensitive asthma. *Clin. Exp. Allergy* 1991; 21:203-208.
44. Buchanan BB, Adamidi C, Lozano RM et al. Thioredoxin-linked mitigation of allergic responses to wheat. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1997; 94:5372-7.
45. Wiseman H, Halliwell B. damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progression to cancer. *Biochem. J.* 1996; 313:17-29.
46. Torzewski M, Sarbia M, Heep H, Dutkowski P, Willer R, Gabbert HE. Expression of Bcl-X (L) and antiapoptotic member of the Bcl-2 family in esophageal squamous cell carcinoma. *Clin. Cancer Res.* 1998; 4:577-83.
47. Buschfort C, Müller MR, Secher S, Rajewski MF, Thomale J. DNA excision repair profiles of normal and leukemic human

- lymphocytes: functional analysis at the single-cell level. *Cancer Res.* 1997; 57:651-8.
48. Kinningham RB, Physical activity and the primary prevention of cancer. *Prim. Care* 1998; 25:515-36.
 49. Shisler JL, Senkevich TG, Berri MJ, Moss B. Ultraviolet-induced cell death blocked by a selenoprotein from a human dermatotropic poxvirus. *Science* 1998; 279:40-5.
 50. Lapenna D, Gioia S, Ciofani G, et al. Antioxidant properties of ticlopidine human low density lipoprotein oxidation. *FEBS Lett* 1998; 436:357-60.
 51. Duranteau J, Chandel NS, Kulisz A, Shao Z, Schumacker PT. Intracellular signalling by reactive oxygen species during hypoxia in cardiomyocytes. *J. Biol. Chem.* 1998; 273:11619-24.
 52. Zager RA, Burkhart K. Decreased expression of mitochondrial-derived H₂O₂ and hydroxyl radical in cisplatin resistant proximal tubules. *Kidney Int.* 1997; 52:942-52.
 53. Chang IC, Segal BH, Holland SM, Miller GF, Kwon Chung KJ. Virulence of catalase-deficient *Aspergillus nidulans* in p47(phox)-I-mice. Implications for fungal pathogenicity and host defense in chronic granulomatous disease. *J. Clin. Invest.* 1998; 101:1843-50.
 54. Aguirre F, Martin I, Grinspon D, et al. Oxidative damage, plasma antioxidant capacity and glucemic control in elderly NIDDM patients. *Free Radic. Biol. Med.* 1998; 24:580-5.
 55. Pastor MC, Sierra C, Dolade M, et al. Antioxidant enzymes and fatty acid status in erythrocytes of Down's syndrome patients. *Clin. Chem.* 1998; 273:14701-3.
 56. Cuzzocrea S, Zingarelli B, Villari D, Caputti AP, Longo G. Evidence for in vivo peroxynitrite production in human chronic hepatitis. *Life Sci.* 1998; 63:25-30.
 57. Chen C, Zhou J, Iu H, Jiang I, Zhu G. Effect of selenium supplementation on mice infected with LP-BM5MULV, a murine AIDS model. *Biol. Trace Elem. Res.* 1997; 57:187-93.
 58. Peterhans E. Reactive oxygen species and nitric oxide in viral diseases. *Biol. Trace Elem. Res.* 1997; 56:107-16.

59. Aaseth J, Haugen M, Forre O. Rheumatoid arthritis and metal comopounds perspectives on the role of oxygen radical detoxification. *Analist* 1998; 123:3-6.
60. Guttman RP, Johnson GV. Oxidative estrés inhibits calpain activity in situ. *J. Biol. Chem.* 1998; 273:13331-8.
61. Williamson TL, Bruijn LI, Zhu Q, et al. Absence of neurofilaments reduces the selective vulnerability of motor neurons and slows disease caused by a familial amiotrophic lateral sclerosis-linked superoxide dismutase 1 mutant. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1998; 95:9361-6.
62. Ziv I, Melamed E, Nardi N, et al. Dopamine induced apoptosis-like cell death in cultured chick simpathetic neurons a possible novel pathogenetic mechanism in Parkinson's disease. *Neurosci. Lett* 1994; 170:136-40.
63. Spector A, Ma W, Wang RR, Kleiman NJ. Microperoxidases catalitically degrade reactive oxygen species and mai be anti-cataract agents. *Exp. Eie Res.* 1997; 65:457-70.
64. Kurisheva NI, Deeva IB, deew AI, Erichev VP. Comparative study of antiradical effects of several antiglaucomoa drugs. *Vestn. Oftalmol.* 1998; 114:6-9.
65. Gwinner W. and Grone H-J. Role of active oxygen species in glomerulonephrytis. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2000; 15:1127-32.
66. Rivas Cabañero L, Rodriguez- Barbero A, Eleno N, Lopez-Novoa JM. Mecanismos básicos de nefrotoxicidad. *Nefrología* 1995; XV (S1):44-8.
67. Dubey NK, Yadav P, Dutta AK, Kumar V, Ray GN, Batra S. free oxygen radicals in acute renal failure. *Indian Pediatr.* 2000; 37:153-8.
68. De Vega L, Perez Fernandez R, Martín Mateo MC, Bustamante J, Bustamante A, Herrero AM, Bustamante Munguira E. Study of the activity of glutathione peroxidase and glutathione reductase in renal transplants. *Transplant. Proc.* 2003; 35:1346-50.
69. Ichikawa I, Kiiama S, Iosioka T. Renal antioxidants enzymes: Their regulation and function. *Kidney Int.* 1994; 45:1-9.

70. Annuk M, Fellstrom B, Akerholm O, Zilmer K, Vihalemm T, Zilmer M. Oxidative estrés markers in pre-uremic patients. *Clin. Nephrol.* 2001; 56:308-14.
71. Mimic-Oka J, Simic T, Djukanovic L, Peljic Z, Davicevic Z. Alteration in plasma oxidant capacity in various degrees of chronic renal failure. *Clin. Nephrol.* 1999; 51:233-41.
72. Haugen E, Nath K.A. The involvement of oxidative estrés in the progression of renal injury. *Blood Purif.* 1999; 17:58-65.
73. Nath K.A., Croatt A.J, Hostetter T.H. effect of dietari protein restriction on oxygen consumption and oxidant estrés in the remnant nephron. *Kidney Int.* 1998; 33:381.
74. Nath K.A., Fischereder M., Hostetter T.H. The role of antioxidants in progressive renal injury. *Kidney Int.* 1994; 45:S11, 115.
75. Meng S, Roberts LJ 2nd, cason GW, Curry TS, Manning RD jr. Superoxide dismutase and oxidative estrés in Dahl salt-sensitive and resistant rats. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2002; 283:R 732-8.
76. Bennett RT, Mazzaccaro RJ, Chopra N, Melman A, Franco I. Supression of renal inflamation with vitamine A and E in ascending pyelonephritis in rats. *J. Urol.* 1999; 161:1681-4.
77. Reddi A.S, Bollineni J.S. Selenium-deficient diet induces renal oxidative estrés and injury via TGF-b1 in normal and diabetic rats. *Kidnai Int.* 2001; 59:1342-53.
78. Sudhir V. Shah. Role of iron in progressive renal disease. *Am.J. Kidney Dis.* 2001; 37:S2:30-33.
79. Remuzzi A, Puntorieri S, Brugnetti B, Bertani I, Remuzzi G. Renoprotective effect of low iron diet and its consequence on glomerular hemodinamics. *Kidnai Int.* 1991; 39:647-52.
80. Mills JA, Michel BA, Bloch DA, Calabrese LH, Hunder GG, Arend WP. The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of Henoch-Schönlein purpura. *Arthritis Rheum.* 1990; 33:1114-21.

81. Takekoshi Y, Takahashi K, Tsutomu H, Yamamoto Y, Tochimaru H, Noritomo I. Role of extracellular glutathione peroxidase in glomerular diseases. *Pediatr. Nephrol.* 1998; 12:C176 abstr.
82. Chen HC, Guh JY, Lai Yh. Alterations of glomerular and extracellular glutathione peroxidase levels in patients and rats with focal segmental glomerulosclerosis. *J. Lab. Clin. Med* 2001; 137:279-83.
83. Darie C, Jerca L, Artenie V, Margina A. Glutathione peroxidase, an oxidative stress biomarker, in the menstrual cycle. *Rev: Med. Chir. Sco. Med. Nat. Iasi.* 1998; 102:138-44.
84. Toescu V, Nuttall SL, Martin U, Kendall MJ, Dunne F. Oxidative stress and normal pregnancy. *Clin. Endocrinol.* 2002; 57:609-13.
85. Larrumbe R, Ferrer JV, Viñes JJ, Guerrero D, Fraile P. Estudio casos-control de marcadores de estrés oxidativo y metabolismo del hierro plasmático en la enfermedad de Parkinson. *Rev. Esp. Salud Pública* 2001; 75:43-54.
86. Ferrer JV, Gascó E, Sastre J, Pallardó FV, Asensi M, Viña J. Age related changes in glutathione synthesis in the age lens. *Biochemical J.* 1990;269:531-4.
87. Vilaseca-Busca MA, Artuch-Iriben R, Colomé-Mallolas C, Brandi-Tarrau N, Campistol J, Pineda-Marfá M, Sierra-March C. Alteraciones del sistema antioxidante en errores congénitos del metabolismo intermediario. *Rev. Neurol.* 2002; 34:1021-1024.
88. Gaertner SA, Jansen U, Ostendorf T, Koch KM, Floege J, Gwinner W. Glomerular oxidative and antioxidative systems in experimental mesangioproliferative glomerulonephritis. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2002; 13:2930-7.
89. Melov S, Ravenscroft J, Malik S, Gill MS, Walker DW, Clayton PE, Wallace DC, Malfroy B, Doctrow SR, Lithgow GJ. Extension of life-span with superoxide dismutase/catalase mimetics. *Science* 2000; 289:1567-9.
90. Gazdikova K, Gvozdjakova A, Kucharska J, Spuskova V, Braunova Z, Dzurik R. Effect of coenzyme Q₁₀ in patients with kidney diseases. *Caslek Cesk* 2001; 140:307-10.

91. Kwong LK, Kamzalov S, Rebrin I, Bayne AC, Jana CK, Morris P, Forster MJ, Sohal RS. Effects of coenzyme Q₁₀ administration on its tissue concentrations, mitochondrial oxidant generation, and oxidative estrés in rat. *Free Radic. Biol. Med.* 2002; 33:627-38.
92. Artuch R, Colomé C, Vilaseca MA, Pineda M, Campistol J. Ubiquinona: metabolismo y funciones. Deficiencia de ubiquinona y su implicación en las encefalopatías mitocondriales. Tratamiento con ubiquinona. *Rev. Neurol.* 1999; 29:59-63.
93. Buyan N, Erbas D, Akkok N, Oz E, Biberoglu G, Hasanoglu E. role of free oxygen radicals and prostanoids in the pathogenesis of Henoch-Schönlein purpura. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids.* 1998; 59:181-4.
94. Quasym FJ, Mathieson PW, Thiru S, Oliveira DBG. Use of methyl prednisolona and antioxidants in mercuric chloride-induced experimental vasculitis. *Clin. Exp. Immunol.* 1994; 98:66-70.
95. Harper L, Nustall SL, Martin U, Savage CO. Adjuvant treatment of patients with anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis vitamins E and C reduces superoxide production by neutrophils. *Rheumatology* 2002; 41:274-8.
96. Chen J, He J, Ogden LG, Batuman V, Welthon PK. Relationship of serum antioxidant vitamins to serum creatinine in the U.S. population *Am. J. Kidney Dis.* 2002; 39:406-8.
97. Okamoto T, Fukui K, Nakamoto M, Kishi T. High-performance liquid chromatography of coenzyme Q-related compounds and its application to biological materials. *J. Chromatogr.* 1985; 342:35-44.
98. Schoulson I, DATATOP: A decade of neuroprotective inquiry. Parkinson study group. Deprenyl and tocopherol antioxidative therapy of parkinsonism. *Ann. Neurol.* 1998; 441(suppl):S160-6.
99. Fahn S, A pilot trial of high-dose alpha-tocopherol and ascorbate in early Parkinson's disease. *Ann. Neurol.* 1992; 32(suppl):128-32.
100. Offen D, Ziv I, Sternin H, Melamed E, Hochman A. Prevention of dopamine-induced cell death by thiol antioxidants:

- possible implications for treatment of Parkinson's disease. *Exp. Neurol.* 1999; 141:32-9.
101. Dietrich M, Block G, Benowitz NL, Morrow JD, Hudes M, Jacob P3rd, Norkus EP, Packer L. Vitamin C supplementation decreases oxidative stress biomarker f2-isoprotanes in plasma of nonsmokers exposed to environmental tobacco smoke. *Nutr. Cancer* 2003; 45:176-84.
102. Cohen-Kerem R, Koren G. Antioxidants and fetal protection against ethanol teratogenicity. I. Review of the experimental data and implications to humans. *Neurotoxicol. Teratol* 2003; 25:1-9.
103. Biodean JF, Hubel CA. Current concepts in the use of antioxidants for the treatment of preeclampsia. *J. Obstet. Gynaecol. Can.* 2003; 25:742-50.
104. Polidori MC, Mecocci P, Stahl W, Sies H. Cigarette smoking cessation increases plasma levels of several antioxidants micronutrients and improve resistance towards oxidative challenge. *Br. J. Nutr.* 2003; 90:147-50.
105. Madazli R, Benian A, Aydin S, Uzun H, Tolun N. The plasma and placental levels of malondialdehyde, glutathione and superoxide dismutase in pre-eclampsia. *J. Obstet. Gynaecol.* 2002; 22:477-80.

Listado de abreviaturas (no se incluyen los símbolos de elementos químicos)

ANCAS - anticuerpos anticitoplásmicos
ATP - adenosintrifosfórico
C₁ - \
C₁₉ - |
C₅₋₉ - > fracciones del complemento
C₃ - |
C₄ - /
CAT - catalasa
CoQ - coenzima Q (forma de ubiquinona)
Cu/Zn-SOD - cobre / zinc superóxido dismutasa
DNA - ácido dihidronucleico
EC-SOD - superóxido dismutasa extracelular
EDTA - ácido etilendiamintetraacético
GPX - glutathion peroxidasa
GPX₁ - \
GPX₂ - |
GPX₃ - > isoenzimas GPX
GPX₄ - |
GPX₅ - /
GPX-G₁ - isoenzima GPX citosólica
GPX-P - isoenzima GPX₃ extracelular
GR - glutathion reductasa
GSH - glutathion reducido
GSSG - glutathion oxidado
H₂O₂ - peróxido de hidrógeno
HLA - factor de histocompatibilidad
HPLC - cromatografía de líquidos de alta presión
I-ECA - inhibidores del enzima convertidor de la angiotensina
IgA - inmunoglobulina A
IgG - inmunoglobulina G
MDA - malondialdehido
mRNA - RNA mensajero
Mn-SOD - manganeso superóxido dismutasa
NADPH - nicotin adenina dinucleótico fosfato
NO - óxido nítrico
OH⁻ - radical hidroxilo
O₂⁻ - anion superóxido
OPDA - oxifenilendiamina
PAF - factor activador de las plaquetas
PHGPX - fosfolípido hiperóxido glutathion peroxidasa
RNA - ácido ribonucleico
ROOH - hidro hiperóxido
ROS - sustancias reactivas de oxígeno
SOD - superóxidodismutasa
TNF-α - factor de necrosis tisular α
UBI - ubiquinona
XO - xantina oxidada

